

# La Sindrome Emolitico Uremica

C. Mele, M. Noris

Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare "Aldo e Cele Daccò", Villa Camozzi, Ranica (BG)

## Hemolytic Uremic Syndrome

*Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) is a rare disease characterized by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, and acute renal failure. HUS is most commonly triggered by Shiga-like toxin (Stx)-producing bacteria (Stx-HUS). Non-Shiga toxin-associated HUS (non-Stx-HUS) affects a heterogeneous group of patients in whom an infection by Stx-producing bacteria can be excluded as cause of the disease. It can be sporadic or familial.*

*Biochemical evidence suggested that alterations in the complement system play an important role in the pathological mechanisms of non-Stx-HUS. Subsequently, genetic studies have shown that the disease depends on the deficiency or abnormalities in complement regulatory proteins of the alternative pathway.*

*About 30% of the patients have mutations in the gene encoding factor H (CFH); CFH is a protein that inhibits the activation of the alternative pathway of the complement system. More recent observations have also shown the involvement of genes that encode Membrane Cofactor Protein (MCP) and factor I (CFI).*

*Genetic studies can be useful to improve therapeutic approach. Plasma infusion or plasma exchange are helpful treatments for patients with alterations in CFH or CFI, which are plasma proteins. On the other hand, plasma treatment in patients with alterations in MCP, a membrane-bound protein, does not impact the outcome significantly. Kidney transplantation outcome is favorable in patients with MCP mutations, whereas the outcome is poor in patients with CFH and CFI mutations due to disease recurrence.*

*During the last years, genetic studies have allowed a better comprehension of pathological molecular mechanisms. The results will offer the rationale to develop new specific treatments for HUS. (G Ital Nefrol 2007; 24: 23-33)*

**KEY WORDS:** Complement, Factor H, Non-Stx-HUS, Shiga-like toxins, Stx-HUS

**PAROLE CHIAVE:** Complemento, Fattore H, Non-Stx-SEU, Stx-SEU, Tossine Shiga-like

## Introduzione

La Sindrome Emolitico Uremica (SEU) è una malattia rara caratterizzata da anemia emolitica microangiopatica, trombocitopenia e insufficienza renale acuta dovuta alla formazione di trombi piastrinici che occludono i capillari glomerulari.

L'anemia è dovuta alla lisi dei globuli rossi, come evidenziato da alti livelli di lattato deidrogenasi (LDH), emoglobina libera circolante e reticolociti. L'analisi dello striscio di sangue periferico rende conto del quadro emolitico in quanto i globuli rossi risultano danneggiati (schistociti). Il consumo di piastrine nei trombi che si formano nella microcircolazione causa una notevole riduzione della conta piastrinica ( $< 60000/\text{mm}^3$ ) (1).

Le lesioni microvascolari tipiche della SEU, definite come "microangiopatia trombotica", consistono in un ispessimento

della parete dei piccoli vasi (soprattutto capillari ed arteriole) con rigonfiamento e distacco delle cellule endoteliali dalla membrana basale. Questo fenomeno provoca la riduzione del lume capillare e l'accumulo di materiale amorfo nel sottodoteli (2, 3). La presenza di piastrine degranulate e morfologicamente alterate e di materiale di origine endoteliale nel lume vasale a livello del microcircolo ne provocano una parziale o totale occlusione. Si formano dei trombi piastrinici che partecipano alla distruzione meccanica degli eritrociti determinando la sintomatologia tipica della SEU (4).

La SEU è più comunemente associata ad infezioni sostenute da ceppi di *Escherichia coli* che producono tossine chiamate *Shiga-like toxin* (Stx, perché assomigliano strutturalmente a tossine prodotte da ceppi batterici di *Shigella*) ed è denominata Stx-SEU. Questa forma esordisce solitamente con diarrea, spesso ematica, ed è caratterizzata da una prognosi favorevole nella maggioranza dei casi (2). Il 55-

70% dei pazienti sviluppa insufficienza renale acuta, che comunque regredisce nella maggior parte dei casi (1, 3).

Esistono inoltre forme più rare di SEU non associate a Stx, indicate come non-Stx-SEU. Possono essere di tipo sporadico o familiare. Nel complesso, queste forme hanno una prognosi negativa con progressione fino all'insufficienza renale terminale o alla morte durante le fasi acute della malattia in più del 50% dei casi (5, 6).

## La Stx-SEU

### Epidemiologia

La Stx-SEU è la forma più comune e colpisce soprattutto bambini, maschi e femmine in ugual proporzione.

Nella Stx-SEU è stata riconosciuta la presenza di agenti scatenanti, le tossine *Shiga-like*, esotossine dannose per le cellule endoteliali, prodotte da alcuni batteri come *E. coli*, in particolare dall'*E. coli* di sierotipo O157:H7 (7); tuttavia, è stato osservato che numerosi altri ceppi di *E. coli* (O111:H8, O103:H2, O121, O145, O26 e O113) sono coinvolti nella patogenesi della malattia (8, 9). Nei paesi in via di sviluppo dell'Asia (10) e dell'Africa (11), la SEU è spesso associata a *Shigella dysenteriae* di tipo 1, che è invece rara nei paesi industrializzati.

Dopo l'esposizione a *Stx-E. coli*, il 38-61% dei soggetti manifesta sintomi a livello del tratto gastrointestinale, quali coliti emorragiche, che nel 3-20% dei casi progrediscono fino alla SEU (8).

L'incidenza complessiva della Stx-SEU è stimata essere di 2.1 casi ogni 100000 persone per anno, con un picco di incidenza nei bambini al di sotto dei 5 anni (6.1 ogni 100000/anno) (1). L'incidenza della malattia varia in parallelo con le fluttuazioni stagionali dell'infezione da *Stx-E. coli*, con un picco nei mesi più caldi (12).

L'infezione avviene attraverso l'ingestione di latte, carne e acqua contaminati oppure con il contatto con animali e persone infette o con i loro escrementi (13).

I casi di Stx-SEU si presentano generalmente in forma sporadica, anche se sono noti focolai epidemici riconducibili all'esposizione a fonti comuni di infezione da *Stx-E. coli*.

### Clinica, sintomatologia e diagnosi

L'intervallo temporale tra l'esposizione a *Stx-E. coli* e la manifestazione dei primi sintomi è di circa 3 giorni.

L'esordio è tipicamente contraddistinto dalla comparsa di crampi addominali e diarrea non ematica che può diventare emorragica nel 70% dei casi, solitamente entro 1 o 2 giorni (14). Il vomito compare nel 30-60% dei casi e la febbre nel 30%.

I primi segni dello sviluppo della SEU possono insorgere dai 2 ai 14 giorni dopo le prime manifestazioni e consistono in sintomi e segni clinici riconducibili all'insufficien-

za renale (macro o micro-ematuria, proteinuria ed occasionalmente poliuria e oliguria), all'anemia acuta e alla trombocitopenia. Il 25% dei pazienti presenta manifestazioni di carattere neurologico quali confusione, convulsioni e coma.

La percentuale di mortalità è del 3-5%, e circa il 5% dei pazienti che sopravvive presenta gravi problemi renali o neurologici permanenti (4, 8, 15).

La diagnosi di SEU si basa sulla sintomatologia clinica, sulla valutazione dei parametri ematologici e di funzionalità renale. Anche se non compaiono i sintomi precoci riconducibili ad una enterite, in presenza dei sintomi tipici della SEU va sempre sospettata l'infezione da *Stx-E. coli*, diagnosticabile attraverso metodiche speciali, non eseguite di routine dai laboratori microbiologici ospedalieri. In fase acuta, i test rilevano la tossina circolante o per isolamento da coprocultura. Più tardivamente si può ricorrere alla diagnosi sierologica basata sul rilevamento di anticorpi sierogruppo-specifici per i ceppi di *E. coli* che producono Stx.

### Patogenesi

In seguito all'ingestione di acqua o di cibi contaminati, *Stx-E. coli* raggiunge l'intestino e, attraverso la proteina di membrana intima, si lega alle cellule della mucosa intestinale causando la necrosi dell'epitelio, determinando in questo modo diarrea non emorragica; la tossina inoltre può danneggiare la tonaca vascolare della mucosa, provocando enterocolite con perdite ematiche. Stx raggiunge poi il circolo sanguigno dove si lega ad eritrociti, piastrine, monociti attivati e ai neutrofili (PMN), dai quali si stacca una volta raggiunto l'endotelio renale, che presenta una maggiore affinità per Stx (8). Qui, attraverso l'induzione di apoptosi delle cellule endoteliali e lo stimolo al rilascio di numerose chemochine, Stx determina il richiamo di leucociti e innesca la reazione di infiammazione che culmina con la formazione di trombi, dando avvio alle manifestazioni cliniche della SEU.

Esistono due tipi di tossine *Shiga-like*, Stx-1 e Stx-2; nonostante l'alto grado di omologia (~50%), esse hanno effetti tossici di diversa intensità: i ceppi di *E. coli* che producono Stx-2 sono, infatti, associati ad un'incidenza di SEU più elevata rispetto a quelli che secernono Stx-1.

Le tossine Stx-1 e Stx-2, il cui peso molecolare è di circa 70 KDa, sono costituite ciascuna da una subunità A di 32 KDa e da 5 subunità B di 7.7 KDa.

Il legame di Stx alla cellula dipende dalla subunità B che si lega a specifici recettori glicopeptidici (Gb3, globotriaosilceramide) presenti sulla superficie delle cellule bersaglio. In seguito al legame con il recettore, Stx viene internalizzata per endocitosi e trasportata nel reticolo endoplasmico della cellula bersaglio dove le subunità A e B vengono dissociate. La subunità A viene quindi traslocata nel citoplasma dove determina il danno citotossico bloccando la sintesi proteica della cellula (8, 16) (Fig. 1).

### Terapia di supporto

La diagnosi precoce e un intensivo trattamento dell'insufficienza renale acuta, dell'anemia e dell'ipertensione hanno svolto un ruolo di primaria importanza nella riduzione del tasso di mortalità negli ultimi anni. Spesso sono necessarie trasfusioni di sangue per correggere anemie sintomatiche. Il digiuno è fondamentale nelle enterocoliti emorragiche associate a SEU.

Non è chiara l'indicazione alla terapia antibiotica. Inizialmente si sconsigliava questo approccio terapeutico, in quanto la lisi batterica avrebbe potuto favorire il rilascio di elevati livelli di Stx. Tuttavia, una recente meta-analisi non ha evidenziato alcun rischio aggiuntivo per i pazienti trattati con antibiotici (8).

I farmaci antidiarroici non sono indicati, in quanto possono esacerbare la SEU diminuendo l'escrezione fecale di *E. coli*. Anche il *Synsorb-PK*, una resina che lega Stx prevenendo il suo ulteriore assorbimento dal lume intestinale, non ha mostrato alcuna efficacia rispetto al placebo (17).

Numerose aspettative sono invece riposte in un nuovo composto carboidratico, *Starfish*, che può legarsi contemporaneamente a due molecole di Stx e, somministrato per via endovenosa, potrebbe prevenire che la tossina circolante raggiunga gli organi bersaglio (18).

Nei bambini, l'andamento della SEU secondaria a Stx non è influenzato da trattamenti specifici atti a prevenire o limitare il processo microangiopatico. La prognosi a lungo termine e la sopravvivenza non sono influenzati dalla terapia con plasma.

Gli steroidi sono da evitare perché aumentano il rischio di perforazione intestinale nei pazienti affetti da colite in fase attiva, mentre l'eparina e farmaci anticoagulanti possono aumentare il rischio di sanguinamento.

Studi non controllati suggeriscono che negli adulti, in cui il coinvolgimento renale è solitamente più grave che nei bambini, l'infusione di plasma diminuisce sensibilmente la mortalità e il rischio di insufficienza renale terminale (19) (Tab. I).

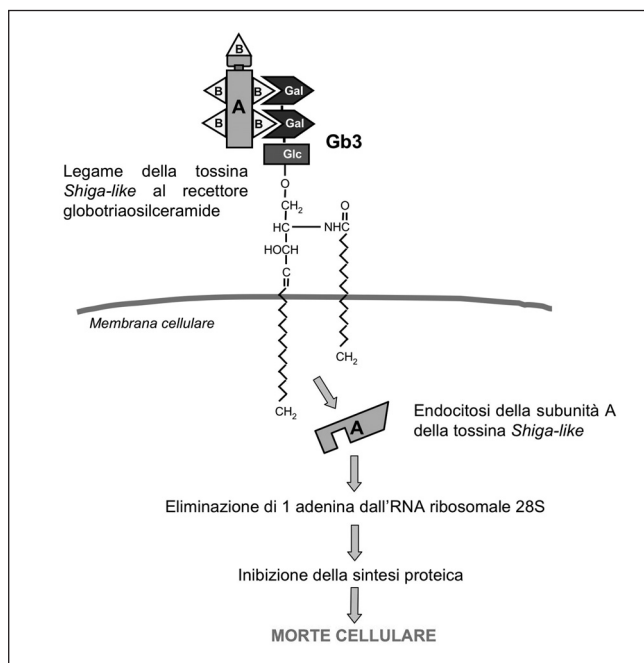
### Test di verifica

#### 1) La Sindrome Emolitico Uremica (SEU) è caratterizzata da:

- Presenza di schistociti nello striscio periferico e piastrinosi
- Anemia emolitica microangiopatica, piastrinopenia e insufficienza renale acuta
- Piastrinopenia autoimmune.

#### 2) Quali sono le più importanti cellule bersaglio della tossina *Shiga-like*?

- Cellule endoteliali renali
- Epatociti
- Cellule staminali mesenchimali.



**Fig. 1 - Meccanismo d'azione della tossina Shiga-like.**

Le subunità B della tossina *Shiga-like* si legano a due molecole di galattosio del recettore Gb3 (globotriaosilceramide) presente sulla superficie cellulare di monociti, PMN, piastrine, cellule endoteliali glomerulari e cellule epiteliali tubulari. La tossina viene internalizzata per endocitosi e le subunità vengono dissociate. La subunità A può bloccare la sintesi proteica della cellula eliminando una adenina dall'RNA ribosomiale 28S.

#### 3) La tossina *Shiga-like* esercita il suo effetto citotossico attraverso:

- Il legame al recettore globotriaosilceramide (Gb3)
- L'attivazione della sintesi proteica
- L'attivazione della emeossigenasi.

#### 4) Quale delle seguenti affermazioni è falsa:

- L'incidenza della Stx-SEU ha un picco stagionale nei mesi caldi
- L'insufficienza renale acuta si manifesta nel 55-70% dei casi
- La diarrea emorragica è raramente riscontrata
- Oltre allo O157:H7, molti altri sierotipi di *E. coli* causano SEU.

#### 5) Quale delle seguenti affermazioni è vera:

- L'intervallo di tempo tra l'esposizione a *E. coli* e la comparsa dei primi segni di SEU è mediamente di 15 giorni
- La Stx-SEU esordisce tipicamente con dolore addominale e diarrea
- Vomito e febbre compaiono raramente.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

TABELLA I - CLASSIFICAZIONE E TRATTAMENTO DELLA SEU

	Causa	Trattamento
Stx-SEU	Stx- <i>E. coli</i>	Di supporto
	<i>Shigella dysenteriae</i> tipo 1	Di supporto, antibiotici
Non-Stx-SEU	Sporadica	
	Batteri ( <i>Streptococcus pneumoniae</i> )	Antibiotici, no plasma
	Virus (HIV)	Plasma
	Farmaci (antineoplastici, immunosoppressivi, antiaggreganti piastrinici)	Sospensione dei farmaci, plasma
	Associata alla gravidanza	Parto, plasma
	Post-partum	Plasma
	Malattie autoimmuni:	
	- lupus	Steroidi, plasma
	- scleroderma	Controllo pressorio
	Idiopatica	Plasma
Familiare	Genetica (CFH, MCP, CFI)	Plasma
	Genetica (CFH, MCP, CFI)	Plasma

## La Non-Stx-SEU

La non-Stx-SEU è una forma più rara e rende conto di circa il 5-10% di tutti i casi di SEU (1). Il nome deriva dal fatto che nei soggetti affetti da tale forma non è possibile riconoscere la presenza di agenti produttori di tossine *Shiga-like*.

Da un recente studio americano è emerso che, nei bambini, l'incidenza di non-Stx-SEU è circa un decimo di quella secondaria ad infezione da Stx-*E. coli* (1, 3). L'incidenza stimata è quindi di 2 casi ogni 1000000 persone all'anno.

Rispetto alla Stx-SEU, si tratta di una forma più severa: l'esito rimane variabile, procede verso la morte o la perdita irreversibile della funzionalità renale in più del 50% dei casi, come può procedere verso il completo recupero della stessa (5, 20).

La non-Stx-SEU è definita **familiare**, quando viene diagnosticata in almeno due soggetti appartenenti alla stessa famiglia e si manifesta a distanza di almeno 6 mesi nei soggetti affetti.

È definita **sporadica** quando uno o più episodi della malattia si manifestano in un soggetto in cui non è evidente alcuna storia familiare.

A differenza della Stx-SEU, nella non-Stx-SEU non è chiara la causa scatenante. Alcuni casi di non-Stx-SEU sono stati spesso osservati in associazione con gravidanza, cancro, infezioni batteriche e virali, in concomitanza con la somministrazione di farmaci (ad esempio alcuni

chemioterapici, antibiotici e contraccettivi orali), in presenza di sindromi autoimmuni (*Lupus* Eritematoso Sistemico, Artrite Reumatoide, Spondilite Reumatoide) e in seguito a trapianto di organo (20). L'esistenza di forme familiari ha suggerito la possibilità di un'origine genetica della malattia.

È stato osservato, già dagli anni '70, che, mediante infusione di plasma o plasmaferesi, si otteneva un miglioramento del quadro clinico, in almeno alcuni casi. Ciò ha portato ad ipotizzare che alterazioni di alcuni componenti del plasma fossero coinvolti nella patogenesi della malattia.

Studi biochimici e genetici hanno recentemente documentato che le forme familiari sono associate ad anomalie a carico delle proteine regolatrici del sistema del complemento, che sembrano predisporre anche a casi di non-Stx-SEU sporadica.

### Il sistema del complemento

Il sistema del complemento, importante sistema effettore dell'immunità innata, interviene nella difesa dell'organismo in seguito ad infezioni da microrganismi.

È composto da una serie di proteine plasmatiche e di membrana, che reagiscono l'una con l'altra per mediare il processo di opsonizzazione dei patogeni e per indurre una serie di risposte infiammatorie che aiutano a combattere l'infezione (21, 22).

Il sistema del complemento si attiva in presenza di specifiche molecole presenti sulla superficie del microrganismo patogeno attraverso tre vie: la via classica, la via alternativa e la via della lectina. Ogni via dà origine ad una serie distinta di reazioni che convergono nell'attivazione di proteasi, le C3 convertasi, specifiche per ogni via, che scindono il C3 in C3a e C3b. Le convertasi della via classica e della via della lectina sono formate da frammenti derivati dal taglio proteolitico delle componenti C2 e C4, mentre la convertasi della via alternativa richiede il taglio del C3 e non del C4. Il C3b, così generato, si deposita sulla superficie del microrganismo e induce la fagocitosi da parte dei macrofagi e dei PMN; determina inoltre la formazione del Complesso di Attacco alla Membrana (MAC, *Membrane Attack Complex*, costituito dalle componenti C5-C9 del complemento) che causa la lisi osmotica della cellula patogena.

Dato il potenziale distruttivo del complemento, è di fondamentale importanza che tutte le tappe della sua attivazione siano finemente controllate. Esistono a tal fine numerose proteine la cui funzione è quella di proteggere i tessuti dell'ospite. Alcune di queste sono proteine di membrana come CR1 (*Complement Receptor 1*), DAF (*Decay Accelerating Factor*), MCP (*Membrane Cofactor Protein*) e CD59; altre sono proteine plasmatiche, quali fattore B (FB), fattore H (CFH) e fattore I (CFI).

Le superfici *non-self*, che mancano di regolatori di membrana e che non possono legare proteine regolatrici solubili, vengono attaccate dal complemento.

Tra le possibili cause di danno endoteliale nella SEU, sembra che un ruolo fondamentale sia svolto dal sistema del complemento. Nei pazienti con non-Stx-SEU sono stati riscontrati, infatti, livelli marcatamente ridotti di C3 (23, 24), a fronte di livelli solitamente normali di C4 (23). Sono stati riscontrati inoltre livelli elevati dei prodotti derivanti dal taglio proteolitico del C3 nel siero e depositi granulari di C3 nei glomeruli e nelle arteriole dei pazienti (25, 26). Queste osservazioni suggeriscono un aumentato consumo in circolo del C3 e quindi una iperattivazione della via alternativa del sistema del complemento.

## Test di verifica

### 1) Quale delle seguenti affermazioni riferite alla non-Stx-SEU è falsa:

- L'incidenza della malattia ha un andamento stagionale
- Si può manifestare sia in forma familiare che sporadica
- Il quadro clinico è spesso severo
- Può essere indotta da farmaci.

### 2) La non-Stx-SEU ha un'incidenza:

- Maggiore rispetto alla Stx-SEU
- Minore rispetto alla Stx-SEU
- Paragonabile a quella della Stx-SEU.

### 3) Da quali fattori è composto il sistema del complemento?

- Proteine plasmatiche e linfociti
- Proteine plasmatiche e di membrana
- Proteine plasmatiche e macrofagi
- Immunoglobuline A e E.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

## Il fattore H (CFH)

Nel 1998, Warwicker et al. (27) studiarono tre famiglie con non-Stx-SEU e osservarono una cosegregazione tra la malattia e la regione cromosomica 1q32, dove sono mappati alcuni geni che codificano per proteine regolatrici del sistema del complemento. Tra i geni presenti in questa regione cromosomica, il primo ad essere esaminato fu quello che codifica per CFH, dato che in letteratura era già stata riportata un'associazione tra la SEU e ridotti livelli plasmatici della proteina (28-30).

Prodotto in maniera predominante dal fegato, CFH è una glicoproteina plasmatica a singola catena di 150 KDa costituita da 20 domini strutturali chiamati SCR (*Short Consensus Repeats*), omologhi tra loro, ciascuno costituito da circa 60 aminoacidi (Fig. 2).

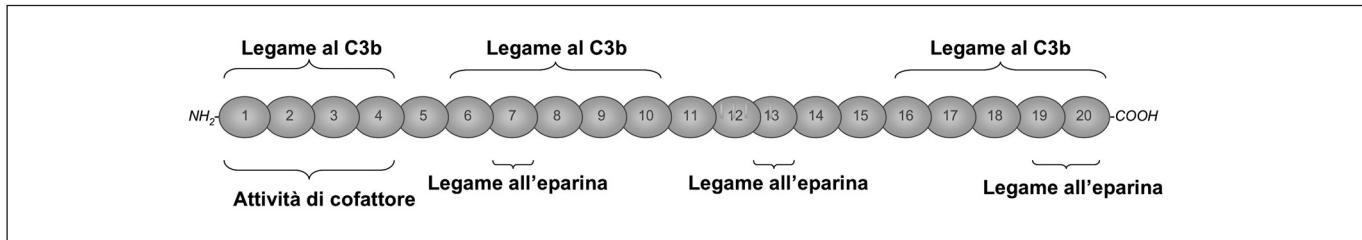
CFH gioca un ruolo importante nella regolazione della via alternativa del sistema del complemento (31). Esso funziona come cofattore per CFI nella degradazione del C3b e controlla il decadimento, la formazione e la stabilità della C3bBb convertasi (C3 convertasi della via alternativa) (32).

Studi dettagliati di correlazione fra struttura e funzione hanno localizzato negli SCR 1-4, 6-10 e 16-20 i siti di legame per il C3b; attraverso queste regioni, CFH lega il frammento C3b della C3bBb convertasi e accelera la dissociazione di C3b dal frammento Bb (31).

La regione SCR1-4 inoltre è essenziale per l'attività di cofattore di CFI; infatti, legando il C3b, CFH favorisce la proteolisi del C3b da parte di CFI (33).

Altri siti della molecola sono in grado di interagire con polianioni di vario tipo, come eparan-solfati e acidi salici. CFH legato alle molecole polianioniche presenta una maggiore affinità per il C3b, che viene quindi inattivato in maniera più efficace. Le cellule endoteliali e la membrana basale del glomerulo, ricche in molecole polianioniche, sono in questo modo protette da un'incontrollata deposizione sulla loro superficie di C3b che causa l'avvio della cascata del complemento (34-37).

Fino ad oggi il gene che codifica per CFH è stato analizzato in più di 400 pazienti, appartenenti a 5 differenti casistiche, affetti da non-Stx-SEU familiare e sporadica e sono state descritte più di 100 diverse mutazioni ([www.fh-](http://www.fh-)



**Fig. 2 - Funzioni di fattore H (CFH) e loro localizzazione nella catena polipeptidica.**

La Figura mostra la struttura di CFH con i suoi 20 SCR (Short Consensus Repeats). Sono indicati inoltre la localizzazione dei siti di legame al C3b, il dominio responsabile dell'attività di cofattore e gli SCR coinvolti nel legame con i polianioni (eparina).

hus.org). Il 15-33% (a seconda della casistica) dei pazienti presenta mutazioni in *CFH* (33, 38-44).

Le mutazioni trovate sono presenti nella quasi totalità in eterozigosi e causano o la sostituzione di un singolo aminoacido o l'interruzione prematura della traduzione con produzione di proteine tronche.

Studi funzionali indicano che le proteine mutate hanno una bassa affinità di legame sia per i residui di acido sialico che per le molecole di C3b depositate sulla superficie delle cellule endoteliali. Questo determina una ridotta capacità di controllare l'attivazione del complemento sull'endotelio (36, 37), mentre la capacità di controllare l'attivazione del complemento a livello plasmatico rimane inalterata (45). Le mutazioni sono inoltre associate, nella maggior parte dei casi, a livelli plasmatici di CFH normali; non determinano, quindi, una riduzione dei livelli di proteina circolante, ma alterano l'attività di cofattore di CFH e la capacità di legame alle molecole polianioniche (40).

È stato osservato che la maggior parte dei pazienti portatori di mutazioni in *CFH* non manifestano i sintomi della SEU fino all'età adulta e presentano solo occasionalmente lunghe remissioni dalla malattia (46). Nelle famiglie sono stati inoltre identificati molti soggetti portatori di mutazioni che non hanno mai sviluppato la malattia. È stato ipotizzato quindi che alterazioni nel sistema del complemento più che provocare direttamente la malattia predispongono ad essa. Nel 60% dei pazienti con *CFH* mutato, infatti, l'evento acuto è scatenato da fattori ambientali che determinano l'attivazione del complemento, sia direttamente (come infezioni virali o batteriche) che indirettamente (come farmaci, gravidanza o malattie autoimmuni) (38, 42).

L'attività ridotta di *CFH* mutato è sufficiente a proteggere l'ospite dall'attivazione del complemento in condizioni fisiologiche; al contrario, in presenza di un fattore che attiva il complemento, il C3b viene formato in quantità maggiori rispetto a quelle fisiologiche e la sua deposizione sulle cellule endoteliali vascolari non può essere controllata efficacemente. Questo determina la formazione del MAC e il reclutamento di cellule infiammatorie, eventi che rendono conto del danno alle cellule endoteliali e dell'adesione delle piastrine.

Il fatto che il glomerulo sia costituito da un endotelio

fenestrato e da una membrana basale ricca in polianioni spiegherebbe la localizzazione preferenziale a livello renale della lesione microvascolare tipica della SEU.

Recentemente sono stati descritti casi di non-Stx-SEU in cui è stato osservato un difetto di CFH acquisito dovuto alla presenza di anticorpi anti-CFH (47). La presenza degli auto-anticorpi potrebbe essere responsabile di quei casi di non-Stx-SEU in cui non sono state riscontrate alterazioni a livello genico.

Il fatto che solo il 30% circa dei pazienti affetti da non-Stx-SEU presenti mutazioni nel gene *CFH* ha spinto alla ricerca di altri geni coinvolti nella patogenesi della malattia. In anni più recenti sono state identificate mutazioni anche in altre due proteine che regolano il sistema del complemento, l'MCP o CD46 e CFI.

### La Membrane Cofactor Protein (MCP)

L'MCP è una glicoproteina transmembrana ampiamente espressa sulla superficie di quasi tutti i tipi cellulari umani, fatta eccezione per gli eritrociti (48).

La porzione N-terminale dell'MCP è costituita da 4 SCR, cui segue la regione STP, così chiamata perchè ricca in Serina, Treonina e Prolina. Alla regione STP segue un dominio idrofobico transmembrana (TM) e una coda citoplasmatica C-terminale (CT) (49) (Fig. 3).

L'MCP fu identificata per la prima volta nel 1985 sulle cellule mononucleari del sangue periferico (PBMC) come proteina di legame al C3b e al C4b. Solo con la successiva purificazione si comprese il suo ruolo nella regolazione del sistema del complemento (50).

L'MCP è un cofattore intrinseco per il taglio del C3b e del C4b mediato da CFI. Ognuno dei quattro SCR dell'MCP può legare il C3b e/o il C4b rendendoli accessibili al taglio da parte di CFI e conferendo così alla proteina la capacità di inibire sia la via classica che la via alternativa del complemento (51).

Le mutazioni identificate finora nel gene che codifica per l'MCP rendono conto di circa il 12% dei pazienti affetti da non-Stx-SEU (52, 53).

L'MCP è altamente espressa nel rene e può essere facil-

mente evidenziata sulle cellule endoteliali del glomerulo tramite analisi immunocitochimiche. Questo tipo di analisi dimostra che l'attività di cofattore è completamente bloccata da anticorpi anti-MCP e conferma il ruolo principale dell'MCP nella protezione delle cellule endoteliali del glomerulo contro l'attivazione del C3 (54).

La maggior parte delle mutazioni identificate in *MCP* risiede nei quattro SCR aminoterminali extracellulari, che possiedono i siti di legame per il C3b e per il C4b; ciò conferma l'importanza della parte aminoterminali dell'MCP nel regolare sia la via classica che la via alternativa del complemento. Studi funzionali, condotti sulle proteine mutate espresse sui PBMC dei pazienti, mostrano, infatti, che esse hanno una ridotta capacità di legame per il C3b, cui consegue una ridotta abilità nel prevenire l'attivazione del complemento (44, 52, 53).

Come è stato ipotizzato per CFH, anche le mutazioni in *MCP* verosimilmente predispongono alla SEU più che causarla direttamente. La presenza di MCP alterato sulla superficie cellulare e, l'esposizione a fattori ambientali che attivano il complemento, determinano una protezione insufficiente delle cellule endoteliali del glomerulo (Fig. 4).

### Il fattore I (CFI)

CFI, importante inibitore del sistema del complemento, è una glicoproteina plasmatica prodotta in maniera predominante dal fegato. Il suo peso molecolare apparente è di 88 KDa (55).

È codificata da un singolo gene mappato sul cromosoma 4 nella regione q25.

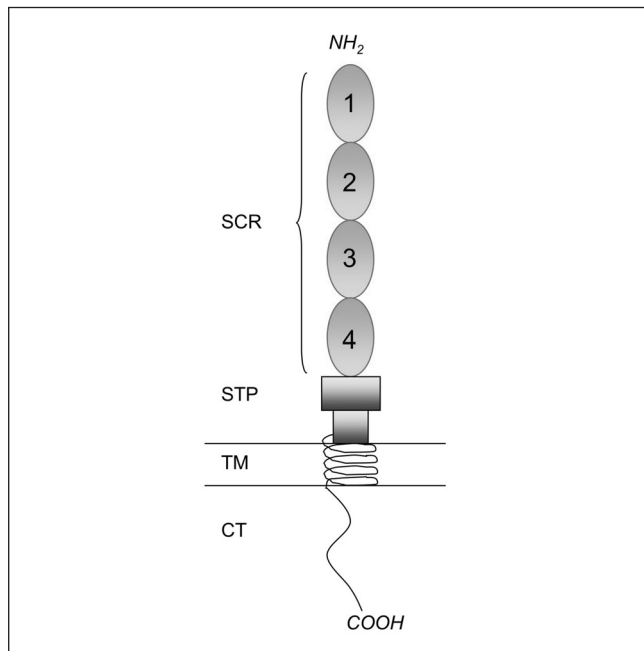
CFI appartiene alla famiglia delle serin-proteasi e, come molte proteine del complemento, possiede una struttura modulare. La proteina matura consiste di una catena pesante (catena H) N-terminale e di una catena leggera (catena L) C-terminale, legate covalentemente tra loro da un ponte disolfuro. La catena L è costituita interamente dal dominio serin-proteasico (SP) (56) (Fig. 5).

CFI taglia in maniera altamente specifica il C3b e il C4b e per questo è coinvolto nella regolazione sia della via classica che della via alternativa del complemento.

L'attività di CFI è dipendente da vari cofattori: il taglio del C3b nella fase fluida dipende dalla presenza di CFH, mentre sulla superficie cellulare dipende dall'MCP; il taglio del C4b necessita della C4BP (*C4 Binding Protein*). Attraverso la sua azione sul C3b, CFI impedisce la formazione della C3bBb convertasi, inibendo in tal modo il circuito di amplificazione della via alternativa (57).

La maggior parte delle mutazioni identificate in CFI risiede nel dominio serin-proteasico della proteina.

Fino ad ora sono state descritte circa trenta diverse mutazioni in *CFI* che rendono conto di circa il 5-10% (a seconda della casistica) dei pazienti affetti da non-Stx-SEU; la maggior parte di esse determina la sostituzione di un singolo aminoacido (44, 58-61).



**Fig. 3 - Struttura della Membrane Cofactor Protein (MCP).**

La Figura mostra la struttura dell'MCP con i suoi 4 SCR (Short Consensus Repeats), la regione STP, il dominio idrofobico transmembrana (TM) e la coda citoplasmatica (CT).

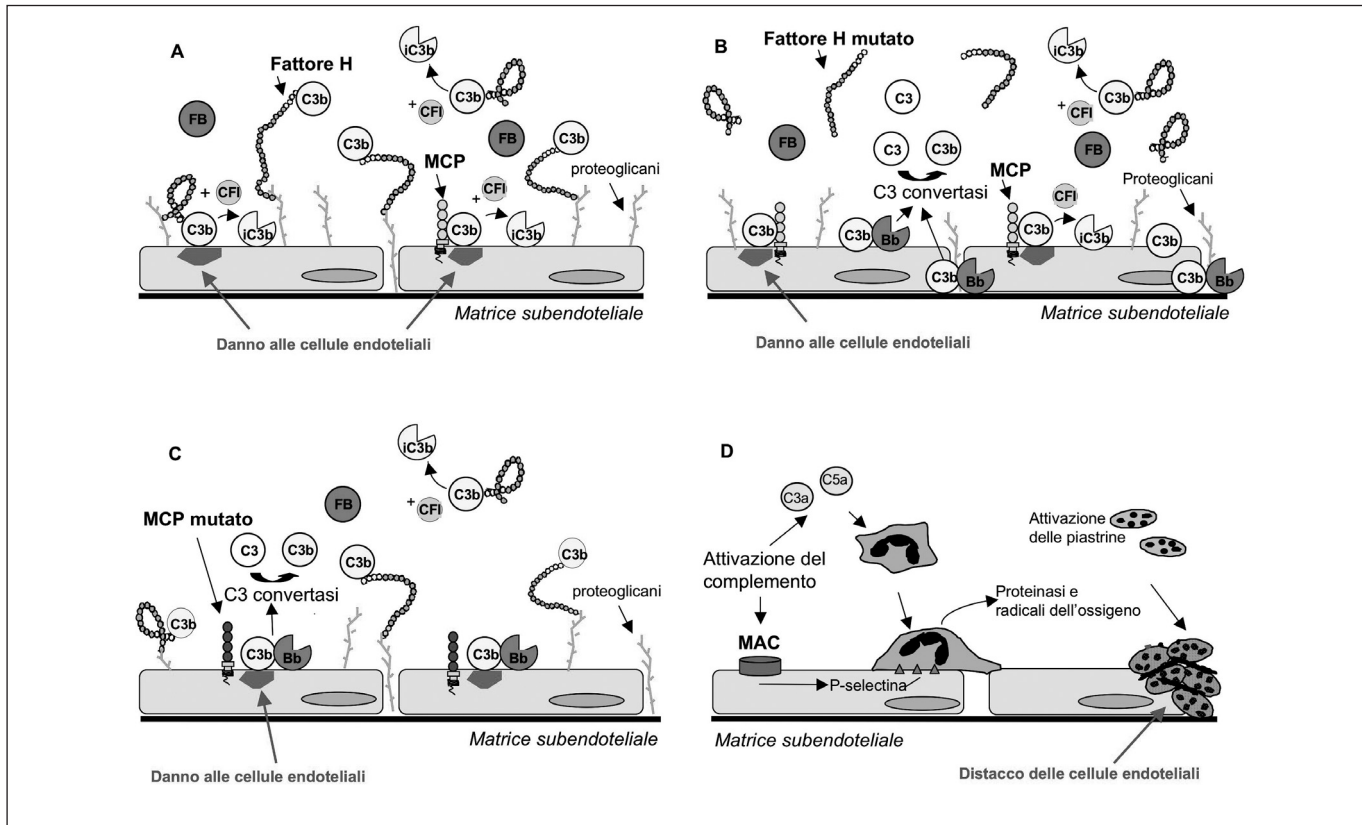
Ognuno dei 4 SCR può legare il C3b e/o il C4b rendendoli accessibili al taglio da parte del fattore I, conferendo così alla proteina la capacità di inibire l'attivazione del sistema del complemento sulle cellule del self.

### Terapia

L'approccio terapeutico consiste normalmente nella somministrazione di anticoagulanti, antiaggreganti piastrinici, agenti immunosoppressivi e steroidi, ma l'infusione di plasma o plasmaferesi, supportati dal trattamento dialitico e dall'infusione di sangue intero o emazie concentrate, si è rivelato il metodo più efficace nel trattare la fase acuta della malattia diminuendo così la mortalità e la morbilità dei pazienti (4, 62, 63) (Tab. I).

Nonostante ciò, nella maggior parte dei pazienti con forme non-Stx-SEU si assiste ad un'alta incidenza di ricorrenze della malattia con un progressivo deterioramento della funzione renale.

L'analisi genetica di *CFH*, *MCP* e *CFI* migliora l'inquadramento diagnostico e consente una prognosi a lungo termine più accurata. I risultati di un recente studio, condotto su una casistica di 156 pazienti, indica che il corso e l'esito della malattia sono influenzati dal gene mutato (44). Infatti, circa il 60-80% dei pazienti con mutazioni in *CFH* muore o perde la funzione renale già durante il primo episodio o progredisce fino all'insufficienza renale terminale come conseguenza di episodi successivi della malattia. Gli episodi acuti di non-Stx-SEU associati a mutazioni in *MCP* sono invece generalmente più lievi e in circa l'80% di questi pazienti si ottiene la remissione della malattia. Le reci-



**Fig. 4 - Modello proposto per le conseguenze patologiche delle mutazioni in CFH, MCP e CFI.**

A) In seguito a infezioni o a danno tissutale, il sistema del complemento si attiva con conseguente formazione del C3b. In presenza di fattore H (CFH) normale, il C3b viene rapidamente inattivato a C3b-inattivo (iC3b). CFH lega il C3b di fase fluida e favorisce la sua degradazione da parte del fattore I (CFI). CFH lega inoltre le molecole polianioniche (proteoglicani) presenti sulla superficie delle cellule endoteliali e sulla matrice subendoteliale. Questo aumenta l'affinità di CFH per il C3b. Di conseguenza, CFH legato alla membrana cattura il C3b di fase fluida, prevenendo in questo modo la sua deposizione sulle cellule dell'organismo e la formazione della C3 convertasi (C3bBb) attraverso il legame con il fattore B (FB). La matrice subendoteliale è priva di proteine regolatrici del complemento per cui la sua protezione è totalmente dipendente dall'azione di CFH. Anche la Membrane Cofactor Protein (MCP) inattiva il C3b depositato sulle cellule endoteliali poiché favorisce la sua sua proteolisi da parte di CFI.

B) CFH mutato mantiene la sua normale attività di cofattore in fase fluida. Tuttavia, le mutazioni trovate nei pazienti con SEU alterano i siti di interazione con i polianioni con conseguente riduzione della capacità di legame ai proteoglicani sulla superficie cellulare endoteliale e sulla matrice subendoteliale. Questo risulta in una maggiore deposizione di C3b sulla superficie endoteliale e l'MCP non è più in grado di controllare adeguatamente l'attivazione del complemento sulla membrana cellulare. Il C3b depositato sulla matrice extracellulare inoltre non viene degradato e forma la C3 convertasi della via alternativa del complemento che taglia ancora C3 a C3b.

C) Le mutazioni identificate in MCP portano a una ridotta espressione della proteina sulla superficie cellulare o a una ridotta capacità dell'MCP di legare il C3b. In entrambi i casi, il C3b che si deposita sulla membrana non viene efficacemente inattivato. Ciò conduce all'amplificazione della deposizione di C3b sulle cellule endoteliali danneggiate e alla conseguente formazione della C3 convertasi che porta ad un'ulteriore produzione di C3b.

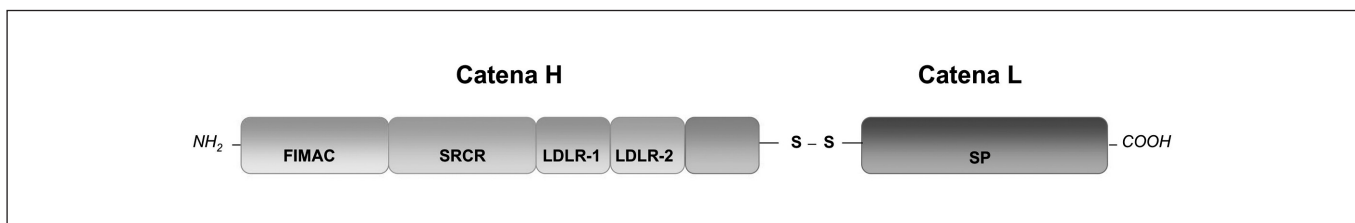
D) Sequenza di eventi che portano alla microangiopatia trombotica. La proteolisi di C3 e di C5 da parte delle convertasi causa il rilascio delle anafilossine chemotattiche C3a e C5a che si legano ai recettori presenti sulle cellule infiammatorie e le attraggono attraverso lo strato endoteliale. La deposizione di C3b sulle cellule endoteliali è seguita dalla formazione del Complesso di Attacco alla Membrana (MAC), che porta al danno e al distacco delle cellule, eventi che conducono all'espressione di molecole di adesione come la P-selectina. Quest'ultima favorisce l'attivazione dei leucociti con conseguente rilascio di proteasi e radicali dell'ossigeno che danneggiano ulteriormente l'endotelio. Al danno endoteliale segue il distacco delle cellule e l'esposizione della membrana basale. In queste condizioni, le piastrine aderiscono e si aggregano sulla matrice esposta.

dive sono molto frequenti, ma circa il 60-70% dei pazienti mantiene la funzione renale anche a lungo termine (44). Infine pochi dati sono al momento disponibili per i pazienti con mutazioni in CFI.

Lo studio genetico dei pazienti può essere utile per un miglioramento dell'approccio terapeutico. CFH e CFI, infatti, sono proteine plasmatiche: l'infusione di plasma o

la plasmaferesi possono essere trattamenti utili nei pazienti con mutazioni in CFH o in CFI, per fornire loro proteine normali in grado di compensare il difetto. Al contrario, l'MCP è una proteina di membrana, perciò il beneficio che i pazienti possono trarre dal trattamento con infusione di plasma o plasmaferesi è poco chiaro. I dati ottenuti dai pazienti con mutazioni in MCP mostrano, infatti, che essi





**Fig. 5 - Struttura del fattore I (CFI).**

*CFI possiede una struttura modulare. Dall'estremità N-terminale a all'estremità C-terminale della catena H troviamo il dominio FIMAC (Factor I Attack Complex Domain), un dominio SRCR (Scavenger Receptor Cystein-Rich), due domini LDLR (class A Low-Density Lipoprotein Receptor; LDLR-1 e LDLR-2) e una regione a omologia e funzione ignote. La catena L è costituita interamente dal dominio serin-proteasico (SP). La catena H e la catena L sono legate covalentemente tra di loro da un ponte disolfuro.*

vanno in remissione indipendentemente dal fatto di ricevere o non ricevere il trattamento con plasma (44).

Il trapianto di rene può essere eseguito con successo nelle forme Stx-SEU, ma è un trattamento ad alto rischio nelle forme non-Stx-SEU a causa dell'elevata frequenza di ricorrenze (circa il 50%) della malattia sull'organo trapiantato. È stato osservato che l'esito del trapianto di rene nei pazienti portatori di mutazioni in *CFH* è negativo; il tasso di ricorrenze è di circa l'80%, con conseguente perdita dell'organo trapiantato nella quasi totalità dei casi. La sostituzione del rene non corregge, infatti, il difetto genetico, essendo *CFH* prodotto a livello epatico. Recentemente è stato dimostrato che il trapianto combinato di rene e fegato protegge il rene trapiantato dalla recidiva grazie alla produzione di *CFH* da parte del nuovo fegato (64). Per quanto concerne i pazienti portatori di mutazioni in *MCP*, essendo questa una proteina di membrana altamente espressa a livello renale, il trapianto di rene isolato rappresenta una valida opzione terapeutica (8). I pochi dati presenti in letteratura riguardanti l'esito del trapianto di rene nei pazienti con mutazioni in *CFI* indicano che questo tipo di approccio è sconsigliabile, così come nei portatori di mutazioni in *CFH*, a causa della ricorrenza della malattia.

## Prospettive future

In conclusione, ad oggi sono stati identificati tre geni, *CFH*, *MCP* e *CFI*, che rendono conto di una cospicua parte di pazienti affetti da non-Stx-SEU (~50%) ma non di tutti. Da ciò consegue la necessità di individuare altri geni coinvolti nella patogenesi della SEU.

Gli sforzi della ricerca sono attualmente rivolti all'identificazione di approcci che possano specificatamente ed efficacemente trattare le fasi acute di SEU. La scoperta di mutazioni a livello di tre diversi geni codificanti per proteine regolatrici del complemento indica che l'inibizione del complemento potrebbe rappresentare un valido bersaglio per il trattamento delle forme non-Stx-SEU.

Nei pazienti portatori di mutazioni in *CFH* e *CFI*, proteine circolanti, è possibile prospettare lo sviluppo di terapie

come l'infusione di fattori sostitutivi, ad esempio *CFH* o *CFI* isolati da plasma umano o ricombinanti.

Gli studi sui meccanismi molecolari alla base delle forme di non-Stx-SEU potrebbero tradursi in un miglioramento delle strategie terapeutiche.

## Test di verifica

### 1) Il fattore H è:

- Una proteina di membrana
- Un attivatore del complemento
- Una proteina circolante prodotta dal fegato
- Un enzima lisosomiale
- Un fattore della coagulazione.

### 2) Che ruolo ha l'MCP nel sistema del complemento?

- È una proteina regolatrice
- È una proteina strutturale
- È un'anafilotossina
- Fa parte del Complesso di Attacco alla Membrana (MAC).

### 3) Terapia della non-Stx-SEU. Quale dei seguenti approcci è più supportato dai dati a disposizione?

- Farmaci antiaggreganti
- Infusione di plasma/plasmaferesi
- Prostaciclina
- Steroidi.

### 4) Nei pazienti con insufficienza renale terminale secondaria a SEU, il trapianto di rene:

- Ha una prognosi più favorevole nelle forme non-Stx-SEU
- Ha una prognosi favorevole nelle forme secondarie a mutazione in *MCP*
- Ha una prognosi favorevole nelle forme secondarie a mutazione in *CFH*
- Ha una prognosi favorevole nelle forme secondarie a mutazione in *CFI*.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

## Riassunto

La Sindrome Emolitico Uremica (SEU) è una malattia rara caratterizzata da anemia emolitica microangiopatica, trombocitopenia e insufficienza renale acuta. È definita Stx-SEU quando è associata a infezioni sostenute da batteri produttori di tossine *Shiga-like* (Stx), mentre è definita non-Stx-SEU se l'infezione può essere esclusa. La non-Stx-SEU comprende le forme sporadica e familiare.

Varie evidenze hanno suggerito che la presenza di difetti genetici nel sistema del complemento potrebbe giocare un ruolo fondamentale nella patogenesi della non-Stx-SEU. Dati recenti, infatti, hanno dimostrato che ciò dipende dall'assenza o dall'alterazione di proteine regolatrici della via alternativa del complemento.

Circa il 30% dei pazienti affetti da non-Stx-SEU è portatore di mutazioni nel gene che codifica per il fattore H (CFH), una proteina che inibisce l'attivazione della via alternativa del complemento. Osservazioni recenti hanno rivelato il coinvolgimento anche dei geni che codificano per la *Membrane Cofactor Protein* (MCP) e per il fattore I (CFI).

Lo studio genetico dei pazienti può essere utile per un

miglioramento dell'approccio terapeutico. L'infusione di plasma o la plasmafèresi, infatti, sono trattamenti utili nei pazienti con alterazioni in CFH o in CFI, proteine plasmatiche. Al contrario, il trattamento con il plasma nei pazienti con alterazioni in MCP, proteina di membrana, non sembra avere un impatto significativo sull'esito. Il trapianto di rene può essere eseguito con successo nei pazienti portatori di mutazioni in MCP, ma è un trattamento ad alto rischio nei pazienti con mutazioni in CFH e CFI, a causa dell'elevata frequenza di ricorrenze della malattia sull'organo trapiantato.

I risultati degli studi genetici hanno permesso una migliore comprensione del meccanismo molecolare della malattia e la possibilità di sviluppare strategie mirate per il trattamento della SEU.

Indirizzo degli Autori

Dr. Caterina Mele

Centro di Ricerche Cliniche

per le Malattie Rare "Aldo e Cele Daccò"

Via Camozzi, 3

24020 Ranica (BG)

e-mail: mele@marionegri.it

## Bibliografia

- Ruggenenti P, Noris M, Remuzzi G. Thrombotic microangiopathy, haemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Kidney Int* 2001; 60: 831-46.
- Gianviti A, Rosmini F, Caprioli A, et al. Haemolytic-uraemic syndrome in childhood: Surveillance and case-control studies in Italy. Italian HUS Study Group. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 705-9.
- Kaplan BS, Meyers KE, Schulman SL. The pathogenesis and treatment of hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1126-33.
- Remuzzi G, Ruggenenti P, Bertani T. Thrombotic microangiopathies. *Renal Pathology: With Clinical and Functional Correlations*, edited by Tisher CC, Brenner BM, Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1154, 1994.
- Schieppati A, Ruggenenti P, Cornejo RP, et al. Renal function at hospital admission as a prognostic factor in adult hemolytic uremic syndrome. The Italian Registry for Haemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2: 1640-4.
- Taylor CM, Chua C, Howie AJ, Ridson RA. Clinico-pathological findings in diarrhoea-negative haemolytic uraemic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 419-25.
- Thorpe CM. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1298-303.
- Noris M, Remuzzi G. Hemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1035-50.
- Lopez EL, Diaz 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.
- Srivastava RN, Moudgil A, Bagga A, Vasudev AS. Hemolytic uremic syndrome in children in northern India. *Pediatr Nephrol* 1991; 5: 284-8.
- Guerin PJ, Brasher C, Baron E, et al. *Shigella dysenteriae* serotype 1 in west Africa: Intervention strategy for an outbreak in Sierra Leone. *Lancet* 2003; 362: 705-6.
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, et al. Food-related illness death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 607-25.
- Mead PS, Finelli L, Lambert-Fair MA, et al. Factors for sporadic infection with *Escherichia coli* O157:H7. *Arch Intern Med* 1997; 157: 204-8.
- Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157: H7. *Lancet* 1998; 352: 1207-12.
- Ruggenenti P, Remuzzi G. The pathophysiology and management of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 1996; 56: 191-207.
- Acheson DW, Moore R, De Breucher S, et al. Translocation of Shiga toxin across polarized intestinal cells in tissue culture. *Infect Immun* 1996; 64: 3294-300.
- Trachtman H, Cnaan A, Christen E, et al. Effect of an oral Shiga toxin-binding agent on diarrhea-associated haemolytic uremic syndrome in children: A randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290: 1337-44.
- Mulvey GL, Marcato P, Kitov PI, Sadowska J, Bundie DR, Armstrong GD. Assessment in mice of the therapeutic potential of tailored, multivalent Shiga toxin carbohydrate ligands. *J Infect Dis* 2003; 187: 640-9.
- Dundas S, Murphy J, Soutar RL, et al. Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the 1996 Lanarkshire *Escherichia coli* O157:H7 outbreak. *Lancet* 1999; 354: 1327-30.
- Constantinescu AR, Bitzan M, Weiss LS, et al. Non-enteropathic hemolytic uremic syndrome: Causes and short-term course. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 976-82.
- Walport MJ. Complement, first part. *N Engl J Med* 2001; 344:1058-66.
- Walport MJ. Complement, second part. *N Engl J Med* 2001; 344: 1140-4.
- Noris M, Ruggenenti P, Perna A. Hypocomplementemia discloses genetic predisposition to hemolytic uremic syndrome and

- thrombotic thrombocytopenic purpura: role of factor H abnormalities. Italian registry of familial and recurrent hemolytic uremic syndrome/thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 281-93.
24. Stuhlinger W, Kourilsky O, Kanfer A, Sraer JD. Haemolytic uraemic syndrome: Evidence for intravascular C3 activation. *Lancet* 1974; Sep 28; 2 (7883): 788-9.
  25. Hammar SP, Bloomer HA, McCloskey D. Adult hemolytic uremic syndrome with renal arteriolar deposition of IgM and C3. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 434-9.
  26. Landau D, Shalev H, Levy-Finer G, Polonsky A, Segev Y, Katchko L. Familial hemolytic uremic syndrome associated with complement factor H deficiency. *J Pediatr* 2001; 138: 412-7.
  27. Warwicker P, Goodship THJ, Donne RL, et al. Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 1998; 53: 836-44.
  28. Rougier N, Kazatchkine MD, Rougier J-P, et al. Human complement factor H deficiency associated with hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 2318-26.
  29. Pichette V, Quérin S, Schürch W, Brun G, Lehner-Netsch G, Delaghe J-M. Familial hemolytic-uremic syndrome and homozygous factor H deficiency. *Am J Kidney Dis* 1994; 26: 936-41.
  30. Thompson RA, Winterborn MH. Hipocomplementaemia due to a genetic deficiency of beta 1H globulin. *Clin Exp Immunol* 1981; 46: 110-9.
  31. Zipfel PF, Skerka C. Complement factor H and related proteins: an expanding family of complement-regulatory proteins? *Immunol Today* 1994; 15: 121-6.
  32. Zipfel PF, Hellwege J, Friese MA, et al. Factor H and disease: a complement regulator affects vital body function. *Mol Immunol* 1999; 36: 241-8.
  33. Rodriguez De Cordoba S, Esparza-Gordillo J, Goicoechea de Jorge E, Lopez-Trascasa M, Sanchez-Corral P. The human complement factor H: Functional roles, genetic variations and disease associations. *Mol Immunol* 2004; 41: 355-67.
  34. Pangburn MK. Cutting edge: localization of the host recognition functions of complement factor H at the carboxyl-terminal: implications for hemolytic uremic syndrome. *J Immunol* 2002; 169: 4702-6.
  35. Hellwege J, Jokiranta TS, Friese MA, et al. Complement C3b/C3d and cell surface polyanions are recognized by overlapping binding sites on the most carboxyl-terminal domain of complement factor H. *J Immunol* 2002; 169: 6935-44.
  36. Jozsi M, Manuelian T, Heinen S, Oppermann M, Zipfel PF. Attachment of the soluble complement regulator factor H to cell and tissue surface: Relevance for pathology. *Histol Histopathol* 2004; 19: 251-8.
  37. Maneulian T, Hellwege J, Meri S, et al. Mutations in factor H reduce binding affinity to C3b and heparin and surface attachment to endothelial cells in hemolytic uremic syndrome. *J Clin Invest* 2003; 111: 1181-90.
  38. Caprioli J, Castelletti F, Bucchioni S, Bettinaglio P, et al. Complement factor H mutation and gene polymorphisms in hemolytic uraemic syndrome: the C-257T, the A2089G and the G2881T polymorphisms are strongly associated with the disease. *Hum Mol Genet* 2003; 12 (24): 3385-95.
  39. Neumann HPH, Salzman M, Bohnert-Iwan B, et al. Hemolytic uremic syndrome and mutations of factor H gene. *J Med Gene* 2003; 40: 676-81.
  40. Dragon-Durey MA, Frémeaux-Bacchi, Loirat C, et al. Heterozygous and homozygous factor H deficiencies associated with hemolytic uremic syndrome or membranoproliferative glomerulonephritis: report and genetic analysis of 16 cases. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 787-95.
  41. Pérez-Caballero D, González-Rubio C, Gallardo ME, et al. Clustering of missense mutations in the C-terminal region of factor H in atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 478-84.
  42. Caprioli J, Bettinaglio P, Zipfel P. The Molecular Basis of Familial Hemolytic Syndrome: Mutation Analysis of Factor H Gene Reveals a Hot Spot in Short Consensus Repeat 20. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 297-307.
  43. Buddles MR, Donne RL, Richards A, et al. Complement factor H gene mutation associated with autosomal recessive atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 1721-2.
  44. Caprioli J, Noris M, Brioschi S, et al. Genetics of HUS: The impact of MCP, CFH and IF mutations on clinical presentation, response to treatment and outcome. *Blood* 2006; 108: 1267-79.
  45. Sanchez-Corral P, Perez-Caballero D, Huarte O, et al. Structural and functional characterization of factor H mutations associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 1285-95.
  46. Sánchez-Corral P, Gonzalez-Rubio C, Rodriguez de Cordoba S, Lopez-Trascasa M. Functional analysis in serum from atypical hemolytic uremic syndrome patients reveals impaired protection of host cells associated with mutations in factor H. *Mol Immunol* 2004; 41: 81-4.
  47. Dragon-Durey M-A, Loirat C, Cloarec S, et al. Anti-factor H antibodies associated with atypical haemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 555-63.
  48. Riley-Vargas RC, Gill DB, Kemper C, et al. CD46: expanding beyond complement regulation. *Trends Immunol* 2004; 25: 9.
  49. Liszewski MK, Leung M, Cui W, et al. Dissecting sites important for complement regulatory activity in Membrane Cofactor Protein (MCP; CD46). *J Biol Chem* 2000; 275 (48): 37692-701.
  50. Nakanishi I, Moutabarrik A, Hara T, et al. Identification and characterization of membrane cofactor protein (CD46) in the human kidneys. *Eur J Immunol* 1994; 24 (7): 1529-35.
  51. Barilla-LaBarca ML, Liszewski MK, Lambris JD, et al. Role of membrane cofactor protein (CD46) in regulation of C4b and C3b deposited on cells. *J Immunol* 2002; 168: 6298-304.
  52. Noris M, Brioschi S, Caprioli J, et al. Familial hemolytic uremic syndrome and an MCP mutation. *Lancet* 2003; 362: 1542-7.
  53. Richards A, Kemp EJ, Liszewski MK, et al. Mutations in human complement regulator, membrane cofactor protein (CD46), predispose to development of familial hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2003; Oct 28; 100 (22): 12966-71. Epub 2003 Oct 17.
  54. Endoh M, Yamashina M, Ohi H, et al. Immunohistochemical demonstration of membrane cofactor protein (MCP) of complement in normal and diseased kidney tissues. *Clin Exp Immunol* 1993; 94: 182-8.
  55. Vyse TJ, Bates GP, Walport MJ, Morley BJ. The Organization of the Human Complement Factor I Gene (IF): A Member of the Serine Protease Gene Family. *Genomics* 1998; 24: 90-8.
  56. Tsiftoglou SA, Willis AC, Li P, et al. The Catalytically Active Serine Protease Domain of Human Complement Factor I. *Biochemistry* 2005; 44: 6239-49.
  57. Vyse TJ, Morley BJ, Bartók I, et al. The molecular Basis of Hereditary Complement Factor I Deficiency. *J Clin Invest* 1996; 97: 925-33.
  58. Naked GM, Florido MPC, Ferreira De Paula P, et al. Deficiency of Human Complement Factor I Associated with Lowered Factor H. *Clin Immunol* 2000; 96: 162-7.
  59. Tsiftoglou SA, Sim RB. Human Complement Factor I Does Not Require Cofactors for Cleavage of Synthetic Substrates. *J Immunol* 2004; 173: 367-75.
  60. Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Blouin J, et al. Complement factor I: a susceptibility gene for atypical hemolytic uremic syndrome. *J Med Genet* 2004; 41: e84.
  61. Kavanagh D, Elizabeth JK, Elizabeth M, et al. Mutations in Complement Factor I Predispose to Development of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2150-5.
  62. Remuzzi G, Ruggenenti P. The hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 1995; 47: 2-19.
  63. Caprioli J, Brioschi S, Remuzzi G. Molecular basis of familial thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2003; 14 (3): 342-50.
  64. Saland JM, Emre SH, Shneider BL, et al. Favorable long-term outcome after liver-kidney transplant for recurrent haemolytic uremic syndrome associated with a factor H mutation. *Am J Transplant* 2006; 6: 1948-52.