

Microangiopatias trombóticas: púrpura trombocitopênica trombótica e síndrome hemolítico-urêmica

Thrombotic microangiopathies: thrombotic thrombocytopenic purpura / hemolytic uremic syndrome

Autores

Maria Goretti Polito¹
Gianna Mastroianni
Kirsztajn²

^{1,2}Setor de Glomerulopatias da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP

Data de submissão: 02/07/2010
Data de aprovação: 06/07/2010

Correspondência para:

Prof. Dra. Gianna Mastroianni Kirsztajn. Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, Disciplina de Nefrologia, Rua Botucatu, 740. São Paulo – São Paulo CEP 04023-900
Tel: 55 (11) 5904-1699; Fax: 55 (11) 5904-1684
E-mail: gianna@nefro.epm.br

O referido estudo foi realizado no Setor de Glomerulopatias - Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP / EPM, São Paulo, Brasil.

Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

RESUMO

As microangiopatias trombóticas (MATs) são condições caracterizadas por oclusão microvascular generalizada por trombos de plaquetas, trombocitopenia, e anemia hemolítica microangiopática. Duas manifestações fenotípicas típicas das MATs são a síndrome hemolítica urêmica (SHU) e a púrpura trombocitopênica trombótica (PTT). Outras doenças ocasionalmente apresentam manifestações similares. Na dependência de prevalecer a lesão renal ou a cerebral, duas entidades patologicamente indistinguíveis, mas de alguma forma clinicamente diferentes, têm sido descritas: a SHU e a PTT. Injúria das células endoteliais é o fator desencadeante central na sequência de eventos que levam a MAT. Perda da trombo resistência fisiológica, adesão de leucócitos no endotélio lesado, consumo de complemento, liberação e fragmentação anormais do fator de von Willebrand (FvW), e aumento do estresse de cisalhamento vascular podem sustentar e ampliar o processo microangiopático. Anormalidades intrínsecas do sistema do complemento e do FvW podem acompanhar a predisposição genética à doença, que pode ter um papel chave, em particular nas formas recorrentes e familiares. Nos casos de SHU associada à diarreia (SHU+D), o dano endotelial renal é mediado (pelo menos em parte) pela Shigatoxina (Stx) bacteriana, uma família de toxinas elaboradas por certas cepas da *Escherichia coli* e *Shigella dysenteriae*. A evolução é geralmente boa na criança, na SHU associada a Stx, enquanto sequelas renais e neurológicas são mais frequentemente encontradas em adultos, formas familiares e atípicas da SHU e na PTT. Estudos recentes têm demonstrado que a deficiência na clivagem do FvW pela proteinase ADAMTS13 pode ser genética

ABSTRACT

Thrombotic microangiopathies (TMAs) are pathological conditions characterized by generalized microvascular occlusion by platelet thrombi, thrombocytopenia, and microangiopathic hemolytic anemia. Two typical phenotypes of TMAs are hemolytic-uremic syndrome (HUS) and thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Other disorders occasionally present with similar manifestations. Depending on whether renal or brain lesions prevail, two pathologically indistinguishable but somehow clinically different disorders have been described: HUS and TTP. Injury to the endothelial cell is the central and likely inciting factor in the sequence of events leading to TMA. Loss of physiological thromboresistance, leukocyte adhesion to damaged endothelium, complement consumption, abnormal von Willebrand factor release and fragmentation, and increased vascular shear stress may then sustain and amplify the microangiopathic process. Intrinsic abnormalities of the complement system and of the von Willebrand factor pathway may account for a genetic predisposition to the disease that may play a paramount role in particular in familial and recurrent forms. In the case of diarrhea-associated HUS (D+HUS), renal endothelial damage is mediated (at least in large part) by the bacterial agent Shigatoxin (Stx), which is actually a family of toxins elaborated by certain strains of *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae*. Outcome is usually good in childhood, Shiga toxin-associated HUS, whereas renal and neurological sequelae are more frequently reported in adult, atypical, and familial forms of HUS and in TTP. Recent studies have demonstrated that deficiency in the von Willebrand factor cleaving protease ADAMTS13, due to

ou mais comumente adquirida, resultante da produção de anticorpos inibidores da ADAMTS13, causando a PTT. Durante a última década, demonstrou-se que a SHU atípica (SHU-D) é uma doença de desregulação da via alternativa do complemento. Uma série de mutações e polimorfismo em genes que codificam proteínas reguladoras do complemento sozinhas ou em combinação podem levar a SHU atípica. Aproximadamente 60% dos casos de SHU atípica têm mutações do tipo “perda da função” em genes que codificam as proteínas reguladoras do complemento, as quais protegem as células hospedeiras da ativação do complemento: fator H do complemento (FHC), fator I (FIC) e proteína cofator de membrana (PCM ou CD46), ou mutações do tipo “ganho da função” em genes que codificam o FHC ou C3. Além disso, aproximadamente 10% dos pacientes com SHU atípica têm deficiência na função do FHC devido a anticorpos anti-FHC. Mesmo que as MATs sejam condições altamente heterogêneas, um terço dos pacientes tem deficiência severa da ADAMTS13. Transfusões de plaquetas são contraindicadas nesses pacientes. Infusão de plasma ou *plasma exchange* (PE) é o único tratamento eficiente.

Palavras-chave: microangiopatias trombóticas, púrpura trombocitopênica trombótica, síndrome hemolítica urêmica, insuficiência renal, fator de von Willebrand.

[J Bras Nefrol 2010;32(3):303-315]©Elsevier Editora Ltda.

deficiency of ADAMTS13 can be genetic or more common, acquired, resulting from autoimmune production of inhibitory anti-ADAMTS13 antibodies, that causes TTP. During the last decade, atypical HUS (aHUS) has been demonstrated to be a disorder of the complement alternative pathway dysregulation, as there is a growing list of mutations and polymorphisms in the genes encoding the complement regulatory proteins that alone or in combination may lead to aHUS. Approximately 60% of aHUS patients have so-called ‘loss-of-function’ mutations in the genes encoding the complement regulatory proteins, which normally protect host cells from complement activation: complement factor H (CFH), factor I (CFI) and membrane cofactor protein (MCP or CD46), or have ‘gain-of-function’ mutations in the genes encoding the complement factor B or C3. In addition, approximately 10% of aHUS patients have a functional CFH deficiency due to anti-CFH antibodies. Although TMAs are highly heterogeneous pathological conditions, one-third of TMA patients have severe deficiency of ADAMTS13. Platelet transfusions are contraindicated. Plasma infusion or exchange (PE) is the only treatment of proven efficacy.

Keywords: thrombotic microangiopathies, thrombotic thrombocytopenic purpura, hemolytic-uremic syndrome, kidney failure, von Willebrand factor.

INTRODUÇÃO

As microangiopatias trombóticas são condições patológicas caracterizadas pela presença de anemia hemolítica microangiopática (por estresse de cisalhamento na microcirculação), oclusão microvascular generalizada causada pela deposição de trombos ricos em plaquetas (envolvimento renal é comum), e trombocitopenia (consumo de plaquetas).¹ As duas manifestações fenotípicas clássicas das microangiopatias trombóticas (MATs) são a púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) e a síndrome hemolítico-urêmica (SHU); ambas são graves, pondo em risco a vida do paciente. A SHU é caracterizada pelos três sinais clínicos (“tríade” clássica) já citados, enquanto a PTT é caracterizada por um conjunto de cinco manifestações, que correspondem à “tríade” associada a febre e sinais neurológicos; entretanto, as duas doenças são clinicamente indistinguíveis. Essas MATs devem ser diferenciadas

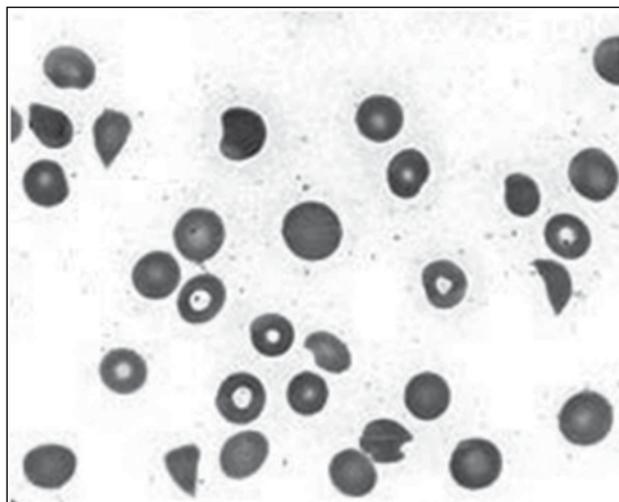
da coagulação intravascular disseminada (CID) e das doenças trombo-hemorrágicas consumptivas.² De fato, o espectro de manifestações clínicas dessas doenças é muito semelhante, sendo as anormalidades neurológicas comumente consideradas como características da PTT e a insuficiência renal aguda, da SHU. Pacientes com essas síndromes podem ter ambas ou nenhuma dessas anormalidades. Tem-se dado certa importância a tal distinção, devido à sugestão de que o tratamento com PE seria apropriado para a PTT, mas não para a SHU. Mesmo que ambas tenham uma grande relação clínica e histológica a maioria das investigações recentes tem mostrado que a PTT e a SHU têm evoluções independentes e não relacionadas. Atualmente, as investigações referentes à PTT têm sido focadas na regulação da proteína da coagulação sanguínea, o fator de von Willebrand (FvW) e, na SHU, no entendimento dos mecanismos da injúria do endotélio renal.

Vale salientar que não traduzimos *plasma exchange* (PE) para chamar a atenção que este tratamento é a combinação de plasmáfereze (a qual pode remover geralmente grandes multímeros do fator de von Willebrand e autoanticorpos contra ADAMTS13) e infusão de plasma fresco congelado ou criosobrenadante (contendo metaloprotease adicional).^{3,20}

Critérios diagnósticos para as MATs (PTT e SHU)

De acordo com estudos prévios,^{2,4,5} as MATs foram definidas como tendo todas das seguintes alterações: (1) anemia hemolítica microangiopática (hemoglobina ≤ 12 g/dL), teste de Coombs negativo, haptoglobina sérica indetectável (< 10 mg/dL), mais do que duas hemáceas fragmentadas (esquizócitos) em um campo microscópico com magnitude de 100 vezes (Figura 1), e aumento da desidrogenase láctica (DHL) acima do nível basal institucional; (2) trombocitopenia (contagem de plaquetas $\leq 100 \times 10^9/L$); e (3) severidade variável de disfunção orgânica (envolvimento renal e neurológico), sem sinais de CIVD.⁶

Figura 1. Esfregaço de lâmina de sangue periférico de um paciente com PTT.



O diagnóstico diferencial de SHU e PTT baseados em dados laboratoriais rotineiros é geralmente muito difícil.⁷

Aproximadamente 90% das crianças com SHU têm diarreia [SHU associada à diarreia, (SHU+D)] como pródromo, geralmente com sangue, causada pela Shigatoxina (Stx), tipicamente produzida pela *Escherichia coli* sorotipo O157:H7;⁸ sua mortalidade é de 3% com a terapia de suporte,⁹ portanto o tratamento com PE é raramente necessário. Como esse procedimento não é usado em crianças com SHU, o mesmo diagnóstico em adultos pode indicar que tal

tratamento seja desnecessário; por isso, alguns autores evitam usar o termo SHU para adultos, mesmo com insuficiência renal. Vale salientar que a insuficiência renal aguda manifesta-se em 55% a 70% dos casos;¹⁰⁻¹² entretanto, a função renal se recupera na maioria deles (mais de 70% em várias séries).¹²⁻¹⁵

A leucocitose pode ser extrema, apresentando-se como uma reação leucemoide, e é um preditor positivo de mortalidade aguda e nefropatia residual.¹⁶⁻¹⁹ Crianças com diarreia (SHU+D) têm contagem de leucócitos significativamente maior na apresentação do que crianças com SHU atípica (SHU-D); esse achado sugere que a doença intestinal é um fator importante implicado na geração da leucocitose.¹⁷ No surto de Osaka de 1996, a contagem de leucócitos e a determinação de proteína C reativa (PCR) mostraram-se mais elevadas no grupo de crianças com diarreia que desenvolveram SHU, quando comparadas a crianças infectadas que não apresentaram esta complicação.¹⁸

A SHU atípica (SHU-D) envolve um grupo heterogêneo (5% dos casos de SHU) de pacientes sem infecção pela bactéria produtora de Stx, e essa deveria ser excluída como causa da doença. Pode ser esporádica ou familiar (ou seja, mais de um membro da família afetado pela doença e a exposição a *E. coli* produtora de Stx excluída). As formas de SHU atípica (SHU-D) têm prognóstico ruim. Mais de 50% progridem para insuficiência renal crônica ou dano cerebral irreversível, e 25% evoluem para o óbito durante a fase aguda da doença.¹⁶ Recentemente, estudos genéticos têm documentado que a forma familiar está associada a anormalidades genéticas das proteínas reguladoras do complemento e existem evidências de que alterações genéticas similares podem predispor também a casos esporádicos de SHU atípica.²¹

Ao contrário da PTT, a SHU é raramente induzida por mutações genéticas de fatores reguladores do complemento (fatores B, H e I, e CD46), assim como por autoanticorpos contra o fator H.²¹

Na era que antecedeu o seu tratamento efetivo, a PTT foi definida pela “pêntade” de manifestações clínicas, principalmente: trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática, anormalidades neurológicas, insuficiência renal e febre abrupta.¹⁹ A viabilidade do tratamento efetivo com PE requer urgência para o diagnóstico e diminuiu o número de critérios clínicos necessários para definir a ocorrência da doença. Os critérios diagnósticos que vêm sendo usados mais recentemente são somente a trombocitopenia e a anemia hemolítica microangiopática, sem uma aparente etiologia alternativa.²⁰ A validade da utilização desses critérios mais restritos é sustentada pelo quadro

clínico de apresentação dos pacientes cujo diagnóstico de PTT foi confirmado pela presença de deficiência severa de ADAMTS13: anormalidades neurológicas e renais foram incomuns, febre mostrou-se rara, e nenhum paciente tinha a “pêntade” completa de manifestações clínicas.²² A viabilidade do tratamento efetivo e os critérios diagnósticos limitados têm resultado em um aumento de 8 a 10 vezes no número de pacientes tratados com PE em caso de PTT.^{23,24} Como o diagnóstico de PTT requer que se leve em consideração esse tratamento, e como quase todos os adultos que fogem aos critérios para diagnóstico de PTT podem beneficiar-se de PE, alguns autores usam o termo PTT para quase todos os adultos.

É bom lembrar que, embora algum grau de envolvimento renal com proteinúria e/ou hematúria sejam comuns, hipertensão arterial e insuficiência renal aguda que requeira diálise são raras na PTT.²⁵

O aspecto mais relevante para a distinção entre PTT e SHU²⁶ são os casos de SHU atípica, porque a SHU+D é predominantemente uma doença de criança, e os pacientes tipicamente exibem diarreia antes do episódio de insuficiência renal.^{8,27} Vale salientar que existem evidências recentes de que nem a deficiência de ADAMTS13, nem a deficiência de reguladores de complemento são suficientes para o desenvolvimento de PTT ou SHU atípica, respectivamente.^{25,27}

Inflamação aguda na patogênese das SHU

Inicialmente descrita em 1925 como uma síndrome que compreendia insuficiência renal, anemia hemolítica e trombocitopenia, a SHU é geralmente vista como uma doença renal com complicações sistêmicas.¹ Enquanto na PTT, o foco é no FvW e ADAMTS13, na SHU é no mecanismo de dano ao endotélio renal mediado pela Shigatoxina (pelo menos em grande parte), uma família de toxinas elaboradas por certas cepas da *Escherichia coli* e *Shigella dysenteriae*.^{29,28}

Diferente da PTT, pacientes com SHU+D apresentam evidências abundantes de uma resposta inflamatória aguda, a magnitude da qual prediz a evolução clínica. Existem indícios de que as células inflamatórias e seus subprodutos têm um papel relevante na (1) perda da função de barreira, promovendo o movimento de endotoxina e Stx para dentro da circulação; (2) ofertando a Stx aos órgãos-alvos; (3) sensibilizando os órgãos-alvos para a expressão do receptor glicolípido intracelular para a Stx; e (4) aumentando a injúria direta ao endotélio dos órgãos-alvo.²⁹

A doença gastrointestinal em pacientes com *E. coli* produtora de Stx varia de uma diarreia aquosa a uma

forma severa de colite hemorrágica. A inflamação colônica teria um papel na microangiopatia intestinal local, no transporte da Stx da luz intestinal através da lâmina própria para dentro da circulação, e na geração de resposta inflamatória sistêmica acentuada.^{29,30} Existem evidências recentes de que a Stx induz resposta acentuada quimiotática das células epiteliais intestinais humanas.³¹ Usando linhagem de células epiteliais colônicas, a Stx leva a superindução de interleucina-8 (IL-8) com aumento tanto da proteína como do RNAm da IL-8 apesar dos efeitos inibitórios conhecidos da Stx no alongamento da proteína. Secreção de IL-8 dentro da lâmina própria criaria um gradiente quimiotático suficiente para recrutar polimorfonucleares (PMNs). Ambas a IL-8 e o fator de necrose tumoral α (FNT- α) estão muito elevados nas fezes de pacientes infectados com *S. flexneri* produtora de Stx.³² Existem várias consequências potenciais da resposta inflamatória na lâmina própria. Migração transepitelial de PMNs que pode levar à perda transitória da função de barreira colônica e causar a passagem de conteúdos luminiais para dentro da circulação.³²⁻³⁴ Um estudo recente mostrou a movimentação dos PMNs da membrana basolateral para o sítio apical das células epiteliais intestinais e o aumento da translocação de ambas Stx1 e Stx2 na direção oposta.³⁴ A perda da função de barreira contribuiria para direcionar a entrada da Stx para dentro da circulação, tão bem quanto a endotoxemia promoveria a resposta de citocinas sistêmicas. *In vitro* e *in vivo*, há indícios de que a Stx se liga ao PMN, que é o gatilho para a sua ativação, e promove a sua aderência ao endotélio-alvo. Recentemente, Te Loo *et al.*³⁵ mostraram que a Stx se liga aos PMNs (não via Gb3) e possibilita que essas células sejam carregadoras diretas da toxina do intestino para os órgãos-alvo.³⁶ A Stx circula no corpo, mas pode preferencialmente localizar-se no rim, como resultado da alta concentração de seu receptor, a globotriaosilceramida (Gb3), no endotélio.

A SHU+D (Tabela 1) é causada pela Stx 1 e 2, um componente de uma subunidade A de 33 kDa e cinco subunidades B de 7 kDa cada, produzida pela *Escherichia coli* sorotipo O157: H7.³⁷ Na circulação, liga-se ao receptor Gb3, o qual se expressa amplamente nas células endoteliais glomerulares. Após endocitose mediada por receptor, a subunidade A da Stx é internalizada e ativada, levando à depuração de adenosinas específicas no RNA ribossomal 28S, que resulta na inibição irreversível do alongamento da proteína³⁸ e apoptose das células endoteliais; isso libera níveis significativos de multímeros do fator de von Willebrand (UL-VWFMS) para dentro da circulação,

Tabela 1 Classificação e tratamento das diferentes formas da SHU

Doença	Causas	Tratamento
SHU+D	<i>Escherichia coli</i> produtora de Stx <i>Shigella dysenteriae</i> tipo 1	Suporte Suporte e antibióticos
SHU não Stx (esporádica)	Bactéria (<i>Streptococcus pneumoniae</i>) Vírus (HIV) Drogas (antineoplásicas, antiplaquetárias, imunossupressoras) Gravidez Pós-parto Doenças sistêmicas Lúpus Esclerodermia Síndrome antifosfolípide Idiopática Genética (FHC, PCM, FIC)	Antibióticos e plasma Plasma Suspender drogas e plasma Parto, plasma Plasma Esteroides e plasma Controle da pressão arterial Anticoagulantes orais Plasma Plasma
Familiar	Genética (FHC, PCM, FIC), plasma	Plasma

resultando em trombos de plaquetas dentro da microcirculação. As células endoteliais glomerulares e, em maior extensão, as células epiteliais tubulares renais, expressam o receptor Gb3, contribuindo para que os pacientes infectados desenvolvam insuficiência renal. Logo, a *E. coli* O157: H7 associada às MATs parece ser induzida independente dos níveis plasmáticos da ADAMTS13: AC⁷ (atividade normal da protease clivadora do FvW) e a eficácia do tratamento com PE é bem menos evidente neste caso.

Por definição, o rim é o órgão-alvo primário na SHU causada pela *E. coli* produtora de Stx. Essa vulnerabilidade é, em grande parte, devida à alta densidade de receptores Gb3 nas células epiteliais tubulares renais e endoteliais microvasculares.³⁹ De fato, as células epiteliais tubulares renais são talvez a maior fonte de Gb3 já identificada, em quantidade igual ou possivelmente superior àquelas células Vero. A questão que fica em aberto é quanto essa vulnerabilidade é devida ao ambiente citotóxico. Os laboratórios de Hughes *et al.*⁴⁰ e de King *et al.*⁴³ mostraram que essas células são extremamente sensíveis aos efeitos ribotóxicos da Stx; esse estudo aumentou a possibilidade de que a necrose tubular aguda tenha um papel na insuficiência renal. As células endoteliais microvasculares glomerulares humanas expressam menos quantidade de Gb3, e são menos sensíveis aos efeitos ribotóxicos da Stx. Mesmo que os eventos subsequentes sejam bem menos conhecidos, está claro que o estado trombótico induzido pela Stx na SHU envolve mais que efeito tóxico direto. O pré-tratamento das células endoteliais microvasculares glomerulares com FNT-a aumentou substancialmente

a densidade e a sensibilidade dos receptores a Stx.⁴¹ Esses dados sugerem que citocinas inflamatórias contribuem para a injúria glomerular, por aumento da expressão do Gb3 nas células endoteliais microvasculares glomerulares, aumentando, conseqüentemente, a sensibilidade dessas células aos efeitos ribotóxicos da Stx e sua vulnerabilidade a sofrer apoptose. Se o achado de que a Stx aumenta a expressão de moléculas de adesão for verdadeiro para as células endoteliais microvasculares glomerulares, esse mecanismo poderia servir como um acelerador da injúria glomerular por aumento da oferta de Stx.

Aproximadamente 50% dos pacientes com SHU atípica (Tabela 2) carregam uma mutação heterogênea em um dos quatro genes que codificam o fator H do complemento (FHC), o fator I do complemento (FIC), o fator B do complemento (FBC), a proteína cofator de membrana ou CD46.⁴⁵⁻⁴³ Essas proteínas funcionam no controle da ativação do complemento na superfície celular e limitam o dano celular mediado pelo complemento no tecido hospedeiro. Entretanto, por razões que são somente parcialmente conhecidas, o endotélio glomerular é especialmente sensível à perda da regulação pelo complemento, e o dano microvascular na SHU atípica restringe-se principalmente à circulação renal.

Desde 1974, foram demonstrados níveis séricos reduzidos da fração C3 do complemento com níveis normais de C4, em pacientes com SHU atípica (SHU-D) (Tabela 2).⁴⁴⁻⁴⁷ Pacientes com SHU que têm baixos níveis de C3 têm altos níveis de componentes do complemento (C) ativados, incluindo C3b, C3c e

Tabela 2 Anormalidades genéticas e evolução clínica de pacientes com SHU atípica (SHU-D)

Gene	Proteína afetada	Principal efeito	Frequência (%)	Resposta no curto prazo com terapia com plasma	Evolução no longo prazo	Evolução do transplante renal
FHC	Fator H	Não se liga ao endotélio	20-30	Taxa remissão: 60% (dose e tempo dependente)	Taxa de morte ou IRC: 70%-80%	Taxa de recorrência: 80%-90%
FHCR1/3	Fator HR1, R3	Anticorpo anti-FHC	6	Taxa de remissão: 70%-80% (PE e imunossupressores)	Taxa de IRC: 30%-40%	Taxa de recorrência: 20%
PCM	PCM	Ausência de expressão na superfície	10-15	Indicação não definitiva para terapia	Taxa de morte ou IRC: <20%	Taxa de recorrência: 15%-20%
FIC	Fator I	Baixo nível ou da atividade do cofator	4-10	Taxa remissão: 30%-40%	Taxa de morte ou IRC: 60%-70%	Taxa de recorrência: 70%-90%
FBC	Fator B	Estabilização do C3b convertase	1-2	Taxa remissão: 30%	Taxa de morte e IRC: 79%	Remissão em um caso
C3	C3	Resistência a inativação C3b	5-10	Taxa remissão: 40%-50%	Taxa de morte e IRC: 60%	Taxa de recorrência: 40%-50%
TM	TM	Redução da inativação do C3b	5	Taxa remissão: 60%	Taxa de morte e IRC: 60%	Remissão em um caso

C3d. Depósitos granulares de C3 nos glomérulos e arteríolas durante a doença aguda são consistentes com a ativação do C e consumo de C3 local.⁴⁸ A coloração positiva para C9 nos glomérulos e pequenas artérias com proliferação intimal e trombose documenta ativação pela via lítica final (complexo de ataque à membrana, C5b-9).

Sempre é bom recordar que o sistema do complemento consiste de várias proteínas plasmáticas e ligadas à membrana que protegem contra a invasão de microrganismos.⁴⁷ São três vias de ativação (clássica, da lectina e alternativa), que produzem proteases, denominadas C3 e C5 convertases, que clivam o C3 e o C5, respectivamente, eventualmente ligando-se ao complexo de ataque à membrana. A hidrólise do C3 no plasma inicia a via alternativa, levando à deposição de C3b praticamente em todas as superfícies expostas ao plasma.⁴⁷ Nas células hospedeiras, a ativação do C é controlada por ambos os receptores, da fase fluida e ancorados à membrana, favorecendo a clivagem do C3b para C3b inativo (iC3d) pelo Fator I do complemento (FCI) (atividade de cofator) e dissociando os multicomponentes das C3 e C5-convertases (atividade de aceleração de decaimento). Sem regulação normal, depósitos de C3b aumentam mais de 20

vezes⁴⁷ através da alça de amplificação e causa ativação da cascata do C, a qual permanece assim até os componentes do C serem consumidos. Células injuriadas que não têm reguladores ligados à membrana ou não podem ligar-se a reguladores solúveis são atacadas pelo C. Na superfície da bactéria, o C3b liga-se a receptores específicos nos neutrófilos e macrófagos, resultando em fagocitose da bactéria rotulada pelo complemento. O C3b também participa da formação da C5-convertase e inicia a reunião do complexo de ataque que causa lise celular. Essa regulação fina é baseada em certo número de reguladores de membrana (CR1, DAF, MCP e Cd59) e da fase fluida (Fator H) que protegem as células hospedeiras.

Isso resulta na formação do complexo de ataque à membrana e recrutamento de células inflamatórias, eventos esses que causam dano e retração das células endoteliais, adesão e agregação das plaquetas, aumento do fator tecidual com ligação e ativação do Fator VII, e formação de trombina e polímeros de fibrina. Esse cenário se aplica particularmente ao leito capilar glomerular, o qual é um endotélio fenestrado, e a superfície da sua membrana basal é rica em poliânions propícios à ligação do Fator H1, o que poderia explicar a localização da injúria vascular da SHU.^{49,50}

A PCM também se expressa amplamente nos rins e poderia ser encontrada nas células endoteliais glomerulares por análise de imunohistoquímica.⁴⁸⁻⁵¹ Ela exerce um papel importante na proteção das células endoteliais glomerulares contra a ativação do C3, como indicado pela constatação de que a atividade cofator no extrato dessas células foi completamente bloqueada por anticorpos anti-PCM.⁵¹ O FHC e a PCM atuam de forma integrada no controle da ativação do C nas células hospedeiras. A mutação no FHC e na PCM resulta em ativação do C e SHU, indicando que esses reguladores do C não apresentam superposição no que se refere à sua função e ambos são necessários para controlar a ativação do C.

A lesão da SHU+D é indistinguível daquela da sua forma atípica (SHU-D) com base na análise histológica. Caracteriza-se por espessamento dos capilares e arteríolas, edema e destacamento endotelial, e acúmulo de proteínas e restos celulares no espaço subendotelial. Trombos de plaquetas obstruem a luz do capilar. Hemólise ocorre, e eritrócitos distorcidos e fragmentados são evidentes em lâminas de sangue periférico. As lesões tipicamente afetam o rim (principalmente glomérulos e arteríolas), porém outros órgãos podem ser envolvidos como o cérebro, o coração, os pulmões, o trato gastrointestinal e o pâncreas.

Púrpura trombocitopênica trombótica (PTT)

O pronto reconhecimento da PTT é importante, uma vez que a doença responde bem ao tratamento com PE,²⁰ mas está associada a uma alta taxa de mortalidade quando não tratada. Na era que antecede o tratamento efetivo com PE, 90% dos pacientes com PTT morriam de trombose microvascular sistêmica que causava infarto do miocárdio e cerebral e insuficiência renal.¹⁹ Entretanto, o reconhecimento da PTT pode ser difícil devido a variedade de apresentações e falta dos critérios específicos. As únicas anormalidades consistentes são a anemia hemolítica microangiopática, caracterizada pela fragmentação das hemáceas e trombocitopenia,⁷ manifestações que podem também ocorrer em outras condições.

Antes da viabilidade da terapêutica efetiva, o diagnóstico da PTT era baseado no progressivo aparecimento da “pêntade” de manifestações clínicas: anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, anormalidades renais e neurológicas, e febre. Entretanto, o reconhecimento da eficácia da terapia com PE implicou na adoção de critérios diagnósticos menos restritos para o início mais rápido do tratamento. Um estudo randomizado demonstrou

a eficácia da terapia com PE, somente com anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia, sem uma causa alternativa aparente; a frequência de anormalidades neurológicas e renais, assim como de febre foi menor que em estudos prévios.²⁰ A PTT ocorre primariamente em adultos. Considera-se que crianças com anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiência renal aguda são portadoras de SHU.^{52,53} Essa tipicamente é precedida por dor abdominal e diarreia, sendo reconhecida desde 1983 como uma complicação de infecção causada pela bactéria que produz Stx, a *E. coli* O157:H7. Atualmente, 91% das crianças com SHU típica sobrevivem com cuidados de suporte, sem tratamento com PE.

Essas observações sugerem que a PTT e a SHU são duas síndromes distintas,¹ uma interpretação sustentada por estudos que encontraram deficiência severa (< 5% de atividade) da protease que cliva o FvW, a ADAMTS13 (desintegrina e metaloproteinase com domínio trombospondina-1-símile), em pacientes com diagnóstico de PTT, mas não em pacientes com SHU. A ADAMTS13 cliva os multímeros grandes do FvW que são sintetizados e secretados pelas células endoteliais. Quando a ADAMTS13 não está presente, o resultado é uma formação anormal de multímeros grandes do FvW no plasma e uma grande habilidade de reagir com plaquetas e causar trombos de plaquetas disseminados, característicos da PTT.¹

Entretanto, a PTT e a SHU não são de fato síndromes distintas, já que seus critérios diagnósticos essenciais – anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia – são os mesmos. As anormalidades neurológicas são comumente consideradas como características da PTT e a insuficiência renal como característica da SHU. Pacientes com essas síndromes podem não ter qualquer dessas anormalidades ou apresentar ambas.⁵⁹ Também o nome da síndrome – PTT ou SHU – tem assumido importância clínica, devido à sugestão de que o tratamento com PE pode ser apropriado para a PTT, mas não para a SHU.⁵³ Assim, o termo “PTT” é usado para descrever anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia ocorrendo em adultos, sem uma aparente causa alternativa, com ou sem anormalidades, condições ou causas associadas.

A PTT é rara em crianças; entre adultos, ocorre predominantemente em mulheres, na raça negra e em obesos.³¹

O valor da medida da atividade da ADAMTS13 e de inibidores permanece incerto.³¹

Os multímeros do FvW são produzidos dentro dos megacariócitos e das células endoteliais e estocados dentro das plaquetas em grânulos e nos corpúsculos de Weibel-Palade das células endoteliais. Esses multímeros grandes ligam-se mais eficientemente do que os plasmáticos ao componente glicoproteico Iba do receptor glicoproteico Ib/IX/V da plaqueta para o FvW. Isso se deve provavelmente ao sítio de ligação para a glicoproteína Iba na subunidade monomérica do FvW ser mais exposto nos multímeros grandes do que nos de forma pequena, que estão normalmente na circulação. O ataque inicial de pequena quantidade apenas de multímeros grandes do FvW à glicoproteína Iba, e subsequente para a formação do complexo glicoproteico IIb/IIIa da plaqueta ativada por ADP, induz a agregação plaquetária *in vitro* na presença de estresse de cisalhamento aumentado do fluxo.^{22,54}

A metaloproteinase do FvW no plasma normalmente previne a entrada na circulação (ou persistência) dos multímeros grandes do FvW. Essa enzima degrada os multímeros por clivagem de ligações peptídicas na subunidade monomérica do FvW na posição 842–843 (entre a tirosina e a metionina). A metaloproteinase é referida como ADAMTS13 (desintegrina e metaloproteinase com domínio trombospondina 1-símile), um membro da família das proteases cálcio e zinco-dependentes. A ADAMTS13 tem uma sequência arginina-glicina-aspartato, seu gene está no cromossomo 9q34, e é produzida predominantemente nos hepatócitos.⁵⁵

Os multímeros grandes do FvW são provavelmente clivados pela ADAMTS13 diretamente na superfície das células endoteliais. O domínio trombospondina 1-símile na ADAMTS13 pode ligar-se à enzima no receptor trombospondina na superfície das células endoteliais.⁵⁶

Deficiência severa da ADAMTS13 pode ser causada por mutações genéticas (ADAMTS13: AC) ou por autoanticorpos (ADAMTS13: INH) adquiridos para essa enzima. Tandon *et al*, em 1994,⁵⁷ mostraram que aproximadamente 80% dos pacientes com PTT adquirida tinham autoanticorpos contra CD36. Recentemente, Davis *et al*, em 2009,⁵⁸ mostraram que a ADAMTS13 liga-se especialmente ao CD36 *in vitro*. CD36 expressa-se nas células endoteliais, plaquetas e monócitos e liga-se a trombospondina 1. Não está suficientemente claro se os autoanticorpos bloqueiam a ligação da ADAMTS13 com as células endoteliais, mas só isso poderia interferir com a clivagem eficiente do FvW pela ADAMTS13 e resultar na PTT.

Doenças que podem mimetizar a apresentação clínica da PTT

Como os critérios diagnósticos da PTT não são específicos, doenças sistêmicas múltiplas podem mimetizar a PTT, resultando em erro no diagnóstico. Essas incluem neoplasias malignas disseminadas,^{59,60} infecções sistêmicas,⁶¹⁻⁶³ hipertensão maligna,^{64,69} lúpus eritematoso sistêmico e outras doenças renais.⁶⁹ Além do mais, os médicos deveriam manter vigilância contínua com relação à existência de possíveis doenças alternativas, mesmo após o diagnóstico de PTT ser aparentemente estabelecido, e o tratamento com PE ter começado.

Tratamento da SHU+D

Correção com salina isotônica ou ringer lactato para prevenir oligúria nos primeiros 4 dias, assim como a correção das anormalidades eletrolíticas pela diálise parecem ter um papel relevante na sobrevivência em caso de SHU+D no curto prazo.⁶⁵ O uso de analgésicos, anti-inflamatórios e agentes antimotilidade deveriam ser evitados; morfina e acetoaminofem têm bons efeitos. Cerca de 80% dos pacientes necessitam de transfusão de sangue devido a anemia sintomática. A transfusão de plaquetas é indicada para hemorragias importantes ou procedimentos.

O uso de antibióticos que interagem com o DNA bacteriano, como os inibidores da Girase (fluoroquinolonas), agentes alquilantes (mitomicina C, TMP/SMX) e β -lactâmicos induzem a lisogênese do bacteriófago, com aumento da expressão da Stx. Por sua vez, Ikeda *et al*.⁶⁶ mostraram que a fosfomicina dada no segundo dia de diarreia protege contra o desenvolvimento da SHU pela *E. coli* O157:H7.

A administração oral da primeira geração do análogo Gb3-Synsorb-Pk⁶⁷ - quando iniciado após o diagnóstico de SHU falhou na tentativa de melhorar o curso da doença em um estudo randomizado.

Tratamento para a SHU atípica (SHU-D)

Apesar de a SHU atípica ter um prognóstico ruim, após a introdução de terapia com plasma, a taxa de mortalidade caiu de 50% para 25%.^{13,68-70} Entretanto, ainda se debate se o plasma é ou não efetivo no tratamento dos episódios agudos.⁷¹ Algumas publicações indicam que uma porcentagem consistente de pacientes com SHU atípica respondem ao tratamento com plasma. Tem sido proposto que a PE seria relativamente mais efetiva do que a infusão de plasma, porque ela deveria remover substâncias potencialmente tóxicas da circulação dos pacientes.

O tratamento com plasma deveria ser iniciado dentro de 24 horas da apresentação, já que a demora no seu início pode aumentar a frequência com que ocorre falha terapêutica.⁷³

Outros tratamentos, incluindo agentes antiplaquetários, prostaciclina, heparina ou agentes fibrinolíticos, esteroides e imunoglobulinas, têm sido experimentados, com resultados inconsistentes.¹³

Valor diagnóstico e prognóstico da medida da ADAMTS13

A medida da ADAMTS13 pode não assegurar o diagnóstico inicial e a decisão terapêutica, mas é importante para o prognóstico. Mesmo que a maioria dos pacientes com deficiência severa da ADAMTS13 não tenha insuficiência renal, a medida da sua atividade pode distinguir PTT de SHU.⁷⁴ Alguns pacientes com deficiência severa de ADAMTS13 podem ter insuficiência renal aguda. A atividade da ADAMTS13 < 5% parece ser específica para PTT, mas não identifica todos os pacientes que podem recidivar; atividade da ADAMTS13 < 10% essencialmente identifica todos os pacientes que são de risco para recidivar, porém não tem especificidade para esse fim; pacientes com sepses^{75,76} e cirrose hepática⁷⁷ também podem ter atividade da ADAMTS13 < 10%.

Tratamento com "plasma exchange"

O tratamento com PE é essencial para todos os pacientes que são diagnosticados como portadores de PTT, com ou sem insuficiência renal,^{20,78} mas o número de sessões de PE para a remissão é extremamente variável. Antes do tratamento efetivo, a maioria dos sobreviventes eram crianças,¹⁹ o que pode refletir sua resistência inerente à trombose, como sugerido por observações de que trombose venosa e arterial são raras em crianças.⁷⁹

A hipótese que procura explicar a eficácia do tratamento com PE considera que a deficiência da ADAMTS13 é corrigida pela infusão de plasma e inibidor; autoanticorpos são removidos pela aférese, o que leva à retomada da atividade da ADAMTS13.¹ Entretanto, a maioria dos pacientes adultos diagnosticados com PTT não tem deficiência severa de ADAMTS13, e muitos parecem responder também a PE, como aqueles que se apresentam com diarreia sanguinolenta ou que têm PTT induzida por quini- no.⁸⁰⁻⁸¹ O mecanismo da possível eficiência do tratamento com PE nesses pacientes é desconhecido.

Mesmo que uma série de casos tenha sugerido que o criosobrenadante do plasma, que é deficiente

em FvW, possa ser superior ao plasma fresco, como produto de reposição na PE, um pequeno estudo clínico randomizado falhou na tentativa de confirmar esse achado.⁸¹

Com base nessas observações, PE deveria ser realizada diariamente e ser mantida até a contagem de plaquetas voltar ao normal.^{31,82} Níveis de DHL, a qual reflete isquemia tecidual tanto quanto hemólise,⁸³ são também marcadores de resposta ao tratamento.²⁹

Complicações do tratamento com "plasma exchange"

Na decisão de iniciar o tratamento com PE, deveriam ser levadas em consideração as complicações potenciais e a confiança no diagnóstico da PTT. Entre 206 pacientes consecutivos, avaliados ao longo de 9 anos, no registro de Oklahoma, 57 (28%) tiveram complicações e em 5 (2,4%) a morte foi atribuída a essa abordagem terapêutica.⁸⁴⁻⁸⁶ As mortes foram causadas por hemorragias ou pneumotórax, complicando a inserção de cateter venoso central (dois pacientes) ou sepses atribuída ao cateter venoso central (três pacientes). Dois pacientes adicionais tiveram parada cardíaca com atividade elétrica de pulso: uma causada pela reação anafilática ao plasma e a outra causada por tamponamento cardíaco relacionado à inserção de cateter.

Tratamento coadjuvante

Há indícios de que o tratamento com PE teria apenas um efeito temporário sobre a base presumivelmente autoimune da doença, e o tratamento imunossupressor adicional poderia levar a uma resposta mais duradoura.³¹

O tratamento com agentes imunossupressores é reservado para pacientes com suspeita de deficiência autoimune de ADAMTS13. Os corticoides são os agentes imunossupressores inicialmente administrados; outros agentes, como o rituximab⁸⁷ e a ciclosporina,⁸⁸ são usados para pacientes com curso mais grave. Aspirina não é utilizada como tratamento coadjuvante, mas é apropriada para pacientes que têm indicação cardiológica ou neurológica padrão e que não tenham trombocitopenia severa.

Mortalidade

Apesar da instituição de tratamento considerado como ótimo, a mortalidade entre os pacientes com PTT permanece em aproximadamente 15%. Entretanto, 50% dessas mortes podem ser atribuídas a complicações do tratamento com PE ou da hospitalização, como sepses, hemorragia e trombose.⁸⁹

Tratamentodospacientesquealcançaramaremissão
Entre os pacientes com deficiência severa de ADAMTS13, o risco de recidiva é de aproximadamente 40%, mas é rara em pacientes com deficiência menos grave; 50% desses pacientes podem ter recidiva, a maioria dentro de um ano.⁸⁹ O valor do tratamento imunossupressor de manutenção ou da medida da atividade da ADAMTS13 durante a remissão é desconhecido. Pacientes podem ter deficiência severa da ADAMTS13 por muitos anos sem evidência clínica de PTT. O elemento crítico para continuar os cuidados é insistir para que o paciente faça uma contagem de plaquetas imediatamente, quando qualquer sintoma agudo ocorrer.

Como muitas mulheres jovens desenvolvem PTT associada à gravidez,^{90,91} o risco de recidiva com uma futura gravidez torna-se uma preocupação. Estudo de acompanhamento de 30 gestações, em 19 mulheres que tiveram PTT, revelou que a maioria das gestações subsequentes não foram afetadas.⁹¹

Evolução no longo prazo

Mesmo que a recidiva seja um grande problema, não é o único. Após o reconhecimento da doença, os pacientes têm uma qualidade de vida significativamente alterada, apresentando perda da memória progressiva e fadiga.⁹²

AGRADECIMENTOS

As autoras receberam apoio financeiro do CNPq.

REFERÊNCIAS

- Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med* 2002; 347:589-600.
- George JN. Clinical practice. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 2006; 354:1927-35.
- Moake JL. Haemolytic-uraemic syndrome: basic science. *The Lancet* 1994; 343:393-7.
- Ho VT, Cutler C, Carter S *et al.* Blood and marrow transplant clinical trials network toxicity committee consensus summary: thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11:571-5.
- Ruutu T, Barosi G, Benjamin RJ *et al.* Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica* 2007; 92:95-100.
- Wada H, Wakita Y, Nakase T *et al.* Increased plasmasoluble fibrin monomer levels in patients with disseminated intravascular coagulation. *Am J Hematol* 1996; 51:255-60.
- Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan: database of Nara Medical University during 1998-2008. *Inter Med* 2010; 49:7-15.
- Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *The Lancet* 2005; 365:1073-86.
- Karpac CA, Li X, Terrell DR *et al.* Sporadic bloody diarrhoea-associated thrombotic thrombocytopenic purpura-haemolytic uraemic syndrome: an adult and paediatric comparison. *Br J Haematol* 2008; 141:696-707.
- Tonshoff B, Sammet A, Sanden I *et al.* Outcome and prognostic determinants in the hemolytic uraemic syndrome of children. *Nephron* 1994; 68:63-70.
- Banatvala N, Griffin PM, Greene KD *et al.* The United States National Prospective Hemolytic Uremic Syndrome Study: microbiologic, serologic, clinical, and epidemiologic finding. *J Infect Dis* 2001; 183:1063-70.
- Milford D. The hemolytic uraemic syndromes in the United Kingdom. In: *Hemolytic Uremic and Thrombotic Thrombocytopenic Purpura*, edited by Kaplan BS, Trompeter RS, Moake JL, New York, Marcel Dekker, 1992, pp 39-59.
- Ruggenti P, Noris M, Remuzzi. Thrombotic microangiopathy, hemolytic uraemic syndrome, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Kidney Int* 2001; 60:831-6.
- Kaplan BS, Meyers KE, Schulman SL. The pathogenesis and treatment of hemolytic uraemic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:1126-33.
- van Dyck M, Proesmans W, Depraetere M. Hemolytic uraemic syndrome in childhood: renal function ten years later. *Clin Nephrol* 1988; 29:109-12.
- Shieppati A, Ruggenti P, Cornejo RP *et al.* Renal function at hospital admission as a prognostic factor in adult hemolytic uraemic syndrome. The Italian Registry of Haemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2:1640-4.
- Walters MD, Matthel U, Jay R *et al.* The polymorphonuclear count in childhood hemolytic uraemic syndrome. *Pediatr nephrol* 1989; 3:130-4.
- Ikeda K, Ida O, Kimoto K *et al.* Predictors for the development of haemolytic uraemic syndrome with *Escherichia coli* O157:H7 infections: With focus on the day of illness. *Epidemiol Infect* 2000; 124:343-9.
- Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. *Medicine* 1966; 45:139-59.
- Rock GA, Shumak KH, Buskard NA *et al.* Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1991; 325:393-7.
- Coppo P, Veyradier A. Thrombotic microangiopathies: towards a pathophysiology-based classification. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2009; 9:36-50.
- Vesely SK, George JN, Lämmle B *et al.* ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uraemic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients. *Blood* 2003; 101:60-8.
- Clark WF, Garg AX, Blake PG *et al.* Effect of awareness of a randomized controlled trial on use of experimental therapy. *JAMA* 2003; 290:1351-5.
- George JN, Kremer Hovinga JA, Terrell DR *et al.* The Oklahoma thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uraemic syndrome Registry: the Swiss connection. *Eur J Haematol* 2008; 80:277-86.

25. Tsai HM. The molecular biology of thrombotic microangiopathy. *Kidney Int* 2006; 70:16-23.
26. Ray PE, Liu XH. Pathogenesis of Shiga toxin-induced hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001;16:823-39.
27. Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical haemolytic uraemic syndrome. *Br Med Bull* 2006; 77-78:5-22.
28. Noris M, Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:1035-50.
29. King AJ. Acute inflammation in the pathogenesis of hemolytic-uremic syndrome. *Kidney Int* 2002; 61:1553-64.
30. Allford SL, Hunt BJ, Rose P *et al.* Guidelines on the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias. *Br J Haematol* 2003; 120:556-73.
31. Thorpe CM, Hurley BP, Lincicome LL *et al.* Shiga toxins stimulate secretion of interleukin-8 from intestinal epithelial cells. *Infect Immun* 1999; 67:5985-93.
32. Raqib R, Wretling B, Anderson J *et al.* Cytokine secretion in acute shigellosis is correlated to disease activity and directed more to stool than to plasma. *J Infect Dis* 1995; 171:376-84.
33. Nash S, Stafford J, Madara JL. Effects of polymorphonuclear leukocyte transmigration on the barrier function of the cultured intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest* 1987; 80:1104-13.
34. Hurley BP, Thorpe C, Acheson DWK. Neutrophil translocation across intestinal epithelial cells is enhanced by neutrophil transmigration. *Infect Immun* 2001; 69:6148-55.
35. Te Loo DM, Monnens LA, van Der Velden TJ *et al.* Binding and transfer of verocytotoxin by polymorphonuclear leukocytes in hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2000; 95:3396-402.
36. Newburg DS, Chaturvedi P, Lopez EL *et al.* Susceptibility of hemolytic-uremic syndrome relates to erythrocyte glycosphingo lipid patterns. *J Infect Dis* 1993; 168:476-9.
37. Siegler RL, Pavia AT, Christofferson RD *et al.* A 20-year population-based study of postdiarrheal hemolytic uremic syndrome in Utah. *Pediatrics* 1994; 94:35-40.
38. Endo Y, Tsurugi K, Yutsudo T. Site of action of a Verotoxin (VT2) from *Escherichia coli* O157:H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes. *Eur J Biochem* 1988; 171:45-50.
39. Obrig TG, Louise CB, Lingwood CA *et al.* Endothelial heterogeneity in Shiga toxin receptors and responses. *J Biol Chem* 1993; 268:15484-8.
40. Hughes AK, Stricklett PK, Kohan DE. Shiga toxin-1 regulation of cytokine production by human proximal tubule cells. *Kidney Int* 1998; 54:1093-106.
41. Van Setten PA, van Hinsbergh VWM, van der Velden TJAN *et al.* Effects of TNF α on verocytotoxin in purified human glomerular microvascular endothelial cells. *Kidney Int* 1997; 51:1245-56.
42. Goicoechea de Jorge E, Harris CL, Esparza-Gordillo J *et al.* Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104:240-5.
43. Noris M, Ruggenenti P, Perna A *et al.* Hypocomplementemia discloses genetic predisposition to hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: Role of factor H abnormalities. Italian Registry of Familial and Recurrent Hemolytic Uremic Syndrome/Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:281-93.
44. Stuhlinger W, Kourilsky O, Kanfer A *et al.* Haemolytic-uraemic syndrome: Evidence for intravascular C3 activation [Letter]. *The Lancet* 1974; 2:788-9.
45. Carreras L, Romero R, Requesens C *et al.* Familial hypocomplementemic hemolytic uremic syndrome with HLA-A3,B7 haplotype. *JAMA* 1981; 245:602-4.
46. Hammar SP, Bloomer HA, McCloskey D. Adult hemolytic uremic syndrome with renal arteriolar deposition of IgM and C3. *Am J Clin Pathol* 1978; 70:434-9.
47. Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med* 2001; 344:1140-4.
48. Devaux P, Christiansen D, Fontaine M *et al.* Control of C3b and C5b deposition by CD46 (membrane cofactor protein) after alternative but not classical complement activation. *Eur J Immunol* 1999; 29:815-22.
49. Endoh M, Yamashina M, Ohi H *et al.* Immunohistochemical demonstration of membrane cofactor protein (MCP) of complement in normal and diseased kidney tissues. *Clin Exp Immunol* 1993; 94:182-8.
50. Ichida S, Yuzawa Y, Okada H *et al.* Localization of the complement regulatory proteins in the normal human kidney. *Kidney Int* 1994; 46:89-96.
51. Nakanishi I, Moutabarrik A, Hara T *et al.* Identification and characterization of membrane cofactor protein (CD46) in the human kidneys. *Eur J Immunol* 1994; 24:1529-35.
52. Brain MC, Dacie JV, Hourihane DO. Microangiopathic haemolytic anaemia: the possible role of vascular lesions in pathogenesis. *Br J Haematol* 1962; 8:358-74.
53. Gasser C, Gautier E, Steck A *et al.* Hämolytisch-urämische Syndrome: Bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien. *Schweiz Med Wochenschr* 1955; 85:905-9.
54. Moake JL, Rudy CK, Troll JH *et al.* Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1982; 307:1432-5.
55. Levy GG, Nichols WC, Lian EC *et al.* Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; 413:488-94.
56. Dong J, Nolasco LH, Arceneaux W *et al.* Endothelial von Willebrand factor multimers form extremely long strings that are efficiently cleaved by constituents of normal plasma but not of plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2001; 98:752a-752a.
57. Tandon NN, Rock G, Jamieson GA. Anti-CD36 antibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1994; 88:816-25.
58. Davis AK, Makar RS, Stowell CP *et al.* ADAMTS 13 binds to CD36: a potential mechanism for platelet and endothelial localization of ADAMTS13. *Transfusion* 2009; 49:206-13.
59. Francis KK, Kojouri K, George JN. Occult systemic carcinoma masquerading as thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Community Oncol* 2005; 2:339-43.

60. Francis KK, Kalyanam N, Terrell DR *et al.* Disseminated malignancy misdiagnosed as thrombotic thrombocytopenic purpura: a report of 10 cases and a systematic review of the literature. *Oncologist* 2007; 12:11-9.
61. Robboy SJ, Salisbury K, Ragsdale B *et al.* Mechanism of Aspergillus-induced microangiopathic hemolytic anemia. *Arch Intern Med* 1971; 128:790-3.
62. George JN, Vesely SK, Terrell DR. The Oklahoma thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome (TTP-HUS) Registry: a community perspective of patients with clinically diagnosed TTP-HUS. *Semin Hematol* 2004; 41:60-7.
63. Selleng K, Warkentin TE, Greinacher A *et al.* Very severe thrombocytopenia and fragmentation hemolysis mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura associated with a giant intracardiac vegetation infected with *Staphylococcus epidermidis*: role of monocyte procoagulant activity induced by bacterial supernatant. *Amer J Hematol* 2006; 82:766-71.
64. Egan JA, Bandarenko N, Hay SN *et al.* Differentiating thrombotic microangiopathies induced by severe hypertension from anemia and thrombocytopenia seen in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Clin Apheresis* 2004; 19:125-9.
65. Bitzan M. Treatment options for HUS secondary to *Escherichia coli* O157:H7. *Kidney Int* 2009; 75:S62-S66.
66. Ikeda K, Ida O, Kimoto K *et al.* Effect of early fosfomicin treatment on prevention of hemolytic uremic syndrome accompanying *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Clin Nephrol* 1999; 52:357-62.
67. Trachtman H, Cnaan A, Christen E *et al.* Effect of an oral Shiga toxin binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290:1337-44.
68. Hollenbeck M, Kutkuhn B, Aul C *et al.* Haemolytic-uraemic syndrome and thrombotic-thrombocytopenic purpura in adults: Clinical findings and prognostic factors for death and end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:76-81.
69. Lara PN Jr, Coe TL, Zhou H *et al.* Improved survival with plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Am J Med* 1999; 107:573-9.
70. Morel-Maroger L, Kanfer A, Solez K *et al.* Prognostic importance of vascular lesions in acute renal failure with microangiopathic hemolytic anemia (hemolytic-uremic syndrome): Clinicopathologic study in 20 adults. *Kidney Int* 1979; 15:548-58.
71. Clark WF, Rock GA, Buskard N *et al.* Therapeutic plasma exchange: An update from the Canadian Apheresis Group. *Ann Intern Med* 1999; 131:453-62.
72. Tostivint I, Mougenot B, Flahault A *et al.* Adult haemolytic and uraemic syndrome: Causes and prognostic factors in the last decade. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:1228-34.
73. Ruggenenti P, Galbusera M, Cornejo RP *et al.* Thrombotic thrombocytopenic purpura: Evidence that infusion rather than removal of plasma induces remission of the disease. *Am J Kidney Dis* 1993; 21:314-8.
74. Furlan M, Robles R, Galbusera M *et al.* Von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 1998; 339:1578-84.
75. Ono T, Mimuro J, Madoiwa S *et al.* Severe secondary deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure. *Blood* 2006; 107:528-34.
76. Nguyen TC, Liu A, Liu L *et al.* Acquired ADAMTS13 deficiency in pediatric patients with severe sepsis. *Haematologia* 2007; 92:121-4.
77. Uemura M, Fujimura Y, Matsumoto M *et al.* Comprehensive analysis of ADAMTS13 in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost* 2008; 99:1019-29.
78. Rock GA, Shumak K, Kelton J *et al.* Thrombotic thrombocytopenic purpura: outcome in 24 patients with renal impairment treated with plasma exchange. *Transfusion* 1992; 32:710-4.
79. Richardson MW, Allen GA, Monahan PE. Thrombosis in children: current perspective and distinct challenges. *Thromb Haemost* 2002; 88:900-11.
80. Kojouri K, Vesely SK, George JN. Quinine-associated thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: frequency, clinical features, and long-term outcomes. *Ann Int Med* 2001; 135:1047-51.
81. Rock G, Shumak KH, Sutton DMC *et al.* Cryosupernatant as replacement fluid for plasma exchange in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1996; 94:383-6.
82. George JN. How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2000; 96:1223-9.
83. Cohen JA, Brecher ME, Bandarenko N. Cellular source of serum lactate dehydrogenase elevation in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Clin Apher* 1998; 13:16-19.
84. Rizvi MA, Vesely SK, George JN *et al.* Complications of plasma exchange in 71 consecutive patients treated for clinically suspected thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Transfusion* 2000; 40:896-901.
85. McMinn JR, Thomas IA, Terrell DR *et al.* Complications of plasma exchange in patients treated for clinically suspected thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: an additional study of 78 consecutive patients. *Transfusion* 2003; 43:415-6.
86. Howard MA, Williams LA, Terrell DR *et al.* Complications of plasma exchange in patients treated for clinically suspected thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. III. An additional study of 57 consecutive patients, 2002-2005. *Transfusion* 2006; 46:154-6.
87. George JN, Woodson RD, Kiss JE *et al.* Rituximab therapy for thrombotic thrombocytopenic purpura: a proposed study of the Transfusion Medicine/Hemostasis Clinical Trials Network with a systematic review of rituximab therapy for immune-mediated disorders. *J Clin Apheresis* 2006; 21:49-56.
88. Cataland SR, Jin M, Ferketich AK *et al.* An evaluation of cyclosporine and corticosteroids individually as adjuncts to plasma exchange in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2007; 132:146-9.

89. George JN. The thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndromes: evaluation, management, and long-term outcomes experience of the Oklahoma TTP-HUS Registry, 1989–2007. *Kidney Int* 2009; 112:S52-S54.
90. George JN. The association of pregnancy with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Curr Opin Hematol.* 2003; 10:339-44.
91. Vesely SK, Li X, McMinn JR *et al.* Pregnancy outcomes after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Transfusion* 2004; 44:1149-58.
92. Lewis QF, Scott JG, Kremer Hovinga JA *et al.* Neurocognitive impairment following recovery from ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2007; 110:395a.