

Índice

Resumo	3
Palavras-chave	4
Abstract	5
Keywords	6
Introdução	7
Materiais e Métodos	9
Síndrome Hemolítico Urémico típico	
▪ Introdução	10
▪ Epidemiologia	10
▪ Surto de <i>E. coli</i> na Alemanha	11
▪ Fatores de Risco	14
▪ Toxina Shiga	14
▪ Fisiopatologia	15
▪ Clínica	18
▪ Diagnóstico	19
▪ Abordagem e Tratamento	24
▪ Prognóstico	29
▪ Perspetivas para o futuro.....	31
Síndrome Hemolítico Urémico atípico	32
▪ SHU associado a Distúrbios da Regulação do Complemento	
- Introdução	34
- Fisiopatologia	41
- Clínica	43
- Prognóstico	44
- Investigação/Diagnóstico	45
- Tratamento	46
- Futuro	52
▪ SHU associado à Doença Pneumocócica Invasiva	53
▪ SHU associado à Gravidez	56
▪ SHU associado a Defeitos no Metabolismo da Cobalamina	58
▪ SHU <i>de novo</i> Pós-transplante	59
▪ SHU associado à Infecção por VIH	60
▪ SHU induzido por Quinina	61
▪ SHU induzido por Fármacos	61
▪ SHU associado a Neoplasias Malignas	62
▪ SHU associado a Doenças Sistémicas	63
Conclusões	64
Bibliografia	66

Resumo

O Síndrome Hemolítico Urémico, um dos protótipos das Microangiopatias Trombóticas, é a principal causa de lesão renal aguda em crianças. Apesar de estar geralmente associado a infecções enterohemorrágicas por *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga, reconhece-se atualmente que uma fração considerável dos casos, responsável por formas familiares e recorrentes, está associada a défices da regulação normal do complemento, podendo ainda ser secundário a causas como a doença pneumocócica invasiva, defeitos metabólicos, gravidez, doenças sistémicas e fármacos. Este artigo de revisão pretende descrever a fisiopatologia das diversas formas da doença, bem como ilustrar o estado da arte relativo ao diagnóstico, tratamento e prognóstico, e enumerar alguns dos novos alvos terapêuticos em estudo, através da revisão bibliográfica de publicações recentes.

A forma típica do SHU, relacionado com a infeção por *E. coli* O157:H7, surge geralmente após um quadro de infeção gastrointestinal com diarreia sanguinolenta. A toxina Shiga produzida por esta bactéria induz lesão endotelial, provocando alterações renais e em múltiplos órgãos-alvo. O tratamento é geralmente de suporte, passando pela hidratação intravenosa, correção de alterações eletrolíticas e tratamento da hipertensão, com o recurso a técnicas de substituição renal quando necessário. O quadro é autolimitado na maioria dos casos, com baixa taxa de mortalidade na fase aguda, mas com uma percentagem considerável dos doentes a desenvolver sequelas renais a longo prazo. Por sua vez, o SHU atípico compreende todas as restantes formas da doença. Atualmente reconhece-se que está associado a mutações em genes codificadores de proteínas reguladoras do complemento e pode manifestar-se em formas familiares e recorrentes, com elevada mortalidade na fase aguda e elevada taxa de progressão para doença renal terminal. O tratamento, baseado geralmente na manipulação de plasma, apresenta uma taxa de sucesso variável, com elevada taxa de

recorrência em algumas das mutações. Por outro lado, o transplante renal nestes doentes também se afigura como um desafio, já que a persistência da hiperativação do complemento está associada a elevadas taxas de perda do enxerto.. Recentemente, novos alvos terapêuticos, como a inibição terminal da via alternativa do complemento, têm apresentado resultados promissores no tratamento e prevenção da recidiva. Outras formas do SHU, secundárias a causas como a infecção pneumocócica, gravidez, fármacos ou doenças sistêmicas, são ainda entidades clínicas menos compreendidas, com elevada morbimortalidade.

Apesar de grandes avanços na compreensão da fisiopatologia do SHU, impõe-se a necessidade de investigação adicional na tentativa de obter métodos de diagnóstico e estratégias de tratamento que permitam não só diminuir a mortalidade na fase aguda mas preservar a função renal a longo prazo, melhorando a qualidade de vida dos doentes.

Palavras-Chave

Complemento; Eculizumab; *Escherichia coli* enterohemorrágica; Lesão renal aguda; Microangiopatia Trombótica; Síndrome Hemolítico Urémico; Toxina Shiga.

Abstract

Hemolytic Uremic Syndrome (HUS), one of the prototypes of the Thrombotic Microangiopathies, is the leading cause of acute kidney injury in children. Although it's usually caused by enterohemorrhagic infections by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, in recent years a significant percentage of cases have been associated with defects in complement regulation, as well as invasive pneumococcal disease, metabolic defects, pregnancy, systemic diseases and drugs. The purpose of this study is to describe the physiopathology of the many forms of the disease, and to describe the state of the art in terms of diagnosis, treatment and prognosis, also listing some of the new therapeutic targets, through a bibliographic review of recent publications.

The typical form of the disease, associated with *E. coli* O157:H7 infections, usually follows a gastrointestinal infection with bloody diarrhoea. The Shiga toxin produced by this bacteria induces endothelial lesion, causing kidney damage and in multiple other organs. Treatment is mainly supportive, with intravenous hydration, correction of electrolytic changes and management of hypertension, as well as resorting to kidney replacement therapy when necessary. The disease is generally self-limited, with a low mortality rate in the acute phase, but a considerable percentage of patients develop long-term renal *sequelae*. On the other hand, atypical HUS encompasses all other forms of the disease and it has recently been associated with mutations in genes that codify complement regulator proteins, and it can present as familiar and recurrent forms, with a high mortality rate in the acute phase and a high rate of progression to end-stage kidney renal disease. Treatment strategies, usually based on plasma manipulation, have a variable success rate, with a high rate of recurrences in some of the mutations. Besides, kidney transplantation presents as a challenge in these patients, since the persistency of a hyperactive complement is often associated with graft loss.

Recently, new therapeutic targets such as terminal complement inhibition have presented promising results in the treatment and recurrence prevention. Other forms of HUS, secondary to causes such as pneumococcal infection, pregnancy, drugs or systemic diseases, are less understood and have high morbidity and mortality.

Despite great advances in the understanding of the pathophysiology of HUS, further investigation is still required to obtain new diagnostic methods and treatment strategies that will allow to lower the mortality rate in the acute phase as well as to preserve long term renal function, improving patients' quality of life.

Keywords

Acute kidney injury; Complement; Eculizumab; Enterohemorrhagic *Escherichia coli*; Hemolytic Uremic Syndrome; Shiga Toxin; Thrombotic Microangiopathy.

Introdução

O Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) é a principal causa de lesão renal aguda (LRA) em idade pediátrica a nível mundial¹⁻⁴, e é uma patologia que se caracteriza pela tríade de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e LRA, podendo manifestar-se desde formas subclínicas a potencialmente letais. A lesão histopatológica subjacente a esta doença é a Microangiopatia Trombótica (MAT), caracterizada pela trombose microvascular oclusiva com atingimento multiorgânico, comum não só ao SHU mas também à Púrpura Trombocitopénica Trombótica (PTT) e outras patologias. O SHU foi descrito pela primeira vez como uma MAT com atingimento predominantemente renal, distinta da PTT, por Gasser e colegas em 1955^{1,5-7}. Mais tarde, em 1983, Karmali associou a doença à infeção por estirpes de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (ECPTS), uma toxina capaz de induzir lesão em células renais *in vitro*^{1,5,6,8}. Precedida geralmente por um pródromos de diarreia com sangue, esta forma da doença é responsável pela vasta maioria dos casos e é habitualmente classificada como SHU típico. No entanto, existem relatos há várias décadas de formas familiares e recorrentes da doença, descritos pela primeira vez por Kaplan em 1975^{5,8,9} e atualmente designadas por SHU atípico (SHUa). Estas formas constituem um grupo heterogéneo de patologias secundárias, na sua maioria, a distúrbios genéticos ou adquiridos da regulação da via alternativa do complemento, mas também associados a causas como a doença pneumocócica invasiva e outras infeções, gravidez, neoplasias, doenças autoimunes, fármacos, alterações metabólicas, entre outras. Embora menos comum, a forma atípica da doença está associada a um prognóstico significativamente pior, com elevada morbidade e mortalidade.

Durante muito tempo, o SHU e a PTT foram considerados como parte de um espectro da mesma doença, distintos apenas pelo atingimento predominantemente renal em crianças do

SHU ou pelas manifestações neurológicas da PTT em adultos. Por sua vez, os primeiros sistemas de classificação do SHU dividiam-no apenas em formas associadas ou não a diarreia. Atualmente reconhece-se que esta distinção era bastante redutora, já que os casos de SHU típico podiam surgir sem o quadro gastrointestinal inicial e, da mesma forma, existiam casos atípicos da doença precedidos por diarreia. Avanços recentes na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes às várias formas de MAT permitiram estabelecer uma classificação rigorosa, cuja importância está relacionada com as suas implicações no tratamento e prognóstico. A Tabela 1 descreve a classificação proposta pelo European Paediatric Study Group for Hemolytic Uremic Syndrome em 2006¹⁰, que divide as MAT num grupo em que a causa da doença é bem conhecida, e num segundo grupo de patologias associadas ao desenvolvimento de SHU ou PTT, mas por processos ainda desconhecidos.

Apesar de relativamente raro, o SHU é uma patologia com implicações transversais a múltiplas áreas do conhecimento médico, nomeadamente a Nefrologia, Pediatria, Infeciologia, Neurologia, Hematologia e outras, e acarreta um prognóstico variável que pode ter consequências absolutamente devastadoras. Por outro lado, o surto recente de infeção por um serotipo incomum de ECPTS no norte da Alemanha em 2011 evidenciou o risco que esta patologia pode representar para a saúde pública. Este trabalho pretende realizar uma revisão bibliográfica acerca dos vários quadros etiopatológicos envolvidos no SHU, fornecendo uma visão global sobre a clínica, avaliação, diagnóstico, tratamento e prognóstico das várias formas, bem como descrever novos alvos terapêuticos.

Etiologia Conhecida	Etiologia desconhecida
<ol style="list-style-type: none"> 1) Induzido por infecção <ol style="list-style-type: none"> a) Bactérias produtoras de toxina Shiga: <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica, <i>Shigella dysenteriae</i> tipo 1, <i>Citrobacter</i> b) <i>Streptococcus pneumoniae</i> (doença pneumocócica invasiva) 2) Distúrbios da regulação do complemento <ol style="list-style-type: none"> a) Distúrbios genéticos da regulação do complemento b) Distúrbios adquiridos da regulação do complemento (ex: anticorpos anti-Fator H) 3) Défice de ADAMTS13 <ol style="list-style-type: none"> a) Distúrbios genéticos do ADAMTS13 b) Défices adquiridos (autoimunes, induzidos por fármacos) 4) Defeitos no metabolismo da cobalamina 5) Induzido por Quinina 	<ol style="list-style-type: none"> 1) VIH 2) Neoplasias, quimioterapia e radiação ionizante 3) Inibidores da calcineurina e transplantação 4) Gravidez, síndrome HELLP e contraceptivos orais 5) Lúpus eritematoso sistémico e Síndrome anti-fosfolipídico 6) Glomerulopatias 7) Formas familiares de etiologia desconhecida 8) Não classificado
Tabela 1. Classificação do SHU, PTT e doenças relacionadas. Adaptado de Besbas, N <i>et al</i> ¹⁰	

Materiais e Métodos

A revisão da literatura para este estudo foi realizada através da procura das palavras-chave “Hemolytic Uremic Syndrome”, “Thrombotic Microangiopathies”, “Enterohemorrhagic *Escherichia coli*” e “Atypical Hemolytic Uremic Syndrome”, em bases de dados de referência – Pubmed, Elsevier Science Direct, B-on e Springer Link. A vasta maioria dos artigos utilizados foi retirada de revistas de referência de áreas como a Nefrologia, Pediatria e Medicina Interna, e são posteriores a 2005, salvo algumas exceções que foram consultadas com o intuito de obter uma perspetiva histórica sobre a doença. Adicionalmente, foram obtidas informações complementares de livros e publicações disponíveis nas bibliotecas da Universidade de Coimbra, bem como informações epidemiológicas obtidas de organizações internacionais e estatais disponíveis nas suas páginas *online*.

Síndrome Hemolítico Urémico Típico

Introdução

A forma típica do SHU, responsável pela maioria dos casos da doença (cerca de 90%^{2,11,12}), é a principal causa de lesão renal aguda em crianças, com elevada morbidade e mortalidade e decorre frequentemente com complicações extra-renais na fase aguda e/ou complicações renais a longo prazo. Esta forma da doença, também conhecida como D+ HUS (forma do SHU pós-diarreica), surge como uma complicação de infeções (geralmente entéricas) por bactérias produtoras de toxinas da família Shiga. A infeção por ECPTS é amplamente reconhecida como a causa predominante em países desenvolvidos, destacando-se o serotipo que expressa o antigénio somático (O) 157 e o antigénio flagelar (H) 7¹. No entanto, em algumas regiões tropicais, o SHU surge por vezes como consequência de infeções por *Shigella dysenteriae* tipo 1 (com a maior percentagem de casos reportados no Bangladesh, Índia e África do Sul¹³), e existem também casos reportados após infeções por *Citrobacter freundii* produtora de toxina Shiga¹⁰.

Epidemiologia

O SHU tem uma incidência global de 2,1 casos/100.000 pessoas por ano^{3,14,15}, com um pico em crianças com menos de 5 anos, em que a prevalência é de 6,1/100.000 pessoas por ano^{2,3,14-16}, sendo responsável por cerca de 50% das lesões renais agudas em idade pediátrica³. A menor incidência verifica-se em adultos entre os 50-59 anos (0,5 casos por 100.000 pessoas por ano¹⁴).

A maioria dos casos surge entre junho e setembro, uma flutuação sazonal que reflete o período de maior incidência de infeções por estirpes enterohemorrágicas de *Escherichia coli*^{1,13,14}.

O reservatório natural da *Escherichia coli* O157:H7 é o trato gastrointestinal de gado bovino e ovino saudável (embora já tenha sido isolado de outros animais como cavalos, cães e pássaros¹⁴). Encontra-se no solo e em águas contaminadas, o que explica a maior prevalência em áreas rurais. A principal via de transmissão é o consumo de água ou alimentos contaminados (nomeadamente carne mal cozinhada, leite não pasteurizado ou derivados, marisco, legumes e vegetais entre outros), embora também possa ocorrer por contacto direto com animais ou com fezes dos mesmos ou por contacto com águas não tratadas. A transmissão interpessoal é de particular relevo em unidades de cuidados de saúde, lares e escolas, e existem alguns relatos de infeções nosocomiais¹³.

Surto de *E. coli* na Alemanha

Apesar de a maioria dos casos de SHU típico surgir de forma esporádica, durante alguns períodos existem relatos de surtos ou epidemias, com maior número de indivíduos infetados e com aspetos clínicos, microbiológicos e epidemiológicos distintos. Estas variações podem ser atribuídas a vários fatores, nomeadamente o aparecimento de novos serotipos com características distintas, ou o surgimento de surtos com origem em contaminação alimentar maciça. De facto, existem relatos de vários surtos associados à venda de produtos contaminados em supermercados ou ao consumo de produtos de origem animal, lacticínios e vegetais em restaurantes, em países como os Estados Unidos, Japão, Escócia, Suíça ou Canadá. No entanto, o maior surto de que há registo ocorreu entre maio e julho de 2011, com início no norte da Alemanha, mas acabando por se alastrar a 15 países diferentes^{17,18}. Na sua origem esteve um serotipo menos comumente associado ao SHU, o serotipo não-zoonótico O104:H4^{4,17,19-24} que, apesar de já ter sido isolado em casos esporádicos da doença, surgia agora com características previamente desconhecidas. Este serotipo aparentava ser uma

variante híbrida, com origem em formas enteroagregativas da *E. coli* que adquiriram o bacteriófago codificador da toxina Shiga Stx2a^{18,22,25,26}, habitualmente associada às formas enterohemorrágicas da bactéria, acumulando fatores de virulência de ambas as formas. Apesar de não conter o fago que codifica a intimina^{18,22,25}, este serotipo revelava elevada capacidade de aderência agregativa ao intestino do hospedeiro, permitindo fornecer à mucosa elevadas quantidades de toxina¹⁸. Todos os agentes isolados nestes doentes eram, ainda, multirresistentes^{22,27}.

Apesar de os primeiros relatórios apontarem para vegetais crus como tomate, pepino e alface como potenciais veículos de transmissão, após extensa investigação pelas autoridades de saúde pública e de segurança alimentar, foi possível verificar que a fonte de infecção se tratava de rebentos de feno-grego^{18,19,22,23,25} originalmente provenientes do Egito e importados por uma quinta perto de Hamburgo que produzia produtos biológicos, fornecendo-os a vários restaurantes e superfícies comerciais alemãs. Apesar de múltiplos casos terem ocorrido noutros países europeus e até nos Estados Unidos, todos estes doentes tinham uma história de viagem recente à Alemanha^{17,18,22,28} e, em França, ocorreu em simultâneo um pequeno surto associado à importação das mesmas sementes^{23,25}. A identificação do agente causal permitiu uma rápida erradicação da sua origem e o fim do surto ocorreu cerca de 2 meses após o seu início. Após este período ocorreram alguns casos de transmissão secundária dentro de agregados familiares, mas esta transmissão deixou rapidamente de surtir efeito.

Segundo a Organização Mundial da Saúde este surto foi responsável pela infecção por *E. coli* em 4075 pessoas, das quais 908 desenvolveram SHU⁶³, isto é, cerca de 22% dos indivíduos infetados desenvolveram a doença, uma percentagem consideravelmente superior à habitual. As características epidemiológicas também diferiram das comumente associadas ao SHU, já que afetou maioritariamente adultos (cerca de 90%^{18,23}), com um predomínio claro no sexo feminino^{18,19,21,23,24,28}, embora se presuma que esta diferença possa estar relacionada

com o maior consumo de rebentos neste subgrupo populacional¹⁸. No total, morreram 50 pessoas, das quais 34 tinham SHU, o que representa uma taxa de mortalidade associada ao SHU neste serotipo de cerca de 4%^{19,63}, semelhante à verificada para o serotipo O157:H7. O quadro clínico, na maioria dos casos, era dominado pela presença de diarreia com sangue e dor abdominal^{18,26}, com desenvolvimento do SHU rapidamente após o início das manifestações gastrointestinais^{18,21}. Apesar de cerca de metade dos doentes necessitar de terapêutica dialítica na fase aguda¹⁹ e de, histologicamente, apresentarem lesões extensas de endoteliose glomerular e lesões túbulo-intersticiais difusas²⁹, a maioria dos doentes teve recuperação total da função renal^{19,29,30}. Complicações extra-renais, particularmente neurológicas, também surgiram numa percentagem significativa dos casos, mas geralmente sem sequelas a longo prazo^{29,30}.

O aparecimento do SHU numa quantidade tão grande de indivíduos também constituiu uma oportunidade única para comparar diferentes abordagens terapêuticas. Tal como no SHU após infeção por *E. coli* O157:H7, o recurso à plasmáferese ou à corticoterapia não demonstrou vantagens na recuperação clínica ou na taxa de complicações^{19,29}. A antibioterapia, empregue em alguns dos casos, não se associou a maior taxa de complicações^{19,29}, mas as recomendações quanto à sua utilização continuam a ser pouco consensuais. Pela primeira vez, foi também testado o uso do anticorpo monoclonal contra a proteína do complemento C5, o Eculizumab, nos casos de SHU típico, mas sem vantagens claras face ao grupo de controlo¹⁹.

Este surto evidencia o potencial patogénico que a *E. coli* representa para a saúde pública, dada a sua capacidade de modificar as suas propriedades pela aquisição de novos fagos e, conseqüentemente, a sua propensão para despoletar surtos em grande escala, com padrões de doença inesperados. Torna-se fundamental a existência de um planeamento e preparação adequados para eventuais surtos semelhantes ou em maior escala, através da

estreita colaboração entre autoridades de saúde internacionais. A criação de métodos de rastreio diagnóstico rápidos e acessíveis também é crucial para que a deteção destas situações possa ser o mais precoce possível.

Fatores de Risco

Por razões não totalmente esclarecidas, nem todos os indivíduos que contraem infeções gastrointestinais por bactérias produtoras de toxina Shiga desenvolvem SHU. De facto, ele surge como complicação em apenas 10-15% dos doentes após infeção por *E. coli* O157:H7^{1,2,6,31}, uma percentagem que pode ser diferente para outros serotipos da bactéria.

Os fatores de risco para o desenvolvimento do SHU incluem a leucocitose, o recurso à antibioterapia, o uso de agentes antimotilidade, extremos da idade (principalmente em crianças com menos de 10 anos³¹), o sexo feminino, e sintomas como a diarreia com sangue, febre e vómitos^{1,6,14,31,32}. O aparecimento do SHU está relacionado com a intensidade da ativação pro-trombótica no início da doença, pelo que crianças que apresentem concentrações elevadas de D-dímeros, PAI-1 e fragmentos 1+2 da protrombina durante a fase de diarreia têm um risco superior de vir a desenvolver a doença¹. Existe também uma maior propensão em caucasianos com o serotipo HLA-B40³.

Toxina Shiga

As toxinas Shiga constituem uma família da qual faz parte a Shiga propriamente dita (Stx), produzida pela *Shigella dysenteriae* tipo 1, a toxina Shiga-like 1 (Stx1) e a toxina Shiga-like 2 (Stx2). A toxina Stx1 difere da Stx em apenas um aminoácido, e é homóloga com a Stx2 em 50%¹⁴. As toxinas Shiga-like são produzidas por alguns serotipos de *Escherichia coli* e têm graus de patogenicidade distintos. As estirpes que apenas produzem Stx2 são, no

geral, mais patogénicas que as que produzem apenas Stx1, e estão associadas ao desenvolvimento de SHU com maior frequência; as estirpes que produzem apenas Stx2 são, por regra, mais virulentas que aquelas que produzem tanto Stx1 como Stx2¹.

Todos os membros da família Shiga são holotoxinas de 70 kDa, constituídas por uma única subunidade A de 32 kDa e 5 subunidades B de 7,7 kDa cada^{3,6,14}. A subunidade A é clivada proteoliticamente num peptídeo A1 de 28 kDa, com atividade enzimática, e num peptídeo A2 de 4 kDa, através do qual a subunidade A se liga ao pentâmero de 5 subunidades B idênticas⁶. A subunidade B, por sua vez, contém vários locais de ligação ao recetor da toxina Shiga, o recetor glicosfingolipídico globotriaosilceramida (Gb3).

As toxinas Stx1 podem ser subdividas em Stx1, stx1c e Stx3d; as Stx2, por sua vez, têm maior heterogeneidade, e podem ser subdividas em Stx2c, Stx2c2, Stx2d, Stx2d_{activável}, Stx2e e Stx2f⁶. Cada estirpe de ECPTS pode conter um ou mais genes da toxina, sendo a gravidade da doença determinada, entre outros fatores, pela quantidade e tipo de toxina Shiga produzido pela bactéria. As formas mais severas são atribuíveis às estirpes produtoras de Stx2, Stx2c e Stx2d_{activável}⁶. Os genes que codificam as toxinas Shiga encontram-se em bacteriófagos que são positivamente regulados pela radiação ultravioleta, pela mitomicina C, por alguns antibióticos e pela libertação de H₂O₂ por neutrófilos. Todos estes fatores induzem um aumento na transcrição da toxina, levando a uma maior virulência. A sua indução leva à lise do invólucro nuclear da *E. coli*, com consequente libertação de toxinas⁶.

Fisiopatologia

As infeções por *E. coli* O157:H7 raramente cursam com bacteriémia¹, pelo que as complicações multi-sistémicas desta patologia decorrem da toxina Shiga em circulação. A toxina Shiga liga-se ao receptor Gb3 acima mencionado que, no rim, se encontra na superfície

de células endoteliais, células epiteliais tubulares, podócitos e células mesangiais^{1,2}, e que é expresso em maior quantidade nas células endoteliais de crianças do que em adultos³³.

A ECPTS proveniente de água ou alimentos contaminados é ingerida e liga-se a recetores em células epiteliais da mucosa intestinal através da Intimina¹, uma adesina expressa na superfície da bactéria, permitindo a invasão de células epiteliais e culminando com a morte celular. Esta lesão da mucosa intestinal é responsável pelo aparecimento da diarreia. Ocorre, então, libertação da toxina Shiga, que é absorvida por células epiteliais da mucosa através de processos transcelulares¹⁴ e translocada para a circulação sistémica. O aparecimento de sangue nas fezes depende da lesão da vasculatura da mucosa pela toxina, induzindo isquémia mesentérica. Apesar de várias células sanguíneas expressarem o recetor Gb3 da toxina Shiga, como eritrócitos, plaquetas e monócitos activados¹⁴, as principais células responsáveis pelo transporte da toxina na corrente sanguínea, desde o intestino até aos órgãos-alvo, são os neutrófilos¹³, cujo recetor Gb3 tem afinidade cerca de 100 vezes inferior ao recetor expresso pelas células do endotélio glomerular¹⁴, facilitando o transporte da toxina até aos órgãos-alvo e transferência da mesma para as células com recetores de maior afinidade.

No rim, a ligação entre a toxina e o recetor Gb3 ocorre através de locais de ligação nas 5 subunidades B da toxina. Diferenças estruturais e constitucionais entre os diferentes tipos de toxina Shiga vão condicionar a ligação a diferentes epitopos do seu recetor, com afinidade e cinética distintas, o que pode explicar a diferente virulência entre estirpes que produzam diferentes formas da toxina. A Stx2, reconhecida como o subtipo mais virulento e associado a um quadro clínico mais severo^{1,14}, tem maior afinidade para o recetor Gb3. Após a ligação da subunidade B ao Gb3, a toxina é internalizada através de endocitose mediada por preceptor^{3,14,15}, processo durante o qual ocorre dissociação entre as subunidades A e B. A N-glicosidase A, por sua vez, é retrogradamente transportada para as cisternas do retículo endoplasmático pelo aparelho de Golgi, e sofre clivagem em A1 e A2. A1 é, então,

transportada para o citosol e envelope nuclear, e exerce a sua ação citotóxica através da inibição da síntese proteica ao nível da subunidade ribossomal 60S, removendo uma adenosina do 28S³⁴. A toxina também induz morte celular na célula endotelial, através da inibição da expressão da Mcl-1, uma proteína anti-apoptótica da família Bcl-2. Ocorre, mesmo em doses subletais, regulação positiva de genes que codificam citocinas e quimiocinas, moléculas de adesão e fatores de transcrição^{14,15}. Ocorre, ainda, inibição da produção endotelial de ADAMTS13, uma metaloprotease responsável pela clivagem do Fator de von Willebrand (FvW)³³. Na ausência de ADAMTS13, ocorre acumulação de multímeros do FvW, levando à formação de aglomerados de plaquetas.

Para além dos efeitos nefastos da toxina Shiga, existem outros lipossacarídeos bacterianos produzidos pela *E. coli* que atuam sinergicamente com esta, através da promoção da reação inflamatória pela produção de mediadores como o TNF- α e interleucinas que, por sua vez, atuam na célula endotelial glomerular regulando positivamente a expressão do receptor Gb3 e ampliando as reações mediadas pela toxina^{3,14}. Estas citocinas atraem e ativam neutrófilos, que aderem à parede vascular graças à produção aumentada de moléculas de adesão celular (nomeadamente P-selectina, VCAM-1, ICAM-1)^{3,14}; ativam também macrófagos, que aumentam o insulto à célula endotelial pelo aumento da produção de radicais livres de oxigénio, e aumentam a produção de óxido nítrico que é tóxico para estas células em grandes concentrações³. Todo este processo leva a um estado pro-trombótico, induzindo a ativação e adesão plaquetar (na dependência da P-selectina e da PECAM-1)^{14,15}, bem como a ativação de leucócitos e da cascata de coagulação^{3,8,14}, culminando na trombose microvascular.

Clínica

Após a ingestão de alimentos ou água contaminada, ou outro tipo de contacto com um veículo contaminado, há um período de incubação de 2 a 12 dias^{1,3,6,14} (em média 3 dias), após o qual se manifesta um quadro de diarreia aquosa. Geralmente surge, de forma concomitante, dor abdominal muito intensa e a defecação também pode ser dolorosa, mimetizando outras patologias gastrointestinais como a gastroenterite aguda ou a colite ulcerosa. A diarreia, inicialmente aquosa, passa a ser sanguinolenta após 1-3 dias em cerca de 90% dos casos^{1,13,14}. Entre 30 e 60% dos doentes referem náuseas e vómitos, e apenas 30% apresentam febre^{1,2,15}. O facto de a febre ser um achado pouco habitual, sugere que não ocorre, habitualmente, uma resposta inflamatória sistémica já que, da mesma forma, não costuma haver hipotensão, acidose ou choque.

Como mencionado anteriormente, entre 10 e 15% destes doentes vêm a desenvolver SHU, após um período variável que pode durar entre 5-13 dias após o início da diarreia^{1,3}, com uma mediana de cerca de uma semana¹, e que se manifesta inicialmente por palidez, fadiga e púrpura, decorrentes da anemia severa e trombocitopenia, e oligoanúria como consequência da LRA^{2,3,6}. A LRA tem um espectro de apresentação clínica que pode ir desde a proteinúria e/ou hematúria (em 15% dos doentes⁶), edemas e até oligoanúria.

As restantes manifestações sistémicas do SHU passam pelo envolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC), trato gastrointestinal, fígado, pâncreas, esqueleto, pulmão, sistema cardiovascular, entre outros.

O SNC está envolvido em cerca de 25% dos doentes^{13,15,34}, e é a principal causa de mortalidade na fase aguda. O mecanismo que induz lesão do SNC é independente da toxina Shiga em circulação, já que os neurónios e as células da glia não expressam o receptor Gb3³⁴, passando por um processo atribuível às citocinas pro-inflamatórias em circulação, à

hipertensão arterial e à hiponatremia. As manifestações incluem letargia, sonolência, irritabilidade e convulsões, podendo até levar a parésias, estupor, coma e edema cerebral nos casos mais severos.

O atingimento do trato gastrointestinal pode ocorrer desde o esôfago até à região perianal. Geralmente, na fase aguda, surge edema e hemorragia da submucosa no cólon ascendente e transversal¹⁴, mas pode ocorrer colite hemorrágica, intussuscepção e um processo de necrose transmural que pode levar à perfuração intestinal.

O envolvimento do sistema cardiovascular também está associado a maior mortalidade na fase aguda, podendo manifestar-se como disfunção do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, arritmias cardíacas ou outras alterações electrocardiográficas^{12,35}.

O envolvimento do pâncreas é menos frequente, e geralmente manifesta-se pela intolerância à glicose¹³. Habitualmente trata-se apenas de um processo de pancreatite aguda edematosa, transitório e autolimitado, e a lesão pancreática severa é rara¹⁵.

Outras manifestações sistêmicas incluem o envolvimento pulmonar, manifestado pelo Síndrome da Dificuldade Respiratória Aguda e o envolvimento muscular, manifestado pela rabdomiólise.

Diagnóstico

1) Achados Laboratoriais

Na fase inicial de diarreia, perante uma forte suspeição clínica de que possa existir uma infecção gastrointestinal por *E. coli* O157:H7, esta poderá ser comprovada através da coprocultura num meio de ágar MacConkey-sorbitol^{1,8}. Este serotipo é facilmente distinguível dada a sua incapacidade de fermentar sorbitol neste meio de cultura. Apesar de poder haver eliminação de *E. coli* O157:H7 nas fezes durante várias semanas após o período sintomático,

é na fase aguda que esta é máxima^{1,14,31}. No entanto, como esta característica não é transversal às restantes estirpes de *E. coli* ou a outras bactérias produtoras de toxina Shiga, o método ideal passa por aliar à coprocultura um método molecular de identificação da toxina nas fezes^{1,8}, através de métodos como ELISA e PCR²⁴. Durante esta fase, a realização de um hemograma completo, a avaliação da creatininémia e a análise sumária de urina podem ser úteis para aferir os valores basais dos doentes, permitindo uma avaliação comparativa destes parâmetros ao longo do tempo. Na suspeita de SHU causado por ECPTS, mas na ausência de diarreia, poderá ser útil a realização de uma urocultura, já que infeções urinárias causadas por *E. coli* O157:H7 também podem estar associadas ao desenvolvimento de SHU³⁶; no entanto, na presença de infeção enterohemorrágica, alguns autores defendem que a colheita de urina para este propósito, através de cateterismo vesical ou punção supra-púbica, estão associadas a um risco de introdução deste microrganismo no trato genito-urinário, pelo que deverá ser evitada.

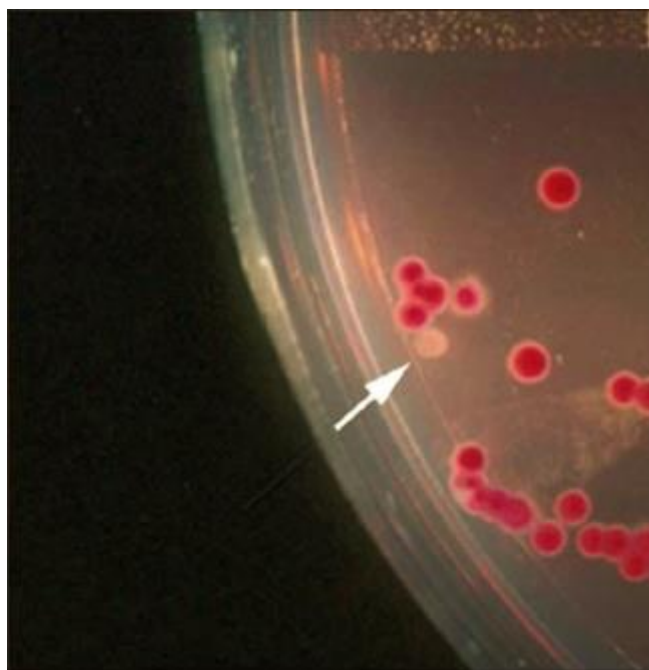


Figura 1. Cultura de *E. coli* O157:H7 num meio de ágar MacCokey-Sorbitol. A seta aponta para uma colónia deste serotipo, incolor dada a sua incapacidade de fermentar sorbitol. Adaptado de Tarr, PI *et al*¹

Independentemente da etiologia do SHU, os achados laboratoriais típicos incluem a tríade de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia ($<150 \times 10^9/L$) e lesão renal aguda.

A trombocitopenia, o sinal laboratorial mais precoce do SHU^{1,15}, decorre da agregação plaquetar, e é geralmente de 30×10^9 a $100 \times 10^9/L$ ^{1,3}, embora o SHU possa ocorrer com contagem plaquetar normal. As provas de coagulação são habitualmente normais, o que permite distinguir o SHU de uma coagulação intravascular disseminada^{4,33}. No entanto, a trombocitopenia não é um sinal inequívoco da presença de SHU, já que surge com frequência na maioria dos doentes após infecção gastrointestinal por *E. coli* O157:H7 como consequência da expansão de volume e de processos pró-trombóticos em curso¹.

A anemia hemolítica microangiopática precede geralmente a azotémia¹, e define-se pela anemia, frequentemente severa, na presença de um teste de Coombs negativo (já que a natureza da hemólise não é imune) bem como pela presença de esquizócitos (eritrócitos fragmentados) no esfregaço do sangue periférico, resultado das lesões mecânicas sofridas pelos eritrócitos ao atravessarem a microvasculatura^{1,14,15}. Surge um aumento da concentração sérica do lactato desidrogenase (LDH) como consequência da hemólise e, nalguns casos, devido à lesão tecidual. Ocorre, também, aumento da hemoglobina livre, níveis baixos ou indetetáveis de haptoglobina, reticulocitose e hiperbilirrubinémia indirecta^{3,6,33}. Pode haver leucocitose, embora seja um achado inconstante^{14,34}.

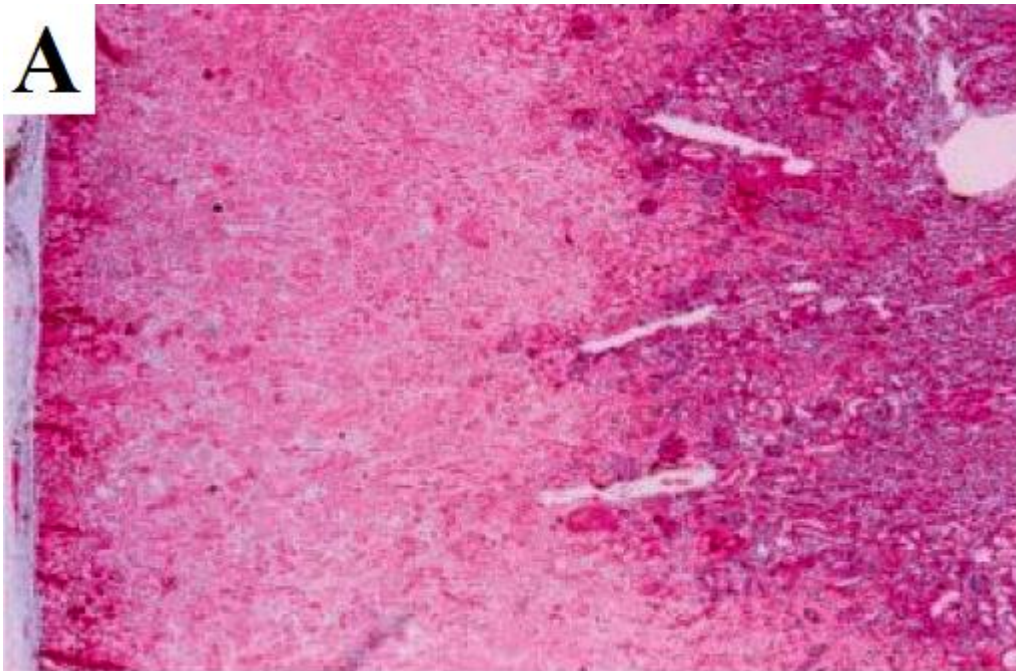
Devido à lesão renal aguda pode ocorrer um aumento da concentração sérica da creatinina, e pode surgir proteinúria (de 1 a 2 g/dia), hematúria ou presença de cilindros no sedimento urinário¹⁵. Durante a fase de recuperação, uma razão proteínas/creatinina anormal na urina ou a presença de microalbuminúria podem ser indicadores de recidiva ou de lesão renal residual²⁴.

No contexto do estado pro-trombótico que caracteriza o SHU pode haver um aumento plasmático da atividade do PAI-1, aumento da concentração dos fragmentos 1+2 da protrombina e aumento dos D-dímeros¹.

Achados menos comuns incluem o aumento da concentração sérica das transaminases (que refletem o envolvimento hepático), da troponina I (caso haja atingimento do miocárdio) e outros marcadores de lesão de órgão com localizações menos habituais.

2) Biópsia Renal

Tal como a maioria dos achados laboratoriais, os aspectos histológicos observados na biópsia renal são inespecíficos, e são comuns não só às diferentes formas do SHU como às restantes patologias que compreendem o grupo das MAT. Raramente se impõe a necessidade de realizar uma biópsia renal, na medida em que as informações obtidas não têm influência no tratamento ou no prognóstico⁴, e também não permitem estabelecer qual a entidade etiológica responsável pelo SHU³⁵.



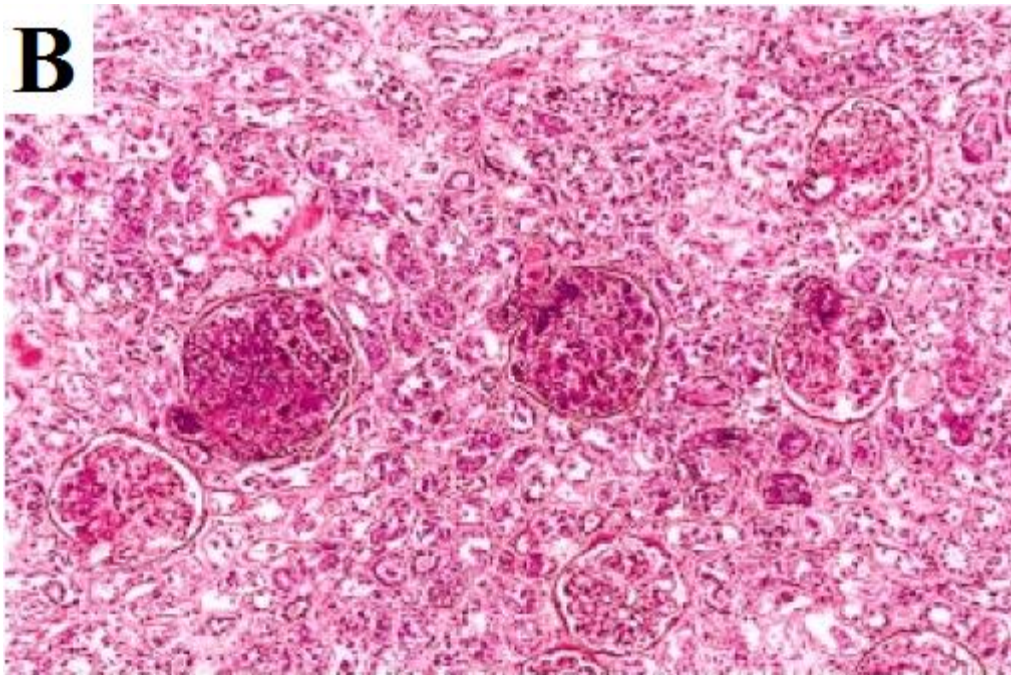


Figura 2. Biópsia renal de 2 pacientes com SHU típico. A: necrose cortical extensa. B: trombos glomerulares e arteriolares. Adaptado de Hosler, GA *et al*⁶³

O exame histológico permite a observação de trombose microvascular glomerular e/ou arteriolar (Figura 2, B) condicionando oclusão luminal parcial ou completa^{4,33,35}, com trombos plaquetares e de hialina, aumento do espaço subendotelial^{13,35}, ingurgitamento das células endoteliais e descolamento da membrana basal^{6,15,33}, acumulação de material fibrinóide no espaço subendotelial^{6,35}, fibrose arterial da íntima e alterações membranoproliferativas³³. Na fase inicial da doença, é comum a presença de trombose e infiltração leucocitária¹⁵. No SHU típico as lesões predominam a nível glomerular^{13,15}, podendo haver também atingimento da arteríola aferente^{13,33}.

Ao exame ultraestrutural é possível observar um duplo contorno da parede dos capilares glomerulares, decorrente do aumento do espaço subendotelial³⁵. Não se observam depósitos imunes^{4,35}.

A ocorrência de lesões intersticiais também é possível⁶, e pode surgir necrose cortical nos casos mais severos^{13,33} (Figura 2, A).

Abordagem e Tratamento

Os avanços recentes na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos por detrás do SHU induzido por toxina Shiga não foram acompanhados de grandes mudanças nas modalidades terapêuticas. De facto, o tratamento é geralmente de suporte, e a doença tende a resolver espontaneamente.

Na presença de um doente com uma infeção gastrointestinal possível ou confirmada por *E. coli* O157:H7, aconselha-se o internamento hospitalar, não só para realizar tratamento de suporte, como para controlo da propagação da infeção¹. Idealmente, o doente deverá ser admitido num centro especializado, onde medidas como a diálise estejam disponíveis e sejam práticas comuns. O tratamento de suporte passa pela fluidoterapia, correção de alterações eletrolíticas, tratamento da hipertensão e terapêutica de substituição renal, caso seja necessária. A instituição precoce destas medidas está associada a uma diminuição significativa da mortalidade na fase aguda e das complicações a longo prazo. Durante a fase aguda é importante monitorizar diariamente a função renal (creatinina e azoto ureico séricos), eletrólitos, contagem plaquetar, leucocitose, hemoglobina, marcadores de hemólise (LDH, haptoglobina e bilirrubinémia), função hepática, amilase, lipase e glicémia^{1,6}.

A hidratação intravenosa é fundamental nestes doentes, já que a oligoanúria e o declínio da função renal são atribuíveis em parte à hipoperfusão do parênquima renal, e deve ser feita com cristalóides isotónicos (soro fisiológico, soro fisiológico com 5% dextrose ou lactato de Ringer)¹. A maioria dos doentes pode continuar a fazer uma ingestão de líquidos e sólidos normal, a não ser que exista colite hemorrágica ativa ou pancreatite aguda, caso em que beneficiarão de repouso intestinal¹⁵. Na reposição do volume intravascular devem ser consideradas não só as perdas pelas fezes e vómitos, como as perdas para o terceiro espaço, decorrentes da hipoalbuminémia e de alterações da permeabilidade vascular. Durante a fase

aguda, a dificuldade passa por fazer uma rehidratação que permita manter a perfusão renal evitando, em simultâneo, os efeitos deletérios da sobrecarga de volume. Por esta razão, o estado de hidratação dos doentes deve ser cuidadosamente monitorizado. O peso deve ser medido diariamente, e devem ser pesquisados sinais e sintomas relacionados relacionados com a sobrecarga de volume, nomeadamente a tensão arterial e o estado respiratório. É importante corrigir possíveis anomalias eletrolíticas, e assegurar um aporte nutricional adequado já que muitos dos doentes apresentam hipoalbuminémia e se encontram num estado catabólico³.

Transfusões de eritrócitos são necessárias com frequência^{6,15}, particularmente se houver uma diminuição rápida da hemoglobina ou se esta atingir valores inferiores a 6-7 g/dL⁶. As transfusões devem ser administradas cuidadosamente, já que a rápida expansão intravascular pode causar hipertensão¹. Apesar de poder haver trombocitopenia, as transfusões de plaquetas são desaconselhadas, a não ser que haja evidência de hemorragia ativa ou que o doente seja submetido a uma intervenção cirúrgica^{1,6}, já que podem contribuir para a trombose microangiopática, agravar a função renal e aumentar a probabilidade de ocorrerem lesões neurológicas⁶.

A tabela 2 lista as indicações para terapêutica dialítica em doentes com SHU. Geralmente, em crianças, opta-se por realizar diálise peritoneal, embora não haja evidência de que esta seja preferível à hemodiálise⁶, com o objetivo de prevenir a sobrecarga de fluidos e evitar sintomas urémicos¹⁵.

- **Hipercaliémia** (concentração sérica de potássio > 6,5 mmol/L com alterações eletrocardiográficas)
- **Azoto ureico > 100 mg/dL**
- **Acidose persistente** (com bicarbonato < 10 mEq/L)
- **Hipertensão refratária à terapêutica médica**
- **Sobrecarga de volume com compromisso cardio-respiratório**
- **Oligúria ou anúria**
- **Necessidade de transfusões sanguíneas em doentes com hipertensão mal controlada**

Tabela 2. Indicações para terapêutica dialítica. Adaptado de Tarr, PI *et al*
1

O recurso à antibioterapia continua a ser controverso. Não existe um consenso na literatura quanto aos seus possíveis benefícios, ou se de facto está associada a um maior risco de desenvolver SHU. Os escassos estudos que abordaram esta questão são largamente inconclusivos, na medida em que se limitam geralmente a amostras pequenas e com elevada variabilidade entre si, recorrendo a regimes de antibióticos diversos e aplicados em fases distintas da doença. Habitualmente, os antibióticos são administrados nos casos mais graves, que têm tendencialmente uma maior propensão a desenvolver SHU, o que torna as suas conclusões enviesadas. Uma meta-análise de 2002 baseada em 26 estudos não revela um risco aumentado de desenvolver SHU se for instituída antibioterapia na infeção por *E. coli* O157:H7, referindo até um efeito protetor de alguns antibióticos como a Fosfomicina³⁷. No entanto, as conclusões deste estudo são fortemente baseadas num artigo que comparou o uso da Fosfomicina com outros antibióticos, sem que estes dados fossem comparados com um grupo de controlo não submetido a antibioterapia. Um estudo coorte prospetivo de 2000, baseado em 71 crianças com infeção comprovada por *E. coli* O157:H7, evidenciou um risco de cerca de 17,3 vezes superior de desenvolver SHU nas crianças sujeitas a antibiótico na fase aguda, um risco que se verificou tanto para sulfonamidas como para β -lactâmicos³¹. Este risco aumentado pode dever-se à lise de bactérias no intestino, aumentando a libertação da toxina Shiga e tornando-a mais disponível para absorção^{1,6,31}, ou induzindo os bacteriófagos onde

estão localizados os genes que a codificam^{1,6}. Assim, apesar desta falta de consenso quanto ao uso de antibióticos, aconselha-se que o seu uso se reserve para indicações específicas, nomeadamente nos casos raros em que esta infeção curse com bacteriémia e leve a quadros de sépsis. No entanto, as infeções por *Shigella dysenteriae* tipo 1 produtora de toxina Shiga cursam frequentemente com bacteriémia, e estão associadas a uma elevada taxa de mortalidade caso a antibioterapia não seja instituída precocemente, pelo que nestes casos esta é recomendada^{14,15}.

Agentes antimotilidade, ao diminuírem a excreção fecal da bactéria e das suas toxinas, estão contraindicados, por poderem exacerbar o SHU^{1,6,15}. Também se deve evitar narcóticos opióides (já que os seus metabolitos podem induzir convulsões durante a fase de insuficiência renal), bem como anti-inflamatórios não esteróides e inibidores da enzima de conversão da angiotensina (por diminuírem o fluxo sanguíneo renal)¹. Fármacos nefrotóxicos devem ser suspensos, e as doses de fármacos com eliminação renal devem ser ajustadas.

Relativamente ao tratamento da hipertensão, deve-se optar por fármacos vasodilatadores¹. Agentes diuréticos devem ser evitados por poderem exacerbar a depleção de volume, o que compromete a perfusão renal e pode agravar o processo trombótico, e os inibidores da enzima de conversão da angiotensina podem, igualmente, diminuir o fluxo sanguíneo renal, agravando o quadro de insuficiência renal.

É importante aferir, também, a presença de alterações sugestivas de complicações extra-renais, já que estas são uma importante causa de mortalidade na fase aguda. Caso se suspeite de envolvimento do SNC, pode ser importante a realização de um exame neurológico completo e o recurso a técnicas imagiológicas. Complicações pulmonares, cardíacas, pancreáticas ou outras devem ser avaliadas através da observação clínica e exames laboratoriais.

Num doente com infeção por ECPTS, podemos considerar que o risco de vir a desenvolver SHU é quase inexistente assim que a contagem plaquetar começar a subir, ou se estiver estável na ausência de sintomas¹.

Outras terapêuticas

O transplante renal raramente é necessário após SHU típico. No entanto, nos casos em que, a longo prazo, se desenvolve doença renal terminal (DRT), o transplante é uma opção terapêutica viável e segura, já que a recorrência do SHU típico é extremamente rara. De facto, a sobrevivência do enxerto 10 anos após o transplante é melhor em doentes que tiveram um episódio agudo de SHU, do que no transplante renal por outras doenças renais primárias^{14,15}.

Têm sido realizados estudos para aferir a eficácia do SYNSORB-Pk, um novo agente constituído por partículas de silicone ligadas ao recetor globotriaosilceramida¹⁵ que, administrado por via *per os*, se liga à toxina Shiga com elevada afinidade e a neutraliza. No entanto, não foi verificado qualquer benefício no seu uso face ao placebo na prevenção do SHU ou na gravidade da doença^{1,6,14,15}. Um novo agente inibidor da toxina Shiga, denominado STARFISH, tem sido estudado em modelos animais. É um composto hidrossolúvel capaz de ligar às 5 subunidades B da toxina¹⁴, com uma afinidade 1.000 vezes superior à do SYNSORB-Pk⁶ e que, administrado por via intravenosa, pode ser útil para prevenir que a toxina já em circulação provoque danos na microvasculatura renal¹⁴.

Outros fármacos deverão ser evitados, como heparina e agentes antitrombóticos (que aumentam o risco hemorrágico) e corticosteróides (que não têm qualquer efeito na progressão da doença e acarretam um risco aumentado de perfuração do cólon)^{1,15}.

A infusão de plasma e a plasmaferese são ineficazes em crianças com SHU típico, já que a microangiopatia trombótica não se deve a défice de ADAMTS13 ou a fatores que

possam ser removidos do plasma¹, e não melhoram o prognóstico renal a longo prazo ou a mortalidade^{15,24}.

Prognóstico

O prognóstico da forma típica do SHU é geralmente favorável, e é consideravelmente melhor do que nas restantes formas de SHU⁶. A taxa de mortalidade é de 3 a 5% e na maioria dos casos a morte ocorre durante a fase aguda^{6,14,15,37}, um valor que melhorou substancialmente com a ampla disponibilidade de técnicas dialíticas. De facto, a mortalidade em centros onde as terapêuticas de substituição renal não estão disponíveis pode chegar aos 70%¹². A mortalidade está quase sempre relacionada com complicações extrarrenais, geralmente atribuídas ao envolvimento do SNC^{6,12}, nomeadamente por Acidente Vascular Cerebral hemorrágico, edema cerebral ou aumento da pressão intracraniana, embora estejam descritos casos de morte por insuficiência cardíaca congestiva, envolvimento pulmonar e pancreático, entre outros¹². Nos doentes com complicações neurológicas durante a fase aguda, a mortalidade pode chegar aos 17%³⁴. Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de identificar preditores precoces de morte. Um estudo caso-controlo multivariáveis de 2006 realizado no Utah comprovou que a mortalidade foi consideravelmente superior em doentes que, no momento de admissão, apresentassem oligúria ou anúria, desidratação, leucocitose $> 20 \times 10^9/L$, hematócrito $> 23\%$ e letargia ou sinais precoces de envolvimento do SNC¹².

Apesar de ser uma doença geralmente benigna, com resolução completa e sem sequelas na maioria dos doentes, existem diversas complicações multiorgânicas que podem surgir a longo prazo, a maioria das quais está relacionada com a função renal. Cerca de 25% dos doentes que sobrevivem apresentam sequelas renais a longo prazo, e 3% desenvolvem DRT^{6,11}. Uma correta avaliação do prognóstico renal a longo prazo é fundamental para o

seguimento e monitorização dos doentes. Apesar de não existir consenso na literatura sobre quais os indicadores a valorizar na avaliação do prognóstico, a severidade e duração da doença aguda parecem ter uma correlação direta com a probabilidade de surgimento de sequelas renais^{1,3,6,15}. Uma revisão de 2003 baseada em 49 estudos, com 3476 doentes, concluiu que fatores como a leucocitose $> 20 \times 10^9/L$, a elevação sérica da creatinina ou do azoto ureico, os sintomas neurológicos, a presença de colite isquémica ou hipertensão e uma oligúria ou anúria de duração prolongada, bem como a necessidade prolongada de diálise, estão associados a um prognóstico renal mais desfavorável¹¹. Os doentes com necrose cortical, ou com envolvimento glomerular superior a 50%, também parecem apresentar um risco aumentado de alterações renais crónicas¹⁵. No entanto, mesmo os doentes com formas clinicamente mais ligeiras podem apresentar sequelas renais a longo prazo, incluindo proteinúria, hipertensão arterial e insuficiência renal crónica. O padrão histológico observado em doentes que apresentam alterações da função renal a longo prazo, após episódio agudo de SHU, é geralmente de glomeruloesclerose focal e segmentar^{6,15,33}.

As sequelas extrarrenais ocorrem em até 5% dos casos¹⁵ e incluem défices neurológicos, particularmente na forma de hiperatividade, défices de atenção e problemas de coordenação motora⁶, bem como alterações a nível gastrointestinal, como estenoses do cólon e formação de cálculos biliares pigmentados, como consequência da hemólise^{1,6}. Numa pequena percentagem pode haver *Diabetes mellitus* permanente ou transiente⁶.

O prognóstico dos doentes que desenvolvem SHU após infeção por *Shigella dysenteriae* tipo 1 afigura-se mais sombrio, com uma mortalidade de cerca de 30%¹. No decorrer da doença, a maioria destes doentes desenvolve bacteriémia/choque séptico, coagulação intravascular disseminada e necrose cortical aguda¹⁴.

Perspetivas para o Futuro

Existem novas abordagens terapêuticas atualmente em estudo, nomeadamente anticorpos monoclonais humanizados anti-toxina Shiga, inibidores do TNF- α e inibidores de fatores do complemento⁶. Em ratos, a administração oral de bactérias recombinantes que expressam recetores para a toxina Shiga, ligando-se a esta no intestino, parece ter resultados promissores¹⁴. No entanto, acredita-se que uma abordagem preventiva que passe por uma correta vigilância e declaração dos casos de doença, associados a melhores medidas de higiene e de vacinação animal, bem como uma regulação alimentar adequada no controlo de alimentos e bebidas contaminados, constituirão medidas de sucesso na diminuição da prevalência da doença^{11,14}.

Síndrome Hemolítico Urémico atípico

A variante atípica do SHU (SHUa) é um grupo heterogêneo de patologias que compreende todos os casos que não surgem após infecção por uma bactéria produtora de toxinas da família Shiga. Corresponde a 10% do total de casos do SHU^{2,5,13,16,38,39}, com uma incidência entre 2-7 casos por 1.000.000 pessoas por ano^{2,14,40}. Constitui uma forma de MAT com elevada morbimortalidade, geralmente com pior prognóstico que o SHU causado por infecção por ECPTS^{4,40}, com um curso mais agressivo, pior resposta ao tratamento médico e maior taxa de recorrência e complicações. Ao contrário da forma típica, o SHUa tem uma distribuição uniforme ao longo do ano^{13,38} e, embora a maioria dos doentes desenvolva a doença antes dos 10 anos, pode ocorrer desde o período neonatal até à idade adulta, existindo até casos descritos de SHUa após os 60 anos^{40,41}. O curso clínico da doença pode mimetizar a PTT e as restantes MAT e, de facto, apenas nos anos 70 foi reconhecido como uma entidade distinta^{3,4,42}. Apresenta envolvimento predominantemente renal, que pode ir desde a azotémia moderada reversível à falência renal severa e irreversível⁴², embora manifestações extrarrenais (principalmente neurológicas e cardíacas) sejam relativamente comuns⁴. Manifesta-se habitualmente pela tríade clássica de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e LRA; no entanto, os doentes podem apresentar contagens plaquetares normais e, em casos mais raros, pode cursar com síndrome nefrótico^{14,43}. O prognóstico é reservado, com mortalidade de cerca de 25% na fase aguda e 50% dos doentes progridem para DRT^{2,3,13,16,39}.

Apesar de a etiologia não ser conhecida em grande parte dos casos, reconhece-se que na maioria dos casos está associado a hiperativação do sistema complemento, resultante de mutações específicas de genes que codificam elementos da via alternativa. Os defeitos na cascata do complemento surgem tanto nas formas esporádicas como nas familiares e, embora

frequentemente não sejam suficientes para despoletar a doença, constituem fatores de risco major que levam ao SHUa na presença de fatores desencadeantes de vários tipos, que incluem infecções bacterianas ou víricas, doenças sistêmicas, defeitos metabólicos, neoplasias, gravidez, transplantes e diversos fármacos^{2,3,14,38,39,44}.

Os casos familiares, que constituem menos de 3% do total de casos de SHU¹⁴, estão relacionados com defeitos genéticos em genes que codificam proteínas reguladoras da via alternativa do complemento, alterações presentes em pelo menos 50% dos casos^{2,16,38}. Podem seguir padrões de hereditariedade autossômica recessiva ou autossômica dominante^{3,13,14,16}, embora a maioria dos casos siga um padrão dominante com penetrância variável^{5,40}. As formas autossômicas recessivas estão associadas a um início mais precoce da doença, geralmente em crianças^{3,14}, e a pior prognóstico, com mortalidade de 60-70%^{3,14}. Por outro lado, as formas autossômicas dominantes são mais comuns em adultos, e têm uma taxa combinada de morbidade e DRT de 50-90%^{3,14,16}. Em ambos os casos é frequente a existência de uma história familiar de SHU, geralmente com idade de início semelhante, e as taxas de recorrência são elevadas. É comum a existência de familiares que sejam portadores assintomáticos de mutações semelhantes em componentes do complemento, sugerindo que estas mutações constituam fatores predisponentes, mas não suficientes, para causar SHU. Os casos esporádicos também estão associados às mesmas anomalias genéticas e, apesar de poderem ser despoletados por diversos fatores, 50% dos casos são idiopáticos^{13,16}, podendo estar associados a mutações ou polimorfismos ainda desconhecidos.

SHU associado a Distúrbios da Regulação do Complemento

Introdução

O sistema Complemento, parte do sistema imune inato, consiste numa complexa rede de mais de 30 proteínas plasmáticas, reguladores membranares e recetores em constante interação, com o objetivo de proteger o hospedeiro contra agentes patogénicos. O sistema está organizado em 3 vias de ativação distintas: a via clássica, ativada por complexos anticorpo-antígeno; a via da lectina, ativada através da ligação da lectina sérica a resíduos de manose na superfície de agentes patogénicos; e a via alternativa, ativada pela ligação de proteínas do complemento à superfície bacteriana, e que se distingue das restantes por ser constantemente ativada na circulação por hidrólise espontânea de C3^{2,4,14,33}. Todas as vias de ativação culminam na formação de C3-convertases^{2,14}, complexos de proteases responsáveis por clivar C3, o elemento central do Complemento.

A via alternativa é responsável pela amplificação da cascata do complemento. Nesta via, moléculas de C3 plasmáticas, na sua forma inativa, são hidrolisadas espontaneamente na anafilatoxina C3a e em C3b. Por sua vez, C3b é depositado na superfície de quase todas as células em contacto com o plasma^{5,16}, incluindo bactérias e células do hospedeiro, sinalizando as células para que sofram opsonização por fagocitose mediada por macrófagos e neutrófilos^{2,5,14}. Por outro lado, C3b também participa na formação da C3-convertase da via alternativa, a C3bBb, um complexo enzimático de semivida curta estabilizado pela Properdina plasmática^{5,45} e que, por sua vez, é responsável por aumentar a clivagem de C3 em C3a e C3b^{5,39}, amplificando a formação de produtos ativos. A esta C3-convertase ligam-se fragmentos adicionais de C3b^{4,45,46} formando a C5-convertase (C3b2Bb), um complexo

enzimático responsável clivagem de C5 na anafilatoxina C5a e em C5b, que inicia a montagem do Complexo de Ataque à Membrana (MAC)^{46,47}, uma estrutura semelhante a um poro que forma canais transmembranares nas células, promovendo a sua lise^{5,47}, e que também estimula a secreção de citocinas pró-inflamatórias e a expressão de moléculas de adesão³⁹.

Esta via depende de uma fina regulação dependente de uma série de proteínas reguladoras plasmáticas (Fator H do Complemento (CFH) e Fator I do Complemento (CFI)) e ancoradas a membranas (Proteína Co-fator de Membrana (MCP/CD46), Trombomodulina, Recetor do Complemento 1 (CR1/CD35), Fator Acelerador do Decaimento (DAF/CD55), Proteína Inibidora do MAC/CD59), sem a qual a deposição de C3b na superfície de células do hospedeiro desencadearia uma ativação descontrolada da cascata do complemento, com consumo dos seus fatores. A Figura 3 representa, esquematicamente, a Via Alternativa do Complemento, bem como o papel de CFH, CFI e CFB na sua regulação.

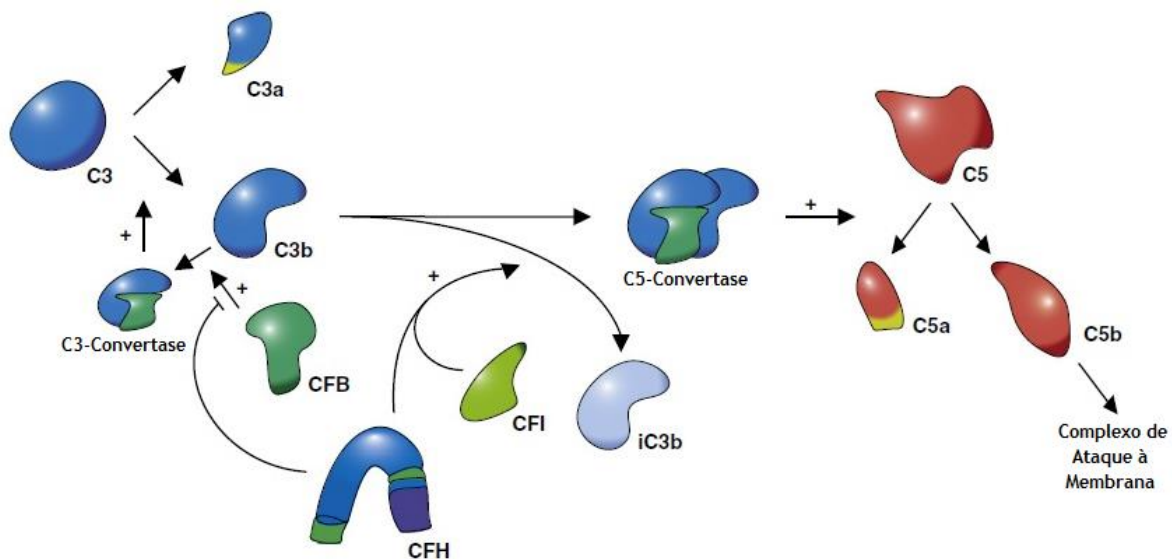


Figura 3. Via Alternativa do Complemento. Adaptado de Boels, MGS *et al*³⁹

No SHUa são conhecidas mutações em diversas proteínas do complemento, nomeadamente mutações inativadoras em proteínas que regulam negativamente a via alternativa (CFH, CFI, MCP, Trombomodulina) ou mutações de ganho de função em proteínas ativadoras da via alternativa (C3, Fator B do Complemento (CFB)).

Factor H (CFH)

As primeiras alterações genéticas associadas ao SHUa foram descobertas por Warwicker *et al* em 1998 no cromossoma 1q32², onde se localiza um cluster genético conhecido como RCA (Regulators of Complement Activation). Esta região contém genes que codificam várias proteínas envolvidas no complemento, nomeadamente CFH, CFHR1, CFHR2, CFHR3, CFHR4, CFHR5 e MCP^{2,4,9,45}. O primeiro gene analisado codifica o Fator H do complemento, uma glicoproteína sérica de síntese hepática^{2,46} de cadeia única, de 155 kDa^{14,39}, que corresponde ao principal regulador plasmático da via alternativa do complemento. É constituído por 20 unidades homólogas designadas por SCR (short consensus repeats)^{14,16}, cada uma com 60 aminoácidos^{5,39}. Esta proteína regula negativamente a via alternativa através da sua atividade como co-fator do CFI, contribuindo para a degradação de C3b^{4,14,16,45} e pelo controlo do decaimento da C3-convertase C3bBb^{2,4,14,16}, funções que se são da responsabilidade do domínio N-terminal da proteína¹⁶ (localizadas em SCR1-4¹⁴). Além de exercer esta atividade a nível plasmático, também exerce a sua função protetora a nível membranar, através do seu domínio C-terminal, que contém 3 locais de ligação a polianiões (incluindo glicosaminoglicanos presentes na superfície de células endoteliais e da membrana basal do glomérulo^{2,16}) em SCR7, SCR13 e SCR19-20, e 2 locais de ligação ao C3b depositado nas membranas em SCR12-14 e e SCR19-20, ligação pela qual compete com CFB^{10,14,45}.

As mutações no gene do CFH são as mais comuns no SHUa⁹, podendo estar presentes em até 25% dos casos^{4,41,42,45}. Existem mais de 100 mutações neste gene associadas ao SHUa⁴⁶, a maioria das quais ocorre no domínio C-terminal, geralmente em SCR19-20^{5,39,48}, impedindo a proteína de se ligar a glicosaminoglicanos e a C3b presentes na superfície celular. A maioria das mutações tem hereditariedade autossômica dominante^{2,5,16,47} e são geralmente mutações pontuais “missense”, que levam à alteração de um aminoácido ou à formação de um codão “stop” prematuro, provocando interrupção da sua tradução^{10,16}. No primeiro caso, existem níveis plasmáticos normais de CFH e este continua a exercer a sua função a nível plasmático, mas deixa de se poder ligar às células, perdendo a sua ação reguladora do complemento na superfície celular. No segundo caso, origina-se uma proteína truncada cuja, exportação do retículo endoplasmático está impedida, pelo que fica retida no interior da célula, cursando com níveis séricos de CFH reduzidos^{10,16,49}. Nos casos em que existe uma CFH mutante no plasma, esta exerce um efeito de dominância negativa^{16,39}, já que se associa à proteína normal no plasma formando oligómeros e impedindo a sua função reguladora. Curiosamente, as mutações homozigóticas no gene CFH, que levam a uma ausência completa deste fator, não induzem SHUa mas sim Glomerulonefrite Membranoproliferativa tipo II^{2,4,5,14,39}, também conhecida como Doença dos Depósitos Densos. O facto de não ocorrer SHUa nestes casos deve-se à existência de uma hiperativação tão intensa da via alternativa do complemento que todo o C3 é consumido, deixando de estar disponível para que possa haver lesão endotelial mediada pelo complemento⁵.

Existem, ainda, 5 genes que codificam proteínas relacionadas com o fator H, designadas por CFHR 1 a 5. Estes genes estão adjacentes ao do CFH no RCA⁴, e a arquitetura desta região torna-a particularmente propícia a rearranjos genómicos⁴⁵ devido ao elevado grau de homologia entre as sequências. Esta proximidade predispõe à formação de um gene de fusão híbrido heterozigoto CFH-CFHR^{4,16}, formado pelo cross-over desigual entre CFH e

CFHR1^{16,45} com menor atividade na regulação do complemento, e que está presente numa pequena percentagem de doentes com SHUa.

Em até 10% dos doentes com SHUa, verificou-se a presença de um défice de CFH sem que fossem detetadas alterações no seu gene^{8,16,45,46}. Este défice deve-se à presença de autoanticorpos contra o Fator H. Estes anticorpos, geralmente do tipo IgG^{45,50}, ligam-se ao domínio C-terminal^{4,50} e diminuem a sua atividade plasmática, induzindo um défice funcional adquirido de CFH. A ligação de CFH ao C3b e à C3-Convertase C3bBb fica comprometida^{16,50}, induzindo um fenótipo semelhante ao das mutações inativadoras em CFH. Embora possam surgir isoladamente, a presença destes anticorpos está frequentemente associada à deleção homozigótica dos genes CFHR^{4,16,45}, particularmente de CFHR1 e CFHR3^{45,51,52}.

Factor I (CFH)

Em até 10% dos casos, está presente uma mutação num outro regulador plasmático, CFI^{8,16,45,46}. Esta serina protease, sintetizada predominantemente no fígado, tem o seu gene no cromossoma 4² (em 4q25⁴) e funciona como regulador do complemento ao clivar C3b e C4b^{2,16,45} na presença dos seus cofatores: CFH para a clivagem de C3b, C4b-binding protein para C4b; MCP e CR1 para ambas as reacções⁴⁵. Todas as mutações descritas são heterozigotas^{16,45,46} e são menos comuns que as mutações em CFH e em MCP⁴⁶. Geralmente originam codões stop induzindo paragem precoce na tradução, o que dá origem a uma proteína truncada¹⁰. Tal como as mutações em CFH, podem afetar tanto a secreção como a função da proteína, e podem cursar com níveis baixos ou com níveis normais de CFI sérico^{5,16}. Em ambos os casos, existe uma sobreativação da via alternativa do complemento, com consumo de C3 e de CFB², originando o quadro de SHUa.

Membrane Cofactor Protein (MCP)

O MCP é uma glicoproteína transmembranar que regula a via alternativa do complemento. Tal como CFH, o seu gene encontra-se em 1q32, e é expressa na maioria das células (com exceção dos eritrócitos²), sendo altamente expressado no endotélio glomerular¹⁴. É constituído por 3 módulos de controlo do complemento extracelulares, através dos quais exerce a sua função como inibidor do complemento, um domínio transmembranar e uma cauda citoplasmática¹⁴. Este regulador atua como cofator de CFI^{10,16,45} na clivagem de C3b e de C4b depositados na superfície das células. As mutações no gene que o codifica estão presentes em 10-15% dos doentes com SHUa^{16,41,45,53} e podem originar proteínas truncadas, que permanecem intracelulares², ou então interferir com a sua capacidade de ligação a C3b^{2,14}, deixando de exercer a sua função reguladora. Estão descritas formas de hereditariedade autossómica dominante e autossómica recessiva^{2,16}, com penetrância incompleta.

Trombomodulina

A Trombomodulina é uma glicoproteína transmembranar expressa em células endoteliais, com propriedades anti-coagulantes, anti-inflamatórias e citoprotectoras^{2,4,47}. Está ancorada às superfícies celulares por uma cauda citoplasmática pequena e um único domínio transmembranar^{2,47}. Esta proteína reguladora facilita a ativação mediada pela trombina da Proteína C^{47,54,55}, levando a uma diminuição da formação de trombina e à supressão da formação do coágulo. Na presença de CFH, a Trombomodulina facilita a inativação de C3b mediada por CFI^{16,47}, e favorece a ativação do Inibidor da Fibrinólise Ativável pela Trombina, um inibidor da fibrinólise que também inativa as anafilatoxina do complemento C3a e C5a^{2,4,16,39}. As suas propriedades anti-inflamatórias estão relacionadas com a capacidade de suprimir a mobilização de leucócitos⁴⁷ e de bloquear adesão de neutrófilos a células endoteliais⁵⁴.

O gene THBD que codifica a Trombomodulina, localizado em 20p11⁴, está mutado em cerca de 5% dos doentes com SHUa^{16,47,53}, geralmente em heterozigotia. As suas mutações são geralmente do tipo “missense”, originando uma proteína com atividade diminuída⁴⁵, e estão associadas a um aumento da lesão endotelial e a um estado pró-trombótico que contribuem para um aumento da suscetibilidade ao SHUa.

Fator B (CFB)

O CFB é uma proteína sérica que regula positivamente o complemento, cujo gene se encontra em 6p21⁴. Liga-se ao C3b depositado nas superfícies celulares^{5,16,39,45} formando um complexo que funciona como substrato para uma protease, o Fator D, e dá origem à C3-convertase da via alternativa C3bBb^{5,45,46}. Por sua vez, este complexo vai levar à clivagem de maiores quantidades de C3 plasmático, aumentando a amplificação da via alternativa. Mutações de ganho de função no gene CFB ocorrem em 1-2% dos doentes com SHUa^{16,51,53} e levam à formação de uma maior quantidade de C3bBb e, conseqüentemente, a uma maior ativação do complemento.

C3

Para além das mutações em CFB, também podem ocorrer mutações por ganho de função no gene que codifica a proteína do complemento C3^{8,16,45,49}. O gene, localizado em 19p13⁴ está mutado em até 10% dos doentes com SHUa^{16,53}. Estas mutações são geralmente heterozigotas¹⁶, e estão associadas a um aumento da clivagem de C3 nas formas ativas C3a e C3b, com conseqüente aumento da deposição de C3b nas superfícies celulares, e com maior formação da C3-convertase C3bBb, induzindo uma maior amplificação da via alternativa⁴⁵. Estas formas mutantes também comprometem a degradação de C3b, influenciando a normal

regulação do complemento¹⁶, e cursam geralmente com níveis séricos baixos de C3¹⁶, refletindo o seu consumo.

Fisiopatologia

Apesar de a presença de mutações em genes que codificam proteínas envolvidas no complemento estar fortemente associada ao desenvolvimento do SHUa, em grande parte dos casos estas alterações não são suficientes para causar a doença. A penetrância do SHUa em portadores de mutações em CFH, CFI, MCP e CFB é de 40-50%^{16,39,45} e ligeiramente mais baixa nas mutações em C3⁴⁵, pelo que existem portadores destas mutações que nunca chegam a desenvolver a doença. A penetrância pode ser significativamente superior em indivíduos com mutações simultâneas em mais que um dos genes mencionados^{5,8,16,45}, o que ocorre em cerca de 5% dos doentes com SHUa¹⁶, ou se existirem polimorfismos de risco^{5,16}, casos em que a probabilidade de ocorrer doença clínica é superior. Estes dados sugerem que esta redução da regulação da via alternativa continua a ser suficiente para controlar a ativação do complemento em condições normais, ocorrendo apenas SHUa na presença de circunstâncias que resultem em processos inflamatórios ou que cursem com um aumento da atividade do complemento, incluindo condições que levem à ativação do complemento diretamente (como infecções bacterianas ou víricas) ou indiretamente, por insulto endotelial (grupo onde se incluem várias doenças sistémicas, gravidez e fármacos). A tabela 3 enumera situações que, na presença de algum grau de suscetibilidade genética, podem despoletar o início do SHU.

<p>1) Infecção por bactéria produtora de toxina Shiga (<i>Escherichia coli</i>, <i>Shigella dysenteriae</i> tipo 1, <i>Citrobacter freundii</i>)</p> <p>2) Infecção gastro-intestinal não relacionada com toxina Shiga (<i>Clostridium difficile</i>, <i>Campylobacter</i>, Norovirus)^{2,13,45}</p> <p>3) Infecção do trato respiratório superior (<i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Bordetella pertussis</i>)^{4,45,46}</p> <p>4) Infecções víricas (VIH, Hepatite A e C, Citomegalovirus, Parvovirus B19, Influenza A (H1N1), HHV6 e outros)^{10,24,45}</p> <p>5) Vacinação (Hepatite B)^{45,51}</p> <p>6) Gravidez e período pós-parto</p> <p>7) Fármacos anticancerígenos, imunossupressores, anti-plaquetares e contraceptivos orais</p> <p>8) Neoplasias</p> <p>9) Transplantes de órgãos sólidos e hematopoiéticos</p> <p>10) Doenças Sistêmicas (Lupus Eritematoso Sistêmico, Esclerodermia, Síndrome Anti-fosfolipídico)</p> <p>11) Defeitos do metabolismo da Cobalamina</p>
Tabela 3. Situações que podem despoletar SHU

Na presença de um elevado grau de ativação da via alternativa do complemento, há um aumento da deposição de C3b nas superfícies celulares e, na ausência de regulação adequada, este processo culmina na formação de MACs e recrutamento de células inflamatórias, resultando na lesão do endotélio vascular. Esta lesão leva à exposição de fatores trombogênicos na íntima (nomeadamente colagénio, FvW e fibrinogénio¹⁶) às plaquetas e proteínas de coagulação plasmáticas^{4,42}, favorecendo um fenótipo pró-trombótico e consequente trombose de plaquetas-fibrina^{4,39,42}.

A lesão endotelial, à semelhança do que acontece no SHU após infecção por ECPTS, leva ao ingurgitamento e descolamento das células endoteliais^{16,42,45} (Figura 4, B), acumulação de proteínas e resíduos celulares no espaço subendotelial^{16,45} e espessamento de arteríolas e capilares, por hiperplasia mucóide da íntima^{16,45}. A ocorrência de trombos plaquetares na microvasculatura (Figura 4, A) induz uma trombocitopenia de consumo, e a sua presença, associada ao estreitamento luminal, provoca lesão dos eritrócitos e consequente anemia hemolítica microangiopática. O leito vascular do glomérulo renal é particularmente

suscetível a estas alterações, já que o endotélio fenestrado expõe continuamente a matriz subendotelial às proteínas do complemento em circulação, o que explica a predileção renal do SHUa. Surgem, com frequência, depósitos granulares de C3 nos glomérulos e arteríolas durante a doença aguda^{14,16}, e depósitos de fibrina ou fibrinogénio no glomérulo também podem ser observados à imunofluorescência⁴⁵. Os capilares glomerulares encontram-se frequentemente espessados e ocluídos por trombos de plaquetas e fibrina, podendo surgir também necrose fibrinóide da arteríola aferente e mesangiólise⁴⁵.

Clínica

A apresentação clínica é sobreponível à do SHU causado por infecção por ECPTS, embora a severidade dependa das alterações genéticas e dos agentes externos envolvidos na doença. Os episódios manifestam-se com trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática severa e LRA. A hipertensão arterial também é um achado comum na apresentação inicial⁵¹, e sintomas extrarrenais (particularmente neurológicos) surgem em 10-20% dos casos^{16,45}.

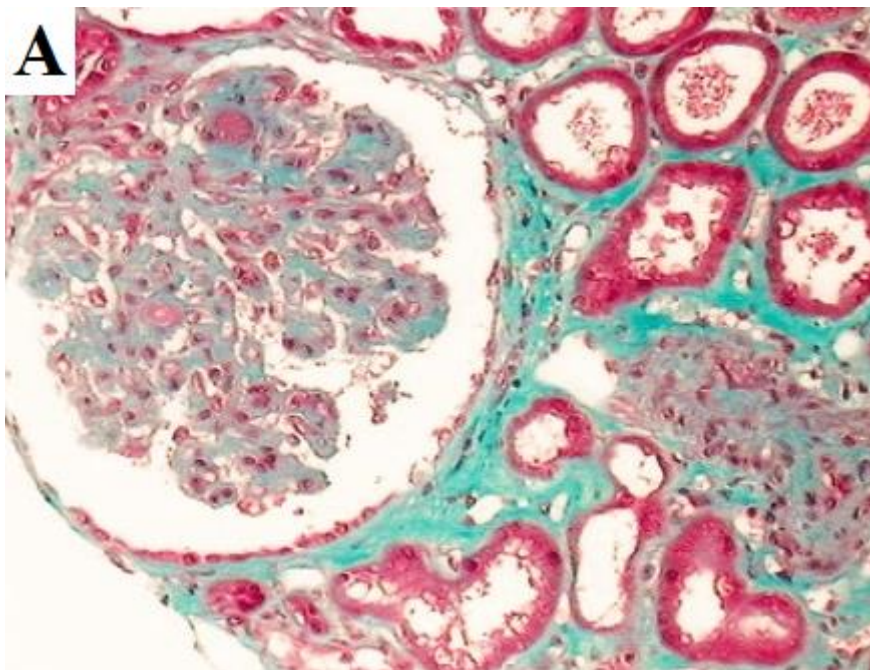




Figura 4. Biópsias renais de doentes com SHU associado a distúrbios da regulação do complemento. A: Doente com déficit de CFH. Nesta imagem de microscopia ótica observa-se congestão vascular, com trombos intracapilares e espessamento da parede capilar. B: Imagem de microscopia eletrónica de doente com mutação em C3. A cabeça de seta mostra aumento do espaço subendotelial, e a seta aponta para o descolamento do endotélio da membrana basal. Adaptado de Noris, M *et al*¹⁶

Prognóstico

O risco global de progressão para DRT é de 50%, podendo chegar aos 60% nas formas familiares^{5,14}. No entanto, o prognóstico a longo prazo é altamente variável, consoante a alteração genética subjacente. As mutações CFH e CFI estão associadas a maior risco de recorrência, DRT e mortalidade³⁸. No caso particular das mutações CFH, o risco combinado de morte ou DRT é de 60-80%^{16,24,53} e a sobrevivência dos doentes em alguns estudos é de apenas 50% aos 10 anos¹⁶, francamente mais baixa que nas mutações em CFI, C3 ou anticorpos anti-CFH, em que a sobrevivência aos 10 anos chega aos 80-90%¹⁶. A mutação MCP afigura-se como a que tem melhor prognóstico^{7,16,53} e, apesar de ter um curso geralmente recorrente, apenas 15-30% dos doentes evolui para DRT⁷, com bom prognóstico a longo prazo e com função

renal preservada na maioria dos doentes. Nos casos em que surgem mutações combinadas em vários genes, o prognóstico é mais difícil de prever.

O prognóstico renal depende, em grande escala, do início precoce do tratamento⁵. Fatores de mau prognóstico incluem a severidade da lesão renal à apresentação, a hipertensão, a oligoanúria e a necessidade de diálise^{38,45}. Dados como a idade de aparecimento, o facto de ser familiar ou esporádico ou a hipocomplementémia, por outro lado, não são preditores do prognóstico^{46,56}.

Investigação / Diagnóstico

O primeiro passo no diagnóstico do SHU relacionado com defeitos do complemento passa pela exclusão de outras causas de SHU, nomeadamente a infeção por ECPTS, a doença pneumocócica invasiva ou defeitos no metabolismo da cobalamina, e no adulto também se justifica a investigação da infeção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), a pesquisa de doenças sistémicas e a exclusão de possíveis causas medicamentosas^{24,36,38,43}. Dada a elevada sobreposição clínica e laboratorial, também se deverá excluir a presença de PTT, através do estudo da atividade da metaloproteinase ADAMTS13 sérica por ELISA^{24,43,45}. Os restantes casos em que se verifique a tríade habitual do SHU deverão ser estudados quanto a possíveis alterações relacionadas com a via alternativa do complemento.

De seguida, deverá ser feito um estudo de proteínas séricas envolvidas no complemento, através do doseamento de C3, C4, CFH, CFI e CFB plasmáticos^{5,24,36,45} por métodos imunohistoquímicos (nomeadamente imunodifusão radial, ELISA ou nefelometria)⁵, bem como a pesquisa de autoanticorpos anti-CFH através de ELISA⁵. Esta avaliação deve ser realizada antes do início da terapêutica²⁴. A expressão de MCP deve ser avaliada através de citometria de fluxo em leucócitos mononucleares do sangue periférico^{8,45,53}. Apesar de níveis

baixos de C3 serem habituais, níveis normais não excluem uma disfunção da via alternativa do complemento^{5,8,14,53}.

A etapa seguinte passa pela análise genética completa de mutações em todos os genes que conferem suscetibilidade ao desenvolvimento do SHU, incluindo os genes CFH, CFI, CFB, C3, MCP, THBD e CHFR1-5^{8,36,45,56}. Este estudo nem sempre é fácil, porque as mutações envolvidas são individualmente raras, e porque uma grande fração dos casos não estão associados a mutações conhecidas. Apesar de a identificação de genes mutados não ser necessária para o diagnóstico, esta avaliação justifica-se, já que as alterações genéticas envolvidas têm não só significado prognóstico, mas também implicações na terapêutica e follow-up. Em casos com mutações comprovadas, o estudo adicional de familiares pode fornecer algumas informações sobre a patogenicidade das mutações⁵⁶. No entanto, os resultados do estudo genético não devem atrasar o início do tratamento. Caso o doente tenha realizado uma transfusão sanguínea recente, a análise genética deve ser diferida em pelo menos 2 semanas⁵³.

Tratamento

A substituição de plasma como medida empírica é o tratamento de primeira linha do SHU relacionado com defeitos do complemento e, apesar da ausência de ensaios clínicos randomizados e estudos prospectivos, é defendido pelas *Guidelines* atuais^{7,8,36,56}. A Plasmaferese é a abordagem recomendada, e deve ser iniciada até 24 horas após a apresentação inicial do doente^{7,14,16,24,36,38,53} já que o início precoce está associado a menor grau de deterioração renal. Em cada sessão deve-se trocar cerca de 1,5 vezes o volume plasmático, isto é, 60 a 75 mL/kg de massa corporal³⁶, substituído por plasma fresco congelado^{36,53}. Inicialmente a Plasmaferese deve ser repetida diariamente durante 5 dias,

seguida de 5 sessões semanais durante 2 semanas e, posteriormente, 3 sessões semanais durante 2 semanas^{36,38,53,56}. A partir desta altura, a manutenção da Plasmaferese por períodos adicionais deverá ser uma decisão individual, baseada no grau de resolução da trombocitopenia e da hemólise^{36,53,56}, recomendando-se que não seja suspensa até que estes parâmetros se demonstrem estáveis durante alguns dias. Caso a Plasmaferese não esteja disponível ou esteja contraindicada por algum motivo, recomenda-se a Infusão de Plasma como alternativa, com infusão de 30-40mL/kg no primeiro dia e 10-20mL/kg por dia nos dias seguintes^{5,14,16,56}. No entanto a Plasmaferese apresenta vantagens evidentes, já que permite não só o aporte de fatores do complemento normais como a remoção de fatores mutados, autoanticorpos anti-CFH e outros fatores como citocinas que possam contribuir para a lesão endotelial, evitando ainda possíveis efeitos deletérios da Infusão de Plasma, como a sobrecarga de volume, a hipertensão arterial e o agravamento de uma insuficiência cardíaca^{4,5,14,15,46,53} podendo, todos estes, agravar a função renal. À terapêutica com plasma deve ser aliado o tratamento de suporte, que pode incluir transfusões, diálise e tratamento anti-hipertensivo, caso necessário⁵³. Durante o tratamento, é importante monitorizar os doentes com hemograma completo, eletrólitos e creatinina sérica diariamente, bem como uma monitorização apertada da tensão arterial e da presença de proteinúria.

Alguns doentes requerem Plasmaferese ou Infusão durante longos períodos de tempo. Para além da evolução clínica, a alteração genética subjacente também deverá ser um fator a ter em consideração durante a decisão da duração da terapêutica, já que o risco de recidiva após suspensão do tratamento depende da mutação envolvida. É importante ter em conta que a Plasmaferese é um tratamento apenas realizado em centros especializados, e que requer a colocação e manutenção de um cateter venoso central ou de fístula arteriovenosa, pelo que o tratamento a longo prazo apresenta potenciais riscos como infeções, trombose venosa central, hipotensão e hipocalcémia, particularmente em crianças^{24,53} e que, em casos raros, pode estar

associada ao desenvolvimento de reações anafiláticas severas ao plasma fresco congelado^{24,53} que podem impor a suspensão da terapêutica.

No caso particular da presença de autoanticorpos anti-CFH, a resposta à Plasmaferese isolada é transitória, mas o seu uso em combinação com imunossuppressores como corticosteróides, Ciclofosfamida, Azatioprina, Micofenolato mofetil e Rituximab (um anticorpo monoclonal anti-CD20) está associado a um melhor prognóstico^{16,24,43,46,53}. Os doentes com mutações no gene MCP, por sua vez, não têm indicação para realização de Plasmaferese, devido ao facto de se tratar de uma proteína estritamente transmembranar, mas a maioria dos doentes (80-90%^{16,24,53}) tem uma evolução favorável e remissão completa apenas com tratamento de suporte. Nas restantes mutações, encontra-se uma resposta favorável à plasmaferese em 60% das mutações CFH, 30-40% das CFI, 30% das CFB e 50% das C3^{16,24,53}.

A nefrectomia bilateral pode vir a ser necessária nos casos que apresentem hipertensão refratária, hemólise severa e trombocitopenia persistentes ou lesões de microangiopatia trombótica extensas na biópsia renal apesar da terapêutica^{5,56}.

Transplante

O transplante renal afigura-se como uma das opções terapêuticas nos doentes que evoluem para DRT. No entanto, o seu uso em doentes com SHUa é controverso já que, comparativamente ao SHU típico, o prognóstico após transplante renal isolado é consideravelmente pior, devido ao elevado risco de recorrência da doença. Este risco atribui-se ao facto de CFH, CFI, C3 e CFB serem proteínas de síntese hepática^{15,53,56}, pelo que os fatores mutados e, conseqüentemente, a hiperativação da via alternativa vão persistir após o transplante. Por outro lado, outros fatores como a terapêutica imunossupressora, as lesões isquémicas do enxerto, infeções víricas e anticorpos específicos do dador contribuem para

uma maior ativação do complemento após o transplante⁴⁵, favorecendo a recorrência do SHU e, conseqüentemente, a falência do enxerto. O maior risco de recorrência verifica-se para as mutações em CFH e CFI, podendo chegar aos 80%^{8,15,45,53,56}, e é de 40-50% nos portadores de mutações em C3^{16,57}. Dados quanto à taxa de recorrência em portadores de mutações em CFB, THBD ou mutações combinadas são menos claros, mas estudos sugerem um risco igualmente elevado, com vários casos descritos. Nos doentes com autoanticorpos anti-CFH a taxa de recorrência pode ser de apenas 20% se o transplante for associado à Plasmaferese profilática e à administração de Rituximab⁸. A recorrência ocorre, na maioria dos casos, no 1º mês após a cirurgia^{14,15}. Em contraste, os transplantes renais isolados em doentes com mutações em MCP têm bons resultados, já que se trata de uma proteína transmembranar altamente expressa no endotélio renal, pelo que o enxerto vai corrigir a alteração subjacente^{8,14,16,24}. O risco de recorrência neste grupo é negligenciável^{15,24}. Estas diferenças dramáticas no risco de recorrência e de perda do enxerto tornam o conhecimento da alteração genética subjacente fundamental quando se pondera o transplante renal.

Os transplantes renais de um dador vivo que seja familiar do doente também são desaconselhados já que, para além de estarem associados a maiores taxas de recorrência do SHU no enxerto, também podem despoletar a doença no dador, mesmo que o seu estudo genético não revele mutações em genes do complemento^{5,14,16,45}.

Nos doentes que têm mutações em fatores de síntese hepática, o transplante combinado fígado-rim é uma opção viável, na medida em que corrige a anomalia do complemento, prevenindo a recorrência. Atualmente recomenda-se que doentes com DRT e mutações em CFH ou CFI sejam considerados como candidatos para este transplante⁵⁶, enquanto que a informação quanto à sua utilidade em doentes com mutações em CFB ou C3 é ainda desconhecida. Os primeiros transplantes realizados estavam associados a falência hepática irreversível em grande parte dos casos^{15,53,56}, devido à ativação excessiva do complemento.

Atualmente, o protocolo recomendado inclui Plasmaferese profilática pré-operatória, bem como Infusão de Plasma perioperatória (após a hepatectomia e antes da implantação do enxerto), com o intuito de remover fatores do complemento alterados e fornecer um aporte de fatores normais, bem como anticoagulação profilática^{15,36,53,56} para contrariar o estado pro-trombótico no endotélio do enxerto⁵³, e está associado a uma elevada taxa de sucesso a longo prazo. Não existe consenso quanto aos protocolos de imunossupressão pós-transplante⁵⁶. Todavia, e apesar de os inibidores da calcineurina serem agentes potencialmente causadores de SHU, o seu uso após transplante renal não está contraindicado, já que não parecem estar associados a maior taxa de recorrência pós-transplante^{45,46}. Recomenda-se, então, que se sigam os protocolos habituais do centro em questão⁵⁶, com alguma precaução no uso dos inibidores da mTOR já que, para além de estarem associados a dificuldades na cicatrização e a um atraso no funcionamento do enxerto⁵⁶, também estão associados a uma taxa superior de recorrência da doença⁴⁵. O transplante hepático isolado, por outro lado, pode ser considerado em doentes que têm recorrências frequentes mas função renal nativa preservada^{53,56}.

Eculizumab

Recentemente, o desenvolvimento de um anticorpo monoclonal humanizado híbrido de IgG2/IgG4 com atividade contra a fração C5 do complemento denominado Eculizumab (e comercializado com o nome SOLIRIS®) tem demonstrado grande eficácia no tratamento do SHU associado a defeitos do complemento. Este composto de alta afinidade tem uma semivida média de 11 dias^{43,53}, com transferência transplacentar reduzida e, para níveis plasmáticos de 50-100µg/mL⁴³ é eficaz no bloqueio da cascata do complemento, através da inibição da conversão de C5 nos seus componentes efetores C5a e C5b^{15,43,46,58,59} e impedindo, conseqüentemente, a formação do MAC^{15,46,53}. Inicialmente o seu uso foi

aprovado em doentes com Hemoglobinúria Paroxística Noturna^{14,15,43,53} onde diminui marcadamente a hemólise intravascular^{40,43,53} e, em 2011, o seu uso no tratamento de adultos e adolescentes com SHUa foi aprovado pela US-FDA e pelo Comité Europeu de Medicamentos para Uso Humano⁴⁰. Também foi utilizado com sucesso em alguns casos na epidemia de SHU associada à infeção por ECPTS na Alemanha, mas o seu uso com esta indicação ainda não está aprovado⁴.

Inicialmente foi reportado como eficaz nos doentes que se revelavam resistentes à Plasmaferese, em que existe uma deterioração progressiva da função renal e/ou persistência da hemólise e trombocitopenia, bem como nos casos recorrentes ou em doentes com história familiar conhecida^{20,38,43,59}. Apesar de não existirem ensaios randomizados que comparem a sua eficácia com a da Plasmaferese, atualmente o uso deste fármaco como medida de primeira linha está aprovado^{4,38,43} e deverá ser ponderado em crianças dada a morbilidade associada à Plasmaferese. Nos casos em que é usado como tratamento de primeira linha, deverá ser instituído o mais precocemente possível, já que dessa forma está associado a uma melhor recuperação da função renal^{24,59}. Também tem eficácia demonstrada na prevenção da recorrência após transplante renal^{14,15,38,59}

O regime recomendado no adulto passa pela infusão intravenosa de 900 mg semanalmente durante 4 semanas, seguida de doses de manutenção de 1200 mg a cada duas semanas^{24,40,43}. Em crianças a dose é ajustada ao peso corporal, mas a posologia adequada ainda está em estudo^{24,53}. A duração do tratamento é controversa, já que a sua suspensão está associada a elevada taxa de recorrência da doença^{4,43,59}.

O principal efeito adverso da sua administração é o aumento da suscetibilidade a infeções por bactérias capsuladas, particularmente por *Neisseria meningitidis*^{4,38,40,43,53}. Por esta razão, recomenda-se que todos os doentes que iniciem o tratamento com Eculizumab sejam vacinados contra a infeção meningocócica, pelo menos 2 semanas antes da primeira

administração^{4,40,43,53}, e o uso sistemático de antibioterapia profilática durante o tratamento deve ser considerado^{43,53}.

Apesar de tudo, a sua utilização está associada a elevados custos, pelo que a Plasmaferese continua a ser a única opção disponível em vários países^{24,45}. Continuam em curso ensaios que procurem demonstrar a sua eficácia e segurança em crianças, bem como o seu uso a longo prazo.

Futuro

Os avanços recentes no conhecimento da fisiopatologia do SHU relacionado com défices do complemento e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, nomeadamente agentes biológicos, têm contribuído em grande escala para uma maior preservação da função renal dos doentes e, conseqüentemente, para a sua qualidade de vida, bem como para a possibilidade de oferecer um transplante renal eficaz nos casos que progridem para DRT. No entanto, torna-se cada vez mais essencial o desenvolvimento de métodos de avaliação genética rápidos, baratos e acessíveis em maior escala, de forma a que se possa ajustar devidamente a terapêutica às alterações presentes no doente e conhecer melhor o perfil de mutações genéticas associado ao SHU.

Recentemente também tem sido testado o uso de concentrados de CFH derivados de plasma humano^{7,14,16,46} e os ensaios atualmente em curso aparentam ter resultados promissores. A criação de CFH recombinante também está em desenvolvimento^{7,14}, e espera-se que possa vir a contribuir para o tratamento destes doentes.

SHU associado à Doença Pneumocócica Invasiva

O SHU pode surgir como complicação da Doença Pneumocócica Invasiva (DPI), constituindo a segunda principal causa infecciosa da doença. A maior prevalência verifica-se na infância, sendo as crianças com menos de 2 anos as mais afetadas². Esta forma é responsável por cerca de 5% dos casos de SHU em crianças, correspondendo a cerca de 40% da totalidade dos casos de SHU não atribuíveis a infeção por ECPTS^{2,24,60} e, apesar de surgir como complicação em apenas 0,4 a 0,6% das DPIs^{2,60}, tem elevada morbidade e é potencialmente fatal⁶.

A maioria dos casos desenvolve-se como complicação da pneumonia pneumocócica. Um estudo retrospectivo conduzido no Reino Unido, e que incluiu todos os casos de SHU após infeção estreptocócica entre 1998 e 2005, mostrou que 81% dos doentes apresentavam pneumonia e apenas 30% tinham meningite, embora a mortalidade fosse consideravelmente maior neste último grupo⁵⁷. O SHU é consequência da exposição do antigénio de Thomsen-Friedenreich, um antigénio crítico presente na superfície de plaquetas, eritrócitos e células endoteliais glomerulares^{15,60} e que, em condições normais, está protegido pelo ácido neuramínico. Todas as estirpes de *Streptococcus pneumoniae* produzem neuraminidase², uma enzima hidrolítica que cliva as ligações ao ácido neuramínico, removendo-o da superfície celular e expondo o antigénio previamente oculto. Este passa a ficar sujeito à ação de autoanticorpos IgM plasmáticos pré-formados, desencadeando uma reação contra as células que o expressam e induzindo lesão endotelial e agregação plaquetar, que culminam com o desenvolvimento do SHU. Este manifesta-se pela tríade habitual de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e LRA, que surgem geralmente 3 a 13 dias após o início do quadro infeccioso^{2,24}. O quadro clínico é geralmente mais severo que no SHU típico, com

envolvimento neurológico e dispneia numa maior percentagem dos casos^{14,15} e períodos mais longos de oligoanúria².

Ao contrário do SHU após infeção por ECPTS, o teste de Coombs é geralmente positivo^{4,10}, permitindo detetar os autoanticorpos ligados a eritrócitos em cerca de 90% dos doentes⁶⁰. Embora tenha baixa especificidade, este teste laboratorial permite distinguir o SHU da Coagulação Intravascular Disseminada (CID) que também pode surgir como complicação da DPI e que frequentemente se manifesta pela tríade que caracteriza o SHU, embora curse com aumento dos tempos de protrombina e de tromboplastina parcial ativada. Esta distinção tem significado terapêutico, já que a administração de plasma, frequentemente utilizada na CID, está contraindicada no SHU associado à infeção pneumocócica¹⁵.

Embora o diagnóstico definitivo requeira a presença de lesões de MAT na biópsia renal⁶⁰ (Figura 5), a presença da tríade clínica característica associada a evidência de DIP (por isolamento de *Streptococcus pneumoniae* no sangue, líquido cefalo-raquídeo, pericárdico, peritoneal ou pleural) na presença de um teste de Coombs positivo permite estabelecer o diagnóstico de SHU por infeção pneumocócica^{24,60}.

Dada a severidade das doenças pneumocócicas invasivas e do SHU associado, estes casos requerem tratamento de suporte adequado e antibioterapia¹⁵, que deve ser iniciada precocemente de forma empírica (com Cefalosporinas de 3ª geração e Vancomicina²⁴), e mais tarde ajustada, consoante o resultado de culturas com testes de suscetibilidade a antibióticos. A terapêutica com produtos sanguíneos com plasma (incluindo transfusões sanguíneas ou administração de plasma) está contra-indicada^{40,57}, já que contêm anticorpos contra o antigénio de Thomsen-Friedenreich, que podem agravar a lesão endotelial e acelerar a hemólise^{15,57}. A plasmaferese, sem administração de plasma como líquido de substituição, pode ser útil, já que contribui para a remoção da neuraminidase bacteriana e dos anticorpos do

plasma do doente^{24,57}. A corticoterapia não parece ser eficaz na prevenção ou tratamento do SHU²⁴.

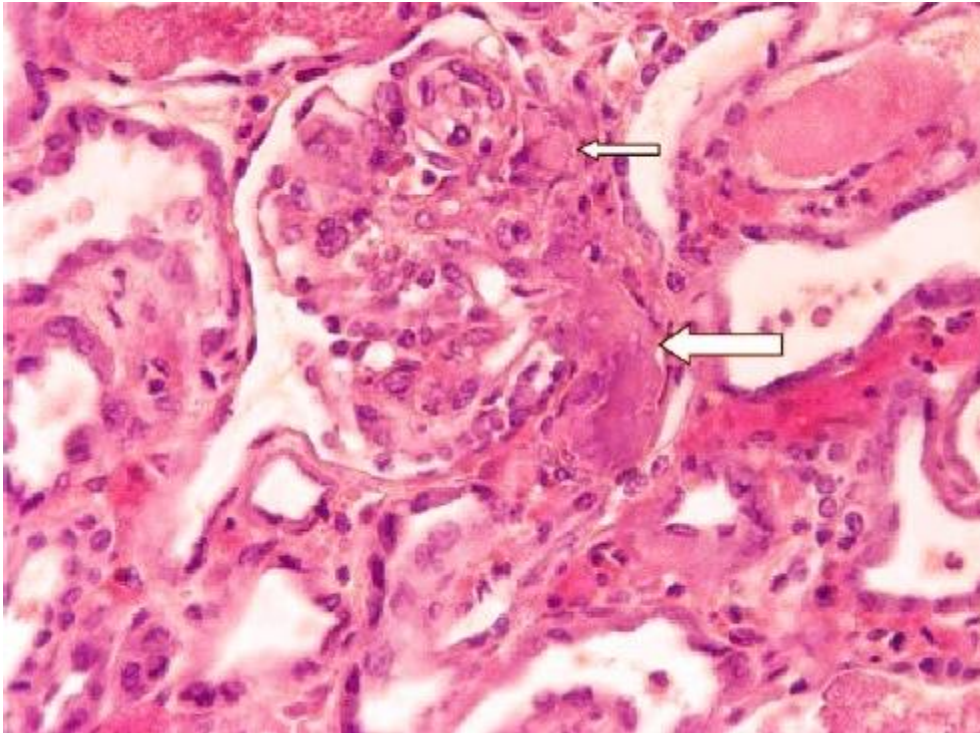


Figura 5. Biópsia renal de doente com SHU associado à doença pneumocócica invasiva. Nesta imagem de microscopia ótica é visível a presença de trombos intraglomerulares (seta pequena) e na arteríola aferente (seta grande). Adaptado de Copelovitch, L *et al*⁶⁰

A mortalidade durante a fase aguda é de 12-13%^{2,57,60} e decorre geralmente de complicações da infeção e não do SHU *per se*⁵⁷, sendo mais elevada no grupo de doentes que apresenta meningite pneumocócica⁶⁰. Dos pacientes que sobrevivem, cerca de 10% progridem rapidamente para DRT^{2,60}, e uma percentagem significativa desenvolve sequelas renais com DRC e hipertensão arterial. O prognóstico a longo prazo depende do grau de lesão renal na fase aguda, e não estão descritos casos de recorrência⁵⁷.

É interessante verificar que a vacina anti-pneumocócica 13-valente Prevenar-13 atualmente recomendada em Portugal pela Direção Geral de Saúde (embora não conste do Plano Nacional de Vacinação) previne a infeção pela maioria dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* capazes de provocar SHU⁶⁴, incluindo o serotipo 14, reconhecido como o

envolvido na maioria dos casos (35%)⁶⁰. A vacina 23-valente Pneumo-23, por sua vez, cobre a totalidade dos serotipos descritos como causadores de SHU, mas o seu uso em Portugal está licenciado apenas para utilização após os 2 anos de idade, excluindo assim a faixa etária onde a incidência desta patologia é mais elevada. No entanto, não existem estudos que analisem a influência destas novas vacinas na incidência do SHUa associado à infeção pneumocócica.

SHU associado à Gravidez

A gravidez, um período caracterizado pelo aumento do nível sérico de quase todas as proteínas reguladoras do complemento⁵⁵, é um dos principais gatilhos que pode despoletar o SHUa em mulheres com alguma predisposição para o desenvolver, pela presença de uma ou mais mutações em genes de proteínas reguladoras do complemento, polimorfismos nestes genes ou a presença de autoanticorpos, embora não seja uma condição suficiente *per si* para provocar a doença. O SHU pode surgir durante o final da gravidez ou no período pós-parto, e está associado a morbidade e mortalidade materna e perinatal consideráveis. É responsável por 10% da totalidade dos casos de SHUa⁵⁵ e até 20% dos casos de SHUa na mulher^{43,55,61}.

Durante a gravidez existem um aumento progressivo das concentrações séricas de C3, C4 e CH50⁶¹. Em condições normais, as lesões mediadas pelo complemento contra a interface materno-fetal da placenta são prevenidas pela expressão de reguladores do complemento na superfície do trofoblasto⁵⁵, nomeadamente DAF, MCP e CD59⁶¹, que regulam negativamente a via alternativa do complemento. No entanto, em mulheres que apresentam um controlo deficiente da via alternativa por mutações nos genes CFH, CFI, C3 e MCP, a hiperativação do complemento pode induzir SHU e levar a lesões placentares que predispõem para a perda fetal (4,6%) e pré-eclâmpsia (7,4%)⁶¹, um risco consideravelmente superior ao da população

normal. Algumas doentes podem progredir, em casos mais graves, para o síndrome HELLP¹⁴, uma forma caracterizada por hemólise microangiopática, aumento das enzimas hepáticas, trombocitopenia severa e falência renal, também associado a uma desregulação do complemento⁶¹. Estudos recentes mostram mutações no gene CFH em 20% das mulheres que desenvolvem SHUa associado à gravidez e no gene CFI em 15%¹⁶, e anomalias no complemento foram detetadas em até 86% dos casos, uma percentagem superior aos restantes subgrupos de SHUa⁵⁵.

O tratamento de primeira linha passa pela indução do parto³, aliado ao tratamento de suporte habitual (diálise para tratamento da LRA e controlo da hipertensão arterial severa), bem como Sulfato de Magnésio para tratamento/prevenção das convulsões. Apesar de isto conduzir a uma melhoria do quadro clínico, o prognóstico renal é reservado, com mais de 2/3 das mulheres a desenvolver DRT em menos de um mês^{55,61}, pelo que o tratamento com plasmaferese em altas doses também está recomendado. Caso surjam complicações hemorrágicas severas, pode ser necessário realizar transfusões de plaquetas³. O risco de recorrência após transplante renal é elevado (até 80% em 2 anos nas portadoras de mutações CFH⁵⁵). O uso do anticorpo monoclonal anti-CD5 Eculizumab poderá vir a constituir uma opção terapêutica nestes casos. Estudos relacionados com a sua utilização em casos de Hemoglobinúria Paroxística Noturna mostram um bom perfil de segurança na grávida, já que não atravessa a barreira placentária nem é excretado no leite materno^{55,61}. No entanto, o seu uso em casos de SHUa associados à gravidez carece de estudo adicional.

O SHUa também se pode desenvolver no período pós-parto, até 6 meses depois do mesmo¹⁵. Este período caracteriza-se por uma maior ativação sistémica da via alternativa do complemento devido a infeções, hemorragias e à inflamação decorrente do parto. É uma forma com mau prognóstico, com 50-60% de mortalidade^{3,14,15} e com sequelas renais severas e hipertensão nas mulheres que sobrevivem^{14,15}, sendo a recuperação renal completa

relativamente incomum. A base do tratamento é idêntica ao do SHUa que surge no fim da gravidez.

Dada a elevada morbimortalidade desta variante do SHUa, as mulheres portadoras de mutações conhecidas nos genes mencionados, tal como as mulheres grávidas com episódio de SHUa prévio, devem ser aconselhadas quanto ao risco de desenvolverem a doença e cuidadosamente monitorizadas ao longo da gravidez. A toma de fármacos com associação comprovada ao SHU deve ser evitada durante a gravidez, já que constitui um fator adicional que pode aumentar o risco de desenvolver a doença¹⁶.

SHU associado a Defeitos no Metabolismo da Cobalamina

Os distúrbios do metabolismo intracelular da cobalamina, nomeadamente a Doença da Cobalamina C, constituem um fator que predispõe para o desenvolvimento do SHUa^{5,8,13,51}. São formas de hereditariedade autossómica recessiva¹⁰, causadas por mutações no gene *MMACHC*^{4,5,36,51} e que se caracterizam por um défice na conversão de homocisteína em metionina e de metilmalonil-CoA em succinil-CoA¹³, levando à acumulação de ácido metilmalónico e homocisteína no sangue e tecidos, e ao aumento da sua excreção renal⁶². Os doentes manifestam sintomas como recusa alimentar, vómitos, letargia, hipotonia e convulsões^{10,13,36} tipicamente nos primeiros dias a semanas de vida ou, em casos mais raros, mais tardiamente na infância ou idade adulta⁶², e apenas uma minoria acaba por desenvolver SHUa⁶², possivelmente como consequência vascular dos níveis elevados de homocisteína¹⁰, que favorece um estado pró-coagulante⁶². Existe um rebate multissistémico, com

envolvimento respiratório, neurológico, hepático e renal¹⁰, mas a afeção renal nestes doentes é geralmente leve a moderada⁶². O SHUa nestes doentes também está associado a mutações em CFH^{8,51}.

A investigação laboratorial nestes doentes passa pela determinação das concentrações séricas e urinárias de homocisteína e ácido metilmalónico, podendo revelar também anemia megaloblástica e leucopenia^{4,36}. O estudo pode ser complementado pela análise da mutação no gene MMACHC. Apesar de estes doentes normalmente não responderem à infusão de plasma ou plasmaferese^{4,36}, o tratamento com hidroxicoalamina parentérica é geralmente eficaz^{4,62}.

SHU *de novo* pós-transplante

O SHU pode desenvolver-se após transplante renal em doentes cuja causa da DRT não era o SHU. Da mesma forma, estão descritos casos de SHU após transplante de células estaminais hematopoiéticas ou de órgãos sólidos, nomeadamente transplantes de coração, fígado e rim-pâncreas^{3,10,44}.

Estes doentes podem ter mutações em genes do complemento previamente desconhecidas mas, na maioria dos casos, o SHU desenvolve-se como consequência do uso de inibidores da Calcineurina. De facto, o SHU pode ocorrer em até 15% dos doentes transplantados que usam Ciclosporina A e 1-5% dos que usam Tacrolimus^{10,14,44} como agentes imunossuppressores, devido ao facto de terem vastos efeitos pro-trombóticos, incluindo o efeito citotóxico direto nas células endoteliais^{3,44}. Nestes casos a redução da dose do fármaco, a sua descontinuação e substituição da Ciclosporina A por Tacrolimus ou vice-versa^{3,10,44} ou o uso de alternativas como o Sirolimus¹⁴ pode causar regressão da doença. A

patogénese do SHU após transplante também pode estar relacionada com radio/quimioterapia, infecções oportunistas ou Doença do Enxerto contra Hospedeiro⁴⁴. Não existe indicação para realização de Plasmaferese nestes doentes, mas existem alguns casos em que o tratamento com Eculizumab demonstrou bons resultados⁴.

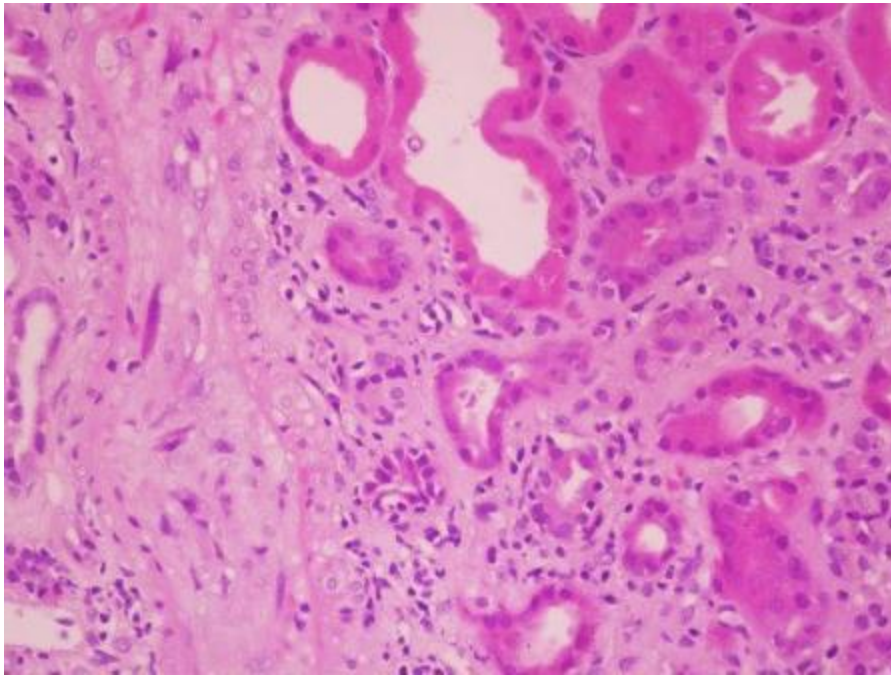


Figura 6. Biópsia renal de doente com SHU *de novo* pós-transplante. Nesta imagem de microscopia ótica observa-se necrose fibrinóide arteriolar, bem como colapso capilar. Adaptado de Ali, MNA *et al*⁶⁴

SHU associado à Infecção por VIH

A infecção pelo VIH é um fator de risco para patologia renal, podendo estar associado ao SHU numa fração considerável dos casos. É uma forma com mau prognóstico e que depende da gravidade da doença de base, com elevada mortalidade na SIDA avançada^{3,10}. Nos indivíduos infetados, o SHU corresponde à causa mais comum de LRA¹⁰, e presume-se que a sua fisiopatologia esteja relacionada com a lesão direta do endotélio pelo VIH. Apesar de não

existir consenso quanto ao tratamento ideal desta patologia, o tratamento da infecção por VIH aliado a medidas de suporte constituem a abordagem terapêutica mais comum⁴⁴. A Plasmaferese tem sido usada, embora com uma taxa de sucesso relativamente baixa^{3,44}. Fármacos imunossupressores e corticosteróides devem ser evitados³.

SHU induzido por Quinina

A Quinina, uma substância com propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas e antimaláricas, que também é usado como aditivo alimentar, pode estar associada ao desenvolvimento de SHU. São formas com bom prognóstico, que cursam com um quadro súbito de arrepios, vômitos, mialgia e oligúria, que surgem imediatamente após a exposição a este composto⁴⁴ e que têm geralmente remissão completa com a suspensão imediata da sua toma^{10,44}.

SHU induzido por Fármacos

Diversos fármacos podem estar na base do desenvolvimento do SHU, existindo também casos raros associados a algumas vacinas e a drogas ilícitas. Estes medicamentos incluem compostos anticancerígenos como Mitomicina C, Cisplatina, Gencitabina e Bleomicina, imunossupressores como Ciclosporina A e Tacrolimus e antiagregantes plaquetares, com maior incidência na Ticlopidina, mas também reportado com a toma de Clopidogrel^{10,14,44}. Parece existir uma associação entre o SHU e a toma de contraceptivos orais,

embora não esteja totalmente esclarecida¹⁰. É geralmente difícil comprovar, no entanto, se o SHU se deve diretamente aos fármacos em questão ou à patologia subjacente.

SHU associado a Neoplasias Malignas

O SHU também pode surgir como complicação de carcinomas disseminados, podendo complicar até 6% destes casos³. Na maior parte dos casos está relacionado com adenocarcinoma gástrico^{3,10}, embora também esteja descrito em casos de carcinoma do cólon, próstata, mama e, mais raramente, em casos de leucemia ou linfoma^{10,44}, podendo o SHU ser a primeira manifestação da neoplasia. A sua fisiopatologia está relacionada com a produção tumoral de compostos pró-coagulantes, a presença de êmbolos tumorais microvasculares e disfunção da fibrinólise⁴⁴. No entanto, muitos destes doentes são sujeitos a radio e quimioterapia e têm frequentemente complicações infecciosas, como a infeção por Citomegalovirus ou Herpesvirus humano-6¹⁰, pelo que o diagnóstico etiológico nem sempre é claro. A Mitomicina C, um agente antimitótico usado frequentemente no carcinoma gástrico e da mama¹⁰ está associado ao desenvolvimento de SHU em 2-10% dos casos¹⁴. O prognóstico é mau, com grande parte dos doentes a morrer algumas semanas após desenvolvimento do quadro de SHU^{3,14}, e o tratamento de suporte aliado ao tratamento da neoplasia subjacente são as únicas medidas terapêuticas eficazes^{3,44}.

SHU associado a Doenças Sistêmicas

Existem casos descritos de SHU como complicação de patologias autoimunes, principalmente associados ao Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) ou, em casos mais raros, Síndrome Antifosfolipídico, Esclerodermia, Doença de Behçet, Miastenia Gravis, Síndrome de Sjögren, Colite Ulcerosa ou outros^{10,44}. Os casos de SHU relacionados com LES surgem habitualmente em mulheres jovens⁴⁴ e geralmente outras manifestações do LES precedem o aparecimento do SHU. A fisiopatologia não é totalmente compreendida, e surge anemia hemolítica, trombocitopenia, hipertensão severa e disfunção renal com graus variáveis de proteinúria^{10,44}. Estas formas têm mau prognóstico, com mortalidade elevada, e tratam-se habitualmente com Plasmaferese, Prednisolona e/ou Ciclofosfamida^{10,44}.

Conclusões

A última década apresentou avanços notáveis no que diz respeito ao SHU, particularmente no que concerne à influência da cascata do complemento nas formas atípicas desta patologia. No entanto, o facto de uma percentagem tão elevada dos casos ser idiopática sugere que existam ainda mutações por conhecer, ou que estejam envolvidos outros fatores até agora desconhecidos. Apesar de atualmente se conhecerem inúmeros agentes envolvidos na patogénese da doença, interessa ainda descobrir de que forma estas causas secundárias podem provocar o SHU e perceber, dada a penetrância incompleta da doença, por que razão apenas alguns dos indivíduos expostos a estes fatores, mesmo na presença de algum grau de suscetibilidade genética, têm diferente expressão fenotípica.

Relativamente ao SHU típico, a epidemia de *E. coli* enterohemorrágica na Alemanha permitiu trazer esta patologia à atenção da comunidade científica, e constituiu uma oportunidade de investigação única pela grande quantidade de pessoas envolvidas. No entanto há ainda informações por explorar, nomeadamente os mecanismos moleculares inerentes à interação entre a toxina Shiga, os fatores do complemento e as células endoteliais, e as razões pelas quais esta interação ocorre predominantemente no rim e em crianças. Dada a importância da instituição precoce da terapêutica, é fundamental que médicos, particularmente nos serviços de Urgências, estejam sensibilizados para os sinais clínicos e história natural do SHU, de forma a poderem identifica-lo o mais rapidamente possível.

Apesar dos avanços no que diz respeito ao conhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos associados ao SHU, o tratamento continua a ser, na maioria das vezes, apenas de suporte, com particular importância da Plasmaferese, ainda que com indicações precisas mas nem sempre identificadas por estudos genéticos apropriados. Continua a haver uma percentagem significativa de doentes a morrer na fase aguda ou a progredir para DRT o que,

para além de representar custos elevados para o Serviço Nacional de Saúde, tem um rebote significativo na qualidade de vida dos doentes. O desenvolvimento de métodos de diagnóstico laboratorial e genético rápidos e acessíveis, aliados ao estudo e disponibilização em grande escala de agentes terapêuticos dirigidos, tal como a inibição terminal do complemento ou a neutralização da toxina Shiga, continuam a ser uma prioridade para que a morbilidade e mortalidade desta doença continuem a diminuir.

Bibliografia

1. Tarr PI, Gordon C a, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 2005; **365**: 1073–86.
2. Keir L, Coward RJM. Advances in our understanding of the pathogenesis of glomerular thrombotic microangiopathy. *Pediatr. Nephrol.* 2011; **26**: 523–33.
3. Pisoni R, Remuzzi G. Thrombotic microangiopathy. *Eur. J. Intern. Med.* 2000; **11**: 135–139.
4. Barbour T, Johnson S, Cohn S, *et al.* Thrombotic microangiopathy and associated renal disorders. *Nephrol. Dial. Transplant* 2012; **27**: 2673–85.
5. Jokiranta TS, Zipfel PF, Fremeaux-Bacchi V, *et al.* Where next with atypical hemolytic uremic syndrome? *Mol. Immunol.* 2007; **44**: 3889–900.
6. Scheiring J, Andreoli SP, Zimmerhackl LB. Treatment and outcome of Shiga-toxin-associated hemolytic uremic syndrome (HUS). *Pediatr. Nephrol.* 2008; **23**: 1749–60.
7. Loirat C, Garnier A, Sellier-Leclerc A-L, *et al.* Plasmatherapy in atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin. Thromb. Hemost.* 2010; **36**: 673–81.
8. Taylor CM, Machin S, Wigmore SJ, *et al.* Clinical practice guidelines for the management of atypical haemolytic uraemic syndrome in the United Kingdom. *Br. J. Haematol.* 2010; **148**: 37–47.

9. Sullivan M, Erlic Z, Hoffmann MM, *et al.* Epidemiological approach to identifying genetic predispositions for atypical hemolytic uremic syndrome. *Ann. Hum. Genet.* 2010; **74**: 17–26.
10. Besbas N, Karpman D, Landau D, *et al.* A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. *Kidney Int.* 2006; **70**: 423–431.
11. Garg AX, Suri RS, Rosas-arellano MP, *et al.* Long-term Renal Prognosis of Diarrhea-Associated Hemolytic Uremic Syndrome - A Systematic Review, Meta-analysis, and Meta-regression. *J. Am. Med. Assoc.* 2003; **290**: 1360–1370.
12. Oakes RS, Siegler RL, McReynolds M a, *et al.* Predictors of fatality in postdiarrheal hemolytic uremic syndrome. *Pediatrics* 2006; **117**: 1656–62.
13. Amirlak I, Amirlak B. Haemolytic uraemic syndrome: an overview. *Nephrology (Carlton)*. 2006; **11**: 213–8.
14. Noris M, Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; **16**: 1035–50.
15. Floege J, Johnson R, Feehally J. *Comprehensive Clinical Nephrology*. 4th Editio. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2010:344–355.
16. Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2009; **361**: 1676–87.
17. Rasko D, Webster D, Sahl J, *et al.* Origins of the E. coli strain causing an outbreak of hemolytic–uremic syndrome in Germany. *N. Engl. J. Med.* 2011; **365**: 709–717.

18. Frank C, Werber D, Cramer J. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104: H4 outbreak in Germany. *N. Engl. J. Med.* 2011; **365**: 1771–1780.
19. Menne J, Nitschke M. Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104: H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *Br. Med. J.* 2012; **345**: e4565.
20. Vilalta R, Lara E, Madrid A, *et al.* Long-term eculizumab improves clinical outcomes in atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2012; **27**: 2323–6.
21. Anon. Haemolytic uraemic syndrome. *Alberta Heal. - Public Heal. Notif. Dis. Manag. Guidel.* 2013.
22. Struelens MJ, Palm D, Takkinen J. Enteroaggregative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104 : H4 outbreak : new microbiological findings boost coordinated investigations by European public health laboratories. *EuroSurveillance* 2011; **16**.
23. Buchholz U, Bernard H, Werber D, *et al.* German outbreak of *Escherichia coli* O104: H4 associated with sprouts. *N. Engl. J. Med.* 2011; **365**: 1763–1770.
24. Loirat C, Saland J, Bitzan M. Management of hemolytic uremic syndrome. *Press. médicale* 2012; **41**: e115–35.
25. Beutin L, Hammerl JA, Strauch E, *et al.* Spread of a distinct Stx2-encoding phage prototype among *Escherichia coli* O104:H4 strains from outbreaks in Germany, Norway, and Georgia. *J. Virol.* 2012; **86**: 10444–55.
26. Scheutz F, Nielsen EM, Frimodt-Møller J, *et al.* Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of

haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. *Euro Surveill. Eur. Commun. Dis. Bull.* 2011; **16**: 1–6.

27. Friedrich A. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4: are we prepared now? *Euro Surveill. Eur. Commun. Dis. Bull.* 2011; **16**: 1–2.

28. Askar M, Faber MS, Frank C, *et al.* Update on the ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *EuroSurveillance* 2011; **16**: 4–6.

29. Jansen A. Highlights from the clinical symposium on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* / haemolytic uremic syndrome, Berlin, September 2011. *Euro Surveill. Eur. Commun. Dis. Bull.* 2011; **16**: 1–2.

30. Jansen A, Klelstein J. The new face of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* infections. *Euro Surveill. Eur. Commun. Dis. Bull.* 2011; **16**.

31. Wong C, Jelacic S, Habeeb R, *et al.* The risk of the hemolytic–uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157: H7 infections. *N. Engl. J. Med.* 2000; **342**.

32. Schifferli A, von Vigier RO, Fontana M, *et al.* Hemolytic-uremic syndrome in Switzerland: a nationwide surveillance 1997-2003. *Eur. J. Pediatr.* 2010; **169**: 591–8.

33. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, *et al.* *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18th ed. McGraw-Hill Education - Europe; 2011.

34. Nathanson S, Kwon T, Elmaleh M, *et al.* Acute neurological involvement in diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2010; **5**: 1218–28.

35. Lerma E V, Berns JS, Nissenson AR. *Current Diagnosis & Treatment: Nephrology & Hypertension*. 1st ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2009:288–295.
36. Ariceta G, Besbas N, Johnson S, *et al*. Guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea-negative hemolytic uremic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2009; **24**: 687–96.
37. Safdar N, Said A, Gangnon RE, *et al*. Risk of Hemolytic Uremic Syndrome After Antibiotic Treatment of Escherichia coli O157:H7 Enteritis - A Meta-analysis. *J. Am. Med. Assoc.* 2002; **288**: 996–1001.
38. Ruebner RL, Kaplan BS, Copelovitch L. A time for reappraisal of “atypical” hemolytic uremic syndrome: should all patients be treated the same? *Eur. J. Pediatr.* 2012; **171**: 1519–25.
39. Boels MGS, Lee DH, van den Berg BM, *et al*. The endothelial glycocalyx as a potential modifier of the hemolytic uremic syndrome. *Eur. J. Intern. Med.* 2013; **24**: 503–9.
40. Schmidtko J, Peine S, El-Housseini Y, *et al*. Treatment of atypical hemolytic uremic syndrome and thrombotic microangiopathies: a focus on eculizumab. *Am. J. kidney Dis.* 2013; **61**: 289–99.
41. Sellier-Leclerc A-L, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey M-A, *et al*. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; **18**: 2392–400.
42. Tsai H-M. Untying the knot of thrombotic thrombocytopenic purpura and atypical hemolytic uremic syndrome. *Am. J. Med.* 2013; **126**: 200–9.

43. Fakhouri F, Frémeaux-Bacchi V, Loirat C. Atypical hemolytic uremic syndrome: from the rediscovery of complement to targeted therapy. *Eur. J. Intern. Med.* 2013; **24**: 492–5.
44. Copelovitch L, Kaplan BS. The thrombotic microangiopathies. *Pediatr. Nephrol.* 2008; **23**: 1761–7.
45. Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin. Nephrol.* 2013; **33**: 508–30.
46. Loirat C, Noris M, Frémeaux-Bacchi V. Complement and the atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr. Nephrol.* 2008; **23**: 1957–72.
47. Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, *et al.* Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2009; **361**: 345–57.
48. Caprioli J, Noris M, Brioschi S, *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.
49. Goldberg RJ, Nakagawa T, Johnson RJ, *et al.* The role of endothelial cell injury in thrombotic microangiopathy. *Am. J. kidney Dis.* 2010; **56**: 1168–74.
50. Dragon-Durey M-A, Loirat C, Cloarec S, *et al.* Anti-Factor H autoantibodies associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; **16**: 555–63.
51. Geerdink LM, Westra D, van Wijk J a E, *et al.* Atypical hemolytic uremic syndrome in children: complement mutations and clinical characteristics. *Pediatr. Nephrol.* 2012; **27**: 1283–91.

52. Zipfel PF, Edey M, Heinen S, *et al.* Deletion of complement factor H-related genes CFHR1 and CFHR3 is associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *PLoS Genet.* 2007; **3**: e41.
53. Waters AM, Licht C. aHUS caused by complement dysregulation: new therapies on the horizon. *Pediatr. Nephrol.* 2011; **26**: 41–57.
54. Honda T, Ogata S, Mineo E, *et al.* A novel strategy for hemolytic uremic syndrome: successful treatment with thrombomodulin α . *Pediatrics* 2013; **131**: e928–33.
55. Goodship THJ, Kavanagh D. Pulling the trigger in atypical hemolytic uremic syndrome: the role of pregnancy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010; **21**: 731–2.
56. Saland JM, Ruggenti P, Remuzzi G. Liver-kidney transplantation to cure atypical hemolytic uremic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; **20**: 940–9.
57. Waters AM, Kerecuk L, Luk D, *et al.* Hemolytic uremic syndrome associated with invasive pneumococcal disease: the United kingdom experience. *J. Pediatr.* 2007; **151**: 140–4.
58. Mache CJ, Acham-Roschitz B, Frémeaux-Bacchi V, *et al.* Complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; **4**: 1312–6.
59. Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, *et al.* Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat. Rev. Nephrol.* 2012; **8**: 643–57.
60. Copelovitch L, Kaplan BS. Streptococcus pneumoniae--associated hemolytic uremic syndrome: classification and the emergence of serotype 19A. *Pediatrics* 2010; **125**: e174–82.

61. Fakhouri F, Roumenina L, Provot F, *et al.* Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010; **21**: 859–67.
62. Menni F, Testa S, Guez S, *et al.* Neonatal atypical hemolytic uremic syndrome due to methylmalonic aciduria and homocystinuria. *Pediatr. Nephrol.* 2012; **27**: 1401–5.
63. Hosler GA, Cusumano AM, Hutchins GM, *et al.* Uremic Syndrome Are Distinct Pathologic Entities A Review of 56 Autopsy Cases. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2003; **127**: 834–839.
64. Ali M, Syed A, Bhandari S. Case series: hemolytic uremic syndrome--another cause of transplant dysfunction. *Transplant. Proc.* 2013; **45**: 3284–8.
65. Outbreaks of E. coli O104:H4 infection: update 30 [Internet] World Health Organization; Julho de 2011. Disponível em: www.euro.who.int/en/health-topics/emergencies/international-health-regulations/news/news/2011/07/outbreaks-of-e.-coli-o104h4-infection-update-30
66. DGS: Circular Normativa N°12/DSPCD: Vacinação, a nível hospitalar contra infeções por *Streptococcus pneumoniae* de crianças/adolescentes de risco para doença invasiva pneumocócica (DIP). Junho de 2010