

Actualización

Síndrome urémico hemolítico inducido por *Escherichia coli* enterohemorrágica

Hemolytic uremic syndrome caused by enterohaemorrhagic Escherichia coli

Dra. Cristina Ibarra*, Dr. Jorge Goldstein*, Dra. Claudia Silberstein*, Dra. Elsa Zotta*, Lic. Marcela Belardo** y Dr. Horacio A. Repetto#

Resumen

El síndrome urémico hemolítico (SUH) se caracteriza por anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia y daño renal. Constituye la primera causa de insuficiencia renal aguda en la edad pediátrica y la segunda de insuficiencia renal crónica. *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC, por su sigla en inglés) es el primer agente etiológico de SUH; su principal reservorio es el ganado bovino y la vía de transmisión, los alimentos contaminados. Hasta el presente no existe un tratamiento específico para disminuir la progresión del SUH.

El estudio de los mecanismos por los cuales STEC infecta y la toxina Shiga induce SUH puede ayudar a desarrollar nuevas estrategias para impedir esta enfermedad.

Abstract

Hemolytic uremic syndrome (HUS) is characterized by microangiopathic hemolytic anemia, plaquetopenia and kidney damage. It is the leading cause of acute renal failure in pediatric age and the second for chronic renal failure. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) is the first etiologic agent of HUS being its main reservoir cattle and transmitted via contaminated food.

At present, there is no specific treatment to reduce the progression of HUS. The study of the mechanisms by which STEC infects and Shiga toxin induces HUS can help to find new strategies to prevent this disease.

niños afectados son fundamentalmente menores de 5 años, de ambos sexos, eutróficos, con buenas condiciones higiénico-sanitarias. En la mayoría, la diarrea que caracteriza al período prodromico es el primer episodio de su vida.⁴

En la Argentina, *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC, por su sigla en inglés) es el primer agente etiológico de SUH y O157:H7 es el serotipo más frecuente.⁴ También se han descrito otros serotipos (O26:H11; O103:H2; O111:NM; O121:H19; O145:NM) asociados a colitis hemorrágica y SUH, que se denominan genéricamente *E. coli* enterohemorrágico.⁵

El SUH está ampliamente distribuido en el mundo y frecuentemente se lo describe como una enfermedad epidémica con baja tasa de incidencia en países industrializados, como EE.UU., Canadá y Japón (1-3 casos / 100.000 niños < 5 años).⁶ En cambio, en América del Sur es endémico y epidémico con una tasa de incidencia significativamente mayor. En Chile se producen 4-5 casos / 100.000 niños < 5 años⁷ y en la Argentina, por alguna razón desconocida, la tasa de incidencia es de 12-14 casos / 100.000 niños < 5 años, que constituye la mayor del mundo. Los registros oficiales en la Argentina muestran que la enfermedad está distribuida en todo el país con alrededor de 500 nuevos casos por año;⁸ desde 1965 y hasta el presente⁹ se han acumulado más de 7.000 casos. La frecuencia de aparición de SUH es mayor en las provincias del centro y sur durante los meses cálidos, aunque se registran casos durante todo el año.⁸

Esta enfermedad infantil constituye la primera causa de insuficiencia renal aguda en la edad pediátrica y la segunda de insuficiencia renal crónica; además, es

SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO

El síndrome urémico hemolítico (SUH), descrito por primera vez en 1955,¹ es una enfermedad de comienzo agudo con anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia y daño renal; puede seguir o no a un episodio de diarrea con sangre o sin ella, principalmente en lactantes y niños en la primera infancia,² pero puede afectar también a ancianos.³ Las manifestaciones más comunes son: palidez, petequias, hematomas, oliguria, edema, hipertensión arterial y cambios neurológicos, como letargia o convulsiones. Los

* Laboratorio de Fisiopatología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA.

** Instituto Gino Germani, Facultad de Ciencias Sociales, UBA.

Servicio de Pediatría, Hospital Nacional "Prof. Alejandro Posadas".

Correspondencia:
Dra. Cristina Ibarra.
ibarra@fmed.uba.ar

Recibido: 4-8-08
Aceptado: 6-8-08

responsable del 20% de los trasplantes renales en niños y adolescentes.¹⁰ Durante el período agudo, la letalidad es de sólo el 3-5%, debido al diagnóstico precoz de la enfermedad, la instauración temprana de la diálisis peritoneal en los casos con oliguria grave o anuria y al manejo de la anemia hemolítica. El 60% de los pacientes supera la fase aguda y se recupera sin secuelas después de dos o tres semanas de hospitalización. Un 5% de los niños desarrolla una insuficiencia renal crónica que, en pocos años, requiere procedimientos de hemodiálisis permanente o trasplante renal. Otro 30% continúa con microhematuria y grados variables de proteinuria que pueden durar décadas¹¹⁻¹². El SUH implica grandes costos económicos para el sistema de salud, con fuerte repercusión sobre los países en desarrollo.¹³

STEC es el patógeno emergente en alimentos de mayor impacto y su principal reservorio es el ganado bovino.¹⁴⁻¹⁶ La vía de transmisión más importante es la ingesta de alimentos contaminados, principalmente elaborados a base de carne picada.¹⁷ Otras formas de transmisión incluyen agua contaminada por heces bovinas, verduras regadas con aguas contaminadas, contacto directo del hombre con los animales y transmisión persona a persona por la ruta fecal-oral.⁸

La base patogénica del SUH está determinada por el daño de las células endoteliales de los pequeños vasos del colon, riñón y sistema nervioso central. Como esos tejidos están alejados de la mucosa colónica donde coloniza STEC se postula que el daño endotelial es una consecuencia directa de la acción de la toxina Shiga (Stx) que liberada por STEC trasloca la barrera intestinal y accede a la circulación sanguínea.

Stx pertenece a una familia de proteínas estructuralmente y funcionalmente relacionadas con la toxina Shiga sintetizada por *Shigella dysenteriae*. Se las designa por un número o una combinación de números y letras. Stx de tipo 1 (Stx1) difiere en un solo aminoácido con Stx de *S. dysenteriae*, mientras que Stx de tipo 2 (Stx2) tiene sólo 56% de identidad con Stx1¹⁸. Además algunas variantes de Stx2 son más virulentas en el hombre, tal es el caso de Stx2c y ciertas formas de Stx2d, que pueden ser activadas por la elastasa presente en el mucus humano.¹⁹ Si bien las infecciones por STEC están asociadas a Stx1, Stx2 o a ambas, la producción de Stx2 aumenta el riesgo de SUH.

Recientemente se informó que algunas cepas de STEC producen una nueva toxina, denominada citotoxina subtilasa porque está relacionada estructuralmente y funcionalmente con la serina

proteasa de la familia de la subtilasa, presente en *Bacillus anthracis*. Los estudios con esta toxina denominada Sub AB demuestran que es capaz de producir mayor citotoxicidad que Stx2 en células Vero e inducir cambios patológicos en el ratón compatibles con el SUH.²⁰

Ambas toxinas, Stx y SubAB, pertenecen a la familia AB₅, que consiste en una subunidad A unida a un pentámero de subunidades B. Este pentámero se une al receptor globotriaosilceramida Gb3 en el caso de Stx2 y al receptor GM2, en el caso de SubAB, los cuales están presentes en la superficie de las células blanco. Mientras que Stx se internaliza a los endosomas tempranos y sigue un transporte retrógrado vía el complejo de Golgi, retículo endoplásmico (RE) y la membrana nuclear,²¹ la SubAB se mueve directamente desde los endosomas tempranos al compartimiento citoplasmático.²²

La subunidad A de Stx2 y de SubAB inhibe la síntesis de proteínas aunque de maneras diferentes. La subunidad A de Stx se cliva en el aparato de Golgi en dos fragmentos: A1 y A2. El fragmento A1 activo se trasloca al citoplasma donde actúa como una N-glicosidasa que remueve un residuo específico de adenina de la unidad ribosomal 28S, lo que resulta en una inhibición irreversible de la síntesis de proteínas e inducción de apoptosis.^{23,24} En cambio, la subunidad A de SubAB requiere la subunidad B para inactivar una proteína reguladora de RE denominada chaperona BIP.²⁵ BIP es un regulador vital para las funciones del RE y su clivado conduce, inevitablemente, a la muerte celular.²⁶

En ausencia de la subunidad A, se han descrito otros efectos biológicos relacionados con las subunidades B de Stx2 (Stx2B) y también de SubAB. La unión de Stx2B al receptor Gb3 dispara señales intracelulares que inducen apoptosis en células epiteliales²⁷ y no epiteliales,²⁸ mientras que las subunidades B de SubAB causan vacuolización en células Vero dependiente de la ATPasa tipo V.²² Recientemente, nosotros demostramos que Stx2B inhibe la absorción de agua en colon humano *in vitro* y produce acumulación de fluido acuoso en fragmentos de colon ligado de rata, lo cual indicaría una contribución directa de Stx2B a la diarrea acuosa observada en los primeros días de la infección por STEC.²⁹ Los mismos efectos fueron observados en células epiteliales tubulares renales humanas y podrían estar relacionados con la alteración en la función de los transportadores Na⁺/H⁺ (NHE3) y canales de agua (AQP1) presentes en la membrana apical de las células del túbulo proximal renal.³⁰ Recientemente se demostró que la unión de Stx2B

al receptor Gb3 induce reorganización lipídica que favorece la formación de invaginaciones tubulares de membrana para la traslocación de la toxina.³¹ Este fenómeno podría deslocalizar los transportadores y canales de membrana responsables de la reabsorción proximal de fluido y explicar la poliuria que se describe en algunos pacientes con SUH al comienzo de la insuficiencia renal aguda.³²

Si bien la citotoxicidad de Stx está ligada a la expresión del receptor Gb3 en la superficie de las células blanco, la sensibilidad se correlaciona también con la estructura del receptor. Análisis estructurales de la interacción entre Stx2B y los residuos globotriosa del receptor Gb3 (Gal α [1-4]Gal β [1-4]Glc β 1-ceramida] indicaron que cada subunidad B se une al menos a 3 sitios de trisacáridos generando un total de 15 sitios por molécula de toxina.³³ Estudios de mutagénesis dirigida revelan que la interacción múltiple es esencial para la unión de Stx al receptor y sugiere que el enlace multivalente estabiliza cooperativamente el complejo receptor-holotoxina.³⁴

Modificaciones de la longitud de la cadena de ácidos grasos del Gb3,³⁵ la presencia de receptores Gb4³⁶ o la disociación de los arreglos lipídicos de la membrana³⁷ pueden resultar en una sensibilidad reducida o, más aun, en una resistencia a la inhibición de la síntesis de proteínas.

Por otra parte, la exitosa inhibición de la síntesis de proteínas por Stx que depende del clivado de la subunidad A en el fragmento activo A1 está mediada por furina, una proteasa de serina dependiente del calcio localizada en el aparato de Golgi. El clivado y la activación de la subunidad A de Stx ocurren a una menor velocidad en células que no poseen furina y se lo atribuye a la presencia de calpaína en el citoplasma o cathepsina en los lisosomas.^{38,39}

Toxina Shiga en intestino

Si bien la mayoría de los datos obtenidos acerca del tráfico de Stx y su citotoxicidad se basan en estudios realizados en células Gb3-positivas, el hallazgo del transporte retrógrado de Stx en la línea celular T84, que carece de receptores Gb3,⁴⁰ es de particular interés, ya que son células empleadas como modelo de epitelio intestinal humano y, además, son resistentes a la acción de la toxina.⁴¹ En estas células se detectó Stx1 en endosomas, complejo de Golgi, retículo endoplásmico y membrana nuclear,⁴⁰ aunque el clivado de la subunidad A ocurre luego de 6 h de incubación mientras que la citotoxicidad no se observa aún en períodos de 24 h. En cambio, en otra línea intestinal humana, Caco-

2, que expresa receptores Gb3, se demostró que Stx1 y Stx2 se transportan al RE, la subunidad A de ambas se activa mediante un clivado dependiente de furina y producen ribotoxicidad con la consecuente inhibición de la síntesis de proteínas e inducción de la apoptosis celular.⁴¹ Asimismo, nosotros demostramos que Stx2 ejerce efecto citotóxico tanto en células Caco-2 como en T84, aunque el efecto fue significativamente mayor en Caco-2.⁴² Por otra parte, en ambas líneas celulares, también se describió un movimiento de la toxina a través de la barrera intestinal sin aparente daño celular, probablemente vía un camino transcelular activo.⁴³

El conjunto de estos resultados parece indicar que la citotoxicidad va asociada a la presencia del receptor Gb3, aunque se discute su expresión en la membrana apical de las células epiteliales de la mucosa colónica. Algunas investigaciones demuestran la existencia del receptor Gb3⁴⁴ y otras su ausencia,⁴¹ pero en todas ellas se describen alteraciones estructurales y funcionales del epitelio por acción de la toxina.

Nosotros describimos una inhibición significativa del transporte de agua a través de la mucosa colónica humana *in vitro* y una destrucción importante de la superficie intestinal luego de incubar el lado mucoso del tejido con Stx2 pura o sobrenadantes de STEC aislados de niños con SUH en Argentina.⁴⁵ En ambos casos se observó una infiltración de neutrófilos que fue más importante en los tejidos incubados con sobrenadantes bacterianos que contenían lipopolisacáridos. Teniendo en cuenta que en infecciones por STEC frecuentemente se encuentran leucocitos en materia fecal,⁴⁶ y que la migración de neutrófilos hacia la luz intestinal puede promover el pasaje de la toxina a través de la barrera intestinal,⁴⁷ es posible que la inflamación que observamos potencie la acción citotóxica de Stx.

Toxina Shiga en riñón

El riñón expresa niveles relativamente altos de Gb3 comparados con otros órganos, razón por la cual resulta uno de los órganos blanco fundamentales en el desarrollo del SUH.⁴⁸ Una apreciación sobre la alta sensibilidad a Stx de las células endoteliales de la microvasculatura sanguínea que expresa Gb3 resultó en la hipótesis de que la toxina inicia directamente las lesiones clásicas del SUH en el riñón: tumefacción de las células endoteliales glomerulares, desprendimiento de la membrana basal y subsecuente depósito de trombos plaquetarios y fibrina en la microvasculatura renal,⁴⁹ aunque estudios recientes sugieren que el daño tubular

renal observado en pacientes con SUH⁵⁰ no es sólo secundario a la lesión glomerular y arteriolar inducida por la toxina, sino también a su acción directa sobre las células epiteliales tubulares renales.⁵¹

Un importante daño tubular proximal renal se describe en los tejidos renales afectados por la insuficiencia renal aguda que desarrolla la enfermedad,⁵² donde el aumento en orina de N-acetil glucosaminidasa y β -microglobulina, señalados como marcadores específicos de la función tubular, aporta evidencias de daño tubular renal en la fase aguda.⁵³ Nosotros y otros grupos de investigación demostramos la acción de Stx en células epiteliales tubulares renales en cultivo, la presencia de Gb3, la unión de Stx, su internalización y la producción de citoquinas.^{27,54,57}

En estudios de tejidos obtenidos de pacientes con SUH y en modelos *in vitro* se demostró la estimulación de la apoptosis en células de la corteza renal humana que demuestra que la toxina puede iniciar la muerte celular programada por diferentes mecanismos.^{55,58,59} En modelos experimentales de SUH se observa que el segmento más afectado del nefrón es el túbulo proximal, lo cual sugiere que la lesión endotelial glomerular puede ser secundaria a la necrosis tubular.⁶⁰⁻⁶²

Toxina Shiga en cerebro

En la Argentina existe una mortalidad de alrededor del 2,4% de los casos de SUH asociado a infecciones por STEC⁹ y la mayor parte de estos casos se debe a la lesión del sistema nervioso central (SNC) por la acción de Stxs. En estudios de cerebros provenientes de autopsias de niños fallecidos por SUH se observaron trombos en la microvasculatura, edema endotelial e infartos, que sugerían que el episodio inicial de la encefalopatía asociado al SUH era la lesión endotelial.⁵⁰

En modelos animales también se observó que el daño neurológico estaba asociado a la destrucción de la microvasculatura y de células neurogliales de la corteza cerebral.⁶³ También se observó un daño selectivo de neuronas en las capas profundas de la corteza cerebelosa y cerebral, cerebro medio y médula espinal; y la toxina se detectó en la pared de los vasos sanguíneos de las zonas involucradas. Los estudios de imagen por resonancia magnética (RM) detectaron lesiones cerebrales en el hipotálamo, hipocampo, tallo cerebral, médula y cerebelo de conejos inyectados con Stx2;⁶⁴⁻⁶⁵ la técnica de RM es confiable para mostrar daño cerebral, pero es ineficiente para señalar las áreas afectadas a nivel celular.

Nosotros pusimos a punto la técnica de admi-

nistración intracerebroventricular (ICV) de Stx2 en ratas de laboratorio cuya ventaja es el estudio de la acción directa de la toxina en SNC, independientemente de los trastornos metabólicos causados por la patogenia del SUH. En estas condiciones pudimos demostrar la muerte neuronal y el daño astrocitario, así como el aumento en la expresión de la proteína fibrilar glial ácida (GFAP, por su sigla en inglés) que condujo a la astrogliosis.^{66,67} Además, observamos que la administración de Stx2 por vía sistémica atravesó la barrera hematoencefálica y se localizó en células perivasculares del cerebro.⁶⁶ La administración ICV de Stx2 mostró alteraciones ultraestructurales en fibras y en cuerpos neuronales del cuerpo estriado. Estos cambios incluyeron degeneración neuronal y fibras axónicas hipertróficas que se correlacionaron con la localización de la toxina en los axones lesionados y con alteraciones en el retículo endoplásmico. Stx2 se localizó en núcleos de astrocitos, donde puede cumplir un rol importante en la inhibición del ensamblado del ARN ribosomal.⁶⁶ Además, Stx2 causó daño citoplasmático y gliosis, así como oligodendrocitos desmielinizados en el cuerpo estriado.⁶⁶ Los estudios de microscopía confocal mostraron astrocitos reactivos y un aumento de GFAP en astrocitos hipertrofiados, que contactaron con neuronas que contenían Stx2. La lesión observada en el cerebro coincidió con cambios en la expresión y actividad de la óxido nítrico sintetasa neuronal (NOSn, por su sigla en inglés).

En la corteza cerebral y en el cuerpo estriado se observó una disminución significativa en el número de neuronas NOS positivas y en la actividad de la NOSn, mientras que en el núcleo paraventricular del hipotálamo se encontró un efecto opuesto.⁶⁷ De acuerdo al estado funcional de la NOSn y a los datos celulares morfológicos y ultraestructurales se puede inferir que la presencia de la toxina disparó mecanismos neurodegenerativos o neuroprotectores en las áreas cerebrales afectadas.

El conjunto de estos resultados coincide con los hallados en las encefalopatías desarrolladas en pacientes con SUH y sugiere que la toxina produce un daño directo en las células del parénquima del SNC.

Estrategias para impedir las infecciones por STEC y el desarrollo del SUH

Las infecciones por STEC pueden ser asintomáticas o comenzar con una diarrea acuosa que progresa o no a diarrea sanguinolenta al cabo de 1-2 días de infección y, en algunos casos, desarrolla SUH.¹⁰ Hasta el presente no hay un modo de predecir cómo se desencadenará el SUH. Y una vez

establecida la enfermedad, no existe un tratamiento específico que pueda impedir la progresión del daño que causa Stx en los diferentes órganos blanco.⁶⁸ Es por ello que el mejor modo de evitar el SUH es impedir la infección primaria por STEC. Por eso, distintas estrategias se orientan a antagonizar los factores de virulencia de STEC, como el uso de probióticos conocidos por su capacidad inhibitoria de patógenos entéricos,^{69,70} de fármacos inhibidores de la síntesis de proteínas⁷¹ y de anticuerpos neutralizantes,⁷² para que las bacterias no colonicen el colon humano.

Otras estrategias se focalizan en neutralizar la toxina para impedir que atraviese la barrera intestinal o se fije a los órganos blanco. Así fue que en un estudio multicéntrico controlado se ensayó la administración oral de un análogo del receptor Gb3 con capacidad de unir la toxina (Synsorb-Pk) en niños con SUH. Si bien ese estudio mostró que quienes recibieron Synsorb-Pk tuvieron similar evolución que aquéllos que no lo recibieron,⁷³ diferentes laboratorios de investigación continúan sus estudios para encontrar análogos del receptor Gb3 que puedan, efectivamente, tener una actividad protectora *in vivo*.^{74,75} Desde hace unos años también se demostró que preparados vacunales génicos y proteicos que codifican toxoides de Stx pueden inducir protección contra la acción de la toxina en ratas y conejos,⁷⁶⁻⁷⁸ pero aún se encuentran en su fase experimental.

Finalmente, la demostración de que el daño tisular producido por Stx desaparece en un modelo de ratón genoprivo para la síntesis del Gb3 (*knock-out*)⁷⁹ aporta evidencias en favor de que, una inhibición de la síntesis de los receptores Gb3 en los órganos blanco de niños afectados por SUH, podría ser una intervención farmacológica efectiva para protegerlos de la acción de la toxina. Recientemente, nosotros observamos que un inhibidor específico de la síntesis del receptor Gb3 (C9, Genzyme) neutraliza la acción citotóxica de Stx2 en células epiteliales tubulares renales humanas *in vitro* (manuscrito en preparación) y se realizan esfuerzos para demostrar si el tratamiento es efectivo *in vivo*.

CONCLUSIONES

Dada la alta tasa de SUH, la carencia de un tratamiento específico y la alta morbilidad, la prevención primaria de las infecciones por STEC es fundamental para disminuir su impacto sanitario. En consecuencia, también se deben considerar, como estrategia fundamental, las acciones estatales implementadas para controlar y preve-

nir las infecciones por STEC y el desarrollo de SUH en la Argentina.

Entre las políticas de control y prevención del SUH por parte del Estado nacional se inscriben las estrategias de control del Sistema de Vigilancia Epidemiológica, las políticas destinadas al control de la industria de la carne y las estrategias de prevención que apuntan a la educación de la población.⁸⁰

Respecto al Sistema de Vigilancia Epidemiológica, el Ministerio de Salud y Medioambiente incorpora el SUH a la nómina de enfermedades de notificación obligatoria a partir del año 2000 (Res. 346/00). En el año 2004, se propone la implementación de un Sistema de Vigilancia desde el Laboratorio (SIVILA), que consiste en notificar esta patología a través de distintas vías: cuando ingresa un paciente con diarrea sanguinolenta, cuando se identifica como enfermedad transmitida por alimentos o directamente cuando desarrolla el SUH. En el año 2005 se instalaron 24 Unidades Centinela para la vigilancia del SUH, que comenzaron a funcionar en hospitales pediátricos en las jurisdicciones con las tasas de incidencia más elevadas. Así, los datos para la Vigilancia Epidemiológica del SUH se originan mediante tres subsistemas: la notificación semanal pasiva en la Planilla C2 (2000), las Unidades Centinela y el subsistema basado en el Laboratorio.

En cuanto a las políticas de control en la industria de la carne, se produjeron una serie de modificaciones en las normativas de alcance nacional que involucró a distintos organismos y órganos de control que incluyeron el SENASA, ANMAT, INAL y CONAL. A nivel de pastoreo se implementó un sistema de registro de caravaneo de terneros, obligatorio para carnes de exportación y consumo local. En la faena, el SENASA reglamentó la obligatoriedad de los frigoríficos de investigar la presencia de *E. coli* 0157:H7 en las carnes de exportación durante el faenamamiento y después de él (Circular 3496/02). En la elaboración y comercialización, la ANMAT aprobó una "Guía de Inspección" (Disp. 4943/03) destinada a verificar la implementación de las medidas necesarias para prevenir y controlar la contaminación de los alimentos con *E. coli* 0157:H7 en los locales de elaboración o expendio de comidas preparadas. Además, a lo largo de toda la cadena hasta el consumo final, se comenzó a aplicar el sistema de trazabilidad aunque solamente para carnes de exportación (Res. 231/02). Por su parte, la CONAL recomendó modificar algunos artículos del Código Alimentario Argentino (CAA) sustituyendo las *especificaciones microbiológicas* para

controlar los productos elaborados con carne picada y chacinados frescos embutidos o no embutidos (Res. Conjunta 79/04 y 500/04).

Respecto a las estrategias de prevención orientadas a la educación, la ANMAT lanzó una campaña destinada a manipuladores de alimentos, educadores y medios de comunicación para que difundan, al público en general, la forma de evitar el consumo de alimentos contaminados. Asimismo, el Ministerio de Salud distribuyó afiches alusivos a la enfermedad a través de Médicos Comunitarios, Plan Remediar, Municipios Saludables y Hospitales Públicos y adoptó al SUH como enfermedad prioritaria de investigación en el año 2007 (Res. Min. 1052). Por su parte, la Sociedad Argentina de Pediatría elaboró, en colaboración con el Ministerio de Salud, un módulo especial sobre SUH que fue dictado en el Programa Nacional de Actualización Pediátrica (PRONAP). ■

BIBLIOGRAFÍA

- Gasser C, Gautier E, Steck A, et al. Hämolytisch-urämische Syndrome: bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen-Anämien. *Schweiz Med Wochenschr* 1955; 85: 905-909.
- Gianantonio C, Vitacco M, Mendiakarzu F, Rutty A. The hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr* 1964; 64: 478-491.
- Scully RE, Mark EJ, McNeely WF, et al. Case records of the Massachusetts General Hospital. *N Engl J Med* 1995; 336: 1587-1594.
- Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, et al. The Case-Control Study Group: Characterization and epidemiologic subtyping of Shiga toxin producing *Escherichia coli* strains isolated from hemolytic uremic syndrome and diarrhea cases in Argentina. *Foodborne Pathg Dis* 2006; 3:88-96.
- Kaper JB, O'Brien AD. (Eds.). *Escherichia coli*, 0157:H7 and other Shiga toxin-producing *E coli*. Washington, DC: American Society Microbiology Press, 1998.
- Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11:142-201.
- Cordovéz A, Prado V, Maggi L, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* associated with hemolytic uremic syndrome in Chilean children. *J Clin Microbiol* 1992; 30:2153-2157.
- Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, et al. The epidemiology of hemolytic uremic syndrome in Argentina. Diagnosis of the etiologic agent, reservoirs and routes of transmisión. *Medicina (B Aires)* 2006; 66(Suppl 3):27-32.
- Comité de Nefrología de la Sociedad Argentina de Pediatría: Incidencia del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) en la República Argentina. *Arch Argent Pediatr* 1995; 93:407-11.
- Exeni R. Síndrome urémico hemolítico. *Arch Latin Nefr Ped* 2001; 1:35-56.
- Repetto HA. Long-term course and mechanisms of progression of renal disease in hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int Suppl* 2005; 97:S102-106.
- Cobeñas CJ, Alconcher LF, Spizzirri AP, Rahman RC. Long-term follow-up of Argentinean patients with hemolytic uremic syndrome who had not undergone dialysis. *Pediatr Nephrol* 2007; 22:1343-1347.
- Caletti MG, Petetta D, Jaitt M, et al. Hemolytic uremic syndrome (HUS): medical and social costs of treatment. *Medicina (B Aires)* 2006; 66(Suppl 3):22-26.
- Cobbold R, Desmarchelier P. A longitudinal study of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) prevalence in three Australian dairy herd. *Vet Microbiol* 2000; 71:125-137.
- Meichtri L, Miliwebsky E, Gioffre A, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties. I. *J Food Microbiol* 2004; 96:189-198.
- Mercado EC, Gioffre A, Rodríguez SM, et al. Non-0157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from diarrhoeic calves in Argentina. *J Vet Med* 2004; 51:82-88.
- Rivas M, Caletti MG, Chinen I, et al. Home-prepared hamburger and sporadic hemolytic uremic syndrome, Argentina. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:1184-6.
- Jacewicz MS, Acheson DW, Mobassaleh M, et al. Maturation regulation of globotriaosylceramide, the Shiga-like toxin 1 receptor, in cultured human gut epithelial cells. *J Clin Invest* 1995; 96:1328-1335.
- Melton-Celsa AR, Kokai-Kun JF, O'Brien AD. Activation of Shiga toxin type 2d (Stx2d) by elastase involves cleavage of the C-terminal two amino acids of the A2 peptide in the context of the appropriate B pentamer. *Mol Microbiol* 2002; 43:207-215.
- Wang H, Paton JC, Paton AW. Pathologic changes in mice induced by subtilase cytotoxin, a potent new *Escherichia coli* AB₅ toxin that targets the endoplasmic reticulum. *J Inf Dis* 2007; 196:1093-1101.
- Sandvig K, Van Deurs B. Endocytosis, intracellular transport, and cytotoxic action of Shiga toxin and ricin. *Physiol Rev* 1996; 76:949-966.
- Morinaga N, Yahiro K, Matsuura G, et al. Two distinct cytotoxic activities of subtilase cytotoxin produced by Shiga-toxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2007; 78:488-496.
- Endo Y, Tsurugi K, Yutsudo T, et al. Site of action of a Vero toxin (VT2) from *E coli* 0157:H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes. RNA N-glycosidase activity of the toxins. *Eur J Biochem* 1988; 171:335-337.
- Smith WE, Kane AK, Campbell ST, et al. Shiga toxin 1 triggers a ribotoxic stress response leading to p38 and JNK activation and induction of apoptosis in intestinal epithelial cells. *Infect Immun* 2003; 71:1497-1504.
- Paton AW, Beddoe T, Thorpe CM, et al. AB₅ subtilase cytotoxin inactivates the endoplasmic reticulum chaperone BIP. *Nature* 2006; 443:548-552.
- Hendershot LM. The ER chaperone BIP is a master regulator of ER function. *Mt Sinai J Med* 2004; 71:289-297.
- Pistone Creydt V, Silberstein C, Zotta E, Ibarra C. Cytotoxic effect of Shiga toxin-2 holotoxin and its B subunit on human renal tubular epithelial cells. *Microbe Infect* 2006; 8:410-419.
- Taga S, Carlier K, Mishal Z, et al. Intracellular signaling events in CD77-mediated apoptosis of Burkitt's lymphoma cells. *Blood* 1997; 90:2757-67.
- Pistone Creydt V, Martín F, Fernández Miyakawa M, et al. Shiga toxin 2B subunit inhibits net fluid absorption in human colon and elicits fluid accumulation in rat colon loops. *Brazilian J Med Biol Res* 2004; 37:799-808.
- Silberstein C, Pistone Creydt V, Gerhardt E, et al. Inhibition of water absorption in human proximal tubular epithelial cells in response to Shiga toxin-2. *Pediatr Nephrol* 2008, Jul 8. DOI:10.1007/s00467-008-0896-9.
- Römer W, Berland L, Chambon V, et al. Shiga toxin induces tubular membrane invaginations for its uptake into cells. *Nature* 2007; 450:670-675.
- Repetto HA. Personal communication of a review of 104 patients in the Hospital Nacional "Prof. Alejandro Posadas", Buenos Aires, Argentina, 2007.

33. Fraser ME, Fujinaga M, Cherney MM, et al. Structure of shiga toxin type 2 (Stx2) from *Escherichia coli* 0157:H7. *J Biol Chem* 2004; 279:27511-27517.
34. Soltysk AM, MacKenzie CR, Wolski VM, et al. A mutational analysis of the globotriaosylceramide-binding sites of verotoxin VT1. *J Biol Chem* 2002; 277:5351-5359.
35. Watanabe M, Igai K, Matsuoka K, et al. Structural analysis of the interaction between Shiga toxin B subunits and linear polymers bearing clustered globotriose residues. *Infect Immun* 2006; 74:1984-1988.
36. Schweppe CH, Bielaszewska M, Pohlentz G, et al. Glycosphingolipids in vascular endothelial cells: relationship of heterogeneity in Gb3Cer/CD77 receptor expression with differential Shiga toxin 1 cytotoxicity. *Glycoconj J* 2008; 25:291-304.
37. Hanashima T, Miyake M, Yahiro K, et al. Effect of Gb3 in lipid rafts in resistance to Shiga-like toxin of mutant Vero cells. *Microb Pathog* 2008; 45:124-133.
38. Garred O, Van Deurs B, Sandvig K. Furin-induced cleavage and activation of Shiga toxin. *J Biol Chem* 1995; 270:10817-10821.
39. Lea N, Lord JM, Roberts LM. Proteolytic cleavage of the A subunit is essential for maximal cytotoxicity of *Escherichia coli* 0157:H7 Shiga-like toxin-1. *J Microbiol* 1999; 145:999-1004.
40. Philpott DJ, Ackerley CA, Kilissan AJ, et al. Translocation of verotoxin-1 across T84 monolayers: mechanism of bacterial toxin penetration of epithelium. *Am J Physiol* 1997; 273:G1349-G1358.
41. Schüller S, Frankel G, Phillips AD. Interaction of Shiga toxin from *Escherichia coli* with human intestinal epithelial cell lines and explants: Stx2 induces epithelial damages in organ culture. *Cell Microbiol* 2004; 6:289-301.
42. Núñez P, Pistone Creydt V, Bibini M, Ibarra C. Acción citotóxica de la toxina Shiga tipo 2 (Stx2) dependiente e independiente de Gb3 en modelos celulares de epitelio intestinal humano. *Medicina (B Aires)* 2005; 65:86. [Abstract].
43. Acheson D, Moore R, De Breucker S, et al. Translocation of Shiga toxin across polarized intestinal cells in tissue culture. *Infect Immun* 1996; 64:3294-3300.
44. Imai Y, Fukui T, Kurohane K, et al. Restricted expression of Shiga toxin binding sites on mucosal epithelium of mouse distal colon. *Infect Immun* 2003; 71:985-990.
45. Fiorito P, Burgos J, Fernández-Miyakawa M, et al. Effect of Shiga toxin 2 on water and ion transport in the human colon *in vitro*. *Dig Dis Sc* 2000; 45:480-486.
46. Slutsker L, Ries AA, Greene KD, et al. *Escherichia coli* 0157:H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiologic features. *Ann Intern Med* 1997; 126:505-513.
47. Hurley BP, Thorpe CM, Acheson DW. Shiga toxin translocation across intestinal epithelial cells is enhanced by neutrophil transmigration. *Infect Immun* 2001; 69:6148-55.
48. Lidgwood CA. Verotoxin-binding in human renal section. *Nephron* 1994; 66:21-28.
49. Ray PE, Liu XH. Pathogenesis of shiga toxin-induced hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001; 16:823-839.
50. Richardson SE, Karmali MA, Becker LE, Smith CR. The histopathology of the hemolytic uremic syndrome associated with verocytotoxin-producing *E. coli*. *Hum Pathol* 1988; 19:1102-1108.
51. Kaplan BS. Shiga toxin induced tubular injury in hemolytic uremia syndrome. *Kidney Int* 1998; 54:648-649.
52. Exeni R, Grimold I, Amore A, Antonuccio M. Función tubular en niños con SUH. *Arch Argent Pediatr* 1977; 75:149-153.
53. Takeda T, Dohi S, Igarashi T, et al. Impairment by verotoxin of tubular function contributes to the renal damage seen in haemolytic uremic syndrome. *J Infect* 1993; 27:339-341.
54. Hughes AK, Stricklett PK, Kohan DE. Cytotoxic effect of Shiga toxin-1 on human proximal tubules cells. *Kidney Int* 1998; 54:426-437.
55. Karpman D, Hakansson A, Perez MT, et al. Apoptosis of renal cortical cells in the hemolytic-uremic syndrome: *in vivo* and *in vitro* studies. *Infect Immun* 1998; 66:636-644.
56. Taguchi T, Uchida H, Kiyokawa N, et al. Verotoxins induce apoptosis in human renal tubular epithelium derived. *Kidney Int* 1998; 53:1681-1688.
57. Karpman D, Andreasson A, Thysell H, et al. Cytokines in childhood hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Nephrol* 1995; 9:694-699.
58. Kiyokawa N, Taguchi T, Mori T, et al. Induction of apoptosis in normal renal tubular epithelial cells by *Escherichia coli* Shiga toxin 1 and 2. *J Infect Dis* 1998; 178:178-184.
59. Cherla RP, Sang-Yun L, Tesh VL. Shiga toxins and apoptosis. *FEMS Microbiol Lett* 2003; 228:159-166.
60. Taylor FB Jr, Tesh VL, DeBault L, Li A, et al. Characterization of the baboon responses to Shiga-like toxin: descriptive study of a new primate model of toxic responses to Stx-1. *Am J Pathol* 1999; 154:1285-1299.
61. Zotta E, Lago N, Ochoa F, et al. Development of an experimental hemolytic uremic syndrome in rats. *Pediatr Nephrol* 2008; 23:559-567.
62. Brando RJF, Miliwebsky E, Bentancor L, et al. Renal damage and death in weaned mice after oral infection with Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* strains. *Clin Exp Immunol* 2008, Jun 10. DOI:10.1111/j.1365-2249.2008.03698.x.
63. Fujii J, Kita T, Yoshida S, et al. Direct evidence of neuron impairment by oral infection with verotoxin-producing *Escherichia coli* 0157:H- in mitomycin-treated mice. *Infect Immun* 1994; 62:3447-3453.
64. Fujii J, Kinoshita Y, Kita T, et al. Magnetic resonance imaging and histopathological study of brain lesions in rabbits given intravenous verotoxin 2. *Infect Immun* 1996; 64:5053-5060.
65. Fujii J, Kinoshita Y, Yamada Y, et al. Neurotoxicity of intrathecal Shiga toxin 2 and protection by intrathecal injection of anti-Shiga toxin 2 antiserum in rabbits. *Microb Pathog* 1998; 25:139-46.
66. Goldstein J, Loidl CF, Pistone Creydt V, et al. Intracerebroventricular administration of Shiga toxin type 2 induces striatal neuronal death and glial alterations: an ultrastructural study. *Brain Res* 2007; 1161:106-115.
67. Boccoli J, Loidl CF, López-Costa JJ, et al. Intracerebroventricular administration of Shiga toxin type 2 altered the expression levels of neuronal nitric oxide synthase and glial fibrillary acidic protein in rat brains. *Brain Res* 2008. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.07.052.
68. Iijima, K, Kamioka I, Nozu K. Management of diarrhea-associated hemolytic uremia syndrome in children. *Clin Exp Nephrol* 2008; 12:16-19.
69. Carey CM, Kostrzynska M, Ojha S, Thompson S. The effect of probiotics and organic acids on Shiga-toxin 2 gene expression in enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7. *J Microbiol Methods* 2008; 73:125-132.
70. Hugo AA, Kakisu E, De Antoni GL, Pérez PF. Lactobacilli antagonize biological effects of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* *in vitro*. *Lett Appl Microbiol* 2008; 46:613-619.
71. Pedersen MG, Hansen C, Riise E, et al. Subtype-specific suppression of released Shiga toxin 2 from *Escherichia coli* upon exposure to protein synthesis inhibitors. *J Clin Microbiol* 2008. DOI:10.1128/JCM.00871-08.

72. Vilte DA, Larzábal M, Cataldi AA, Mercado EC. Bovine colostrum contains IgG antibodies against Intimin, EspA and EspB proteins, and inhibits the hemolytic activity mediated by the type three secretion system of attaching and effacing *Escherichia coli*. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15:1208-1213.
73. Trachtman H, Cnaan A, Christen E, et al. Effect of an oral Shiga toxin-binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290:1337-44.
74. Watanabe M, Igai K, Matsuoka K, et al. Structural analysis of the interaction between Shiga toxin B subunits and linear polymers bearing clustered globotriose residues. *Infect Immun* 2006; 74:1984-1988.
75. Neri P, Tokoro S, Yokoyama S, et al. Monovalent Gb3-/Gb2-derivatives conjugated with a phosphatidyl residue: a novel class of Shiga toxin-neutralizing agent. *Biol Pharm Bull* 2007; 30:1697-1701.
76. Capozzo AVE, Pistone Creydt V, Dran G, et al. Development of genetic vaccines against hemolytic uremic syndrome (HUS). *Infect Immunol* 2003; 71:3971-3978.
77. Smith MJ, Teel LD, Carvalho HM, et al. Development of a hybrid Shiga holotoxoid vaccine to elicit heterologous protection against Shiga toxins types 1 and 2. *Vaccine* 2006; 24:4122-129.
78. Zhu C, Yu J, Yang Z, et al. Protection against Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection by transcutaneous immunization with Shiga toxin B subunit. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 15:359-66.
79. Okuda T, Tokuda N, Numata S-I, et al. Targeted disruption of Gb3/DC77 synthase gene resulted in the complete deletion of globo-series glycosphingolipids and loss of sensitivity to verotoxins. *J Biol Chem* 2006; 281:10230-10235.
80. Belardo MB, Pecheny M, Ibarra C. Resumen presentado en el 11° Congreso Argentino de Pediatría Social: 1-4 de octubre, Ciudad de Buenos Aires, 2008 .