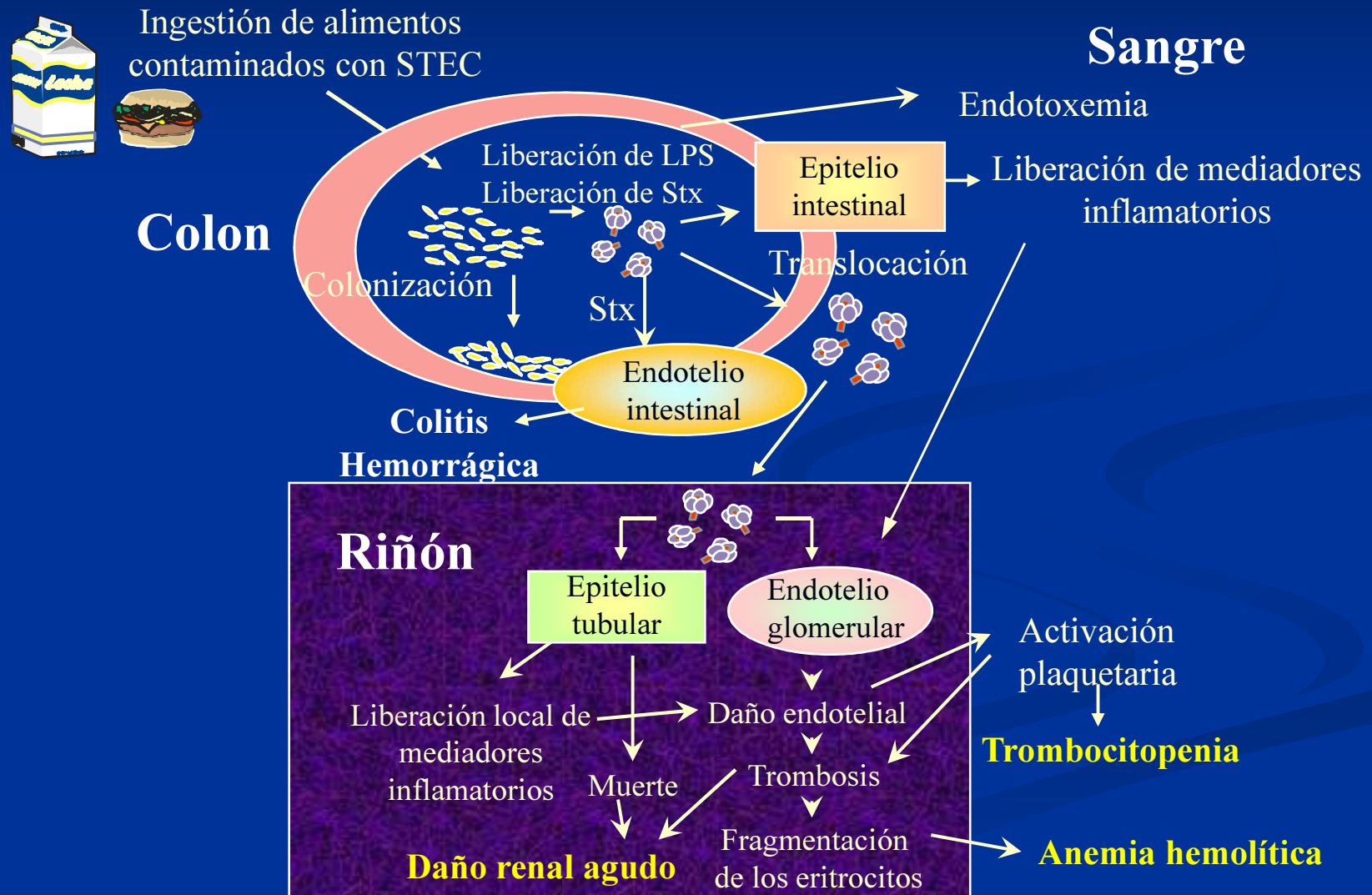


38o CONGRESO ARGENTINO DE PEDIATRIA

- CORDOBA
- 24-27 SEPTIEMBRE 2017

SINDROME UREMICO HEMOLITICO (SUH)



SINDROME UREMICO HEMOLITICO

- AVANCES EN SU FISIOPATOLOGIA
- NUEVAS PROPUESTAS DE TRATAMIENTO



**Respuesta inflamatoria en niños con Síndrome Urémico
Hemolítico**
**“Participación en la patogénesis del Síndrome Urémico
Hemolítico (SUH)”**

Dr. Ramon Exeni
Dto Nefrología Pediátrica Hospital Niños San Justo

DESARROLLO DEL SUH



RESPUESTA INFLAMATORIA

Mediadores Solubles

Respuesta Trombótica

Componentes Celulares De La Respuesta Innata

Participación de la respuesta innata en el SUH

- Pocos estudios existen sobre las alteraciones de los componentes celulares de la respuesta innata o inflamatoria en niños con SUH

Estos comprenden básicamente

Los leucocitos Polimorfonucleares (PMN)

Los Monocitos (Mo)

Fractalquina

TRAPS

PAPEL DEL NEUTROFILO

El mas abundante tipo de celula blanca

\ Tiene un rol crucial en la respuesta inmune innata .

Primer linea de defensa contra los microorganismos invasores

*Actua por mecanismos como la **DEGRANULACION** con liberacion de peptidos granulares antimicrobianos como la mieloperoxidasa(MPO) la elastasa y las metaloproteinasas*

- ***DEGRADACION Y FAGOCITOSIS** via sintesis del Radicales de oxigeno (ROS) y*
- ***ATRAPAMIENTO microbiano** por extrusion de las mallas de cromatina unidas a los peptidos granulares lo que se llama **NEUTROPHIL EXTRACELULAR TRAPS (NETS)**o **TRAMPAS EXTRACELULARES***

Evaluacion de la funcion de los PMN

Gránulos Primarios	Gránulos Secundarios	Vesículas secretorias
MPO		
β glucuronidasa		
	Marcadores Membrana CD66	Marcadores Membrana CD11b CD16

Funcion de los PMN en SUH

- Evaluamos la expresión de las moléculas de membrana involucradas en la adherencia y respuesta inflamatoria
- CD 11b y CD 16 como marcadores de activación en vesículas **secretorias**
- Contenido Intracelular de moléculas y enzimas en los **Granulos primarios** (MOP y β glucuronidasa)
- Contenido Intracelular en moléculas y enzimas de los gránulos **secundarios** (CD66b)

CONCLUSIONES

Los PMN de niños D+HUS presentaron reducida capacidad degranuladora en respuesta a las citokinas y disminución de su contenido granular

- Disminución de la generación de iROS
- Esto sugiere que durante la hospitalización los PMN de niños D+HUS están alterados funcionalmente y mostraron signos de degranulación previa mostrando un proceso previo de activación con liberación de iROS y proteasas involucradas en el daño endotelial
- **Fernandez G Exeni R Palermo M**
- **Impaired neutrophil in children with typical HUS**
- **Pediatr Nephrol 2005 20 1306**



MONOCITOS

Los Monocitos humanos incubados con Stx inducen la síntesis de citoquinas como IL-1 β , TNF- β , IL-6, e IL-8.

•

- En los pacientes con SUH se observan:
 - Monocitos con alteraciones fenotípicas y funcionales.
 - Aumento de secreción de D16, moléculas productoras de citoquinas inflamatorias como el TNF y la IL-1

Estos datos sugieren que los Monocitos podrían contribuir en el desarrollo del SUH, ya sea mediante la liberación de factores inflamatorios sistémica ó localmente ó mediante su interacción directa con el endotelio.

MONOCITOS

- Ramos MV Palermo M Exeni R Exeni A
- Dysegregation of chemoquine receptor expression in circulating monocytes
- Clin Science (London) 2015 129 235

- Fernandez G Exeni R Palermo M
- Cytoquine production is altered in monocytes from children with HUS
- J Clin Immunology 2012 32 622 31

NETs

- *NETs son estructuras compuestas por moléculas antimicrobianas que pueden atrapar, inmovilizar, inactivar y destruir microorganismos y activar células inmunes.*
- *Se libera en procesos con muerte celular denominados netosis, distinto a la apoptosis y la necrosis.*
- *NETs juegan un rol crucial en la inmunidad innata*
- *y se dispara por estímulos como infecciones o estímulos estériles como citoquinas, autoanticuerpos, y complejos inmunes.*
-

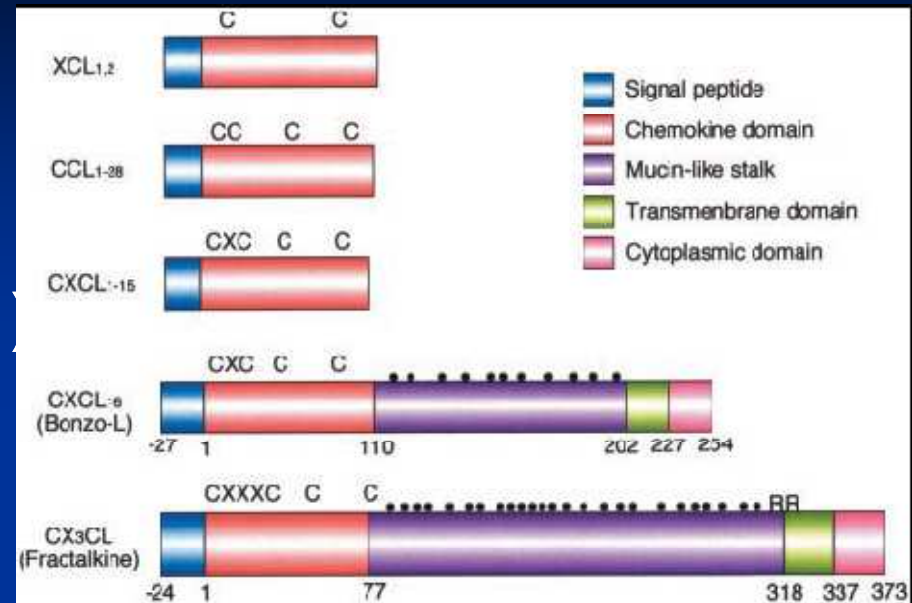
NETS

- Papel Protagonico en
- SEPSIS
- ARTRITIS REUMATOIDEA
- SINDROME FOSFOLIPIDICO
- RECHAZO DE TRANSPLANTES
- LUPUS

NETS

- SE DEMOSTRO AUMENTO DE LOS NIVELES CIRCULANTES DE
- NETS CONDICION QUE PUEDE CONDUCIR A OBSTRUCCION DE CAPILARES Y DEARROLLO DE MICROANGIOPATIA TROMBOTICA
- V Ramos Palermo M Exeni R Santiago A
- Induccion of Neutrophil Extracellular Traps in Shiga Toxin associated Hemolytic uremic syndrome
- J Innate Immunol 2016 8 400 ‘ 411

■ Fractalkina (CX₃CL1)



* Fractalkina is una citokina tipo I transmembrana que induce la adhesión y migración de leukocytes

La expresión de fractalkina (CX₃CL1) y la presencia de su receptor CX₃CR1 expresado en las células del riñón, ha sido demostrado en diferentes nefropatías.

* En modelos animales, tratados con anticuerpos anti-CX₃CR1 bloquearon dramáticamente la infiltración de leucocitos en el glomérulo con mejoría de la función renal

Fractalquina y Riñón

- Prevention of crescentic glomerulonephritis by immunoneutralization of the fractalkine receptor

CX3 CR1

Feng L

Kidney Int 1999 56: 612-620

Expression of the fractalkine receptor in human kidney diseases

Seegerer S

Kidney Int 2002 62: 488-95

Fractalquina y riñón

- Potential role of fractalkine receptor expression in human renal fibrogenesis

Kazirolek MJ

Kidney Int 2007 72 599-607

Urinary fractalkine is a marker of acute rejection

Peng W

Kidney Int 2008 74- 1454-60

¿¿Por que analizar el rol de la fractalquina y su receptor en la patología del SUH??

Distintas evidencias demuestran la relevancia de las quimioquinas y sus receptores en el desarrollo de la respuesta inflamatoria y en la evolución de diferentes patologías.

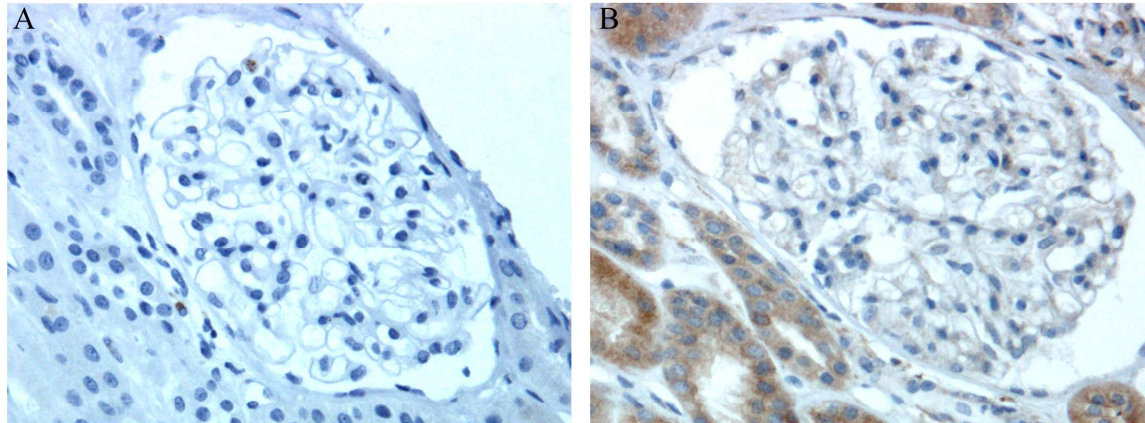
Entre las distintas quimioquinas, se ha demostrado que la fractalquina está involucrada en la morfogénesis del riñón y SNC y también en enfermedades renales.

Estudiar la participación de la fractalquina en el desarrollo del SUH, ya que podría estar mediando el reclutamiento de los Monocitos hacia el tejido afectado.

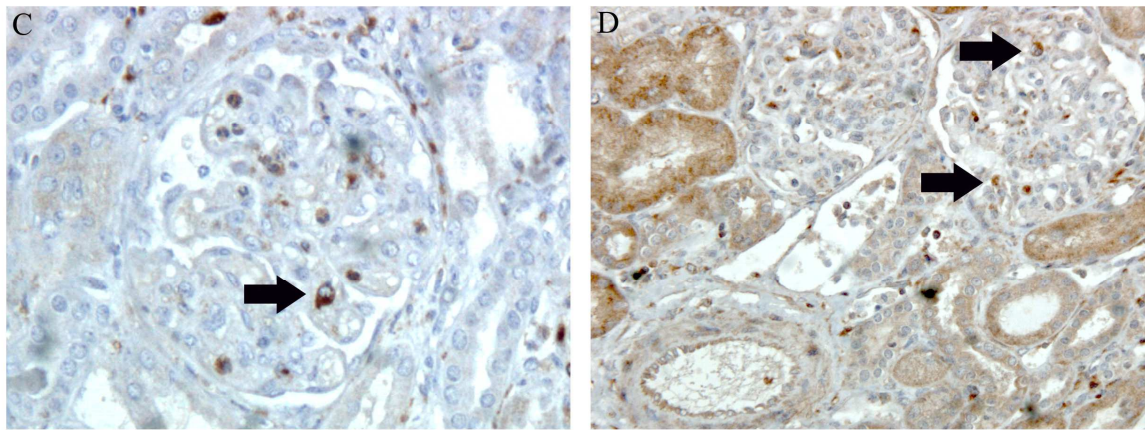
CX₃CR1 juega un rol en la localización de células inflamatorias en el riñón durante el SUH ??

CX3CR1 se expresa en el endotelio glomerular y en el epitelio tubular

A- B Control



C-D SUH
Típico



SUH y FRACTALQUINA

- Involvement of the fractalkine pathway in the pathogenesis of childhood HUS

Ramos V Palermo M Exeni R

Blood 2007 106 2438- 45

PERSPECTIVAS TERAPEUTICA

- PROBIOTICOS
- GEL COLOIDAL DE BISMUTO
- INMUNOGENO
- C 9 GENZYME
- ECULIZUMAB

PROBIOTICOS

- ACCION LUMINAL
- Inhibe el crecimiento de bacterias y parasitos neutralizando los factores de virulencia bacteriana
- Suprime la adhesion de celulas huesped interfiriendo en la colonizacion bacteriana
- EFECTO ANTITOXINA
- Inhibe la sintesis de union de los receptores de la toxina y produce enzimas como la fosfatasa 63kDA que destruye la endotoxina de la Ecoli
- Buts et al
- Saccharomyces Boulardi produces in rat small intestine a novel protein phosphatase that inhibit Ecoliendotoxine by phosphorilation
- Pediatr Res (2006) 60, 24 29

PROBIOTICOS

- Son microorganismos que
- ingeridos en concentraciones adecuadas colonizan el intestino y compiten con el desarrollo de bacterias enteropatógenas como el *Campylobacter*, *Salmonella* y *E. coli* Enterohemorrágica.
- Se utilizó el *Saccharomyces Boulardii* y se comprobó

PROBIOTICOS

- REGULACION RESPUESTA IMUNE
- *Saccharomyces Boulardi* puede modular la microbiota intestinal por su capacidad de activación inmunitaria y antiinflamatoria.
- Actúa sobre la inmunidad innata que incluye la activación y migración de neutrófilos y monocitos
- Compete en la pared intestinal impidiendo la penetración de la toxina de *E. coli* en la pared intestinal
- *Etcheverria A*
- *E. coli* with O157 H7 activity isolated from bovine colon
- *J Appl Microbiol* 2006 100 384 390

GEL DE HIDROXIDO DE ALUMINIO COLOIDAL

- Se estudiaron sus efectos sobre las cepa de Ecoli productoras de Stx La inactivacion de la accion citotoxica de la Stx en presencia del gel y el bloqueo producido por el gel sobre el mecanismo de diseminacion de los genes que codifican Stx.
- Los trabajos muestran que la actividad citotoxica sobre las celulas Vero disminuye
- Los resultados muestran que el gel posee efectos bactericidas
- sobre las cepa de STEC estudiadas.
-

GEL

- Masso M. Zotta E Ibarra C
- Physiological Mini Reviews ISSN 1669
- El gel de hidroxido de aluminio protege el colon humano de la accion patogena deEcoli 0157 H7 productoras de toxina Shiga tipo 2

- Etcheverria Analia
- Comunicación personal
- Experimentos recientes muestran la inhibicion del crecimiento bacteriano en caldo de cultivo conteniendo el gel

INMUNOGENO

- A partir de una tecnología ya patentada Inmunova , con la colaboración de la Dra Marina Palermo logro generar un inmunogeno que estabiliza la subunidad Beta de la Shigatoxina
- Esto permitio obtener sueros equinos neutralizantes que reconocen con una muy alta afinidad a las distintas variantes de la Shigatoxina a partir de la cual se purifica la porcion F (ab) 2 de las inmunoglobulinas
- El nivel de seguridad segun los primeros resultados parece ser muy bueno
- En Octubre 2017 comenzaran las primeras investigaciones de Fase 1 con adultos voluntarios y se planea comenzar con la Fase 2 en niños en octubre 2018

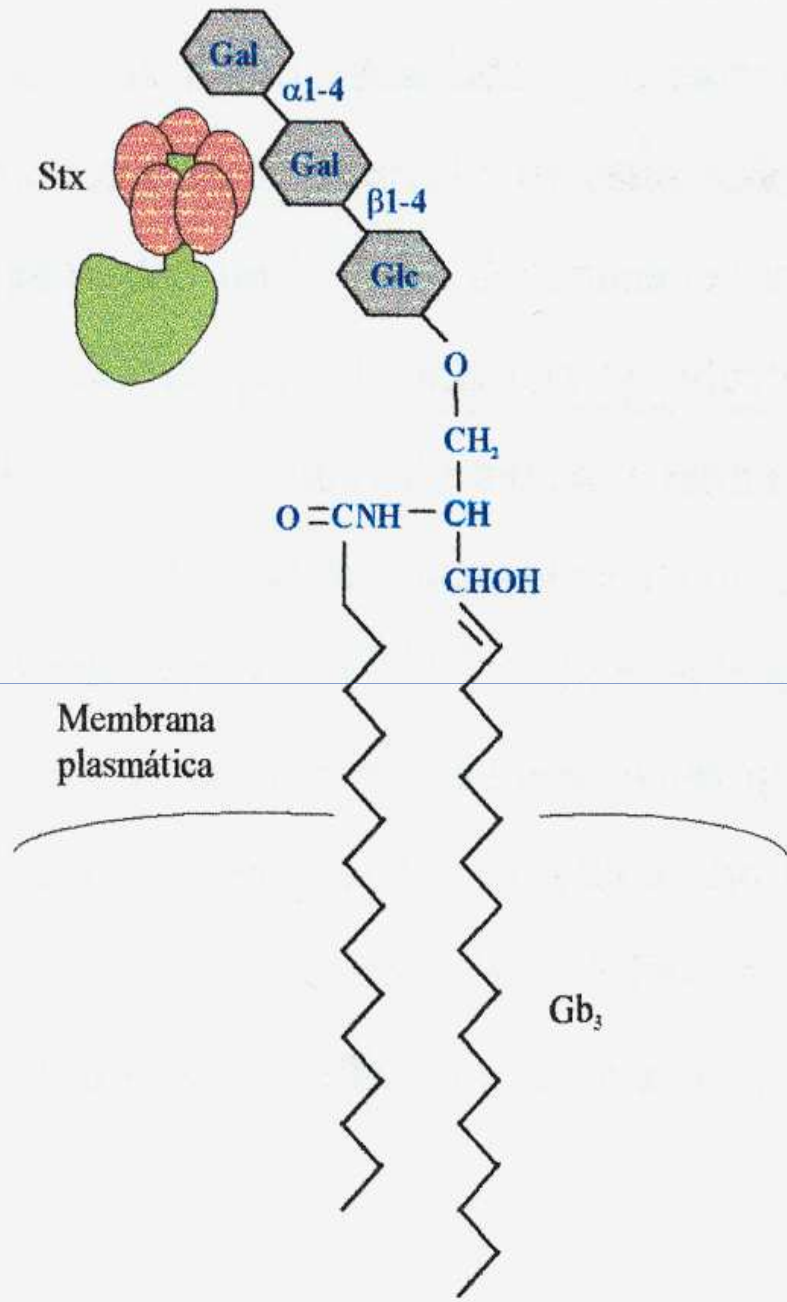


Figura 2.3 Esquema del receptor de la Stx, el glosilceramida o Gb₃. Se muestra la Stx uniéndose al disacárido terminal Gal α1-4 Gal.

Inhibidor de la Glucosylceramida syntetasa previene el efecto citotoxico de la Stx 2 en las celulas del tubulo renal

- **SOBRE LA BASE PATOGENICA DE LA UNION DE LA STX A SU RECEPTOR GB3 SE ESTUDIO EL EFECTO CITOTOXICO DE LA STX 2 SOBRE CULTIVOS PRIMARIOS DE CELULAS EPITELIALES RENALES(CERH) TRATADAS CON UN INHIBIDOR DE LA GLUCOSIL-CERAMIDA SINTETASA (C9 GENZYME) QUE BLOQUEA LA SINTESIS DEL RECEPTOR GB3**
- **LA EXPRESION DEL RECEPTOR GB3 DISMINUYO SIGNIFICATIVAMENTE LUEGO DE 48 HS DE TRATAMIENTO CON C9**
- **ESTOS TRABAJOS DEMUESTRAN RELACION DIRECTA ENTRE LA TOXICIDAD DE LA STX Y EL BLOQUEO DEL RECEPTOR GB3 ABRIENDO PERSPECTIVAS COMO METODO DE TRATAMIENTO**

C9 GENZYME

-
- Silverstein C Zotta E Repetto H Ibarra C
- Glucosylceramide synthase **inhibition protects**
- **rats against the cytotoxic effects of Stx2**
- **Pediatr Res 2011 69 390 394**

ECULIZUMAB

- Fakhoury F Loirat C
- Hemolytic Uremic Syndrome
- The Lancet Agosto 12 2017 681 696

- Lapeyraque A
- Eculizumab in severa Stx associated HUS
- NEngl JMed 2011 364 2561 2563

- Pape L
- Eculizumab in typical HUS with neurological involvement
- Medicine 2015 94 c100

Academia Nacional de Medicina

División Inmunología

Lic Leticia Bentancor

Lic María Victoria Ramos

Lic. Romina Fernández-Brando

Dra. Gabriela Fernández

Dr. Martín Isturiz

Dra Marina Palermo

Departamento de Patología.

Dr. Roberto Meiss

Departamentos de Nefrología

Hospital Municipal del Niño, La Matanza, Pcia Bs As.

Dr. Ramón Exeni

Dra. Adriana Santiago

Dra Karina Alvarez

Dra Claudia Eeni

Hospital Universitario Austral

Dra Andrea Exeni