

Physiopathologie du Syndrome Hémolytique et Urémique atypique

Dix ans de progrès, du laboratoire au patient

Véronique Frémeaux-Bacchi^{1,2}

¹ INSERM UMR_S1135, Centre de Recherche des Cordeliers, Équipe « Complément et Maladies »,
15 rue de l'École de Médecine, 75006 Paris, France

² Hôpital Européen Georges Pompidou, Laboratoire d'Immunologie, 20 rue Leblanc, 75015 Paris, France

Auteur correspondant : Véronique Frémeaux-Bacchi, veronique.fremeaux-bacchi@egp.aphp.fr

Reçu le 24 décembre 2013

Résumé – Le système du Complément, et plus particulièrement la voie alterne du complément, est le premier mécanisme de défense contre les infections. Les protéines de la voie alterne ont la double capacité de reconnaissance des agents pathogènes et d'auto-amplification des mécanismes de leur élimination. Plusieurs protéines sériques (comme le Facteur H et le Facteur I) ou membranaire (comme le CD46) jouent un rôle primordial dans la régulation de cette voie continuellement activée à bas bruit. Les déficits complets en un composant du système du Complément sont des situations relativement rares mais sont associés à des pathologies sévères, en particulier rénales. Le SHU (Syndrome Hémolytique et Urémique) est défini par une triade associant une anémie hémolytique mécanique, une thrombopénie et une insuffisance rénale aiguë. L'atteinte rénale est caractérisée par des altérations des endothéliums glomérulaires et par la présence de micro-agrégats plaquettaires dans les artérioles et les capillaires. Les SHUa (Syndrome Hémolytique et Urémique atypiques), c'est à dire qui ne sont pas secondaires à une infection intestinale à *Escherichia coli* producteur de vérotoxines, sont de mauvais pronostic et leur caractère exceptionnel justifie leur classement parmi les maladies rares. Ils surviennent à tous les âges, de la période néonatale à l'âge adulte. Le rein est un des éléments majeurs du pronostic de cette maladie : plus de 40 % atteignent le stade d'insuffisance rénale terminale dès la première poussée de SHU. Le SHUa est associé dans plus de 60 % des cas à des mutations sur un des cinq gènes codant pour le C3 et le Facteur B formant la C3 convertase alterne et pour trois des protéines qui la régulent (le Facteur H, le Facteur I et MCP, *Membrane Cofactor Protein* ou CD46). Il est maintenant admis que les lésions de micro-angiopathie thrombotique (MAT) sont secondaires à un défaut de la protection des cellules endothéliales glomérulaires permettant l'amplification du clivage de C3b. Récemment, des mutations ont été identifiées sur des gènes codant pour la thrombomoduline et la diacylglycérol kinase epsilon (DGKe), ouvrant la voie vers la découverte de nouveaux mécanismes physiopathologiques.

Mots clés : Syndrome Hémolytique et Urémique atypique / cellules endothéliales / complément / Facteur H / mutation

Abstract – Physiopathology of Hemolytic Uremic Syndrome. Ten years of progress.

Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) is characterized by the triad of hemolytic anemia, thrombocytopenia and acute renal failure. The most frequent form in children is caused by Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. In absence of Shiga-toxin infection, the HUS is called atypical (aHUS). Some HUS are secondary to *Streptococcus pneumoniae* or human immunodeficiency virus infection, cancer, anti-cancer drugs, or cyclosporine. During the last decade, aHUS has been demonstrated to be a disorder of complement alternative pathway regulation. aHUS must be regarded as a complex polygenic disease

which results from a combination of genetic risk factors. Approximately 60% of patients have mutations in the genes encoding complement factor H (20–30% of patients), MCP (10–15%), factor I (4–10%), factor B (1–2%) or C3 (5–10%), and 6% have anti-factor H antibodies. Prognosis is severe whereas the clinical features vary according to complement abnormality. aHUS touches both children and adults, but in children very early onset is characteristic of factor H and factor I-HUS, while MCP-HUS is not observed before the age of 1. Half of patients with adult onset have a rapid evolution to end-stage renal disease, but half recover. The best prognosis is in patients with MCP (*Membrane Cofactor Protein*) mutation and a pediatric onset of the disease, who have a relapsing course, but a risk of end-stage renal disease of only 15–30% at 5 years follow-up. Anti-factor H antibodies-HUS is mainly observed in (pre)adolescents and appears to have a favourable outcome if treated early. There is a high risk of post-transplant recurrence in all groups, except MCP-HUS. These findings have paved the way for innovative therapeutic strategies based on complement blockade, and eculizumab, a monoclonal antibody targeting the human complement component 5, is now widely used to treat aHUS. Mutations in the gene of thrombomodulin and diacylglycerol kinase epsilon (DGKe) have been reported, suggesting the possibility of an alternative or more complex disease-causing mechanism than previously thought.

Key words: DGKe / Hemolytic Uremic Syndrome / complement / endothelial cells

Abréviations

C3bBb : C3 convertase alterne
 DGKe : DiacylGlycérol Kinase epsilon
 FB : Facteur B
 FH : Facteur H
 FI : Facteur I
 IR : Insuffisance Rénale
 MAT : Micro-Angiopathie Thrombotique
 MCP ou CD46 : *Membrane Cofactor Protein*
 SCR : *Short Consensus Repeat*
 SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique
 SHUa : Syndrome Hémolytique et Urémique atypique
 SNP : *Single Nucleotide Polymorphism*
 STEC : *Shiga-Toxin Escherichia coli* (vérotoxine)
 Stx : Shiga-toxine
 TM : Thrombomoduline

Introduction

Le Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) est défini par une triade associant une anémie (hémoglobine < 12 g/dL) hémolytique (haptoglobine effondrée, élévation des LDH; présence de schizocytes sur le frottis sanguin), une thrombopénie (plaquettes < 150 G/L) et une insuffisance rénale (IR) aiguë (créatinine élevée ou débit de filtration glomérulaire estimé (DFGe) < 60 mL/min/1,73 m²). Il est dû à des lésions de micro-angiopathie thrombotique (MAT), caractérisées par des thrombus fibrinoplaquettaires dans les capillaires et/ou les artérioles rénales (ou éventuellement extra-rénales).

Classification des SHU

Le SHU est une pathologie rare. Deux grandes entités sont bien décrites, le SHU typique et atypique.

Le SHU lié à une infection à *Escherichia coli* sécrétant de vérotoxine (STEC) est appelé classiquement « SHU typique » et constitue un problème de santé publique (Tarr *et al.*, 2005; Trachtman *et al.*, 2012). Ces SHU, dits typiques ou post-diarrhée (D+) ou à STEC, représentent 95 % de l'ensemble des SHU de l'enfant. Le SHU typique survient le plus souvent sous forme de petites épidémies saisonnières. Le principal réservoir sont les ruminants et la transmission à l'homme est généralement oro-fécale *via* l'ingestion de produits carnés, produits laitiers non pasteurisés ou fruits et légumes contaminés. La plus fréquente des infections est celle à *Escherichia coli* producteur de Shiga-toxines (Stx) de sérotype OH157:H7. En France, 80 à 100 cas de SHU à STEC surviennent chaque année chez des enfants. Le taux de décès à la phase aigüe est de 2 %. Le pronostic est rénal. Avec un recul moyen de 4 ans, le taux d'IR terminale est de 10 à 15 %, le taux de séquelles (IR chronique, hypertension artérielle ou protéinurie) de 30 %. En avril 2011, plus de 2900 infections à STEC dont 459 cas de syndrome hémolytique et urémique (SHU) ont été identifiés en Allemagne. Une investigation approfondie a permis d'identifier l'origine de la contamination (des graines germées et des jeunes pousses) et d'identifier le STEC (*E. coli* O104) (Menne *et al.*, 2012). Les lésions de MAT sont dues aux altérations des endothéliums vasculaires, principalement rénaux, directement engendrées par les Stx. Divers mécanismes induits par les Shiga-like toxines sont à l'origine des lésions des endothéliums vasculaires (induction

d'apoptose, sécrétion de cytokines ou surexpression des récepteurs Gb3). La toxicité des vérotoxines St1 et St2 sur les cellules endothéliales est directe. La MAT est la conséquence ultime de cette cascade d'activations de la cellule endothéliale et des plaquettes et de l'acquisition d'un phénotype procoagulant. L'activation du complément est évoquée (Morigi *et al.*, 2011).

Les formes qui ne sont pas associées à une infection à germes sécréteurs de vérotoxines sont appelées SHU atypiques (SHUa) (Loirat *et al.*, 2012). Le SHUa survient à tous les âges, de la période néonatale à l'âge adulte. Il peut être primitif, en l'absence de facteurs déclenchants identifiés, survenant de façon sporadique ou familiale. L'incidence est estimée à 0,3 cas par million d'habitants, soit entre 20 à 40 nouveaux cas par an en France. De plus, le SHU peut être secondaire à un grand nombre de pathologies, une prise médicamenteuse (anti-VEGF, gemcitabine, anti-calciéurines), une infection (pneumocoque, VIH, CMV), une maladie de système (syndrome des anti-phospholipides, lupus, sclérodermie), une transplantation d'organe ou de moelle osseuse.

Le SHU représente moins de 5 % des causes d'insuffisance rénale aiguë de l'adulte et moins de 1 % des causes d'insuffisance rénale terminale. Les SHU atypiques sont de mauvais pronostic.

Avancées physiopathologiques

La voie alterne du complément

Le système du complément, élément fondamental de l'immunité innée, comprend plus de 30 protéines, solubles ou membranaires, à activité enzymatique ou régulatrice, et comporte trois voies d'activation (figure 1) (Walport, 2001a, 2001b). La voie alterne, qui représente la première ligne de défense contre l'infection, a la particularité, à l'opposé des autres voies d'activation du complément, d'être active en permanence. Le clivage de C3 par une C3 convertase formée en permanence en phase fluide génère en continu de petites quantités de C3b. Si le C3b ne rencontre pas de pathogène constituant pour lui une surface activatrice amplificatrice, il est rapidement inactivé par un système complexe de régulation dans la circulation sanguine ou sur les tissus du soi. En revanche, sa fixation covalente à une surface activatrice lui permet de recruter le facteur B (FB). La fixation de FB sur le C3b induit un changement de conformation de B, qui après clivage par le Facteur D forme la C3 convertase alterne (C3bBb). Cette enzyme clive C3 en deux fragments : le C3a, une anaphylatoxine de petit poids moléculaire, libéré en phase soluble et le C3b qui exprime transitoirement un site labile permettant sa fixation covalente par une liaison thioester

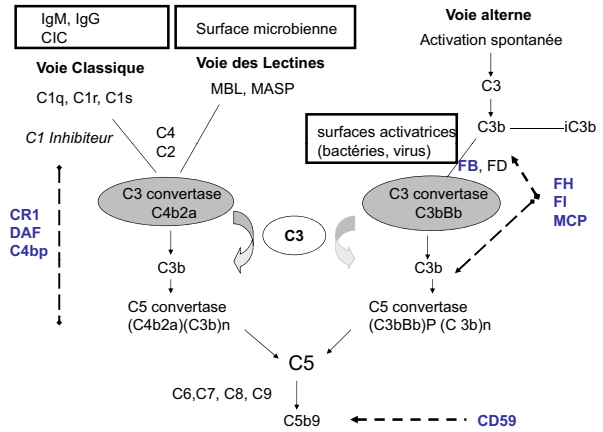


Fig. 1. Schéma récapitulatif des voies d'activation et de régulation du complément.

au pathogène. Le C3b peut alors :

- (1) participer à une boucle amplificatrice en reformant une C3 convertase augmentant la formation de C3b et donc opsoniser les agents pathogènes ;
- (2) contribuer à la formation d'une C5 convertase qui clive le C5 aboutissant à la libération de l'anaphylatoxine C5a qui favorise le recrutement des cellules inflammatoires au site de l'infection et à la formation du complexe d'attaque membranaire. Ce complexe, constitué des molécules C5b, C6, C7, C8 et C9, est capable de former des pores dans les membranes plasmiques et d'induire la lyse directe des pathogènes mais aussi d'activer les cellules ;
- (3) interagir sous sa forme native ou après dégradation protéolytique avec divers récepteurs membranaires comme CR3 à la surface des cellules phagocytaires.

La voie alterne du complément fait l'objet d'une régulation physiologique fine à plusieurs niveaux. L'inhibition de la formation de la C3 convertase alterne par le Facteur H (FH) constitue un premier niveau de régulation.

Le FH est une protéine hautement glycosylée de 155 kDa d'origine majoritairement hépatique, circulant sous forme active dans le plasma à la concentration de 500 mg/l. Le FH est composé de 20 modules répétitifs d'environ 60 acides aminés (aa) les *Short Consensus Repeats* (SCR) formant une structure flexible en collier de perles. Les sites d'interactions entre le facteur H et ses différents ligands sont bien caractérisés. Deux sites sont impliqués dans la liaison du C3b : les SCR 1-4, et 19-20. Les SCR 7, 19-20 sont impliqués dans la reconnaissance des surfaces polyanioniques cellulaires. Les deux derniers SCR ont, à ce titre, un rôle crucial dans la protection des membranes cellulaires. Les surfaces capables de lier le FH ne permettent plus la fixation du FB à C3b et donc bloquent la formation locale d'une C3 convertase alterne. À l'inverse, les surfaces « activatrices » de

la voie alterne ne fixe pas le FH, permettant ainsi la formation d'une C3 convertase alterne. Lorsqu'une C3 convertase est formée, le FH contribue à accélérer la cinétique de dissociation de la C3 convertase. Le gène du FH est situé en 1q32 et comporte 23 exons. Une nouvelle étape de régulation porte sur l'inactivation des fragments C3b par clivage protéolytique par une protéase à sérine circulante, le facteur I (FI). Ce clivage nécessite la présence d'un co-facteur sérique (FH) ou membranaire (*Membrane Cofactor Protein*, MCP ou CD46). Les produits de la dégradation de C3b sont incapables de reformer une C3 convertase.

Le FI est une glycoprotéine de 88 kDa, appartenant à la famille des sérines protéases. Cette enzyme d'origine majoritairement hépatique circule dans le plasma sous forme active à la concentration de 35 ng/l. La protéine circulante est formée de deux chaînes : une chaîne légère de 38 kDa composée de 243 aa et une chaîne lourde de 50 kDa comportant 318 aa, reliées entre elles par un pont disulfure. La chaîne légère est composée d'un domaine sérine-protéase comportant la triade catalytique caractéristique et la chaîne lourde porte la spécificité de reconnaissance. Le gène du facteur I (*CFI*) est situé sur le chromosome 4q25 et la partie codante se répartit en 13 exons.

MCP (ou *Membrane Cofactor Protein*, CD46) est une glycoprotéine transmembranaire largement exprimée à la surface des cellules de l'organisme, à l'exception des érythrocytes. La partie amino-terminale de la protéine est extra-membranaire et comporte quatre domaines de type SCR. Les SCR 2, 3 et 4 lient le C3b et favorisent l'activité de cofacteur du FI. Le gène de MCP comporte 14 exons et est situé, comme celui du FH, dans la région 1q32. Cette région, appelée RCA (*Regulators of Complement Activation*), code donc pour de nombreuses protéines de régulation du complément.

Le SHU atypique : prototype d'une maladie due à la perte du contrôle du complément

Si le système du complément est connu de longue date, son rôle dans le SHUa, bien que suggéré il y a plus de trente ans, n'est apparu fondamental que récemment (figure 2). En 1998, Warwicker *et al.* ont pu, à partir de trois familles, établir le lien entre SHU atypique et le locus *RCA* situé sur le chromosome 1q32 (Warwicker *et al.*, 1998). Le premier gène candidat étudié a été le *FH* permettant d'identifier une mutation hétérozygote au niveau du SCR 20 du FH. Plusieurs groupes ont ensuite rapporté que des patients, enfants ou adultes, présentant un SHU atypique sporadique ou familial, avaient, en dépit d'un taux circulant de FH normal, des mutations sur le gène du FH, localisées essentiellement dans les SCR 18, 19 et 20 (Noris *et al.*, 2010; Frémeaux-Bacchi *et al.*, 2013).

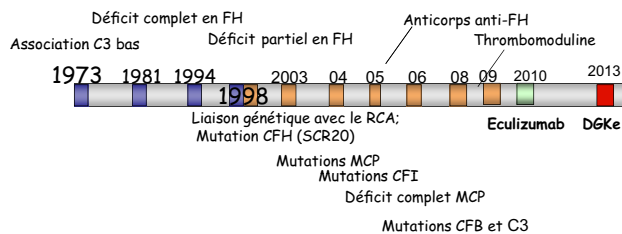


Fig. 2. Historique du rôle du complément dans le SHUa.

Les cellules endothéliales des glomérules humains et les membranes basales glomérulaires sont riches en molécules polyanioniques, et la fixation du FH à leur surface est donc essentielle pour leur protection contre l'attaque par le complément. Il a été démontré que le FH muté a une capacité réduite à interagir avec les polyanions et avec le C3b lié aux surfaces cellulaires, entraînant une perte de l'activité régulatrice du complément au niveau des membranes cellulaires. En revanche, ces mutants gardent leur capacité de contrôle de l'activation du complément dans le plasma. Les mutations de FH paraissent au total être en cause dans 20 à 30 % des SHU atypiques. Plus de 70 mutations du FH ont été identifiées et répertoriées dans la base de données (<http://www.fh-hus.org/>). Si certaines mutations sont associées à des déficits quantitatifs en FH (mutations de type I), d'autres sont associées à des taux normaux de FH (mutations de type II).

En 2005, notre groupe a rapporté les trois premières observations de SHU atypique associé à la présence d'anticorps anti-FH (Dragon-Durey *et al.*, 2005). Les anticorps (Ac) anti-FH se fixent principalement au niveau des SCR 19 et 20 du FH et sont associés à un déficit fonctionnel (Blanc *et al.*, 2012). Plus de 90 % de ces patients ont la délétion homozygote de *CFHR1-CFHR3* soulignant l'importance du trait génétique en liaison avec la présence de l'Ac anti-FH.

En 2003, deux équipes ont rapporté des mutations dans le gène de MCP ségrégant avec le développement d'un SHU familial (Noris *et al.*, 2003; Richards *et al.*, 2003). Les mutations de MCP, protéine transmembranaire, sont selon les cohortes retrouvées entre 5 et 10 %. La plupart des mutations sont hétérozygotes, certaines peuvent être hétérozygotes combinées ou homozygotes. Elles sont pour la plupart associées à une diminution d'expression de la protéine à la surface des granulocytes.

Depuis la description initiale par notre groupe, en 2004, de trois mutations hétérozygotes du CFI isolées chez trois patients présentant un SHU sporadique, plus de trente mutations du CFI ont été identifiées et caractérisées (Frémeaux-Bacchi *et al.*, 2004). Toutes les mutations sont retrouvées à l'état hétérozygote. Les mutations de FI sont identifiées chez 5–10 % des patients. Elles sont responsables d'une diminution des

taux circulants du FI ou d'un défaut de liaison au C3b entraînant une diminution de l'inactivation du C3b en iC3b en phase fluide ou à la surface des cellules (Bienaimé *et al.*, 2010).

L'identification de mutations sur les gènes codant pour le Facteur B et le C3 a définitivement relié le SHU atypique à une C3 convertase dont la durée de vie serait plus longue. Ces mutations ont la particularité d'être associées à un gain de fonction c'est-à-dire une capacité du Facteur B à interagir plus efficacement avec le C3b ou à perdre la capacité de se lier aux protéines de régulation comme le FH et MCP, laissant la capacité au FB de former une C3 convertase alterne (Goicoechea de Jorge *et al.*, 2007; Frémeaux-Bacchi *et al.*, 2008). Les mutations du FB sont très rares; elles représentent moins de 2 % des mutations de la cohorte. Les mutations de C3 sont présentes entre 4 et 8 % selon les cohortes.

Les explorations immunochimiques et génétiques effectuées dans le contexte d'un SHU atypique sont résumées dans la revue de Roumenina *et al.* (2011).

La physiopathologie au service de la clinique

Dans l'état actuel des connaissances, une anomalie de régulation de la voie alterne est identifiée dans 60 à 70 % des cas (Noris *et al.*, 2010; Frémeaux-Bacchi *et al.*, 2013). Le complément est normalement régulé de manière à ce que son activation n'ait lieu qu'au niveau des surfaces microbiennes, mais soit inhibée au niveau des surfaces intactes de l'hôte. Les mutations de ces protéines aboutissent à une perte de la protection des cellules endothéliales contre l'activation du complément. Celle-ci permet la formation à la surface des cellules de l'hôte la formation d'une C3 convertase, l'amplification du clivage de C3, la formation d'une C5 convertase et enfin le clivage de C5, étape finale avant la formation d'un complexe C5b9. Ces événements sont à l'origine des lésions de MAT. La formation du complexe C5b9 à la surface des cellules endothéliales, vraisemblablement à proximité d'une brèche vasculaire, a le potentiel pour donner à la cellule un phénotype pro-coagulant. Le complément active aussi les plaquettes, qui participent à la formation du thrombus vasculaire. La présence d'une hémolyse participe à l'amplification de l'activation du complément et donc du phénotype pro-coagulant de la cellule endothéliale (Frimat *et al.*, 2013). Les facteurs à l'origine de la prédominance des lésions au niveau de l'endothélium des glomérules rénaux sont encore inconnus. Le rôle de la distribution particulière des protéines chargées négativement au niveau de l'endothélium glomérulaire, le débit vasculaire, ou la présence d'un endothélium fenestré sont discutés. Ce modèle physiopathologique est étayé par des modèles animaux de transgénèse. Ainsi, les souris exprimant un

variant du FH dépourvu des domaines C-terminaux 16–20, responsables de l'interaction du FH avec l'endothélium, développent dans 60 % des cas un SHU similaire à la pathologie humaine (Pickering *et al.*, 2007). Ces souris conservent un contrôle quasi complet de l'activation de la voie alterne en phase fluide et leur taux de C3 circulant n'est que modérément abaissé. À l'inverse, les souris complètement déficientes en FH ont une perte totale du contrôle de la voie alterne en phase fluide et un taux de C3 circulant effondré. Ces souris développent une glomérulonéphrite à dépôts de C3 mais pas de SHU (Pickering *et al.*, 2002). Ainsi, le SHU semble être lié à une perte de contrôle de la C3 convertase à la surface cellulaire, à l'inverse de la glomérulonéphrite à dépôts de C3 qui semble être liée à une perte de contrôle de la C3 convertase en phase fluide. Le C5, protéine clé dans l'agression de l'endothélium, est devenue la cible idéale pour stopper l'activation endothéliale.

Le SHU atypique : une maladie polygénique complexe

L'existence d'apparentés des patients qui ont la même mutation, et qui sont asymptomatiques amène à considérer d'autres facteurs de prédisposition à la maladie. Ceci a conduit à s'interroger dans un premier temps sur la responsabilité de variants des gènes. La plupart des nucléotides du génome humain sont invariables mais environ 1 sur 300 présente un polymorphisme ayant deux variants habituels. Ces variants (ou SNP pour *single nucleotide polymorphism*) se retrouvent dans la population humaine avec une fréquence qui, par définition, est supérieure à 1 %. Ces variations sont secondaires à des mutations ancestrales du génome humain qui se sont répandues dans la population humaine. L'étude de ces SNP a permis de démontrer que la transmission de l'information génétique se fait fréquemment par la transmission de blocs de séquences ne subissant aucun événement de recombinaison génétique. Ces blocs de séquences définissent des haplotypes. Pour le scientifique, une mutation est un changement par rapport à la séquence de référence qui n'est pas connue dans les banques de données et un polymorphisme (ou un variant) est une variation de la séquence d'un gène dans la population. Pour le médecin, une mutation est une variation rare impliquée dans la maladie et un polymorphisme une variation fréquente qui n'est pas impliquée dans la maladie. En pratique clinique, il est important de relier un gène à une maladie, ce qui est simple dans le cas des maladies récessives mais plus complexe dans les maladies polygéniques. Certains polymorphismes fréquents ont des conséquences biologiques (variants de susceptibilité) et certains variants rares ne sont

pas toujours délétères. Ces études génétiques à partir des cohortes de patients et de témoins ont permis de déterminer la présence de variants de prédisposition dans le SHU atypique. La fréquence de certains variants localisés au niveau du Facteur H, de MCP et de CFHR1 est différente chez les patients par rapport à la population témoin (Ermini *et al.*, 2011). En pratique, deux haplotypes sont décrits comme facteurs de risque de SHU atypique : l'haplotype CFH gtgt, défini par quatre SNP 1, 7, 11 et 16 de CFH et l'haplotype MCP gggac, défini par 5 SNP localisés dans l'intron et le promoteur du gène (Frémeaux-Bacchi *et al.*, 2013). Récemment, une étude européenne a montré que 3,4 % de la population atteinte de SHU atypique (27/795) ont plusieurs mutations. Les patients ayant une mutation de MCP ou du FI ont le plus souvent une autre anomalie génétique associée, contrairement aux patients mutants pour FH, C3, FB (25 % *versus* 8 %) (Bresin *et al.*, 2013).

En conclusion, la présence d'une mutation ou d'un polymorphisme entraîne une augmentation de la pénétrance de la maladie chez un individu. Les facteurs génétiques sont considérés comme des facteurs majeurs de prédisposition à la maladie mais ils n'expliquent pas que certains apparentés resteront toujours asymptomatiques, que le début de la maladie peut survenir à des âges très variables et ceci quelle que soit la mutation. L'environnement crée donc les conditions souvent nécessaires au développement de la pathologie. Un facteur prédisposant est retrouvé dans plus de 30 % des cas. Les déclencheurs potentiels sont les infections, la grossesse, la transplantation rénale, la greffe de moelle osseuse, les médicaments.

Clinique

Toutes les études qui ont évalué le pronostic du SHUa ont décrit une maladie sévère caractérisée par une fréquence élevée d'évolution vers l'insuffisance rénale terminale. Il survient quel que soit l'âge, de quelques mois de vie à 80 ans. Les deux pics de fréquence sont l'enfant avant deux ans et l'adulte entre 20 et 40 ans. Chez l'enfant, le sexe ratio est de 1 contrairement aux adultes où le sexe ratio est de trois femmes pour un homme. La maladie peut survenir de façon sporadique ou familiale. Les formes familiales, définies lorsqu'au moins deux membres d'une même famille sont atteints de SHU atypique, représentent moins de 20 % des cas de SHU atypique. La mortalité à la phase aiguë est estimée à moins de 10 %. La maladie est hétérogène mais il est possible d'identifier deux présentations cliniques.

- (1) Les patients restent dépendants de la dialyse après la phase aiguë du premier épisode de SHU. Dans certains cas, une insuffisance rénale chronique séquellaire évolue en un à deux ans vers l'insuffisance rénale terminale. Plus de 50 % des patients

atteignent le stade d'insuffisance rénale terminale dès la première poussée de SHU ;

- (2) La maladie évolue par rechutes successives. La fonction rénale revient à la normale après chaque poussée. Le délai entre les rechutes est variable, de quelques jours à plus de 20 ans. Un épisode unique de la maladie sans séquelle est possible mais il est difficile d'écarter le risque d'une rechute tardive.

L'atteinte rénale n'est pas toujours isolée, les patients peuvent avoir des manifestations extra-rénales, principalement neurologiques (convulsions, coma, crises d'épilepsie et cardiaques allant de l'insuffisance cardiaque à l'infarctus myocardique) (Roumenina *et al.*, 2012).

Le diagnostic est parfois difficile devant la grande similitude des manifestations cliniques associées aux différentes formes de MAT, l'absence de critères cliniques spécifiques, la fréquence des cas sporadiques et l'émergence de formes moins sévères, chez lesquelles l'atteinte rénale est plus discrète. La recherche d'un déficit héréditaire ou acquis en ADAMTS13 fait partie des examens réalisés chez tout adulte atteint de SHU, compte tenu de l'existence de formes de chevauchement avec le Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT). Chez l'enfant le diagnostic de SHUa doit être discuté même en cas de diarrhée prodromique.

À ce jour, deux études dont une de notre groupe ont évalué l'évolution clinique de patients atteints de SHU atypique en fonction de l'anomalie génétique identifiée (Noris *et al.*, 2010 ; Frémeaux-Bacchi *et al.*, 2013). La fréquence des mutations varie en fonction de l'âge de début des manifestations cliniques. Par exemple la fréquence des mutations de MCP varie entre 14 % et 7 % suivant l'âge de début de la maladie. Le pronostic à long terme de la maladie est marqué par une forte incidence de l'insuffisance rénale terminale et des séquelles rénales. En effet, dans l'année qui suit le premier épisode, plus de 40 % des adultes sont en insuffisance rénale terminale. Lorsque la maladie se déclare à l'âge adulte, la nature du gène muté n'influence que peu le cours de l'affection et la valeur de la créatininémie au diagnostic apparaît comme le meilleur facteur permettant de prédire la survie sans dialyse. Le pronostic rénal est particulièrement sévère pour les patients qui présentent une mutation de CFH de type II et une mutation gain de fonction sur le gène de C3 ou du Facteur B. À l'inverse, chez l'enfant, le pronostic est significativement meilleur en présence d'une mutation de MCP comparée à une mutation de CFH. Une fièvre, l'existence de signes neurologiques et une thrombopénie sévère sont rarement observées à l'admission des patients. Les récurrences de la maladie existent, faisant discuter la notion d'une poussée ou de plusieurs poussées de la maladie. Les patients ayant une mutation de MCP ou de C3 présentent

clairement plusieurs récurrences avec parfois plusieurs années entre chaque épisode. Globalement, le risque de récurrence après transplantation rénale dans les SHU atypiques est de 30 à 50 % (Le Quintrec *et al.*, 2013). Les progrès sur le plan génétique permettent actuellement de mieux cerner le risque de récurrence après greffe dans les différents sous-groupes de SHU. Ce risque est de l'ordre de 80 % en cas de mutation du FH.

L'eculizumab (*Soliris*[®], *Alexion Pharmaceuticals*, Cheshire, CT, USA), est un anticorps monoclonal dirigé contre la fraction C5 du complément, qui bloque la formation du complexe d'attaque membranaire C5b9. Cet anticorps monoclonal humanisé a été utilisé avec succès dans le traitement du SHU atypique associé ou non à une anomalie du complément (Legendre *et al.*, 2013). Il est actuellement recommandé pour le traitement du SHU sur reins natifs et après transplantation rénale (Zuber *et al.*, 2012).

SHU atypique non lié à une anomalie d'une protéine du complément

SHU atypique associé à des anomalies du métabolisme de la vitamine B12

La vitamine B12 ou cobalamine intervient en tant que coenzyme de la méthionine-synthase (ou méthyltransférase) dans la transformation de l'homocystéine en méthionine et de la méthylmalonyl-CoA mutase dans la conversion de la méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA.

Les enfants atteints de mutations de cobalamine C présentent un déficit fonctionnel de la méthylcobalamine CoA mutase et de la méthionine synthase. Ce défaut s'accompagne d'une acidémie méthylmalonique et d'une homocystinurie et peut être associé à un syndrome hémolytique et urémique le plus souvent à début pédiatrique (Sharma *et al.*, 2007) mais aussi chez l'adulte jeune (Cornec-Le Gall *et al.*, 2014).

SHU atypique associé à des mutations de la thrombomoduline

Les mutations du gène de la thrombomoduline (*THBM*) associées au SHU atypique ont été décrites pour la première fois en 2009 (Delvaeye *et al.*, 2009). La thrombomoduline (TM) était connue par ses propriétés anticoagulantes. C'est une protéine membranaire présente à la surface des cellules endothéliales qui fixe la thrombine et la rend anticoagulante. Elle augmente les capacités de la thrombine à activer la protéine C. Elle bloque également la capacité de la

thrombine à activer les plaquettes. La thrombomoduline accélère la dégradation de C3 par le Facteur I, en présence du facteur H et de *C4 binding protein* (C4BP). Le rôle des mutations du domaine de la lectine de la thrombomoduline potentialise la TMA chez des souris exposées aux toxines de SHU typique (Zoja *et al.*, 2012). Moins de 20 cas ont été rapportés. Aucune mutation sur le gène de la thrombomoduline n'a été mise en évidence dans la cohorte française d'adultes et d'enfants incluant 214 patients (Frémeaux-Bacchi *et al.*, 2013). Certains variants de ce gène sont associés à des déficits fonctionnels et leur rôle dans le SHU est discuté. Le clivage de C3b en iC3b en présence de CFH et CFI comme la synthèse de TAFI, inhibiteur du C3a et C5a, sont diminués en présence du variant A43T de la thrombomoduline.

SHU atypique associé à des mutations de la DGKe

L'identification des mutations de la DGKe associée au SHU atypique a récemment été rapportée par notre équipe en collaboration avec l'équipe de Richard Lifton à Yale (Lemaire *et al.*, 2013). La transmission de la maladie est autosomique récessive. La pénétrance de la maladie à un an est de 100 %. Les mutations sont soit homozygote, soit hétérozygote composite. Tous les patients ont présenté un SHU atypique avant l'âge de un an. L'évolution a été marquée par des rechutes et une insuffisance rénale terminale vers 20 ans. Tous sauf un avaient une hématurie microscopique et une protéinurie persistante après le premier épisode de SHU atypique. Les biopsies rénales des patients montrent la présence d'un signe de MAT chronique avec une diminution des lumières capillaires, une hypercellularité et prolifération mésangiale, la présence de décollement des cellules endothéliales et d'interposition de fibrine. La DGKe est exprimée dans les plaquettes, les cellules endothéliales et les podocytes. Ces cellules sont deux acteurs majeurs impliqués dans la thrombose.

La DGKe est responsable de la phosphorylation du diacylglycérol de l'acide arachidonique (AA) en acide phosphatidique. La perte de fonction de la DGKe amplifie le rôle de la PKC (protéine kinase) *via* AA. L'activation de la PKC dans les cellules endothéliales augmente les facteurs thrombotiques comme le facteur Von Willebrand, inhibiteur de l'activation du plasminogène, et le facteur tissulaire diminue l'expression de VEGFR2 du VEGF impliqué dans la microangiopathie thrombotique (Eremina *et al.*, 2008). Par ailleurs une autre équipe a montré que des mutations de la DGKe étaient impliquées dans la responsabilité d'une glomérulonéphrite membrano-proliférative (Ozaltin *et al.*, 2013).

Conclusions

Les avancées sur la physiopathologie des SHU atypiques ont conduit à de profonds changements dans le diagnostic et la prise en charge thérapeutique des patients atteints de cette maladie. Le SHUa est associé dans plus de 60 % des cas à des mutations sur un des cinq gènes codant pour le C3 et le Facteur B formant la C3 convertase alterne et pour trois des protéines qui la régulent (le Facteur H, le Facteur I et MCP ou CD46). Il est maintenant admis que les lésions de MAT sont secondaires à un défaut de la protection des cellules endothéliales glomérulaires permettant l'amplification du clivage de C3b. L'eculizumab est actuellement recommandé pour le traitement du SHU sur reins natifs et après transplantation rénale. Récemment des mutations ont été identifiées sur des gènes codant pour la DGKe, ouvrant la voie vers la connaissance de nouveaux mécanismes physiopathologiques.

Conflits d'intérêt VFB est membre du Conseil Scientifique pour *Alexion*.

Remerciements. La recherche des auteurs est soutenue par l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR-), par le 7^{ème} Programme Cadre de la Communauté Européenne, contrat 2012-305608 « *European Consortium for High-Throughput Research in Rare Kidney Diseases (EURenOmics)* » et par l'AIRG (Association de patients pour les maladies rénales rares).

Références

- Bienaimé F., Dragon-Durey M.A., Régnier C.H., Nilsson S.C., Kwan W.H., Blouin J., Jablonski M., Renault N., Rameix-Welti M.A., Loirat C., Sautes-Fridman C., Villoutreix B.O., Blom A.M., Frémeaux-Bacchi V., Mutations in components of complement influence the outcome of Factor I-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int*, 2010, 77, 339–349.
- Blanc C., Roumenina L.T., Ashraf Y., Hyvarinen S., Sethi S.K., Ranchin B., Niaudet P., Loirat C., Gulati A., Bagga A., Fridman W.H., Sautes-Fridman C., Jokiranta T.S., Frémeaux-Bacchi V., Dragon-Durey M.A., Overall neutralization of complement factor H by autoantibodies in the acute phase of the autoimmune form of atypical hemolytic uremic syndrome. *J Immunol*, 2012, 189, 3528–3537.
- Bresin E., Rurali E., Caprioli J., Sanchez-Corral P., Frémeaux-Bacchi V., Rodriguez de Cordoba S., Pinto S., Goodship T.H., Alberti M., Ribes D., Valoti E., Remuzzi G., Noris M., Combined complement gene mutations in atypical hemolytic uremic syndrome influence clinical phenotype. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24, 475–486.
- Cornec-Le Gall E., Delmas Y., de Parscau L., Doucet L., Ogier H., Benoist J.F., Frémeaux-Bacchi V., Le Meur Y., Adult-Onset Eculizumab-Resistant Hemolytic Uremic Syndrome Associated With Cobalamin C Deficiency. *Am J Kidney Dis*, 2014, 63, 119–123.
- Delvaeye M., Noris M., De Vriese A., Esmon C.T., Esmon N.L., Ferrell G., Del-Favero J., Plaisance S., Claes B., Lambrechts D., Zoja C., Remuzzi G., Conway E.M., Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*, 2009, 361, 345–357.
- Dragon-Durey M.A., Loirat C., Cloarec S., Macher M.A., Blouin J., Nivet H., Weiss L., Fridman W.H., Frémeaux-Bacchi V., Anti-Factor H autoantibodies associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16, 555–563.
- Eremina V., Jefferson J.A., Kowalewska J., Hochster H., Haas M., Weisstuch J., Richardson C., Kopp J.B., Kabir M.G., Backx P.H., Gerber H.P., Ferrara N., Barisoni L., Alpers C.E., Quaggin S.E., VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med*, 2008, 358, 1129–1136.
- Ermini L., Goodship T.H., Strain L., Weale M.E., Sacks S.H., Cordell H.J., Frémeaux-Bacchi V., Sheerin N.S., Common genetic variants in complement genes other than CFH, CD46 and the CFHRs are not associated with aHUS. *Mol Immunol*, 2011, 49, 640–648.
- Frémeaux-Bacchi V., Dragon-Durey M.A., Blouin J., Vigneau C., Kuypers D., Boudailliez B., Loirat C., Rondeau E., Fridman W.H., Complement factor I: a susceptibility gene for atypical haemolytic uraemic syndrome. *J Med Genet*, 2004, 41, e84.
- Frémeaux-Bacchi V., Miller E.C., Liszewski M.K., Strain L., Blouin J., Brown A.L., Moghal N., Kaplan B.S., Weiss R.A., Lhotta K., Kapur G., Mattoo T., Nivet, Wong W., Gie S., Hurault de Ligny B., Fischbach M., Gupta R., Hauhart R., Meunier V.H., Loirat C., Dragon-Durey M.A., Fridman W.H., Janssen B.J., Goodship T.H., Atkinson J.P., Mutations in complement C3 predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*, 2008, 112, 4948–4952.
- Frémeaux-Bacchi V., Fakhouri F., Garnier A., Bienaimé F., Dragon-Durey M.A., Ngo S., Moulin B., Servais A., Provot F., Rostaing L., Burtsey S., Niaudet P., Deschênes G., Lebranchu Y., Zuber J., C. Loirat., Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: a nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013, 8, 554–562.
- Frimat M., Tabarin F., Dimitrov J.D., Poitou C., Halbwachs-Mecarelli L., Frémeaux-Bacchi V., Roumenina L.T., Complement activation by heme as a secondary hit for atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*, 2013, 122, 282–292.
- Goicoechea de Jorge E., Harris C.L., Esparza-Gordillo J., Carreras L., Arranz E.A., Garrido C.A., Lopez-Trascasa M., Sanchez-Corral P., Morgan B.P., Rodriguez de Cordoba S., Gain-of-function mutations

- in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104, 240–245.
- Le Quintrec M., Zuber J., Moulin B., Kamar N., Jablonski M., Lionet A., Chatelet V., Mousson C., Mourad G., Bridoux F., Cassuto E., Loirat C., Rondeau E., Delahousse M., Frémeaux-Bacchi V., Complement genes strongly predict recurrence and graft outcome in adult renal transplant recipients with atypical hemolytic and uremic syndrome. *Am J Transplant*, 2013, 13, 663–675.
- Legendre C.M., Licht C., Muus P., Greenbaum L.A., Babu S., Bedrosian C., Bingham C., Cohen D.J., Delmas Y., Douglas K., Eitner F., Feldkamp T., Fouque D., Furman R.R., Gaber O., Herthelius M., Hourmant M., Karpman D., Lebranchu Y., Mariat C., Menne J., Moulin B., Nurnberger J., Ogawa M., Remuzzi G., Richard T., Sberro-Soussan R., Severino B., Sheerin N.S., Trivelli A., Zimmerhackl L.B., Goodship T., Loirat C., Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*, 2013, 368, 2169–2181.
- Lemaire M., Frémeaux-Bacchi V., Schaefer F., Choi M., Tang W.H., Le Quintrec M., Fakhouri F., Taque S., Nobili F., Martinez F., Ji W., Overton J.D., Mane S.M., Nurnberg G., Altmuller J., Thiele H., Morin D., Deschênes G., Baudouin V., Llanas B., Collard L., Majid M.A., Simkova E., Nurnberg P., Rioux-Leclerc N., Moeckel G.W., Gubler M.C., Hwa J., Loirat C., Lifton R.P., Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet*, 2013, 45, 531–536.
- Loirat C., Frémeaux-Bacchi V., Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis*, 2012, 6, 60.
- Menne J., Nitschke M., Stinglele R., Abu-Tair M., Beneke J., Bramstedt J., Bremer J.P., Brunkhorst R., Busch V., Dengler R., Deuschl G., Fellermann K., Fickenscher H., Gerigk C., Goettsche A., Greeve J., Hafer C., Hagenmuller F., Haller H., Herget-Rosenthal S., Hertenstein B., Hofmann C., Lang M., Kielstein J.T., Klostermeier U.C., Knobloch J., Kuehbacher M., Kunzendorf U., Lehnert H., Manns M.P., Menne T.F., Meyer T.N., Michael C., Munte T., Neumann-Grutzeck C., Nuernberger, Pavenstaedt H., Ramazan L., Renders L., Repenthin J., Ries W., Rohr A., Rump L.C., Samuelsson O., Sayk F., Schmidt B.M., Schnatter S., Schocklmann H., Schreiber S., von Seydewitz C.U., Steinhoff J., Stracke S., Suerbaum S., van de Loo A., Vischedyk M., Weissenborn K., Wellhoner P., Wiesner M., Zeissig S., Buning J., Schiffer M., Kuehbacher T., Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *BMJ*, 2012, 345, e4565.
- Morigi M., Galbusera M., Gastoldi S., Locatelli M., Buelli S., Pezzotta A., Pagani C., Noris M., Gobbi M., Stravalaci M., Rottoli D., Tedesco F., Remuzzi G., Zoja C., Alternative pathway activation of complement by Shiga toxin promotes exuberant C3a formation that triggers microvascular thrombosis. *J Immunol*, 2011, 187, 172–180.
- Noris M., Remuzzi G., Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*, 2009, 361, 1676–1687.
- Noris M., Brioschi S., Caprioli J., Todeschini M., Bresin E., Porrati F., Gamba S., Remuzzi G., Familial haemolytic uraemic syndrome and an MCP mutation. *Lancet*, 2003, 362, 1542–1547.
- Noris M., Caprioli J., Bresin E., Mossali C., Pianetti G., Gamba S., Daina E., Fenili C., Castelletti F., Sorosina A., Piras R., Donadelli R., Maranta R., van der Meer I., Conway E.M., Zipfel P.F., Goodship T.H., Remuzzi G., Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5, 1844–1859.
- Ozaltin F., Li B., Rauhauser A., An S.W., Soylemezoglu O., Gonul I.I., Taskiran E.Z., Ibsirlioglu T., Korkmaz E., Bilginer Y., Duzova A., Ozen S., Topaloglu R., Besbas N., Ashraf S., Du Y., Liang C., Chen P., Lu D., Vadnagara K., Arbuckle S., Lewis D., Wakeland B., Quigg R.J., Ransom R.F., Wakeland E.K., Topham M.K., Bazan N.G., Mohan C., Hildebrandt F., Bakkaloglu A., Huang C.L., Attanasio M., DGKE variants cause a glomerular microangiopathy that mimics membranoproliferative GN. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24, 377–384.
- Pickering M.C., Cook H.T., Warren J., Bygrave A.E., Moss J., Walport M.J., Botto M., Uncontrolled C3 activation causes membrano-proliferative glomerulonephritis in mice deficient in complement factor H. *Nat Genet*, 2002, 31, 424–428.
- Pickering M.C., de Jorge E.G., Martinez-Barricarte R., Recalde S., Garcia-Layana A., Rose K.L., Moss J., Walport M.J., Cook H.T., de Cordoba S.R., Botto M., Spontaneous hemolytic uremic syndrome triggered by complement factor H lacking surface recognition domains. *J Exp Med*, 2007, 204, 1249–1256.
- Richards A., Kemp E.J., Liszewski M.K., Goodship J.A., Lampe A.K., Decorte R., Muslumanoglu M.H., Kavukcu S., Filler G., Pirson Y., Wen L.S., Atkinson J.P., Goodship T.H., Mutations in human complement regulator, membrane cofactor protein (CD46), predispose to development of familial hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100, 12966–12971.
- Roumenina L.T., Loirat C., Dragon-Durey M.A., Halbwachs-Mecarelli L., Sautes-Fridman C., Frémeaux-Bacchi V., Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *J Immunol Methods*, 2011, 365, 8–26.
- Roumenina L.T., Frimat M., Miller E.C., Provot F., Dragon-Durey M.A., Bordereau P., Bigot S., Hue C., Satchell S.C., Mathieson P.W., Mousson C., Noël C., Sautes-Fridman C., Halbwachs-Mecarelli L., Atkinson J.P., Lionet A., Frémeaux-Bacchi V., A prevalent C3

- mutation in aHUS patients causes a direct C3 convertase gain of function. *Blood*, 2012, 119, 4182–4191.
- Sharma A.P., Greenberg C.R., Prasad A.N., Prasad C., Hemolytic uremic syndrome (HUS) secondary to cobalamin C (cblC) disorder. *Pediatr Nephrol*, 2007, 22, 2097–2103.
- Tarr P.I., Gordon C.A., Chandler W.L., Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*, 2005, 365, 1073–1086.
- Trachtman H., Austin C., Lewinski M., Stahl R.A., Renal and neurological involvement in typical Shiga toxin-associated HUS. *Nat Rev Nephrol*, 2012, 8, 658–669.
- Walport M.J., Complement. First of two parts. *N Engl J Med*, 2001a, 344, 1058–1066.
- Walport M.J., Complement. Second of two parts. *N Engl J Med*, 2001b, 344, 1140–1144.
- Warwicker P., Goodship T.H., Donne R.L., Pirson Y., Nicholls A., Ward R.M., Turnpenny P., Goodship J.A., Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int*, 1998, 53, 836–844.
- Zoja C., Locatelli M., Pagani C., Corna D., Zanchi C., Isermann B., Remuzzi G., Conway E.M., Noris M., Lack of the lectin-like domain of thrombomodulin worsens Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome in mice. *J Immunol*, 2012, 189, 3661–3668.
- Zuber J., Fakhouri F., Roumenina L.T., Loirat C., Frémeaux-Bacchi V., Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol*, 2012, 8, 643–657.