

MICROANGIOPATIAS TROMBOTICAS: SUH/PTT

ASPECTOS FISIOPATOLOGICOS

JULIO C. SANCHEZ AVALOS

Departamento de Hematología, Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Resumen La causa y mecanismo de la lesión de la célula endotelial (CE) y el mecanismo que provoca la trombosis son los hechos fisiopatológicos más importantes y aún no totalmente conocidos en el SUH/PTT. En el SUH asociado a toxina shiga, la lesión de la CE es provocada por la toxina, que penetra a la célula a través de un receptor glicolípido (Gb3) y altera la síntesis de proteínas celulares, a nivel de los ribosomas, provocando la muerte celular por injuria o apoptosis. Existirían mecanismos que amplifican o facilitan la lesión endotelial por la toxina, a través de secreciones de citoquinas inflamatorias, activación de neutrófilos, etc. También se postula que existen factores condicionantes para la aparición de este síndrome, que podrían ser inmunológicos o genéticos. En las otras formas clínicas de SUH/PTT, idiopáticas, secundarias o familiares, tanto esporádicas o recurrentes, el mecanismo de la lesión de la CE no es conocido, pero pueden ser múltiples de acuerdo a cuál sea el cuadro clínico al que se asocia (idiopático, infecciones, drogas, embarazo, enfermedades autoinmunes, etc.). También podrían existir mecanismos amplificadores de la lesión endotelial (citoquinas) y factores genéticos de predisposición como el déficit de Factor H del complemento en SUH familiar o esporádicos. En cuanto al mecanismo de la trombosis, la lesión o activación de la CE al disminuir su tromborresistencia y aumentar su capacidad trombogénica, puede inducir la trombosis por múltiples mecanismos (activación de coagulación, activación plaquetaria e hipofibrinólisis). Se enfatizan las alteraciones de su membrana con disminución de los sistemas inhibidores de coagulación, expresión de Factor Tisular, disminución del sistema de ectoadepsa (CD39), la liberación de FvW, etc. como mecanismos trombogénicos relevantes. Las modificaciones del FvW ("multímeros ultragrandes" o "multímeros pequeños") por una alteración en el clivaje de su molécula que genera multímeros con mayor afinidad y actividad agregante plaquetaria, es un mecanismo importante para mantener y aumentar el proceso trombótico, pero no parece ser el único mecanismo trombogénico en esta patología. La descripción reciente de "déficit congénito de la proteasa de FvW" en casos de PTT familiares y de déficit funcional de esta "proteasa" por autoanticuerpos en casos de PTT adquiridos, plantea grandes posibilidades de entender mejor la patogenia, el diagnóstico y el tratamiento de pacientes con PTT. Sin embargo ello debe aún ser corroborado en estudios con mayor número de pacientes. Pacientes con diferentes formas clínicas de SUH no tienen este defecto en la "proteasa del FvW" y por lo tanto es posible distinguirlos de la PTT. Ello plantearía diferencias patogénicas entre ambos síndromes. El similar cuadro de trombosis de la microcirculación en el SUH y la PTT, enfatizaría que la lesión endotelial es el mecanismo básico de dicha trombosis. Las demás alteraciones descritas en pacientes con SUH/PTT tales como sustancias agregantes plaquetarias, disminución o alteración funcional del PGI₂, etc., habitualmente halladas luego de la instalación de la microangiopatía, se considera que son alteraciones secundarias a la lesión de la CE y no factores patogénicos del síndrome. Se considera que las perspectivas para mejorar el conocimiento fisiopatológico, diagnóstico y terapéutico de esta patología, estará dado por estudios en el área de la fisiología del endotelio, su heterogeneidad funcional y su relación con la hemostasia, el polimorfismo genético de la CE (receptores, sistemas enzimáticos celulares, etc.), que tal vez identifiquen genotipos con mayor susceptibilidad para desarrollar trombosis ante diversos estímulos, etc. Igualmente la clonación del gen de la enzima "proteasa del FvW" y su estudio en modelos animales (transgénicos y *Knock-out*) podrán ser de gran valor, lo mismo que desarrollar un modelo experimental animal similar a la patología humana.

Abreviaturas

CE	célula endotelial
CID	síndrome de coagulación intravascular difuso agudo
EC	<i>Escherichia coli</i>
FT	factor tisular
FvW	factor von Willebrand
Gb3	receptor glicolípido
LES	lupus eritematoso sistémico
MAT	microangiopatías trombóticas
PAI-1	inhibidor fibrinolítico
PGI	prostaciclina
PTT	púrpura trombocitopénica trombótica
SUH	síndrome urémico hemolítico
t-PA	proactivador fibrinolítico
UL	multímeros ultragrandes

Abstract *Microangiopathies: HUS/TTP. Physiopathologic aspects.* In thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) and in the hemolytic uremic syndrome (HUS) fibrin-platelet thrombi occlude arterioles and capillaries. The mechanism of endothelial cell injury and the mechanism of thrombosis are the most important physiopathological events in this pathology and are largely unknown. In HUS due to the Shiga toxin, the lesion of the endothelial cells is due to penetration of the toxin into the cell via the Gb3 receptor. Endothelial cell death is a consequence of altered protein synthesis at the ribosomal level. Cytokines released during the inflammatory process, possibly enhance the endothelial damage. Genetic and immunologic predisposing factors for the development of HUS have also been postulated. In idiopathic, secondary and familial HUS/TTP the mechanism of endothelial lesion is unknown, but multiple responsible factors have been advocated such as infections, drugs, pregnancy, autoantibodies, apoptosis inducing molecules, etc. and other genetic, hormonal or immunologic predisposing factors may also be involved. Factor H deficiency has been blamed in familial cases. The most important cause of microcirculation thrombosis is the thrombogenic capacity of endothelial cell "activation" or injury induced by multiple mechanisms. The predominant source of plasma vWF factor multimers is apparent in the altered endothelial cell. The unusually large vWF multimers are more effective at binding to platelet glycoprotein Ib-IX and IIb-IIIa complexes and inducing aggregation, as also occurred with the low weight multimers formed with excessive proteolysis, as described in the acute phase of HUS/TTP. The recent report of congenital deficiency of a vWF protease in familial TTP and its functional inhibition by autoantibodies in acquired cases is characteristic of TTP. This protease inhibition has never been described in HUS and might represent pathogenetic differences between TTP and HUS, and contribute to the differential diagnosis, but further confirmation of these findings is needed. We postulate that the abnormal cleavage of the vWF subunit, with formation of different multimers with increased platelet aggregating capacity is an important mechanism to increase the microcirculatory thrombosis, but it is only a partial aspect in a more complex and unknown thrombogenic stimulation secondary to the endothelial lesion or activation. Better knowledge of the endothelial physiology and the genetic polymorphism of the endothelial cell, the clonation of vWF-cleavage protease, etc., will provide valuable tools for the understanding of these fascinating entities.

Key words: thrombotic thrombocytopenic purpura, hemolytic uremia syndrome, von Willebrand factor

Las microangiopatías trombóticas (MAT) son síndromes que se caracterizan clínicamente por aparición de manifestaciones de disfunción renal y/o neurológica y a veces de otros órganos, asociados a plaquetopenia y anemia hemolítica traumática (hematíes fragmentados), y que son secundarios a la trombosis de pequeños vasos, especialmente en ciertas áreas de la microcirculación^{1, 2, 3}. El mecanismo de la trombosis no es aún bien conocido, pero la lesión inicial sería fundamentalmente una alteración de la célula endotelial de los pequeños vasos, con posterior activación y agregación plaquetaria y activación, predominantemente localizada, de la coagulación, con formación final del trombo fibrinoplaquetario.

La trombosis de la microcirculación sería la vía final común de la acción de diferentes agentes etiológicos a través de diferentes mecanismos fisiopatogénicos, lo cual podría explicar la heterogeneidad de las manifestaciones y evolución clínica, de las alteraciones en pruebas de laboratorio, de las respuestas a tratamientos, etc., que se han observado en los pacientes con estos síndromes^{1, 2, 3, 4}.

Las MAT se diferencian del Síndrome de Coagulación Intravascular Difusa Aguda (CID), que también presenta trombosis difusa de la microcirculación, porque en éstas existen claramente circunstancias clínicas que provocan su aparición (sepsis, shock, accidentes obstétricos, etc.) y la trombosis ocurre por un mecanismo diferente que es la activación intravascular sistémica de la coagulación y generación de trombina, con alteraciones características en las pruebas de hemostasia, denominada "coagulopatía por consumo"⁵.

En 1925, Moschowitz⁶ describió el síndrome PTT como un cuadro agudo, febril, con hemorragias por trombocitopenia, anemia hemolítica, y rápidas manifestaciones neurológicas y muerte, que tenía como lesión anatomopatológica la trombosis hialina de la microcirculación de varios órganos. En 1952, Symmers⁷ propone la denominación de esta patología, asociada a diferentes circunstancias clínicas, como Microangiopatía Trombótica. En 1955, Gaser et al.⁸ describe en niños la entidad que denomina Síndrome Urémico-Hemolítico, caracterizado por anemia hemolítica con hematíes fragmentados, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda, con trombosis de la microcirculación de diversos órganos, especialmente riñón. En 1962 y en trabajos posteriores, Gianantonio et al.^{9, 10, 11} publica una exhaustiva descripción clínica y evolutiva del SUH en niños, llamando la atención por la alta frecuencia de esta patología en nuestro país.

En 1978, Koster et al.¹², describe la primera observación acerca de la asociación entre SUH en niños e infección por *Shigella*. En 1983, Karmali et al.¹³ descubre la relación entre SUH infantil epidémico y la infección intestinal por *Escherichia coli* (EC), productora de Toxina Shiga (Verotoxina), permitiendo el desarrollo en años posteriores, de numerosos trabajos que han llevado a conocer los conceptos actuales epidemiológicos y de fisiopatología de esta forma de SUH. Trabajos de los últimos años han confirmado en nuestro medio, la asociación entre infección por *E. coli* enterohemorrágico y SUH^{14, 15, 16}.

Luego de los trabajos pioneros de Moschowitz y Gasser, se publicaron numerosas observaciones con

SUH y/o PTT idiopáticos o asociados a diferentes patologías, drogas, infecciones, tumores, enfermedades autoinmunes, embarazo, etc.^{1, 4, 17-23}. En el presente trabajo me limitaré al análisis de las dos entidades clínicas que claramente constituyen las MAT y que son el SUH y la PTT. Las antiopátías trombóticas descritas asociadas a la esclerodermia, eclampsia, hipertensión arterial maligna, vasculitis, síndrome antifosfolípido, etc.^{17, 20} son entidades distintas, que la mayoría de las veces sólo tienen expresión parcial de este síndrome (lesión renal y anemia hemolítica traumática o plaquetopenia, etc.) y si tienen un cuadro característico de microangiopatía trombótica deben ser consideradas como SUH/PTT asociadas o secundarias a estas patologías.

Síndrome urémico hemolítico y síndrome PTT

SUH: Las manifestaciones características son de anemia hemolítica traumática (hematíes fragmentados circulantes), asociado a plaquetopenia y con manifestaciones de disfunción renal predominante, que puede variar desde la simple alteración en sedimento urinario, hasta cuadros muy severos con anuria por necrosis cortical renal total o parcial¹⁷. Las manifestaciones neurológicas pueden ser importantes y aparecer simultáneamente o posterior a las renales o pueden ser poco significativas o estar ausentes dentro del cuadro clínico. Las otras múltiples expresiones clínicas y de laboratorio pueden ser diferentes o de distintas intensidades según cuál sea el agente causal o patología de base a la que se asocia. Por ello es necesario distinguir las diferentes variantes o formas clínicas de este síndrome (Tabla 1).

Existe una forma idiopática, también denominada atípica, de presentación esporádica o recurrente, generalmente de mayor incidencia en niños mayores y adultos, y otras asociadas o secundarias, como ya referimos, a diversos agentes infecciosos, drogas y patologías o circunstancias clínicas (embarazo, parto, trasplante de órganos). Finalmente existen casos familiares, autosómicos recesivos o dominantes^{24, 25} y otras relacionadas a déficit o disfunción del factor H del complemento, reconocidos recientemente^{26, 27, 28}. De todas estas formas de SUH, debe enfatizarse que el asociado a infección por *E. coli* enterohemorrágica, productores de toxinas tipo Shiga, también conocidas como verotoxinas, es la más frecuente y mejor conocida en cuanto a su fisiopatogenia y que se presenta predominantemente en niños y es endémica en nuestro país.

PTT: Es una alteración multisistémica severa, generalmente febril, con algunos síntomas generales de decaimiento, dolores abdominales, vómitos, etc., a los que se asocian predominantemente manifestaciones neurológicas o neuropsiquiátricas, que tienen la caracte-

TABLA 1.- SUH. Clasificación

-
- I. Idiopática (formas "atípicas", esporádicas o recurrentes)
 - II. Asociadas o secundarias
 1. Infecciones:
 - a. *E. coli* (serotipos O157-H7, O216, O11, O121, etc.)
Shigella disenteriae (serotipo 1). (Productores de Shiga toxina, tipo 1, 2, 2c y 2e)
 - b. Otras bacterias (neumococos, meningococos, salmonellas, etc.)
 - c. Rickettsias
 - d. Virus (EBV, coxsackie, parvovirus, HIV, etc.)
 - e. Hongos
 - f. Vacunas (sarampión, parotiditis, tétanos, etc.)
 2. Drogas
 3. Neoplasias. Quimioterapias
 4. Embarazo y parto
 5. Enfermedades autoinmunes
 6. Trasplante de órganos
 7. Otras nefropatías, picadura de víbora, etc.
 - III. Formas familiares:
 - autosómica recesiva
 - autosómica dominante
 - déficit de complemento (Factor H)
-

terística de ser fluctuantes y variar desde simple cefaleas y trastornos de conducta hasta severos defectos motores y/o sensitivos, convulsiones o coma y muerte. En la fase aguda hay evidencia de reducción del flujo cerebral y la recuperación neurológica es habitualmente completa cuando se instala tratamiento precoz (plasmaféresis), pero a veces puede quedar déficit neurológico permanente. Las manifestaciones renales son de menor intensidad que en el SUH, y consisten en proteinuria, hematuria microscópica y con menor frecuencia elevación de creatinina y urea^{1, 4, 22}.

Las otras manifestaciones clínicas que puede presentar, se relacionan con las áreas de microcirculación que se obstruyen, que además de cerebro y riñón, son corazón, páncreas, adrenales, intestino, piel, etc., siendo llamativo, por otra parte, el poco compromiso encontrado en la microcirculación pulmonar y hepática.

La PTT aparece en personas jóvenes, si bien se lo ha descrito en cualquier grupo etario, pero es inusual en niños, especialmente la forma "idiopática o paradigma" (Tabla 2). Los casos que aparecen como asociadas o secundarias e incluso las formas familiares, tienen una gran similitud con lo referido en la clasificación de SUH e incluso se ha comunicado PTT asociado a infección por *E. coli* enterohemorrágica²⁹.

Ambas entidades (SUH y PTT) tienen un similar cuadro hematológico, que es la plaquetopenia y la anemia hemolítica traumática con hematíes fragmentados cir-

TABLA 2.- PTT. Formas clínicas

1. Idiopática o paradigma
2. Secundario o asociado a:
- Agentes infecciosos (bacterias, virus: HIV y otros, hongos, etc.)
- Neoplasias - quimioterapia
- Embarazo y parto
- Enfermedades autoinmunes
- Trasplante de órganos
3. Formas familiares
- Autosómico dominante
- Autosómico recesivo

culantes y demás parámetros de hemólisis. Estas características hematológicas, unido a las manifestaciones clínicas es lo que lleva al diagnóstico de estos síndromes y a veces, a la sospecha diagnóstica precoz de la PTT³⁰. La similitud de circunstancias en que aparecen el SUH y la PTT, la dificultad en distinguirlas en algunos pacientes, dado la existencia de manifestaciones renales y neurológicas simultáneamente, es lo que llevó a la aparición de una denominación común para estos cuadros como "Microangiopatía Trombótica" o bien en la denominación SUH/PTT, por considerarse como diferentes expresiones dentro del espectro de una misma entidad patológica, probablemente con mecanismos patogénicos similares^{1,2} aunque trabajos recientes vuelven a plantear dudas respecto a esta interpretación^{31,32,33}. En el presente trabajo, excepto cuando nos referimos al SUH asociado a infección por *E. coli*, consideraremos

en conjunto al SUH/PTT para la discusión de sus mecanismos fisiopatogénicos.

Fisiopatología del SUH/PTT

A pesar del progreso realizado desde la descripción inicial de estas entidades en cuanto al conocimiento clínico y de algunos aspectos de su etiología y patogenia y de la mejoría pronóstica de la PTT desde la instauración de la plasmaféresis como tratamiento^{22,30} varios puntos de su fisiopatología aún se ignoran o son parcialmente conocidos.

Ya hemos referido que el sustrato anatomopatológico de este síndrome es la trombosis de la microcirculación (arteriolas y capilares), que al provocar isquemia a nivel de distintos órganos, generan las diferentes manifestaciones clínicas. Esta trombosis ocurriría como consecuencia de una lesión o injuria de la célula endotelial como evento primario. Si bien en estos pacientes existen evidencias de activación plaquetaria *in vivo*, no hay datos firmes hasta ahora que avalen que esto sea la causa primaria de la trombosis y causante de la lesión endotelial, sino que sería como consecuencia de ella. Sin embargo la causa y mecanismo de la lesión endotelial y el mecanismo intermediario que lleva a la trombosis de la microcirculación son los puntos en mayor discusión de esta patología (Fig. 1). La heterogeneidad de las circunstancias en que aparece el SUH/PTT y los diversos agentes que se han señalado como asociados o responsables de su aparición, hacen difícil encontrar una única y clara explicación. Estos aspectos de la fisiopatología desarrollaremos a continuación.

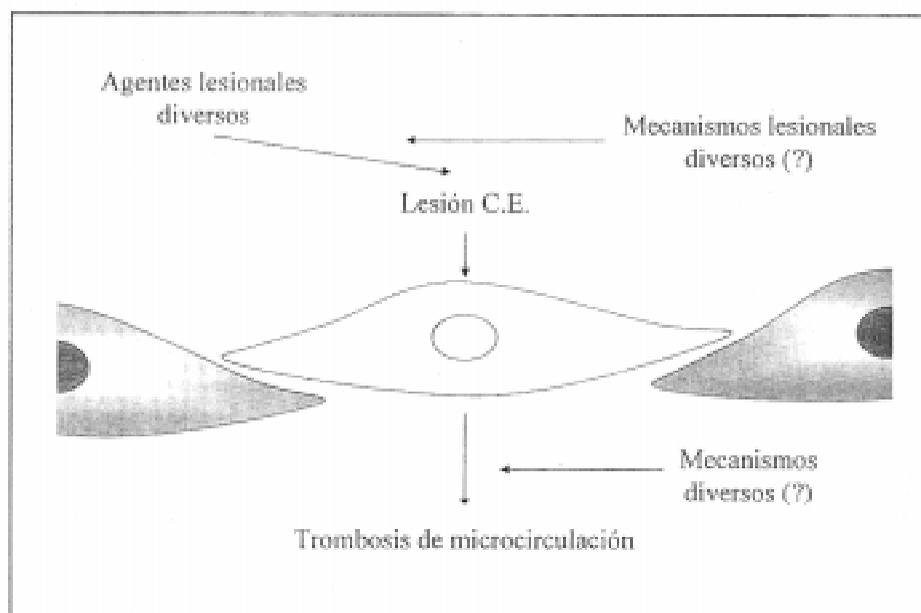


Fig. 1.- mecanismos intermedios en la fisiopatología del SUH/PTT

Lesión endotelial

En estudios histológicos y en observaciones por microscopía electrónica, la célula endotelial (CE) presenta múltiples alteraciones estructurales, con edema celular, vacuolas citoplasmáticas, alteraciones en lisosomas y mitocondrias, etc., e incluso necrosis con denudación del subendotelio^{4, 22, 34}. En casos de injuria con pérdida de la tromborresistencia y de algunas otras funciones, que se ha denominado "activación" de la célula endotelial, aún no existe una descripción de sus modificaciones ultraestructurales. En el período agudo de la enfermedad, se ha encontrado en plasma células endoteliales circulantes, aumento de trombomodulina, de P-selectina de Factor von Willebrand, etc., considerados pruebas indirectas de lesión de la CE^{35, 36, 37}. Los mecanismos hasta ahora postulados, por los cuales ocurren esta lesión o "activación" de la célula endotelial, son varios:

1. SUH asociado a toxinas Shiga

Es la forma más frecuente de SUH y tiene un cuadro clínico y evolutivo característico. Se presenta en brotes epidémicos o esporádicos y afecta la población infantil, especialmente entre los 9 meses y 4 años (edad promedio 12 meses) y menos frecuentemente ocurre en adultos en forma esporádica o en brotes, predominando pacientes de instituciones geriátricas^{1, 38, 39}. Su distribución geográfica es llamativa, siendo la incidencia en la Argentina 7-20 casos/100 000 habitantes, mientras que en otras áreas como Sudáfrica, EE.UU., Europa, Australia, etc. es mucho menor (2-4 casos/100 000 habitantes). La infección por cepas de *E. coli* enterohemorrágica, productores de estas toxinas (O:157, H:7 u otras que varían de acuerdo a las regiones) se produce por vía oral, por ingestión de carnes, leches o productos animales (vacas y cabras) o algunos productos vegetales preparados con agua contaminada, siendo el contagio interpersonal también importante^{38, 39}. Tienen relación con la existencia de ganado con este tipo de *E. coli* en intestino y la contaminación por materia fecal de los productos animales o el agua. La cantidad de bacterias necesarias para producir la infección es de 50-100 bacterias y el período de incubación antes de la diarrea es de 1 a 8 días, continuando la eliminación intestinal de estos gérmenes durante más de 3 semanas. Excepcionalmente el agente etiológico es una shigellosis o la infección por *E. coli* es de vías urinarias o no produce diarreas^{3, 16, 23}.

Estas bacterias, una vez llegadas al intestino, tienen la capacidad de adherirse a la mucosa intestinal, se reproducen y dañan la pared colónica y secretan las toxinas (Shiga toxina tipo 1, 2 y variantes 2c, 2e) que entran a la circulación del paciente, probablemente con endotoxinas secretadas por la misma bacteria o por otras

bacterias intestinales. No se conoce claramente si la producción de toxinas es un episodio único inicial o si hay recurrencia o persistencia en su producción durante todo el período de infección^{38, 39}. Las toxinas tienen 2 subunidades, denominadas A y B. A través de la subunidad B, se unen a las membranas de células que poseen un receptor glicolípidico (Globotriazol ceramida o Gb3) que está presente en células endoteliales, especialmente en endotelio de glomérulo renal y de otras áreas de la microcirculación, en células tubulares renales y en glóbulos rojos, con grupo PI positivos. Una vez internalizada por endocitosis, se libera en el citoplasma la subunidad A que se fija a los ribosomas celulares (fracción 60s), inhibiendo la síntesis de proteínas por bloqueo de la transcripción del ARN y provocando serias alteraciones funcionales o la muerte celular por injuria o por apoptosis^{38, 39}. Estas toxinas pueden activar plaquetas y junto con los lipopolisacáridos de las endotoxinas provocan: activación de neutrófilos con liberación de proteasas leucocitarias y generación de radicales libres; inducen la síntesis de citoquinas proinflamatorias (IL-1, TNF, IL-6, IL-8, IFN- γ), las que a su vez aumentan la expresión del receptor Gb3 en las células endoteliales y de moléculas de adhesión en neutrófilos y monocitos y en endotelio, facilitando su interacción^{3, 23, 38, 39, 40}. Todas estas acciones colaterales, actúan como mecanismos amplificadores de la lesión endotelial y de la estimulación trombogénica en la microcirculación, provocando finalmente las lesiones glomerulares y tubulointersticiales renales, las lesiones isquémicas en otros órganos y llevan a la aparición de las alteraciones hematológicas típicas del SUH (Fig. 2).

Toda esta secuencia descrita parece clara y coherente para explicar el mecanismo de lesión endotelial en esta forma clínica de SUH, pero aún queda sin responder por qué sólo un 5-10% de los pacientes que tienen una infección intestinal importante por estas cepas de *E. coli* enterohemorrágicas, desarrollan un SUH. En brotes epidémicos de esta infección, parece existir un grupo de pacientes con alteraciones parciales de este síndrome (formas frustas o incompletas)⁴¹, y otros sólo presentan manifestaciones intestinales de diferente intensidad o evolucionan como portadores sanos^{38, 39}. Este diferente comportamiento, puede estar relacionado con características del germen o factores condicionantes o predisponentes en los pacientes, que permiten o facilitan la aparición del SUH. Esto podría depender de la intensidad de la infección o de la toxemia, pues existen cepas de *E. coli* con diferente agresividad para adherirse y lesionar las células intestinales y para segregar toxinas³⁸. Se ha referido que el tratamiento de los pacientes con inhibidores de la motilidad intestinal y el incorrecto uso o la insuficiente dosis de antibióticos^{16, 38, 39} puede modificar la severidad de la infección y aumentar los riesgos de desarrollar SUH. Otro hecho interesante es la

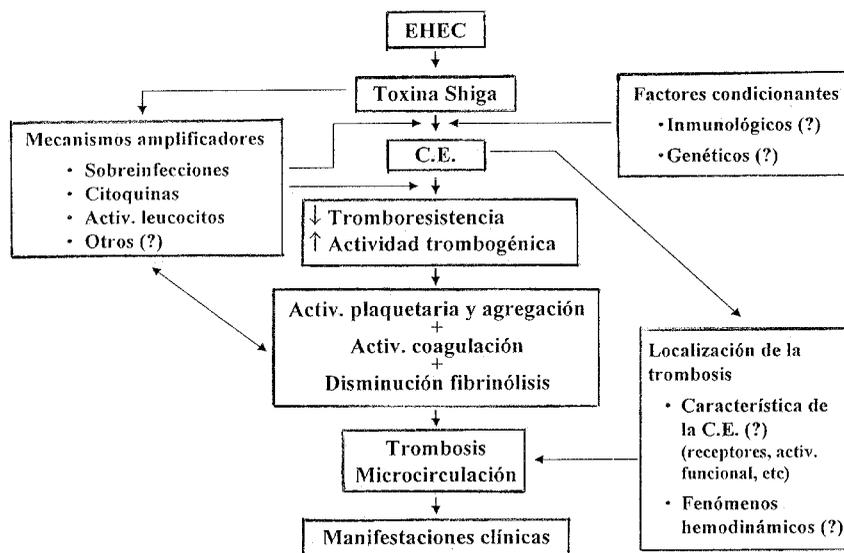


Fig. 2.— Mecanismo fisiopatológico del SUH - asociado a toxinas shiga

edad en las cuales tiene predominancia la aparición de este síndrome relacionado con las shiga toxinas: infancia (< 4 años) y adultos de la tercera edad^{1, 39} lo cual ha llevado a relacionarlo con una menor capacidad inmunológica para contrarrestar los efectos de la infección y/o toxemia.

Factores genéticos también podrían tener relevancia como causas condicionantes y podrían ser determinados marcadores genéticos (HLA-B40)⁴² la existencia de déficit o alteraciones en el sistema complemento (Factor H?)^{26, 27, 28} y puede postularse una relación con el polimorfismo de enzimas metabólicas celulares o de receptores celulares, que determinan un genotipo con mayor susceptibilidad para las lesiones para determinadas toxinas u otros agentes lesionales, especialmente a nivel de la célula endotelial.

La localización de la trombosis, estaría en favor de que la lesión ocurre a través de receptores expresados predominantemente en células endoteliales de la microcirculación o es favorecida por determinadas actividades funcionales de dichas células, pero también puede estar facilitada por las condiciones hemodinámicas de la circulación a nivel de estos pequeños vasos, que permite una mayor interacción entre endotelio, plaquetas, proteínas plasmáticas (FvW) y otras células sanguíneas^{40, 43}. La mayor expresión de receptores Gb3 a nivel de células endoteliales de riñón, cerebro e intestino, podría explicar la predominancia de la trombosis en la microcirculación de estos órganos, pero ello no es tan claro, pues habitualmente la trombosis es difusa y afecta también a otros órganos⁴⁴.

2. SUH/PTT idiopáticas o secundarias o familiares

Estas formas clínicas de SUH/PTT, ocurre en niños mayores o adultos, en forma esporádica y con frecuencia recurrentes, tienen una mayor morbimortalidad en el período agudo y frecuente recidiva de la enfermedad en el trasplante renal^{1, 4, 16, 22}.

La lesión o "activación" de la CE en estos casos ocurre por mecanismos no conocidos, probablemente diferentes de acuerdo a la enfermedad de base, droga, circunstancias clínicas en que aparecen, etc. Se han postulado una acción directa o indirecta de agentes infecciosos (gérmenes, virus, etc), o tóxicos (quimioterápicos), de mecanismos inmunes (anticuerpos anti-CE, complejos inmunes circulantes), de injuria oxidativa, de proteínas circulantes que inducen "apoptosis", etc.^{1, 4}. Plasma de pacientes en la fase aguda de PTT (asociados o no a infección por HIV) y algunos casos esporádicos de SUH, poseen la actividad de inducir *in vitro* apoptosis de células endoteliales de la microcirculación renal, cerebral y dérmica, pero no de pulmón o hígado, demostrando cierto paralelismo con la predominancia de trombosis de la microcirculación "in vivo"^{45, 46}. La actividad plasmática que produce la apoptosis fue relacionada con su capacidad de inducir rápidamente la expresión de Fas (CD95) en dichas células y fue independiente de la presencia de TNF en el plasma, no estando aún identificada su real naturaleza, pero puede ser inhibido por anticuerpos anti-Fas, plasma normal o ácido aurintricarboxílico^{45, 46}. La estimulación de receptores celulares Fas y para TNF son inductores de la apoptosis.

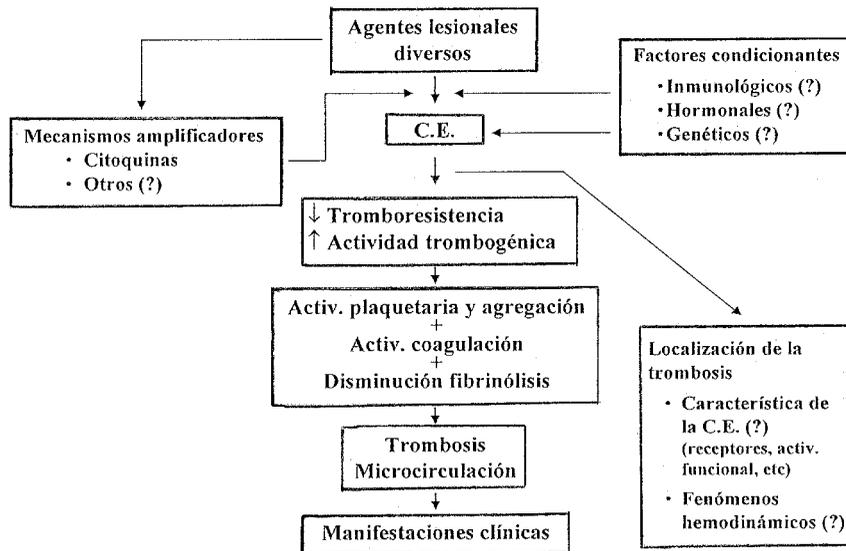


Fig. 3.— Mecanismo fisiopatológico de los SUH/PTT idiopáticos o secundarios o familiares (esporádicos o recurrentes)

Igualmente, se han referido varios anticuerpos que reaccionan contra distintos componentes de la CE, tales como anti CD36 (glicoproteína IV), antígenos criptogénicos (43KDa) y antifosfolípidos²². La inducción por distintos estímulos, de síntesis exagerada de ciertas citoquinas (TNF, otras?)⁴³, que tiene capacidad para lesionar o activar la CE, podrían tener importancia, por acción lesional directa o amplificando la actividad lesional de otros agentes, tal como se refirió en el SUH asociado a toxinas Shiga (Fig. 3). Tampoco es conocido el o los receptores, los sistemas enzimáticos, etc., de la CE sobre los que actuarían todos los probables agentes lesionales. La asociación de SUH/PTT con enfermedades autoinmunes (LES) o trasplante de órganos, embarazo, parto y tratamiento con hormonas, etc., orientan a pensar que modificaciones del sistema inmune o del medio hormonal sistémico, pueden ser factores predisponentes o condicionantes para la lesión endotelial y trombosis, aunque no sea conocido su mecanismo. Igualmente, la existencia de casos familiares, demuestran la importancia de factores genéticos para la aparición de este síndrome. Ellos no son aún conocidos, pero recientemente en SUH familiares y en casos esporádicos, se ha identificado alteraciones genéticas que provocan déficit cuantitativo o alteración funcional del Factor H del complemento^{26, 27, 28}. El Factor H es una proteína plasmática, es el más potente regulador de la vía alternativa de activación del complemento, previniendo la formación y/o acelerando la inactivación de la "C3 convertasa", además de tener otras acciones. Se postula que una activación masiva del complemento, por diferentes mecanismos, podría lesionar el endotelio

vascular renal, como se ha visto en otras patologías renales, por lo cual el déficit del Factor H podría tener importancia patológica en la lesión endotelial y desencadenamiento del SUH. Su deficiencia, al permitir la activación del C3, se acompaña siempre de niveles plasmáticos bajos de C3. Niveles plasmáticos descendidos de C3 y depósito de C3 en la pared glomerular y de arteriola renal, han sido observados en pacientes con SUH familiares, esporádicos e incluso asociado a toxina Shiga, lo que apoyaría algún rol patológico del complemento en el SUH, al menos en algunos casos. Esto merece ser estudiado en mayor número de pacientes, pues plantearía la posibilidad terapéutica de utilizar concentrados de Factor H u otros moduladores de la activación del complemento²⁷. También puede sugerirse, que estos pacientes que desarrollan SUH/PTT, sean idiopáticos o secundarios, esporádicos o recurrentes, a través de un polimorfismo genético de receptores o enzimas de su CE, puedan tener un "genotipo de mayor susceptibilidad" para la lesión del endotelio por diferentes noxas, tal como se ha referido en otra patología vascular⁴⁷.

Mecanismo de la trombosis

Lesión de la célula endotelial (CE)

Parece ser el hecho primordial que desencadena la activación y agregación plaquetaria y la activación de la coagulación y la hipofibrinólisis en forma localizada a la microcirculación y que lleva a la trombosis.

En la mayoría de las descripciones la trombosis es fibrinoplaquetaria, pero en algunas comunicaciones el trombo es fundamentalmente plaquetario y con presencia de F von Willebrand y escaso fibrinógeno⁴⁸. Ello podría significar que los mecanismos intermediarios de activación plaquetaria y de coagulación pueden variar en intensidad y tipo de estímulo en distintas circunstancias.

La pérdida por parte de la CE de su tromborresistencia y aumento de la capacidad trombogénica, ocurre por múltiples modificaciones en la membrana y en la actividad secretoria y metabólica celular (Tabla 3)⁴³. Ya he referido que podría ocurrir por acción de agentes lesionales directos o efectos de citoquinas. La expresión de Factor Tisular (FT), disminución de los sistemas inhibidores Heparan Sulfato - ATIII, Trombomodulina - proteína C y S, disminución de la síntesis del inhibidor de la vía del FT (TFPI), la expresión en membranas de receptores para factores activados de la coagulación, etc., son cambios que facilitan la activación de la coagulación. La disminución del sistema Ectoadepeasa (CD39), aumenta la posibilidad de agregación y activación plaquetaria, en áreas donde existe activa hemólisis y liberación de ADP. El mismo efecto proagregante plaquetario tienen la liberación de Factor von Willebrand endotelial (multímeros ultragrandes) y sus fragmentos de degradación (ver más adelante), la disminución de la síntesis y liberación de PGI₂, y el aumento de liberación de endotelina. La hipofibrinólisis está dada por la altera-

ción en la relación entre el activador fibrinolítico que disminuye y el inhibidor fibrinolítico que aumenta (t-PA/PAI-1) y la disminución en la expresión en membrana de la Anexina II, la cual es receptor del t-PA y el plasminógeno, facilitando la generación de plasmina. Esto tiende a aumentar la estabilidad y desarrollo del coágulo fibrinoplaquetario.

Otros mecanismos indirectos que favorecen la trombosis serían el aumento de expresión de moléculas de adhesión en la membrana celular dañada, induciendo la activación de neutrófilos y monocitos, aumentando la liberación de óxido nítrico y facilitando la formación de radicales libres.

Factor von Willebrand

El Factor von Willebrand se produce fundamentalmente en el endotelio vascular y parte en los megacariocitos. En la CE es almacenado en los cuerpos de Weibel-Palade, en forma de "multímeros ultragrandes" (UL-FvW) o FvW endotelial. En el plasma el "FvW endotelial" es degradado normalmente por una "proteasa (metal proteasa) de FvW", originando multímeros de menor peso molecular, probablemente en área de la circulación con alta fuerza de rozamiento ("shear rate") y, donde las condiciones hemodinámicas modificarían la conformación de su molécula facilitando la acción de la proteasa⁴⁹. En el plasma normal existe un perfil de diferentes multímeros que se mantiene constante. El FvW es la proteína que induce la adhesión de la plaqueta al subendotelio o "endotelio activado", especialmente en áreas de alta velocidad circulatoria como la microcirculación, uniéndose a los receptores plaquetarios glicoproteínas Ib-IX y IIb IIIa^{49, 50}.

En el SUH/PTT se han descrito marcado aumento del nivel de FvW y varias alteraciones en el "perfil" normal de sus multímeros, lo que demuestra la existencia de un anormal procesamiento del clivaje de su molécula, que se postula sería responsable de una mayor actividad agregante plaquetaria y formación de los trombos plaquetarios y obstrucción de la microcirculación. Los hallazgos hasta ahora referidos son diversos y no siempre coincidentes, por lo cual se los detallará:

1. Las primeras y pioneras observaciones demostraron que en el plasma de pacientes con PTT recurrentes, tenían "multímeros ultragrandes" (UL-FvW) circulantes en el periodo de remisión de la enfermedad⁵¹. Dichos multímeros anormales, que tienen potente actividad agregante plaquetaria *in vitro*, desaparecen en el periodo de recaída, probablemente por degradación en la circulación de áreas con "alta fuerza de rozamiento" por la alteración de la luz vascular secundaria a la microangiopatía y/o por consumo en la formación de los trombos plaquetarios. Desde entonces se describieron numerosos casos de SUH o PTT, asociados a diferentes patolo-

TABLA 3.- *SUH/PTT. Mecanismo de la trombosis. Lesión endotelial*

-
1. Lesión o "activación" o necrosis de la C.E. y denudación del subendotelio
 2. Pérdida de la C.E. de su capacidad de tromborresistencia y aumento de la capacidad trombogénica:
 1. Expresión de factor tisular
 2. Liberación de FvW anormal (UL-multímeros)
 3. Alteración del sistema de ectoadepeasas
 4. Alteración del sistema inhibidor trombomodulina y proteína C-S
 5. Alteración del sistema inhibidor Heparan Sulfato-AT III
 6. Disminución de síntesis de TFPI
 7. Disminución de síntesis de PGI₂ y óxido nítrico (?)
 8. Aumento de liberación de endotelina
 9. Alteración en la relación t-PA/PAI-1
 10. Otras alteraciones
 - activación neutrófilos y monocitos
 - aumento de liberación de ON (?) y formación de radicales libres
 - disminución de Anexina II en membrana (receptor de t.PA y plasminógeno)
-

gías, en los cuales se encontraron valores normales, aumento o disminución de estos multímeros anormales^{52, 53, 54}. Estos distintos hallazgos se explicaban por diferencias en el momento evolutivo de la microangiopatía en que se tomaba la muestra examinada, variaciones por consumo intravascular o por proteólisis *ex vivo* posterior a la extracción de la muestra para el estudio. Todos estos trabajos sostenían la importancia de la unión de estos multímeros a las plaquetas y la inducción de la agregación, como mecanismo patogénico de la trombosis. El aumento plasmático de estos "multímeros anormales" lo relacionaban a una excesiva liberación por la CE lesionada, que excedía la capacidad de clivaje de la proteasa plasmática o bien a una deficiencia en dicha proteasa, que exponían a estos pacientes a periódicas recaídas⁵⁰.

2. Trabajos de los últimos años^{32, 33} demostraron que en los pacientes con PTT "no familiares" existe una severa deficiencia de la "proteasa de FvW", encontrándose en más del 90% de estos pacientes en la fase aguda del síndrome, autoanticuerpos (de tipo IgG) contra dicha proteasa y que inhibía su actividad (o contra algún cofactor?) y que desaparecía durante la remisión^{32, 33}. La causa de la aparición transitoria del anticuerpo y la selectividad antigénica contra esta enzima, no es conocida.

En pacientes con formas familiares de PTT, tanto en el episodio agudo de enfermedad como en la remisión, también se demostró severa deficiencia de esta proteasa, pero no se identificó la presencia de autoanticuerpos, por lo cual se considera que es un defecto congénito, por anomalía en la producción, sobrevida o función de esta enzima.

En casos de SUH, familiares o no familiares, tenían normal actividad de esta proteasa y no se demostró anomalía en la molécula del F v Willebrand, que demuestra que existiera resistencia a su normal proteólisis^{32, 33}.

De acuerdo a estos trabajos, la medición de la actividad plasmática de esta enzima "proteasa de FvW" permitiría distinguir el SUH, en cualquiera de sus formas familiares o adquiridas, de la PTT. Ello demostraría que ambos síndromes tienen fisiopatogenias diferentes y podría explicar también la poca respuesta del SUH a la infusión de plasma y plasmaféresis⁵⁵. Por otra parte, distinguiría las PTT familiares (deficiencia congénita de proteasa) y no familiares (deficiencia de proteasas por autoanticuerpos), permitiendo predecir la respuesta clínica a la infusión de dicha proteasa con plasma, sobrenadante de crioprecipitado o plasmaféresis o si además del tratamiento supletorio, sería necesario agregar tratamiento inmunosupresor o inmunomodulador, tales como corticoides, vincristina, ciclofosfamida, inmunoadsorción con columna de proteína A de estafilococo e incluso plantear la esplenectomía.

Estos hallazgos, de ser confirmados sus resultados en nuevos estudios, especialmente luego de las recien-

tes descripciones de nueva y más accesible metodología para determinar la actividad de la enzima "proteasa del FvW", tendrían enorme importancia en el conocimiento de la fisiopatogenia, diagnóstico y terapéutica de estos síndromes^{56, 57, 58}. La crítica de estos trabajos es que no presentan estudios de los multímeros de FvW en forma simultánea con la investigación de la actividad de la proteasa, que hubiera permitido una mejor correlación entre ambos parámetros.

3. En un trabajo más reciente⁵⁴ con pacientes con SUH/PTT recurrentes, esporádicos o familiares, refieren que encuentran "multímeros ultragrandes" de FvW circulante en plasma de la fase aguda y en remisión, solamente en SUH/PTT recurrentes, pero nunca en las otras formas clínicas. En cambio, en todos los pacientes encuentran un aumento de la fragmentación de los multímeros de FvW durante la fase aguda, que en los casos recurrentes o esporádicos, normalizan en la remisión, mientras que persisten en las formas familiares.

En los casos recurrentes, la existencia de UL-multímeros de FvW en la fase aguda coincide con ausencia de actividad "proteásica plasmática", actividad que se recupera en algunos pacientes en la remisión, a pesar de persistir los "UL-multímeros" en el plasma o por el contrario, observan en otros pacientes que la ausencia de actividad de la proteasa no es acompañada de aumento de UL-multímeros.

El hallazgo constante de "multímeros de FvW de bajo peso molecular" en la fase aguda, independientemente de las formas clínicas de SUH/PTT, que poseen aumentada capacidad de fijarse a receptores plaquetarios y activarlas, estaría en favor que estos fragmentos tienen importancia en inducir y mantener la agregación y trombosis plaquetaria en las áreas de microcirculación. El aumento de fragmentación de FvW, en ausencia de actividad proteasa de FvW y el hallazgo de fragmentos con pesos moleculares diferentes a los encontrados en plasma normal, plantea que la proteólisis en estos pacientes ocurriría por enzimas proteolíticas alternativas, que deben ser identificadas, postulándose que podrían corresponder a elastasas leucocitarias, plasmina o calpaina (cisteína proteasa liberada por plaquetas activadas). No se demostró que esta diferente fragmentación sea por anomalía molecular del FvW, por alteración en sus sitios de clivaje. La generación de estos fragmentos de bajo peso, con gran afinidad por las glicoproteínas plaquetarias (Ib-IX y IIb IIIa), pueden adherirse a plaquetas circulantes y bloquear estos receptores, lo cual podría ser una explicación de las alteraciones funcionales plaquetarias encontradas en pacientes en el período agudo del SUH endémico (asociado a toxina Shiga)⁵⁹.

4. En definitiva, es indudable que el FvW tiene importancia como mecanismo intermediario en la trombosis de la microcirculación de estos pacientes con SUH/PTT. Li-

beración aumentada de FvW por la CE lesionada y anormal procesamiento en la proteólisis, por alteración en la enzima proteásica normal, por déficit o inhibición por autoanticuerpos, con aumento de "multímeros ultragrandes" o por el contrario, mayor fragmentación por enzimas proteolíticas alternativas que aparecen en la etapa aguda de este síndrome y que generan multímeros que también tienen aumentada capacidad de activación plaquetaria, serían los mecanismos por los cuales actuaría provocando o manteniendo la trombosis.

Queda aún por demostrar si ello es un evento primario o simultáneo con la lesión o activación endotelial masiva por los mecanismos y agentes lesionales ya enumerados anteriormente.

Persisten también otras dudas aún no resueltas respecto a la relación entre "multímeros ultragrandes de FvW" y su relación con la inducción de agregación plaquetaria, tales como: por qué su presencia en la circulación no induce igual agregación en períodos de remisión y cuál es el evento que modifica este comportamiento en la recaída; por qué defectos familiares con estos multímeros circulantes durante toda su vida (Enf. v Willebrand, variedad Vicenza)⁵⁴ tienen manifestaciones hemorrágicas y no trombóticas, o por qué en período neonatal⁵⁴ o en vasculitis con evidencias de alteración endotelial (Schonlein-Henoch u otras)^{60, 61} su presencia nunca ha sido acompañado de agregación plaquetaria intravascular y microangiopatía trombótica. Algunas de estas preguntas también pueden hacerse respecto a los multímeros de "bajo peso", que persisten circulantes en el período de remisión en las formas familiares de SUH/PTT.

Prostaciclina (PGI₂)

Es un potente inhibidor de la agregación plaquetaria y sintetizado en el endotelio vascular. Varias alteraciones relacionadas a la PGI₂ se han descrito en pacientes con SUH/PTT, especialmente en las formas recurrentes, esporádicas o familiares, tales como: disminución de un factor plasmático que estimula su síntesis a nivel del endotelio; menor fijación por parte de las proteínas plasmáticas y acelerada degradación por el plasma; disminuida sensibilidad de las plaquetas, por acción del plasma de estos pacientes, disminución de la síntesis por leucocitos, etc⁶².

Es difícil establecer la importancia de estas alteraciones como mecanismo patogénico, pero el defecto, "algún factor estimulante de síntesis de PGI₂" no identificado, podría ser de importancia como un mecanismo amplificador de la agregación plaquetaria en las formas familiares de SUH/PTT. Sin embargo, la menor síntesis y liberación, secundarias a la lesión endotelial, es el defecto más importante relacionado con la PGI en esta patología.

Actividades agregantes plaquetarias

Varias sustancias que activan e inducen agregación plaquetaria *in vitro* han sido descritas en el plasma de estos pacientes. Entre ellas, podemos referir una glicoproteína p.m. 37KDa denominada "proteína plasmática aglutinante"⁶³ que tiene capacidad de unirse a la GP IV (CD36) plaquetaria induciendo su agregación. No está identificada, pero no reacciona con anticuerpos contra diversas proteínas plasmáticas, como trombospondina, fibrinógeno, fibronectina, FvW, etc., y es inhibida por plasma o IgG normal²².

Posteriormente se comunicaron otras actividades agregantes, que se identificaron como una cisteína proteinasa tipo catepsina o interpretada también como "calpaína" y que estaría localizada en microfragmentos de plaquetas y no en el plasma⁶⁴. Recientemente se comunicó la existencia en plasma de un paciente con PTT, de una actividad no identificada que induce *in vitro* agregación plaquetaria y apoptosis de células endoteliales, no dependientes de la activación del receptor Fas (CD95)⁶⁵. Es muy probable que en período agudo del SUH/PTT de diversas etiologías, existan circulantes varias "sustancias plasmáticas" con actividad agregante plaquetaria, tales como toxinas, anticuerpos antiplaquetas, complejos inmunes, PAF, fragmentos anormales de FvW o fibrinógeno, etc. No existen hasta el presente pruebas suficientes que demuestren que estas actividades agregantes sean el mecanismo iniciador de la trombosis, si bien no puede descartarse que algún "agente lesional" puede inducir simultáneamente lesión de la CE y agregación plaquetaria. Considero que estas actividades agregantes plaquetarias deben interpretarse como generadas secundariamente a la lesión endotelial.

Marcadores de activación de la coagulación

En el período agudo de pacientes con distintas formas clínicas de SUH/PTT, se ha comunicado el hallazgo de aumento de Fragmento 1-2 de protrombina, de complejo Trombina-Antitrombina, de complejo Plasmina-Antiplasmina y de dímeros D-D, que demostrarían la existencia de una "activación de la coagulación"^{37, 66, 67}. Creemos que ello es parte de los fenómenos secundarios a la lesión endotelial y que ocurre en forma localizada en la microcirculación. También se ha descrito aumento plasmático de trombospondina y disminución del inhibidor de la vía del Factor Tisular y de la proteína C, cambios relacionables también a la lesión de CE. Se ha referido, que el plasma de pacientes con PTT puede inducir *in vitro* la expresión de Factor Tisular en células endoteliales de cultivo (vena umbilical)^{22, 23, 34, 37}.

Actividad fibrinolítica

Se ha comunicado disminución de t-PA (proactivador fibrinolítico) y aumento del PAI-1 (inhibidor fibrinolítico), así como menor capacidad fibrinolítica a nivel de la pared vascular en las áreas de trombosis, todo lo cual demostraría una disminución de esta actividad, relacionable con la lesión de la CE. El aumento de complejo Plasmina-Antiplasmina, hallado en algunos casos evidencia que también puede existir alguna activación fibrinolítica luego de la trombosis^{22, 23, 30, 37}.

Conclusiones

La fisiopatología del SUH/PTT a pesar del avance en estudios de algunos aspectos parciales, tiene más incógnitas, que hechos demostrados.

La lesión de la CE puede ocurrir por diferentes noxas, pero excepto en el SUH asociado a toxina Shiga, su mecanismo no es conocido. Si bien pueden existir mecanismos amplificadores que permitan o potencien la injuria endotelial (citoquinas, fenómenos oxidativos, etc.) y factores predisponentes o condicionantes (hormonales, inmunológicos, genéticos), que faciliten la lesión, ellos surgen de observaciones clínicas o de marcadores plasmáticos o celulares circulantes, encontrados habitualmente luego de haberse producido la lesión microangiopática inicial o demostrados en pruebas *in vitro* que luego son extrapolados y considerados que también ocurren *in vivo*. Lo mismo puede decirse del mecanismo que lleva a la trombosis. La lesión endotelial parece ser la principal responsable de la actividad trombogénica por los múltiples mecanismos que se alterarían y que pueden explicar la activación plaquetaria y de la coagulación y de la hipofibrinólisis. El papel del FvW como actor de la agregación plaquetaria y trombosis de la microcirculación es sin duda importante, pero creo que es un aspecto parcial de un fenómeno mucho más complejo.

La presencia en circulación de "moléculas ultragrandes" de FvW, como en el período de remisión de pacientes con SUH/PTT recurrentes, y probablemente en pacientes con déficit congénito de la proteasa de FvW en las formas familiares de PTT, no inducen *per se* agregación y trombosis plaquetaria. Es probable que para que estas "moléculas anormales" de FvW o la deficiencia de esta enzima evidencien o expresen su capacidad trombótica, es necesario que ocurra otro evento amplificador o coadyuvante, que sería la lesión endotelial o "activación endotelial masiva" (por cualquiera de los mecanismos ya referidos), lo cual aumentaría la liberación de "multímeros ultragrandes" de FvW, como ya fuera postulado, pero también porque aparecen otras múlti-

ples alteraciones trombogénicas, que en conjunto serían las responsables de la trombosis. Una posibilidad aún no referida que uniría ambos hechos patogénicos, sería que el anticuerpo "nati-proteasa del FvW" en las PTT adquiridas, tuviera también alguna actividad lesional sobre la CE.

Por otra parte, en el SUH, donde las alteraciones del FvW no parecen depender de la deficiencia congénita o adquirida de la "proteasa", y podría en cambio generarse en otros fragmentos de FvW con poder agregante plaquetario, la "lesión endotelial" sería el factor en común con la PTT, que provoca la similar trombosis de la microcirculación.

Las otras alteraciones descritas en pacientes con SUH/PTT, como actividades agregantes plaquetarias, déficit de PGI₂, activación de la coagulación, etc. han sido habitualmente encontradas luego de la instalación de la lesión vascular y seguramente representen efectos secundarios a la lesión endotelial y no constituyen factores patogénicos de esta patología.

Perspectivas en el desarrollo del conocimiento de la fisiopatología del SUH/PTT

Considero que algunas líneas de investigación serían las que aumentarían las posibilidades de un mayor conocimiento de la fisiopatología de estos síndromes y que tendrán implicaciones diagnósticas y terapéuticas en el futuro. Entre ellas puedo referir:

1. Estudios de los mecanismos de la proliferación, renovación, mantenimiento de la normal función, etc., de la CE y su interrelación con otras células sanguíneas, mediadores solubles, citoquinas, etc.

2. Estudios de la heterogeneidad funcional de la CE en las distintas áreas del organismo y en especial, su relación con la hemostasia⁶⁸.

3. Estudios de la heterogeneidad o polimorfismo genético de la CE (receptores, enzimas, etc.) y su relación con enfermedades vasculares y la trombosis. En la misma forma que se han identificado polimorfismos en proteínas plasmáticas (factores de coagulación) que pueden condicionar estados trombofílicos⁶⁹ y que el polimorfismo de receptores plaquetarios (PI A1 vs PI A2) han evidenciado diferencias en su reactividad trombótica⁷⁰, es probable que también existan en las CE "genotipos o fenotipos de susceptibilidad" para ser activadas y desarrollar trombosis ante distintos estímulos.

4. Clonación del gen de la "proteasa de FvW" y su posibilidad de estudio en modelos animales (transgénicos y *Knock-out*).

5. Encontrar un modelo experimental animal, similar a la patología humana.

Bibliografía

1. Ruggenti P, Lutz D, Remuzzi G. Pathogenesis and treatment of thrombotic microangiopathy. *Kidney Int* 1997; 51: suppl 58, S97-101.
2. Neild G. Hemolytic uremic syndrome/thrombotic thrombocytopenic purpura: Pathophysiology and Treatment. *Kidney Int* 1998, 53, suppl 64, S45-49.
3. Kaplan BS, Meyers KE, Shulman SL. The pathogenesis and treatment of hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1126-33.
4. Sánchez Avalos J. Anemia hemolítica por alteraciones de pequeños vasos (microangiopática). Síndrome hemolítico urémico y púrpura trombótica trombocitopénica. Enciclopedia Iberoamericana de Hematología, editor: Antonio López Borrasca. Salamanca (España). Ediciones Univ. Salamanca 1992, p 472-85.
5. Levi M, Ten Cate H. Current concepts: Disseminated intravascular coagulation. *New Engl J Med* 1999; 341: 586-92.
6. Moschowitz E. An acute febrile pleiochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: an undescribed disease. *Arch Int Med* 1925; 36: 294-310.
7. Symmers W. Thrombotic microangiopathic hemolytic anemia. *Brit Med J* 1952; 2: 897-9.
8. Gasser C, Gautier E, Steck A, et al. Hamolytisch uramisch syndrome: bilaterale nierindennekrosen bei akten erworbenen hamolytische anemien. *Schweiz Med Wochenschr* 1955; 85: 905-10.
9. Gianantonio C, Vitacco M, Mendilaharzu F, et al. Acute renal failure in infancy and childhood. Clinical course and treatment of forty - one patients. *J Pediatr* 1962; 611: 660-78.
10. Gianantonio C, Vitacco M, Mendilaharzu F, et al. The hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr* 1964; 64: 478-91.
11. Gianantonio C, Vitacco M, Mendilaharzu F, et al. Hemolytic - uremic syndrome: renal status of 76 patients at long-term follow-up. *J Pediatr* 1968; 72: 757-65.
12. Koster F, Levin J, Walker L, et al. Hemolytic-uremic syndrome after shigellosis. *New Engl J Med* 1978; 298: 927-33.
13. Karmali M, Steele B, Petric M, et al. Sporadic cases of hemolytic uremic syndrome associated with fecal cytotoxin and cytotoxin-producing *E. coli*. *Lancet* 1983; i: 619-20.
14. Novillo A, Voyer L, Cravioto R, et al. Haemolytic-uremic associated with faecal cytotoxin and verotoxin neutralizing antibodies. *Pediatr Nephrol* 1986; 84: 339-42.
15. López E, Díaz M, Grinstein S, et al. Hemolytic-uremic syndrome and diarrhea in Argentine children: the role of shiga like toxins. *J Infect Dis* 1989; 160: 469-75.
16. Repetto H. Epidemic hemolytic-uremic syndrome in children. *Kidney Int* 1997; 52: 1708-19.
17. Kwaan H. Miscellaneous secondary thrombotic microangiopathy. *Sem Hematol* 1987; 24: 141-7.
18. Hymes K, Karparkin S. Human immunodeficiency virus infection and thrombotic microangiopathy. *Sem Hematol* 1997; 34: 117-25.
19. Gordon L, Kwaan H. Cancer and drug-associated thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Sem Hematol* 1997; 34: 140-7.
20. Mc Crae K, Cines D. Thrombotic microangiopathy during pregnancy. *Sem Hematol* 1997; 34: 148-58.
21. Schriber J, Hersig G. Transplantation associated thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Sem Hematol* 1997; 34: 126-33.
22. Eldor A. Thrombotic thrombocytopenic purpura: diagnosis, pathogenesis and modern therapy. *Clin Haematol* 1998; 11: 475-95.
23. Van de Kar NC, Monnens LA. The haemolytic-uraemic syndrome in childhood. *Clin Haematol* 1998; 11: 497-509.
24. Berns J, Kaplan B, Mackow R, et al. Inherited hemolytic uremic syndrome in adults. *Am J Kidney Dis* 1992; 19: 331-4.
25. Peterman A, Offerman G, Distler A, et al. Familial hemolytic uremic syndrome in three generations. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 1063-7.
26. Noris M, Ruggenti P, Perna A, et al. Hypocomplementemia discloses genetic predisposition to hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: role of factor H abnormalities. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 281-93.
27. Warwicker P, Goodship J, Goodschip T. Factor H-US?. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1921-3.
28. Warwicker P, Goodschip T, Donne R, et al. Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int.* 1998; 53: 836-44.
29. Kovacs M, Roddy J, Gregoire S, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura following hemorrhagic colitis due to *E. coli* O 157: H7. *Am J Med* 1990; 88: 177-9.
30. Kwaan H, Soff G. Management of thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Sem Hematol* 1997; 34: 159-66.
31. Furlan M, Lammle B. Deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease in familial and acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Clin Haematol* 1998; 11: 509-14.
32. Furlan M, Robles R, Galbusera M, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *New Engl J Med* 1998; 339: 1578-84.
33. Tsai H, Lian E. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *New Engl J Med* 1998; 339: 1585-94.
34. Moake J, Byrnes J. Thrombotic microangiopathies associated with drugs and bone marrow transplantation. *Hematol Oncol Clin N Amer* 1996; 10: 485-97.
35. Lefevre P, George F, Durand J, et al. Detection of circulating endothelial cells in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 1993; 69: 522-3.
36. Katayama M, Handa M, Araki Y, et al. Soluble P-Selectin is present in normal circulation and its plasma level is elevated in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura and haemolytic uremic syndrome. *Brit J Haemat* 1993; 84: 702-10.
37. Wada H, Kaneko T, Ihiwa M, et al. Increased levels of vascular endothelial cell markers in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 1993; 44: 101-5.
38. Paton J, Paton A. Pathogenesis and diagnosis of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 450-79.
39. Besser R. *Escherichia coli* 0157: H7 gastroenteritis and the hemolytic uremic syndrome. An emerging infectious disease. *Annu Rev Med* 1999; 50: 355-67.
40. Keusch G, Acheson D. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with shiga toxins. *Sem Hematol* 1997; 34: 106-16.
41. Lopez E, Contrini M, Devoto S, et al. Incomplete hemolytic - uremic syndrome in Argentinian children with bloody diarrhea. *J Pediatr* 1995; 127: 364-7.
42. Sheth K, Gill J, Leichter H, et al. Increased incidence of HLA-B 40 group antigens in children with hemolytic uremic syndrome. *Nephron* 1994; 68: 433-6.
43. Cines D, Pollak E, Buck C, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998; 91: 3527-61.
44. Gallo G, Gianantonio C. Extrarenal involvement in

- diarrhea-associated haemolytic uraemic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 117-9.
45. Mitra D, Jaffe E, Weksler B, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura and sporadic hemolytic uremic syndrome plasmas induce apoptosis in restricted lineages of human microvascular endothelial cells. *Blood* 1997; 89: 1224-34.
 46. Laurence J, Mitra D. Apoptosis of microvascular endothelial cells in the pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura / Sporadic hemolytic uremic syndrome. *Sem Hematol* 1997; 34: 98-105.
 47. Gibrone M. Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherogenesis. *Am J Pathol* 1999; 155: 1-5.
 48. Asada Y, Sumiyoshi A, Hayashi et al. Immunohistochemistry of vascular lesion in thrombotic thrombocytopenic purpura with special reference to factor VIII related antigen. *Thromb Res* 1985; 38: 469-79.
 49. Furlan M, Lammle B. von Willebrand factor in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 1999; 82: 592-600.
 50. Moake J. Studies on the pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Sem Hematol* 1997; 34: 83-9.
 51. Moake J, Rudy C, Troll J. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *New England J Med* 1982; 307: 1432-5.
 52. Mannucci P, Lombardi R, Lattuada A, et al. Enhanced proteolysis of plasma von Willebrand factor in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic uremic syndrome. *Blood* 1989; 74: 978-82.
 53. Rowe J, Francis C, Cyran E, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura. Recovery after splenectomy associated with persistence of abnormally large von Willebrand factor multimers. *Am J Hematol* 1985; 20: 161-4.
 54. Galbusera M, Noris M, Rossi C, et al. Increased fragmentation of von Willebrand factor due to abnormal cleavage of the subunit, parallels disease activity in recurrent hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and discloses predisposition in families. *Blood* 1999; 94: 610-20.
 55. Moake J, Moschowitz, multimers and metalloprotease. *New Engl J Med* 1998; 339: 1629-31.
 56. Mannucci P. Thrombotic thrombocytopenic purpura: a simpler diagnosis at last?. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1380-81.
 57. Obert B, Touto H, Veyradier A, et al. Estimation of the von Willebrand Factor-cleaving protease in plasma using monoclonal antibodies to vWF. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1382-5.
 58. Gerritsen H, Turecek P, Schwarz H, et al. Assay of von Willebrand factor (vWF) cleaving protease based on decreased collagen binding affinity of degraded vWF. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1386-9.
 59. Sasseti B, Viscarguenaga M, Zanaro N, et al. Hemolytic uremic syndrome in children: platelet aggregation and membrane glycoproteins. *J Ped Hematol Oncol* 1999; 21: 123-28.
 60. Rose P, Struthers G, Robertson M, et al. Factor VIII von Willebrand protein in haemolytic uraemic syndrome and systemic vasculitides. *Lancet* 1990; 335: 500-2.
 61. Casonato A, Pontara E, Bertomos A, et al. Abnormally large von Willebrand factor multimers in Henoch-Schonlein purpura. *Am J Hematol* 1996; 51: 7-11.
 62. Remuzzi G, Zoja C, Rossi E. et al. Prostacyclin in thrombotic microangiopathy. *Sem Thromb Hemost* 1987; 6: 391-4.
 63. Siddiqui F, Lian E. Platelet-agglutinating protein p37 from a thrombotic thrombocytopenic purpura plasma forms a complex with human immunoglobulin G. *Blood* 1988; 71: 299-304.
 64. Kelton J, Moore J, Warkentin Th, et al. Isolation and characterization of cysteine proteinase in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Brit J Haematol* 1996; 93: 421-6.
 65. Wu X, Li Q, Lian E. Plasma from a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura induces endothelial cell apoptosis and platelets aggregation. *Thromb Res* 1999; 93: 79-87.
 66. Nevard C, Jurd K, Lane D, et al. Activation of coagulation and fibrinolysis in childhood diarrhea-associated hemolytic uraemic syndrome. *Thromb Haemost* 1997; 78: 1450-5.
 67. Marta R, Florentin L, Díaz M, et al. Marcadores de generación de trombina en insuficiencia renal de niños con síndrome urémico hemolítico epidémico. *Medicina (Buenos Aires)* 1998; 58: 1: 8-12.
 68. Rosenberg R, Aird W. Mechanism of disease: vascular-bed-specific hemostasis and hypercoagulable states. *New Engl J Med* 1999; 340: 1555-64.
 69. Bertina R. Molecular risk factors for thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 82: 601-9.
 70. Bray P. Integrin polymorphism as risk factors for thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 82: 337-44.

La juventud debe tener ideales elevados y pensar en alcanzar grandes cosas, porque si la vida rebaja siempre y no se logra sino una parte de lo que se ansía, soñando muy alto alcanzaréis mucho más. Las conquistas del presente son sueños juveniles realizados y que alguna vez se tuvieron por imposibles.

Bernardo A. Houssay (1887-1971)

Discurso en el homenaje al 80° aniversario de su nacimiento. *En: Escritos y Discursos de Bernardo Houssay*. A. Barrios Medina, A. Paladini (compiladores), Buenos Aires: Eudeba, 1989, p 595