

**Síndrome Hemolítico-Urêmica na infância**

Hemolytic-Uremic Syndrome in childhood

**Autores**Maria Helena Vaisbich<sup>1</sup><sup>1</sup> Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.**RESUMO**

O grupo de doenças que podem manifestar-se com MAT podem apresentar superposição clínica, dificultando o diagnóstico diferencial. Entre estas ressaltamos a PTT e SHU, sendo que esta última pode ocorrer pela ação de toxinas, doenças sistêmicas, hiperativação da via alterativa descontrolada por alterações nas proteínas reguladoras desta via (SHUa) e por fim, idiopática. Deve-se proceder a uma série de exames para diferenciá-las. Ressaltando que SHUa é um diagnóstico de exclusão de outras causas de MAT. O tratamento da SHUa com infusão de plasma ou plasmaferese, resulta na maior parte dos casos com boa resposta, especialmente hematológica a curto-prazo, porém é uma doença grave e devastadora e, pode levar a óbito e doença renal crônica terminal. Tratamento com plasma apresenta grande recorrência da doença a longo-prazo e evolução renal desfavorável. Eculizumab, um anticorpo monoclonal anti-C5, tem surgido como uma esperança no prognóstico a curto e a longo-prazo nestes pacientes.

**Palavras-chave:** anemia hemolítica; insuficiência renal aguda; insuficiência renal crônica; pediatria.

**ABSTRACT**

There is a group of diseases that may manifest with thrombotic microangiopathy and present clinical overlap. Among these we emphasize the thrombotic thrombocytopenic purpura and Hemolytic Uremic Syndrome, and the latter can occur by the action of toxins, systemic diseases, overactivation of the alternative complement system pathway, which can occur due to changes in regulatory proteins (atypical HUS) and finally, idiopathic. You must carry out a series of tests to differentiate them. aHUS is a diagnosis of exclusion of other causes of MAT. The treatment of aHUS with plasma therapy, results in most cases with good short-term response, especially hematological; however, it is a progressive and devastating disease and can lead to death and terminal chronic renal disease. Treatment with plasma displays great recurrence of long-term disease and renal insufficiency. Eculizumab, a monoclonal antibody anti-C5, has been associated with hematological remission, benefits on renal function and no need of plasma therapy.

**Keywords:** acute kidney injury; anemia; child; chronic disease.

**INTRODUÇÃO**

A Síndrome Hemolítico-Urêmica (SHU) é uma doença grave, responsável por 0,2-4,28 casos/100.000 de falência renal aguda na população pediátrica mundial.<sup>1</sup> A SHU está incluída no diagnóstico diferencial de microangiopatias trombóticas (MAT). MAT é um termo patológico usado para descrever a formação de trombos que ocluem a microvasculatura.<sup>2</sup>

Os fatores patológicos incluem espessamento da parede dos vasos, com edema da célula endotelial (endotelióse) e destacamento da membrana basal, acúmulo de debris no espaço subendotelial, aumento da expressão do Fator de Von Willebrand (FVW) que atrai plaquetas e leva à formação de microtrombos, que ocluem parcial ou completamente a luz dos vasos na microvasculatura. Como consequência, ocorre a fragmentação de hemácias por

Data de submissão: 16/09/2013.

Data de aprovação: 25/09/2013.

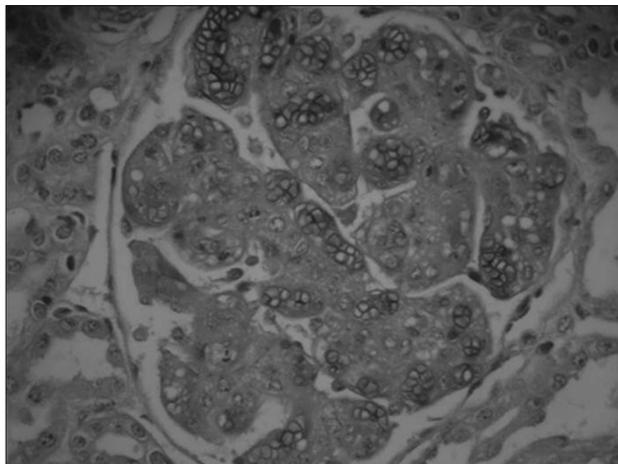
**Correspondência para:**

Maria Helena Vaisbich.  
Unidade de Nefrologia - Instituto da Criança - HCFMUSP.  
Rua Carlos Steinen, nº 280,  
apto 31. São Paulo, SP, Brasil.  
CEP: 04004-011.  
E-mail: vaisbich@terra.com.br

DOI: 10.5935/0101-2800.20140032

cisalhamento. A Figura 1 mostra o aspecto da histologia renal de um paciente com SHU, evidenciando a formação de trombos.

**Figura 1.** Histologia renal mostrando endoteliose e trombos em glomérulo de paciente com Síndrome hemolítico-Urêmica. Coloração: Tricrômio de Masson.



Clinicamente, MAT é associada à trombocitopenia por consumo, anemia hemolítica não autoimune microangiopática e pode determinar isquemia em diferentes órgãos, sendo os mais frequentemente acometidos os rins e o cérebro, mas também o trato gastrointestinal e o coração, entre outros.<sup>3,4</sup> Assim, os sintomas dependem do(s) órgão(s) acometido(s). Os pacientes apresentam-se frequentemente com anemia importante, causada por hemólise, a qual determina intensa palidez, plaquetopenia e acometimento renal, o qual pode ser detectado pela presença de edema, oligoanúria e alterações como proteinúria, hematúria e comprometimento das funções renais, glomerulares e/ou tubulares, inclusive insuficiência renal aguda. O acometimento cerebral, quando presente, pode determinar alterações neurológicas, com convulsões e rebaixamento do nível de consciência até coma. Caso haja MAT no trato gastrointestinal, pode haver diarreia sanguinolenta, mesmo na ausência de agentes infecciosos.

Na Tabela 1 podemos observar as principais causas de MAT. De uma forma prática, pode-se dizer que as causas de MAT são a púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) e a SHU, causada pela hiperativação da via alternativa do complemento, e sendo subdividida em SHU típica (associada a toxinas), SHU atípica (determinada por anormalidades primárias na via alternativa do complemento), SHUa secundária (associada a doenças sistêmicas, transplante, drogas,

gestação, sepse, hipertensão maligna e tumores) e, por fim, idiopática.<sup>5</sup> Em pacientes com SHUa “secundária”, foram identificados casos com mutações em proteínas reguladoras da via alternativa do complemento, revelando que pacientes que desenvolvem SHUa na presença destas doenças apresentam um genótipo favorável para a sua ocorrência. Noris *et al.*<sup>6</sup> identificaram, em 51% de pacientes com SHUa “secundária”, mutações nestas proteínas. Portanto, na terminologia mais adequada, SHUa secundária deve ser substituída por SHUa associada a situações ou doenças coexistentes.

Na última década, houve grande progresso na elucidação dos mecanismos moleculares mediadores da MAT, principalmente a partir de estudos genéticos, por meio de experimentos *in vitro* e *in vivo* e modelos animais. Entretanto, é ainda desafiador estabelecer o diagnóstico diferencial quando existe superposição de fatores clínicos.

#### DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE SHU E PTT

SHU deve ser distinguida da PTT, desde que existe uma superposição clínica e morfológica, pois as medidas terapêuticas diferem. Ambas as doenças compartilham fatores de MAT causada pela ativação e dano das células endoteliais, porém, por meio de mecanismos diferentes. Na SHU, o quadro de MAT ocorre pela hiperativação da via alternativa do complemento, enquanto na PTT é desencadeado pela deficiência grave na atividade de uma metaloprotease responsável pela clivagem de múltiplos do FVW, ADAMTS13 (*A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin type 1 repeats*).

Estudos mais antigos relatavam que na SHU o comprometimento é confinado ao endotélio glomerular, enquanto na PTT o dano endotelial é mais sistêmico. Em adição, achava-se que o acometimento neurológico e plaquetopenia prevaleciam na PTT, enquanto o acometimento renal na SHU. Também achava-se que SHU era uma doença da infância, enquanto a PTT ocorria mais em adultos.<sup>7</sup> Entretanto, sabe-se hoje que SHU pode ocorrer em grande percentual de adultos, assim como a PTT em crianças e que o comprometimento neurológico pode ocorrer na SHU, assim como na PTT pode haver acometimento renal grave.<sup>4,7</sup> Portanto, comumente os sintomas e sinais se sobrepõem, frequentemente retardando o diagnóstico diferencial entre estas duas entidades.

**TABELA 1** PRINCIPAIS CAUSAS DE MICROANGIOPATIA TROMBÓTICA (MAT)

Causas de MAT	
Infecciosas	STEC; <i>Shigella dysenteriae</i> Type I; <i>Streptococcus pneumoniae</i> produtor de neuraminidase; vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV), doença invasiva por outros agentes
Anormalidades no complemento	Anormalidades genéticas nas proteínas reguladoras; defeitos adquiridos como anticorpos antiCFH
Deficiência de ADAMTS13	Anormalidades genéticas; anticorpos antiADAMTS13
Outras	Doenças sistêmicas como o LES, alterações do metabolismo da cobalamina, SAF Medicamentos como a cisplatina, tacrolimus, ciclosporina, rifampicina, clopidopogrel Infecções pelo parvovírus ou citomegalovírus e infecções congênitas Transplante (rejeição, toxicidade por drogas) Gestação Transplante de medula óssea, radiação, doença enxerto <i>versus</i> hospedeiro Glomerulopatias como a GNMP tipo II Hipertensão maligna

STEC: *Escherichia coli* produtora de Shiga-toxina; LES: Lúpus eritematoso sistêmico; GNMP: Glomerulonefrite membranoproliferativa; SAF: Síndrome antifosfolípide; ADAMTS13: Metaloprotease responsável pela clivagem do Fator de von Willebrand.

A descoberta do envolvimento específico da protease ADAMTS13 na patogênese da PTT permitiu a discriminação entre estas duas formas de MAT.<sup>8</sup> Em pacientes com PTT, a atividade da ADAMTS13 é altamente reduzida (< 5% do normal).<sup>7</sup> Tal descoberta propiciou a identificação de maior percentual de PTT em crianças. Deficiência grave na atividade da ADAMTS13 pode ser de origem genética, a rara síndrome de Upshaw-Schulman (herança autossômica recessiva) ou, mais frequentemente, pela presença de autoanticorpos anti-ADAMTS13.<sup>7</sup>

O FVW é uma glicoproteína multimérica produzida nos megacariócitos e células endoteliais e secretada no plasma e tem papel essencial na adesão e agregação plaquetária. Nos compartimentos celulares, pode-se detectar maior quantidade de múltímeros grandes do FVW do que no plasma, porque a clivagem pela ADAMTS13 ocorre simultaneamente ao processo de secreção. Os múltímeros maiores são os que têm mais sítios de ligação de plaquetas. Na microvasculatura, o fluxo sanguíneo leva ao desdobramento do FVW e aumenta a exposição destes sítios. A deficiência da atividade da ADAMTS13 determina maior presença de múltímeros grandes na circulação e, conseqüentemente, maior número de sítios de exposição para adesão de plaquetas induzindo a formação de trombos de plaquetas na microvasculatura e desencadeando o quadro de MAT.<sup>7</sup>

No caso da síndrome de Upshaw-Schulman, anormalidade no gene da ADAMTS13, as manifestações ocorrem mais frequentemente no período neonatal e crises posteriores podem ser desencadeadas por

fatores como infecções ou vacinas. Neste caso, o tratamento é a infusão de plasma fornecendo a proteína ADAMTS13. Na forma adquirida, isto é, na presença de anticorpos anti-ADAMTS13, as manifestações são mais tardias e o tratamento comporta plasmaferese, corticosteroides e, em casos selecionados, rituximab (anticorpo monoclonal quimérico dirigido contra a proteína de superfície celular CD20) tem sido empregado.<sup>7</sup> Importante ressaltar que são quadros graves que requerem pronto tratamento; assim, a plasmaferese está indicada quando não se sabe se existem anticorpos anti-ADAMTS13 circulantes. Entretanto, tal procedimento pode não ser disponível e em crianças pequenas sua realização é tecnicamente complicada. Nestes casos, a infusão de plasma deve ser realizada prontamente.

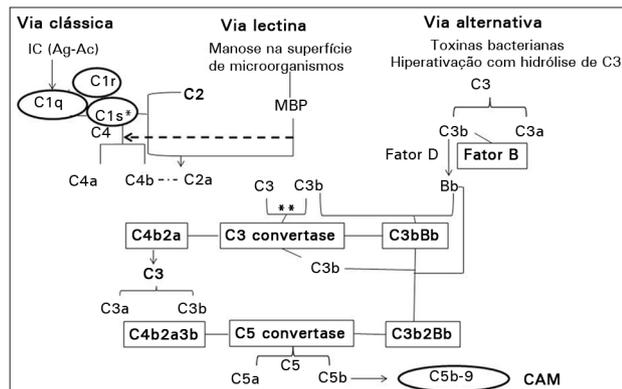
### SISTEMA DO COMPLEMENTO

Na SHU, o quadro de MAT é decorrente de hiperativação da via alternativa do sistema do complemento. Sendo assim, seguimos nesta revisão com uma breve explanação sobre os mecanismos de ativação do sistema do complemento, sua importância e sua correlação com o sistema de coagulação.

O sistema do complemento é composto por proteínas, tanto solúveis no plasma como expressas na membrana celular, que fazem parte do sistema imune inato, e tem como objetivos remover células “danificadas” e contribuir com o sistema imune adaptativo na defesa contra patógenos por meio de processos como opsonização, quimiotaxia e lise celular.<sup>6</sup> Existem três

vias principais de ativação do sistema do complemento: via clássica, via lectina e via alternativa. Na Figura 2, podemos observar os mecanismos de ativação do sistema do complemento.

**Figura 2.** Vias de ativação do sistema do complemento. IC: Imunocomplexos (antígeno-Anticorpo); MBP: Proteína ligadora da manose; C3bi: C3b inativado; MCP: Proteína cofator de membrana; TM: Trombomodulina; CAM: Complexo de ataque a membrana; \*\* Alça de amplificação.



## MECANISMOS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO

1. Via clássica: É ativada quando ocorre a ligação de imunocomplexos (antígeno-anticorpo) ao componente C1q do sistema do complemento. Esta ligação desencadeia ativação de C1r e C1s, proteases complexadas com C1q. C1s ativado promove clivagem de C4 para formar C4a e C4b, os quais ligam-se a superfície celular e, também pela clivagem de C2 em C2a, molécula esta que combina-se com C4b, formando um complexo C4b2a (C3 convertase). A C3 convertase cliva C3 e forma C3b, e este liga-se ao C4b2a (C3 convertase) e forma o complexo C4b2a3b (C5 convertase). A C5 convertase, por sua vez, cliva C5 em C5a e C5b, e este último desencadeia a formação do complexo de ataque a membrana (CAM, C5b-9), passo final da cascata do complemento, que leva a lise celular. C4b e o C3b promovem opsonização, enquanto o C4a e o C5a são anafilotoxinas, com propriedades quimiotáticas e de resposta inflamatória.
2. Via lectina: A ativação desta via é semelhante à ativação da via clássica. É desencadeada quando as proteínas ligadoras da manose (MBP), encontradas em complexos de proteases ligadoras de lectina (MASP), reconhecem a manose da superfície de microorganismos.

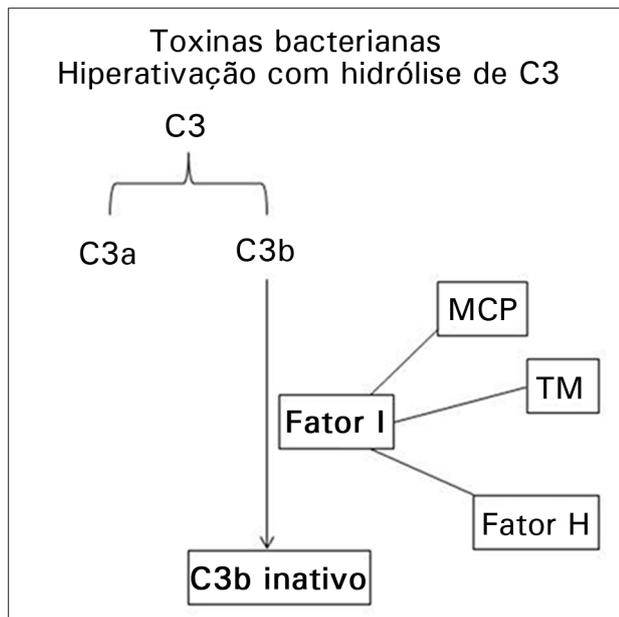
Com a ligação destas proteínas à manose, elas são ativadas e, assim, clivam C4 e C2, sendo que o resto da via de ativação é semelhante à via clássica.<sup>4</sup>

3. Via alternativa: Pode ser ativada conjuntamente com as vias clássica e lectina, mas pode ser constitutivamente ativada a qualquer momento. O fator que desencadeia sua ativação é a hidrólise do C3, formando C3a e C3b. C3b liga-se à superfície celular e interage com o Fator B, o qual é clivado pelo Fator D gerando o fragmento Bb, o qual é capaz de se ligar a outras moléculas C3b da superfície das células e formar C3bBb (C3 convertase). A C3 convertase desencadeia uma alça de amplificação aumentando a hidrólise de C3. Por fim, ocorre uma superprodução de C3b, o qual liga-se à C3 convertase e estimula a conversão para formar a C5 convertase (C3b2Bb). Esta, por sua vez, cliva C5 formando C5a e C5b, sendo que este último fator (C5b) determina a formação do CAM. C3a e C5a são anafilotoxinas.

Na prevenção da ativação descontrolada da via alternativa, existe um sistema de proteínas reguladoras, como o Fator I, que tem papel fundamental, o qual age diretamente inativando C3b e gerando C3bi (C3b inativado); o Fator H, a proteína cofator de membrana (MCP, CD46) e a trombomodulina agem como cofatores do Fator I para inativar C3b (Figura 3).<sup>9</sup> Caso haja falha na atuação destas proteínas reguladoras, haverá superativação da via alternativa do complemento, determinando dano celular descontrolado.

Existe uma relação entre o sistema do complemento e a cascata de coagulação. Ambos os sistemas são compostos por proteases, algumas das quais têm estrutura e sítios-alvo semelhantes.<sup>10</sup> Existem evidências que membros da cascata de coagulação podem ativar o sistema do complemento e vice-versa. Como exemplo, a trombina pode clivar diretamente o componente C5 do complemento,<sup>10,11</sup> e a anafilotoxina C5a pode ativar o fator tissular, o qual, por sua vez, ativa a trombina.<sup>10</sup> Trombomodulina (TM) é uma proteína que interage no sistema do complemento e na cascata de coagulação, promove inativação do fator C3b do complemento mediada pelo Fator I, mas também se liga à trombina, a qual leva à ativação da proteína C anticoagulante.<sup>12</sup> Estes achados sugerem uma relação estreita entre estes dois sistemas, que certamente é importante na ocorrência da MAT.

**Figura 3.** Mecanismo regulador da ativação da via alternativa do complemento. A inativação da via alternativa tem o Fator I como papel chave e, para que este possa exercer suas funções necessita dos cofatores ligados a membrana: MCP (proteína cofator de membrana, CD46) e TM (trombomodulina) e, do Fator H circulante.



### SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA TÍPICA

Na infância, 90% dos casos são desencadeados por infecção pela *Escherichia coli* produtora de Shiga-toxina (STEC), principalmente em crianças entre 2 e 6 anos de idade.<sup>9</sup> A incidência em crianças abaixo de 5 anos tem sido registrada em 6,1 casos/100.000 por ano.<sup>13</sup> Embora a *E. coli* O157:H7 seja o sorotipo mais reconhecido, outros sorotipos desta bactéria são responsáveis por um número considerável de casos, como os sorotipos O26, O45, O111, O121, O103, e O145 que causam aproximadamente 71% dos surtos não causados pela O157:H7.<sup>14</sup> A cepa O104:H4 causou um dos maiores surtos da história, afetando 3.816 pessoas e resultando em 845 casos de SHU e 54 mortes na Alemanha em 2011.<sup>15</sup> A contaminação ocorre por meio de alimentos e pode resultar em uma grande variedade de manifestações clínicas, variando na gravidade, desde um quadro diarreico inócuo até colite hemorrágica e SHU. Assim, 3 a 8 dias, em média, após a contaminação os pacientes desenvolvem dor abdominal, diarreia aquosa importante, às vezes com sangue e, após cerca de 24 horas, 10% a 15% dos pacientes apresentam anemia hemolítica, trombocitopenia e insuficiência renal aguda (IRA).<sup>13</sup>

O diagnóstico de STEC-SHU pode ser alcançado por meio da identificação da bactéria na coprocultura, pesquisa da presença de Shiga-toxina (Stx) por

intermédio de imunoenaios e PCR<sup>16,17</sup> e pela pesquisa de anticorpos contra a STEC no soro.<sup>18</sup>

A patogênese não é completamente entendida e, conseqüentemente, não existe uma terapêutica alvo. Entretanto, pode determinar taxa de mortalidade de 1%-5%.<sup>19</sup> Setenta por cento das crianças recuperam-se apenas com tratamento de suporte, o qual inclui controle hidroeletrolítico e metabólico, tratamento de substituição renal quando indicado, tratamento da hipertensão arterial (HAS), correção da anemia e plaquetopenia, quando necessárias.<sup>9</sup> Entretanto, aproximadamente, 30% dos pacientes evoluem com sequelas, com proteinúria persistente, HAS e até doença renal crônica terminal, com necessidade de diálise permanente ou transplante renal.<sup>20</sup> Estas complicações podem ocorrer até após anos do episódio agudo e, portanto, seguimento em longo-prazo é recomendado.<sup>19</sup> Fatores clínicos que ajudam a prever o risco de acometimento renal crônico evolutivo incluem o número de dias de oligoanúria ou de tempo de diálise, alta leucocitose e necessidade de reposição de plasma.<sup>21</sup> Envolvimento cerebral também é associado a pior prognóstico.<sup>22</sup>

Antibioticoterapia não é, geralmente, indicada no tratamento de infecções pela STEC,<sup>23</sup> pois não determina nenhum benefício<sup>24</sup> e pode ser prejudicial, aumentando o risco de ocorrência de SHU, principalmente se empregada na fase inicial da doença, pois determina um aumento na produção e/ou de liberação da Stx, o principal fator de virulência da STEC envolvido na patogênese da SHU.<sup>23,24</sup>

Outras opções de tratamento conjunto, como infusão de plasma ou plasmáfereze, não mostraram benefícios no caso de STEC-SHU.<sup>25</sup>

SHU também tem sido observada em infecções pela *Shigella dysenteriae* tipo 1 e *Campylobacter*.<sup>26</sup>

Entre outras causas infecciosas de SHU, está a infecção invasiva pelo *Streptococcus pneumoniae*. Estudos prévios relatavam que era uma causa rara de SHU associada a prognóstico reservado. Mais recentemente, a SHU associada à doença invasiva pelo pneumococo compreende 5% dos casos de SHU em crianças e 40% dos casos não associados à STEC.<sup>27</sup> A incidência de SHU após infecção pneumocócica invasiva é de 0,4% a 0,6%, mas possivelmente esta causa esteja sendo subdiagnosticada. No caso específico de SHU desencadeada pelo pneumococo, pode-se detectar teste Coombs direto positivo, o que não ocorre em outras situações; este fato ocorre porque o antígeno

Thomsen-Friedenreich (antígeno T) tem papel importante na fisiopatologia da SHU por *pneumococo*.<sup>28</sup>

Este antígeno é normalmente “escondido” pelo ácido neuramínico, mas é exposto pelo *pneumococo* produtor de neuraminidase. O antígeno T liga-se à superfície das células endoteliais glomerulares, plaquetas e eritrócitos e anticorpos pré-formados pelo hospedeiro podem se ligar à superfície das células que expressam este antígeno, desencadeando a série de eventos que determinam SHU. O teste de Coombs direto frequentemente detecta estes anticorpos ligados aos antígenos T e resulta em positividade em cerca de 90% dos casos de SHU pelo *pneumococo*.<sup>29</sup> O diagnóstico diferencial entre SHU desencadeada pela doença pneumocócica invasiva e sepse com coagulação intravascular disseminada ainda não tem critérios definitivamente definidos.

Estudos mais antigos mostravam alta taxa de morbimortalidade, porém, mais recentemente, houve melhora neste índice, provavelmente pela melhora dos cuidados intensivos. Assim, no estudo de uma série de 14 casos confirmados, Copelovitch *et al.*<sup>30</sup> observaram que 64% dos pacientes recuperaram-se sem sequelas em seguimento de longo-prazo, taxa semelhante aos casos de STEC-SHU. O maior risco para desenvolvimento de doença renal crônica terminal foi relacionado com diálise por mais de 20 dias e óbito relacionou-se com a ocorrência de meningite, mas não de pneumonia. Os autores também chamaram a atenção para o sorotipo 19A desta bactéria na ocorrência de SHU.

Outras causas infecciosas de relevância em Pediatria que podem desencadear SHU incluem infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida, vírus Epstein-Barr e aqueles agentes de infecções congênitas que se manifestam no período neonatal. Recentemente, também foi detectada SHU em paciente com infecção pelo *Mycoplasma pneumoniae*.<sup>31</sup>

O mecanismo pelo qual estes agentes e, consequentemente, suas toxinas podem desencadear MAT e SHU é relacionado com a ativação da via alternativa do complemento. As evidências desta ativação começaram em 1980, quando foram detectados fragmentos da quebra de C3 e do fator B, envolvidos com a ativação da via alternativa do sistema do complemento em pacientes com STEC-SHU.<sup>32,33</sup> Posteriormente, foi demonstrado C3 sérico diminuído e depósito de C3 no rim destes pacientes.<sup>34</sup> Mais recentemente, Thurman *et al.*<sup>35</sup> encontraram fragmentos de fator B e de CAM

(C5b-9) no soro de 17 pacientes com STEC-SHU na admissão, sendo que houve normalização após 28 dias, mostrando que a ativação da via alternativa é precoce na doença.

Todas as evidências indicam que a Stx liga-se e inibe o Fator H do complemento, o qual torna as células vulneráveis à formação do CAM, que leva à lise celular. Portanto, o Fator H pode estar ativo na circulação, mas sem atividade a nível celular; efeito este semelhante ao observado no caso de mutações com perda de função no Fator H.<sup>9</sup> Outros estudos confirmaram a ativação da via alternativa do complemento na infecção pela STEC-SHU e este modelo pode ser transportado para o caso de outros agentes infecciosos.<sup>9</sup> Assim, toxinas podem, potencialmente, ativar a via alternativa do complemento, ou impedir seu controle, desencadeando o quadro de MAT.

Interessante o fato que somente cerca de 10% a 15% dos pacientes com infecção pela STEC desenvolvem SHU.<sup>13</sup> Qual é o fator que desencadeia a doença? Neste sentido, Fang *et al.*<sup>36</sup> relataram o caso de uma criança com STEC-SHU confirmada, a qual também tinha uma mutação em MCP (CD46). Os autores especulam que o quadro de SHUa, para o qual esta criança já era geneticamente predisposta, pode ter sido desmascarado pela doença diarreica causada pela STEC.

### SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA ATÍPICA

SHU atípica (SHUa), isto é, não associada à STEC ou ao *pneumococo* produtor de neuraminidase, sem doença coexistente, é vista em 5% a 10% dos casos, podendo ocorrer em qualquer idade e ser esporádica ou familiar.<sup>37,38</sup> É decorrente de uma ativação crônica descontrolada da via alternativa do complemento, causando dano endotelial. O prognóstico nestes casos é reservado. Na primeira manifestação clínica, cerca de 33% a 40% dos pacientes vão a óbito ou progridem para DRCT<sup>37,38</sup> e 65% dos pacientes vão a óbito, requerem diálise ou apresentam dano renal permanente no primeiro ano após o diagnóstico, apesar de plasmaferese e/ou infusão de plasma.<sup>37</sup>

Durante a última década, um número crescente de mutações em genes que codificam proteínas envolvidas na formação ou na regulação da via alternativa foram associadas à SHUa.<sup>37-39</sup> Portanto, a SHUa está emergindo como um paradigma de doença causada pela proteção ineficiente do endotélio ao ataque do complemento. Desregulação da C3

convertase induz excessiva clivagem de C3 e, subsequente, excessiva clivagem de C5, levando a dano nas células endoteliais, que desencadeia o recrutamento de plaquetas e a formação de trombos na microvasculatura renal, quadro histológico caracterizado como MAT.<sup>40</sup> Anormalidades genéticas foram identificadas em pacientes com SHUa e envolvem componentes da via alternativa do complemento, incluindo o fator H, fator I, proteína cofator de membrana (MCP), fator B, componente C3 do complemento e trombomodulina.<sup>37-40</sup> O mecanismo da SHUa envolve primariamente a ativação do CAM, C5b-9.

Mutações nas proteínas reguladoras têm sido detectadas em cerca de 61% dos pacientes com SHU atípica (SHUa).<sup>41</sup> Na Tabela 2, pode-se identificar a contribuição de algumas das proteínas reguladoras, assim como seu local de síntese, gene responsável, localização e contribuição percentual para casos de SHUa. Portanto, SHUa pode ocorrer na ausência da identificação de mutações.

## INVESTIGAÇÃO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO EM PACIENTES COM SHUa

Recentes diretrizes sugerem, quando possível, que seja feito um estudo sobre anormalidades do complemento em pacientes com SHU.<sup>42,43</sup> Pode-se medir no soro a atividade do complemento total (CH50), a atividade da via alternativa (AH50) e dos componentes do sistema do complemento, C3, C4, Fator H e Fator I. Deve-se ter em mente que a maioria dos métodos avalia a presença da proteína e não sua atividade. Em adição, anormalidades na regulação do complemento podem ocorrer somente em nível da superfície da célula endotelial e não sistemicamente. Portanto, níveis séricos de componentes do sistema do complemento podem ser normais em pacientes

com alterações na regulação da sua atividade e não excluem a possibilidade de anormalidades genéticas deste sistema. Neste sentido, Ariceta *et al.*<sup>44</sup> detectaram níveis de C3 e C4 normais em 80% dos casos de SHUa, enquanto Noris *et al.*<sup>38</sup> encontraram níveis normais de Fator H em 40/46 (87%) pacientes com mutações identificadas no gene CFH.

Normalmente, pequenas quantidades de C3b são depositadas na superfície celular, mas estas moléculas são rapidamente eliminadas pelo Fator I, com a ajuda dos cofatores Fator H, MCP (proteína cofator de membrana, CD46) e trombomodulina. Em caso de mutação com perda de função destes fatores, os depósitos de C3b não são totalmente eliminados, o que desencadeia ativação não controlada do sistema do complemento que determina dano celular, como pode ocorrer nas células endoteliais.

Mutações com ganho de função em moléculas que participam da ativação da via alternativa, como o fator B e C3, promovem dano endotelial, mesmo na presença de reguladores funcionais.<sup>38</sup>

Em alguns pacientes, anticorpos anti-Fator H podem contribuir para a doença, e têm sido associados com deleções nas proteínas 1 e 3 relacionadas ao Fator H (CFHR1/3).<sup>45</sup>

## PENETRÂNCIA INCOMPLETA NA SHUa

É importante ressaltar que existem indivíduos que apresentam mutações em Fator H, Fator I, e MCP e não desenvolvem doença.<sup>6</sup> Este achado direciona para o fato que as alterações genéticas não são completamente responsáveis pela ocorrência da doença. Isto indica que um fator ambiental, o qual desencadeia a cascata do complemento, é necessário para que ocorra a doença. Caprioli *et al.*<sup>37</sup> mostraram que em 77% dos pacientes com mutações

**TABELA 2** ALGUMAS DAS PROTEÍNAS REGULADORAS DA VIA ALTERNATIVA DO COMPLEMENTO, GENE, LOCAL DE PRODUÇÃO, LOCAL DE AÇÃO E CONTRIBUIÇÃO PARA A OCORRÊNCIA DE SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA ATÍPICA (SHUa). MODIFICADO DE<sup>36</sup>

Proteína	Gene	Fonte	Localização	% de casos de SHUa
Fator H	CFH	Fígado	Plasma	~ 15-30%
Fator I	CFI	Fígado	Plasma	~ 5-10%
Proteína cofator de membrana (CD46)	MCP	Vários locais	Ligada à membrana	~ 10-15%
Fator B	CFB	Fígado	Plasma	< 5%
C3	C3	Fígado	Plasma	~ 5-10%
Anticorpo anti-Fator H	CFHR1/CFHR3	Linfócito	Plasma	~ 10%
Não identificada				40% dos casos

~ Aproximadamente; CFH: Fator H do complemento; CFI: Fator I do complemento; CFB: Fator B do complemento.

no Fator H, Fator I, ou MCP, os sintomas clínicos foram precedidos de sintomas de gripe, gastroenterite ou outras infecções.

## DIAGNÓSTICO DE SHUA

O diagnóstico de SHUa é de exclusão de outras causas de MAT, não havendo um exame diagnóstico definitivo; sendo assim, deve-se proceder a realização de todos os exames pertinentes para garantir avaliação de todas as variáveis impactando no diagnóstico, incluindo a pesquisa de doenças coexistentes e comorbidades. (Tabela 1). SHUa tem sido diagnosticada em pacientes com tumores, hipertensão maligna, doenças sistêmicas, glomerulopatias ou associada à gestação ou ao uso de inibidores de calcineurina<sup>38</sup> que apresentavam anormalidades nas proteínas da via alternativa do complemento com mutações identificadas.

O diagnóstico diferencial entre STEC-SHU e SHUa é de grande importância. Sendo assim, mesmo na ausência de diarreia deve ser afastada STEC-SHU, lembrando que 10% dos casos podem não apresentar diarreia<sup>46</sup> e que MAT no trato gastrointestinal pode causar diarreia, mesmo na ausência de agentes infecciosos.<sup>38</sup> Em pacientes com STEC-SHU presumida, devemos suspeitar que possa haver mutações em proteínas reguladoras do complemento, quando a evolução não é compatível, apresentando persistência do quadro de MAT.

Especificamente no período neonatal, deve ser afastado erro inato do metabolismo da cobalamina por alterações no gene MMACHC responsável pela produção do fator cobalamina-b (Clc-b), importante no metabolismo da cobalamina, causando a acidemia metilmalônica.<sup>47</sup> Sem a ação do Clc-b, ocorre acúmulo de ácido metilmalônico e homocisteína, que determinam aumento de radicais livres que levam a dano celular, assim como aumento da agregação plaquetária, indução de ligação do ativador de plasminogênio tecidual no endotélio e aumento da expressão de fatores pró-coagulantes locais.<sup>47</sup>

## CRITÉRIOS LABORATORIAIS DIAGNÓSTICOS DE SHUA

- Anemia hemolítica não autoimune: Hemograma mostrando hemoglobina baixa, teste de Coombs direto negativo, pesquisa positiva de esquizócitos no sangue periférico, haptoglobina baixa, aumento dos níveis séricos de desidrogenase láctica (DHL);

- Plaquetopenia: hemograma mostrando plaquetopenia (contagem  $< 150.000/mm^3$  ou queda maior que 25% em relação à medida anterior);
- Acometimento renal: pode se manifestar com hematúria, proteinúria, edema, oligoanúria, hipertensão arterial, aumento dos níveis séricos de ureia e creatinina;
- Acometimento de outros órgãos e sistemas, pesquisar de acordo com o quadro clínico, lembrando que o quadro de MAT pode acometer qualquer órgão, como sistema neurológico, trato gastrointestinal, coração, pâncreas, fígado, entre outros;<sup>48,49</sup>
- Pesquisa de STEC-SHU negativa e afastar outras causas de SHU típica;
- Atividade de ADAMTS13  $> 5\%$ ; no caso de vir abaixo de 5, deve-se pesquisar a presença de anticorpos anti-ADAMTS13;
- Medida da atividade de CH50 e AH50, C3 e C4: SHUa pode vir acompanhada de queda em C3 sérico e na atividade da via alternativa medida pelo AH50; porém, não é regra e, mesmo que os níveis sejam normais, não afasta SHUa.

## AVALIAÇÃO DOS COMPONENTES DO SISTEMA DO COMPLEMENTO

- Avaliação de mutações em proteínas reguladoras do complemento. Desde que seja disponível, é válida a pesquisa de mutações dos fatores envolvidos no controle do sistema do complemento como Fator H, Fator I, MCP, TM, C3 e Fator B, independente dos níveis séricos. A presença de anticorpos anti-Fator H pode ser feita com o uso de ensaio imunoenzimático (ELISA). Entretanto, é importante ressaltar que mutações têm sido identificadas em cerca de 60% dos casos de SHUa e, portanto, a não identificação de mutação não exclui este diagnóstico.<sup>41</sup>

## TRATAMENTO ANTERIORMENTE PRECONIZADO DA SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA ATÍPICA

### PLASMAFERESE E ADMINISTRAÇÃO DE PLASMA

Antes do advento de novas opções no tratamento da SHUa, como a terapia-alvo de bloqueio do complemento, a plasmaterapia era recomendada, apesar de não existir um estudo controlado e randomizado.<sup>50</sup>

Estudos de *coorte* mostraram que a plasmaferese reduz a mortalidade em 25%.<sup>6</sup> O tratamento com plasmaterapia mostrou benefícios a curto-prazo na atividade hematológica da doença; porém, o prognóstico do acometimento renal não mostrou-se favorável.<sup>37</sup>

Nos casos de falta ou anormalidade de proteínas reguladoras do sistema do complemento, a infusão de plasma seria suficiente. Porém, na fase inicial da doença sem um diagnóstico específico, plasmaferese foi considerada o ideal, desde que tenha a possibilidade de remoção de anticorpos, caso estejam presentes. Infusão de plasma era recomendada quando a plasmaferese não pudesse ser realizada e objetivava a reposição de proteínas reguladoras alteradas da via alternativa do complemento.

Após o período inicial do tratamento com plasmaferese, a redução da ativação do sistema do complemento pode ser alcançada com a infusão de plasma, a não ser que tenha sido detectada a presença de anticorpos, quando dever-se-ia dar sequenciamento com a plasmaferese.

Diretrizes mais antigas do grupo de estudo europeu de SHU<sup>44</sup> recomendavam iniciar a plasmaferese dentro de 24 horas após o diagnóstico.<sup>44,51</sup> Tecnicamente, a recomendação era trocar 1,5 volemia (60 a 75 ml/kg) e repor com plasma fresco. Este grupo preconizava que plasmaferese deveria ser feita diariamente por 5 dias, após passar para 5 sessões por semana por 2 semanas e, após, passar para 3 sessões por semana por 2 semanas.<sup>44</sup> Para infusão de plasma, na ausência de plasmaferese, a recomendação era de iniciar com 30 a 40 ml/kg e, posteriormente, 10 a 20 ml/kg por dia.<sup>52</sup>

Para monitorização da resposta, os melhores parâmetros são a contagem de plaquetas, níveis de DHL e de hemoglobina, que confere a remissão hematológica. Níveis de haptoglobina frequentemente permanecem diminuídos após a remissão hematológica e, portanto, não são usados como parâmetros a curto-prazo.

Não existe um parâmetro que determine o tempo de tratamento, porém recomenda-se manter o tratamento pelo menos após 2 dias da remissão completa.<sup>52</sup> Entretanto, alguns pacientes com SHUa podem tornar-se dependentes de plasmaferese; além do fato que infecções e vacinas poderem desencadear novo evento de MAT e a plasmaferese deverá ser reiniciada. Outros fatores que podem desencadear injúria endotelial devem ser controlados, como a hipercolesterolemia e hipertensão.

Sabe-se que a SHUa é uma doença crônica e o tratamento com plasma (infusão de plasma ou plasmaferese) em longo-prazo determina alta taxa de novos eventos de MAT, evolução para DRCT e óbito.<sup>38</sup> Além do fato de aumentar comorbidades como infecção e trombose, principalmente com a plasmaferese pela necessidade de catéter central, e aparecimento de anticorpos com as infusões repetidas de plasma. Soma-se, a estes fatores, a dificuldade técnica da realização da plasmaferese em crianças pequenas. Em adição, a infusão de plasma em quantidade suficiente para repor as proteínas alteradas é difícil em pacientes hipervolêmicos.

#### TRANSPLANTE

O prognóstico no transplante renal de pacientes com SHUa é bastante reservado. Cerca de 50% dos pacientes têm recidiva da doença e perdem o enxerto. Não existe um fator que possa prever a possibilidade de recidiva, embora o uso de inibidor de calcineurina seja associado a maior probabilidade.<sup>53</sup> Os pacientes com SHUa também são mais propensos a desenvolver rejeição aguda, o que afeta a sobrevivência do enxerto.<sup>50</sup> O conhecimento do defeito genético pode ajudar no prognóstico; assim, pacientes com mutações no Fator H têm recidiva até 75% a 90%; pacientes com mutações no Fator I têm recidiva até 45% a 80%, e no caso de mutações no C3 o risco de recorrência é de 40% a 70%; enquanto que pacientes com mutações no MCP têm baixo risco de recorrência.<sup>6</sup> Para minimizar o risco de recorrência, recomenda-se evitar tempo de isquemia prolongado e o uso de inibidores de calcineurina.

Uma das opções no tratamento da recorrência é a plasmaferese e, se possível, plasmaferese profilática, antes e após o transplante;<sup>6</sup> entretanto, alguns estudos preconizam transplante duplo rim-figado nos casos com alta chance de recorrência, como naqueles sabidamente portadores de mutações no Fator H ou Fator I.<sup>54</sup> Entretanto, o transplante duplo figado-rim aumenta demasiadamente a morbimortalidade.

Transplante renal com doador vivo só pode ser indicado na ausência da mutação do doador, lembrando que apenas 60% das mutações são atualmente conhecidas.<sup>41</sup> SHUa pode ser desencadeada em doador vivo relacionado não previamente diagnosticado, apenas pela manipulação cirúrgica. A conduta mais conservadora é o transplante com doador falecido.

O acometimento endotelial causando SHUa de novo, pode ser desencadeado no pós-transplante renal pelo uso de imunossupressores, infecções virais ou rejeição, mesmo na presença de susceptibilidade genética leve.<sup>6</sup>

Embora o fator ambiental seja responsável pela maior parte dos casos de SHUa de novo, em cerca de 40% dos casos são detectadas anormalidades genéticas.<sup>55</sup> Para minimizar o risco causado pelos fatores ambientais, preconiza-se controle adequado da hipertensão e da hipercolesterolemia, assim como o uso prudente de inibidores da calcineurina.

### NOVA ERA NO TRATAMENTO DA SHUA - ECLIZUMAB

O aumento do conhecimento da patogênese da SHUa foi acompanhado pelo surgimento de uma droga, eculizumab, a qual age como inibidor da via final do complemento,<sup>56</sup> considerada padrão para o tratamento da hemoglobínúria paroxística noturna.<sup>57</sup> Eculizumab é um anticorpo monoclonal humanizado, registrado como droga de escolha para o tratamento de SHUa pelo FDA e EMEA. Eculizumab age especificamente ligando-se ao fator C5 do complemento, bloqueando a clivagem de C5 para C5b, impedindo a formação da anafilatoxina C5a e do CAM, C5b-9. Seu uso tem sido associado a um único efeito adverso importante, que é o aumento do risco de infecção por *Neisseria*.<sup>58</sup> Como a depuração da *Neisseria meningitidis* é altamente dependente do CAM, pacientes tratados com eculizumab são de alto risco para infecção por esta bactéria. Portanto, estes pacientes devem receber a vacina polivalente ao menos 2 semanas antes do início do tratamento e, caso a medicação seja usada antes deste período, o paciente deve receber antibioticoterapia profilática. Como a vacina disponível em nosso meio não protege para todos os sorotipos desta bactéria, está indicada a profilaxia ininterrupta<sup>58</sup> e familiares e médicos devem estar atentos para esta possibilidade diagnóstica.<sup>58</sup>

Eculizumab tem se mostrado como uma medicação que modifica o curso da SHUa. Tem resgatado a função de rins nativos e prevenido a recorrência pós-transplante. Estudos em série de casos do uso do eculizumab em SHUa mostram aumento de plaquetas e melhora da função renal logo após a primeira dose. Com o uso desta medicação, os pacientes não necessitaram de plasmaferese nem de diálise e a medicação foi bem tolerada.<sup>59,60</sup> Legendre *et al.*<sup>61</sup>

estudaram 37 pacientes (acima de 12 anos de idade) com SHUa em uso de eculizumab. Neste grupo, foram incluídos 20 pacientes com doença de mais longa duração (48,3 meses, variando de 0,7 a 285,8 meses), particularmente o comprometimento renal, inclusive em diálise e, em remissão hematológica em uso de terapia com plasma.

Os demais 17 pacientes apresentavam doença de mais curta duração (9,7 meses, 0,3-235,9 meses) e com sinais de atividade hematológica, recebendo terapia com plasma e de comprometimento de função renal, inclusive em diálise. Importante deste estudo foi mostrar a possibilidade de recuperação de função renal, inclusive em pacientes já há meses em programa de diálise, a remissão hematológica, sem sinais de novo episódio de MAT e melhora na qualidade de vida, num seguimento de 26 e 62 semanas. Neste mesmo estudo, não houve nenhum caso de infecção pelo meningococo, lembrando que todos foram vacinados e receberam profilaxia com antibióticos<sup>61</sup>. Efeitos adversos relatados foram hipertensão arterial (três casos), peritonite (um caso), esclerose venosa no local da infusão (um caso), bacteriúria assintomática (um caso) e infecção pelo vírus influenza (um caso). Não foi observado nenhum caso de infecção pelo meningococo neste estudo.<sup>61</sup>

Recentemente, Delmas *et al.*<sup>62</sup> atualizaram o estudo de Legendre *et al.*, com seguimento de 3 anos, nos pacientes com SHUa de longa duração e doença renal crônica (estágios 3, 4 ou 5) e, mostraram que o uso deste medicamento propiciou melhora hematológica e na função renal. Estes autores observaram um aumento na proporção de pacientes livres de novos eventos de MAT: com 26 semanas de seguimento eram 16/20 (80%) pacientes, com 1 ano eram 17/20 (85%), com 2 anos 19/20 (95%) e com 3 anos 19/20 (95%); também detectaram aumento na proporção de casos com normalização hematológica: com 26 semanas eram 18/20 (90%) pacientes e esta proporção se manteve até o seguimento de 3 anos.

Em relação à função renal, observaram redução na creatinina sérica  $\geq 25\%$  em 15% dos pacientes após 26 semanas de tratamento, em 35% dos pacientes após 1 ano, em 55% dos casos após 2 anos e que se manteve até o terceiro ano; aumento no ritmo de filtração glomerular  $\geq 15$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> SC foi observado em 5% dos pacientes após 26 semanas e a proporção de pacientes aumentou para 15% após 1

ano, 40% após 2 anos e assim se manteve com 3 anos da medicação, sendo que 60% dos pacientes apresentaram melhora de DRC de 1 ou mais estágios no terceiro ano de tratamento. Não houve nenhum caso de infecção meningocócica e nem nenhum outro efeito adverso relatado.

Recente estudo prospectivo pediátrico<sup>63</sup> (22 pacientes) mostrou que o uso de eculizumab determina melhora rápida e sustentada (26 semanas de tratamento) nos parâmetros hematológicos e melhora contínua da função renal. Detalhadamente, remissão completa da MAT foi observada em 64% dos casos, normalização hematológica em 82%, aumento no RFG  $\geq 15$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> SC ocorreu em 86% dos casos (média de 64 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> SC), sendo que em 9/11 pacientes o tratamento dialítico pode ser interrompido. Não houve nenhum caso de infecção meningocócica e os efeitos adversos foram semelhantes aos observados anteriormente, como HAS em dois pacientes, infecção das vias aéreas superiores em dois casos, gastroenterite viral (dois pacientes) e febre (dois pacientes). Com base nos resultados deste estudo, recomenda-se o eculizumab como primeira linha de tratamento da SHUa em pacientes pediátricos, reiterando as recomendações de estudos anteriores.

No transplante, existem protocolos preconizando o uso do eculizumab em pacientes com SHUa. Relatos de transplante com doador vivo preconizam a realização conjunta de plasmaferese na semana anterior ao transplante, na fase de indução e após, na manutenção, com bons resultados.<sup>55</sup> Na literatura, em caso de doador falecido, existem relatos nos quais plasmaferese foi realizada no dia anterior e no dia seguinte do transplante renal associada ao eculizumab;<sup>55</sup> entretanto, relatos de casos mais recentes mostram bons resultados apenas com o uso do eculizumab.<sup>64</sup> Nesta situação, recomenda-se fazer a primeira dose 6 horas antes do transplante e, repetir no dia seguinte ao mesmo, uma vez por semana nas 4 semanas subsequentes e, posteriormente, a cada 15 dias, lembrando que a dose é ajustada para o peso corporal.<sup>63</sup>

Importante ressaltar que a SHUa pode ocorrer em neonatos e o tratamento nestes casos é bastante complicado, desde que plasmaferese nesta faixa etária é difícil de ser realizada e pode ocorrer dependência e formação de anticorpos com as infusões sucessivas de plasma, além do fato de novos eventos graves do quadro e a manutenção do comprometimento renal.

Já existem relatos de benefícios, com recuperação hematológica e da função renal em pacientes neonatos tratados com eculizumab.<sup>60,65</sup>

Nos pacientes com SHU típica, eculizumab não seria indicado; entretanto, em recente surto epidêmico na Alemanha, casos de STEC-SHU graves, principalmente com comprometimento neurológico, receberam a droga e muitos pacientes adultos foram beneficiados.<sup>9</sup> No grupo pediátrico acompanhado durante este surto, o uso desta medicação não se mostrou impactante no prognóstico; porém, a medicação foi usada tardiamente. Portanto, ainda não está estabelecido se o eculizumab pode ou não trazer benefícios para pacientes com SHU típica.<sup>66</sup>

## CONCLUSÃO

O grupo de doenças com propensão a manifestar-se com MAT podem apresentar superposição clínica, dificultando o diagnóstico diferencial. Entre estas, ressaltamos a PTT e SHU, sendo que esta última pode ocorrer pela ação de toxinas, doenças sistêmicas, ativação da via alternativa descontrolada por alterações nas proteínas reguladoras desta via (SHUa) e, por fim, idiopática. Deve-se proceder a uma série de exames para diferenciá-las, ressaltando que SHUa é um diagnóstico de exclusão de outras causas de MAT. O tratamento da SHUa com infusão de plasma ou plasmaferese apresenta, na maior parte dos casos, boa resposta, especialmente hematológica em curto-prazo; porém, é uma doença crônica, grave e devastadora e, pode levar a óbito e doença renal crônica terminal.

Tratamento com plasma apresenta grande recorrência da doença em longo-prazo e evolução renal desfavorável. Eculizumab, um anticorpo monoclonal anti-C5, tem surgido como uma esperança no prognóstico em curto e em longo-prazo nestes pacientes e tem sido recomendado como a primeira escolha no tratamento da SHUa.

## REFERÊNCIAS

1. Serna A 4<sup>th</sup>, Boedeker EC. Pathogenesis and treatment of Shiga toxin-producing Escherichia coli infections. *Curr Opin Gastroenterol* 2008;24:38-47. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MOG.0b013e3282f2dfb8>
2. Zheng XL, Sadler JE. Pathogenesis of thrombotic microangiopathies. *Annu Rev Pathol* 2008;3:249-77. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.154311>
3. Tsai HM. The molecular biology of thrombotic microangiopathy. *Kidney Int* 2006;70:16-23. PMID: 16760911 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5001535>
4. Barbour T, Johnson S, Cohny S, Hughes P. Thrombotic microangiopathy and associated renal disorders. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:2673-85. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfs279>

5. Nester CM, Thomas CP. Atypical hemolytic uremic syndrome: what is it, how is it diagnosed, and how is it treated? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:617-25. PMID: 23233643
6. Loirat C, Girma JP, Desconclois C, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic thrombocytopenic purpura related to severe ADAMTS13 deficiency in children. *Pediatr Nephrol* 2009;24:19-29. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-008-0863-5>
7. Furlan M, Robles R, Lämmle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* 1996;87:4223-34. PMID: 8639781
8. Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009;361:1676-87. PMID: 19846853 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra0902814>
9. Keir LS, Saleem MA. Current evidence for the role of complement in the pathogenesis of Shiga toxin haemolytic uraemic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013 Jul 11. [Epub ahead of print]. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-013-2561-1>
10. Amara U, Flierl MA, Rittirsch D, Klos A, Chen H, Acker B, et al. Molecular intercommunication between the complement and coagulation systems. *J Immunol* 2010;185:5628-36. PMID: 20870944 DOI: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0903678>
11. Krisinger MJ, Goebeler V, Lu Z, Meixner SC, Myles T, Prydzial EL, et al. Thrombin generates previously unidentified C5 products that support the terminal complement activation pathway. *Blood* 2012;120:1717-25. PMID: 22802338 DOI: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2012-02-412080>
12. Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, Esmon CT, Esmon NL, Ferrell G, et al. Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009;361:345-57. PMID: 19625716 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0810739>
13. Scheiring J, Andreoli SP, Zimmerhackl LB. Treatment and outcome of Shiga-toxin-associated hemolytic uremic syndrome (HUS). *Pediatr Nephrol* 2008;23:1749-60. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-008-0935-6>
14. Kalchayanand N, Arthur TM, Bosilevac JM, Schmidt JW, Wang R, Shackelford SD, et al. Evaluation of commonly used antimicrobial interventions for fresh beef inoculated with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O26, O45, O103, O111, O121, O145, and O157:H7. *J Food Prot* 2012;75:1207-12. PMID: 22980002 DOI: <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-531>
15. Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis* 2011;11:671-6.
16. He X, Patfield S, Hnasko R, Rasooly R, Mandrell RE. A Polyclonal Antibody Based Immunoassay Detects Seven Subtypes of Shiga Toxin 2 Produced by *Escherichia coli* in Human and Environmental Samples. *PLoS One* 2013;16:8:e76368. PMID: 24146860
17. Skinner C, Patfield S, Stanker L, He X. Development of Monoclonal antibodies and immunoassays for sensitive and specific detection of Shiga toxin Stx2f. *PLoS One* 2013;8:e76563. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0076563>
18. Palmeira P, Carbonare SB, Guth BE, Carbonare CB, Pontes GN, Tino-De-Franco M, et al. Acquisition of serum antibodies reactive with enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence-associated factors by healthy Brazilian children and adults. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28:1089-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e3181aa6b2d>
19. Spinale JM, Ruebner RL, Copelovitch L, Kaplan BS. Long-term outcomes of Shiga toxin hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013;28:2097-105. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-012-2383-6>
20. Rosales A, Hofer J, Zimmerhackl LB, Jungraithmayr TC, Riedl M, Giner T, et al.; German-Austrian HUS Study Group. Need for long-term follow-up in enterohemorrhagic *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome due to late-emerging sequelae. *Clin Infect Dis* 2012;54:1413-21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cis196>
21. Gianviti A, Tozzi AE, De Petris L, Caprioli A, Ravà L, Edefonti A, et al. Risk factors for poor renal prognosis in children with hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2003;18:1229-35. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-003-1262-6>
22. Trachtman H, Austin C, Lewinski M, Stahl RA. Renal and neurological involvement in typical Shiga toxin-associated HUS. *Nat Rev Nephrol* 2012;8:658-69. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2012.196>
23. Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N Engl J Med* 2000;342:1930-6. PMID: 10874060 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200006293422601>
24. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 2005;365:1073-86. PMID: 15781103
25. Keir L, Coward RJ. Advances in our understanding of the pathogenesis of glomerular thrombotic microangiopathy. *Pediatr Nephrol* 2011;26:523-33. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-010-1637-4>
26. Michael M, Elliott EJ, Craig JC, Ridley G, Hodson EM. Interventions for hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis* 2009;53:259-72. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2008.07.038>
27. Constantinescu AR, Bitzan M, Weiss LS, Christen E, Kaplan BS, Cnaan A, et al. Non-enteropathic hemolytic uremic syndrome: causes and short-term course. *Am J Kidney Dis* 2004;43:976-82. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2004.02.010>
28. von Vigier RO, Seibel K, Bianchetti MG. Positive Coombs test in pneumococcus-associated hemolytic uremic syndrome. A review of the literature. *Nephron* 1999;82:183-4. PMID: 10364712
29. von Vigier RO, Fossali E, Crosazzo L, Bianchetti MG. Positive Coombs test in postpneumococcal hemolytic-uremic syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:1028-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/01.inf.0000187032.38556.b3>
30. Copelovitch L, Kaplan BS. Streptococcus pneumoniae-associated hemolytic uremic syndrome: classification and the emergence of serotype 19A. *Pediatrics* 2010;125:e174-82. PMID: 20026500 DOI: <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2007-2017>
31. Godron A, Pereyre S, Monet C, Llanas B, Harambat J. Hemolytic uremic syndrome complicating *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Pediatr Nephrol* 2013;28:2057-60. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-013-2541-5>
32. Monnens L, Molenaar J, Lambert PH, Proesmans W, van Munster P. The complement system in hemolytic-uremic syndrome in childhood. *Clin Nephrol* 1980;13:168-71. PMID: 7379368
33. Kim Y, Miller K, Michael AF. Breakdown products of C3 and factor B in hemolytic-uremic syndrome. *J Lab Clin Med* 1977;89:845-50.
34. Robson WL, Leung AK, Fick GH, McKenna AI. Hypocomplementemia and leukocytosis in diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Nephron* 1992;62:296-9. PMID: 1436342 DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000187063>
35. Thurman JM, Marians R, Emlen W, Wood S, Smith C, Akana H, et al. Alternative pathway of complement in children with diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1920-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.02730409>
36. Fang CJ, Fremaux-Bacchi V, Liszewski MK, Pianetti G, Noris M, Goodship TH, et al. Membrane cofactor protein mutations in atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS), fatal Stx-HUS, C3 glomerulonephritis, and the HELLP syndrome. *Blood* 2008;111:624-32. PMID: 17914026 DOI: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2007-04-084533>
37. Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al. Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108:1267-79. PMID: 16621965 DOI: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-10-007252>

38. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:1844-59. DOI: <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.02210310>
39. Roumenina LT, Loirat C, Dragon-Durey MA, Halbwauchs-Mecarelli L, Sautes-Fridman C, Fremeaux-Bacchi V. Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *J Immunol Methods* 2011;365:8-26. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2010.12.020>
40. Fakhouri F, Frémeaux-Bacchi V, Noël LH, Cook HT, Pickering MC. C3 glomerulopathy: a new classification. *Nat Rev Nephrol* 2010;8:494-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2010.85>
41. Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, Bienaimé F, Dragon-Durey MA, Ngo S, et al. Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: a nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:554-62. DOI: <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.04760512>
42. de Jorge EG, Macor P, Paixão-Cavalcante D, Rose KL, Tedesco F, Cook HT, et al. PMID: 21148255. The development of atypical hemolytic uremic syndrome depends on complement C5. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:137-45.
43. Pickering MC, de Jorge EG, Martinez-Barricarte R, Recalde S, Garcia-Layana A, Rose KL, et al. Spontaneous hemolytic uremic syndrome triggered by complement factor H lacking surface recognition domains. *J Exp Med* 2007;204:1249-56. PMID: 17517971 DOI: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20070301>
44. Ariceta G, Besbas N, Johnson S, Karpman D, Landau D, Licht C, et al.; European Paediatric Study Group for HUS. Guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea-negative hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009;24:687-96. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-008-0964-1>
45. Moore I, Strain L, Pappworth I, Kavanagh D, Barlow PN, Herbert AP, et al. Association of factor H autoantibodies with deletions of CFHR1, CFHR3, CFHR4, and with mutations in CFH, CFI, CD46, and C3 in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2010;115:379-87. PMID: 19861685 DOI: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2009-05-221549>
46. Westra D, Wetzels JF, Volokhina EB, van den Heuvel LP, van de Kar NC. A new era in the diagnosis and treatment of atypical haemolytic uraemic syndrome. *Neth J Med* 2012;70:121-9. PMID: 22516576
47. Menni F, Testa S, Guez S, Chiarelli G, Alberti L, Esposito S. Neonatal atypical hemolytic uremic syndrome due to methylmalonic aciduria and homocystinuria. *Pediatr Nephrol* 2012;27:1401-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-012-2152-6>
48. Zuber J, Le Quintrec M, Sberro-Soussan R, Loirat C, Frémeaux-Bacchi V, Legendre C. New insights into postrenal transplant hemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2011;7:23-35. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2010.155>
49. Dragon-Durey MA, Sethi SK, Bagga A, Blanc C, Blouin J, Ranchin B, et al. Clinical features of anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:2180-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2010030315>
50. Zuber J, Le Quintrec M, Morris H, Frémeaux-Bacchi V, Loirat C, Legendre C. Targeted strategies in the prevention and management of atypical HUS recurrence after kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 2013;27:117-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trre.2013.07.003>
51. Taylor CM, Machin S, Wigmore SJ, Goodship TH.; working party from the Renal Association, the British Committee for Standards in Haematology and the British Transplantation Society. Clinical practice guidelines for the management of atypical haemolytic uraemic syndrome in the United Kingdom. *Br J Haematol* 2010;148:37-47. PMID: 19821824 DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07916.x>
52. Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, Loirat C, Frémeaux-Bacchi V.; French Study Group for aHUS/C3G. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol* 2012;8:643-57. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2012.214>
53. Jokiranta TS, Zipfel PF, Fremeaux-Bacchi V, Taylor CM, Goodship TJ, Noris M. Where next with atypical hemolytic uremic syndrome? *Mol Immunol* 2007;44:3889-900. PMID: 17768107 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2007.06.003>
54. Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Hemolytic uremic syndrome recurrence after renal transplantation. *Pediatr Transplant* 2008;12:619-29. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3046.2008.00910.x>
55. Nester C, Stewart Z, Myers D, Jetton J, Nair R, Reed A, et al. Pre-emptive eculizumab and plasmapheresis for renal transplant in atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:1488-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.10181110>
56. Hillmen P, Hall C, Marsh JC, Elebute M, Bombara MP, Petro BE, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2004;350:552-9. PMID: 14762182 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa031688>
57. Hillmen P, Muus P, Röth A, Elebute MO, Risitano AM, Schrenzenmeier H, et al. Long-term safety and efficacy of sustained eculizumab treatment in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2013;162:62-73. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/bjh.12347>
58. Bouts A, Monnens L, Davin JC, Struijk G, Spanjaard L. Insufficient protection by Neisseria meningitidis vaccination alone during eculizumab therapy. *Pediatr Nephrol* 2011;26:1919-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-011-1929-3>
59. Gruppo RA, Rother RP. Eculizumab for congenital atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009;360:544-6. PMID: 19179329 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM0809959>
60. Ariceta G, Arrizabalaga B, Aguirre M, Morteruel E, Lopez-Trascasa M. Eculizumab in the treatment of atypical hemolytic uremic syndrome in infants. *Am J Kidney Dis* 2012;59:707-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2011.11.027>
61. Legendre CM, Licht C, Muus P, Greenbaum LA, Babu S, Bedrosian C, et al. Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2013;368:2169-81. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1208981>
62. Delmas Y, Loirat C, Muus P, Legendre C, Douglas K, Hourmant M, et al. Sustained Efficacy and Safety of Eculizumab in Patients with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome with Long Disease Duration and Chronic Kidney Disease: 3-Year Update. Pôster no Encontro Anual da American Society of Nephrology Kidney Week 2013, 5-10 de Novembro, Atlanta, Georgia.
63. Greenbaum LA, Fila M, Tsimaratos M, Ardissino G, Al-Akash S, Evans J, et al. Eculizumab Inhibits Thrombotic Microangiopathy and Improves Renal Function in Pediatric Patients with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. Pôster no Encontro Anual da American Society of Nephrology Kidney Week 2013, 5-10 de Novembro, Atlanta, Georgia.
64. Román-Ortiz E, Mendizabal Oteiza S, Pinto S, López-Trascasa M, Sánchez-Corral P, Rodríguez de Cordoba S. Eculizumab long-term therapy for pediatric renal transplant in aHUS with CFH/CFHR1 hybrid gene. *Pediatr Nephrol* 2014;29:149-53. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-013-2591-8>
65. Besbas N, Gulhan B, Karpman D, Topaloglu R, Duzova A, Korkmaz E, et al. Neonatal onset atypical hemolytic uremic syndrome successfully treated with eculizumab. *Pediatr Nephrol* 2013;28:155-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-012-2296-4>
66. Morigi M, Galbusera M, Gastoldi S, Locatelli M, Buelli S, Pezzotta A, et al. Alternative pathway activation of complement by Shiga toxin promotes exuberant C3a formation that triggers microvascular thrombosis. *J Immunol* 2011;187:172-80. PMID: 21642543 DOI: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1100491>