

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2012

N° 171

THESE

Pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Néphrologie

Par

Melle Caroline VERCEL
Née le 19 Janvier 1981 à Lorient (56)

Présentée et soutenue publiquement le *16 octobre 2012*

Anomalies de la voie alterne du complément au cours du HELLP syndrome

Président : Madame le Professeur Maryvonne HOURMANT

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Fadi FAKHOURI

Sommaire

1. INTRODUCTION.....	5
1.1. Le HELLP syndrome , généralités.....	5
1.1.1. Historique.....	5
1.1.2. Définitions	6
1.1.3. Epidémiologie et présentation clinique	7
1.2. Cadre nosologique et physiopathologie du HELLP syndrome.....	12
1.2.1. Le HELLP syndrome, forme sévère de prééclampsie ou entité physiopathologique à part entière?	12
1.2.2. Le HELLP syndrome : microangiopathiethrombotique de la grossesse	16
1.3. Le système du complément	18
1.3.1. Définition et fonctions	18
1.3.2. La voie alterne du complément.....	20
<i>Cascade d'activation.....</i>	<i>20</i>
<i>Système de régulation.....</i>	<i>20</i>
1.3.3. Système du complément et microangiopathie thrombotique	22
1.4. Microangiopathies thrombotiques et grossesse	24
2. MATERIEL ET METHODES.....	25
2.1. Type de l'étude	25
2.2. Critères d'inclusion et d'exclusion	25
2.3. Définitions	26
2.4. Modalités d'exploration du système du complément.....	26
2.5. Recueil de données	27
2.6. Analyses statistiques.....	28
3. RESULTATS	29
3.1. Caractéristiques générales de la population.....	29
3.1.1. Caractéristiques démographiques.....	31
3.1.2. Antécédents médicaux	31
3.1.3. Antécédents obstétricaux.....	32
3.1.4. Caractéristiques clinico - biologiques lors de la survenue du HELLP syndrome	32
3.1.5. Prise en charge.....	33
3.1.6. Complications et devenir.....	33
3.2. Exploration du système du complément.....	34

3.3. Analyses comparatives	41
3.3.1. <i>Présence d'une mutation</i>	41
3.3.2. <i>Présence d'une insuffisance rénale</i>	43
4. DISCUSSION.....	45
5. CONCLUSION	58
6. BIBLIOGRAPHIE	60

Liste des abréviations :

ASAT : Aspartate Amino Transférase

ALAT : Alanine Amino Transférase

CFH : Complement Factor H

CFI : Complement Factor I

CIVD: coagulation intravasculaire disséminée

CR1 : complement receptor 1

DAF : decay Accelerating Factor

HELLP : Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count

HTA : Hypertension artérielle

LDH : Lactate DésHydrogénase

MAF : Minor Allele Frequency

MAT : Microangiopathie thrombotique

MCP :Membrane cofactor Protein

PAS : Pression Artérielle Systolique

PAD : Pression Artérielle Diastolique

SAPL : syndrome des antiphospholipides

sFlt1 : Soluble fms-like tyrosine kinase-1

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

SNP: Single Nucleotide polymorphism

TGFβ : Transforming Growth Factor β

G/l : Giga par litre

UI/L : unités Internationales par litre

MmHg : Millimètres de Mercure

1. INTRODUCTION

1.1. Le HELLP syndrome , généralités

1.1.1. Historique

Le terme de HELLP syndrome est né en 1982 sous la plume de Weinstein ¹, qui, en rapportant les observations de 29 grossesses compliquées de prééclampsie ou d'éclampsie, a fait le constat chez toutes ces patientes de la présence d'anomalies biologiques associant une anémie hémolytique, une cytolyse hépatique et une thrombopénie. L'association de cette triade biologique avec un pronostic défavorable de la grossesse suggérait dès lors pour l'auteur la découverte d'une entité clinico-biologique distincte désignée par l'acronyme **HELLP syndrome** (**H**emolysis, **E**levated **L**iver enzymes, **L**ow **P**latelet count).

Cependant, si Weinstein fut le premier à individualiser ce syndrome en tant que tel, il n'en était pas moins déjà suggéré dans la littérature dès 1975 lorsque Killiam et al. rapportaient les cas de cinq parturientes présentant une hypertension gravidique compliquée de défaillance hépatique².

Dès lors, ce syndrome, pourvoyeur de complications sévères à l'origine d'une morbi mortalité materno-fœtale importante, a suscité l'intérêt et donné lieu à de nombreuses publications et controverses.

1.1.2. Définitions

Le HELLP syndrome est défini par la triade biologique anémie hémolytique mécanique, cytolyse hépatique et thrombopénie. Bien que l'association de ces trois anomalies lui soit caractéristique, leur définition stricte et l'interprétation des valeurs restent variables selon les équipes :

Dans sa publication princeps, Weinstein¹ définissait l'hémolyse mécanique par l'existence d'un frottis sanguin périphérique anormal avec présence de schizocytes et la cytolysé était retenue devant une élévation des transaminases (ASAT, ALAT) sans précision du seuil pathologique. La thrombopénie était définie pour un taux de plaquettes inférieur à 100 G/L bien que cette valeur fasse l'objet de controverses, certains considérant le diagnostic de HELLP syndrome pour un seuil plaquettaire inférieur à 150 G/L.

En 1990, dans une série plus importante, Sibai³ reprenait la triade initiale afin d'en préciser les seuils diagnostiques :

L'anémie hémolytique mécanique était définie par la présence de schizocytes sur le frottis sanguin périphérique, par l'effondrement de l'haptoglobine mais également par l'augmentation de la bilirubine liée (> 12 mg/l) et des lactates déshydrogénases (LDH) au-delà de 600 UI/L (1,6 fois la normale). La cytolysé était retenue lorsque le taux de transaminases (ASAT ou ALAT) s'élevait au-delà de 70 UI/L (2 fois la normale). Le seuil retenu pour le diagnostic de thrombopénie restait quant à lui identique à celui défini par Weinstein (< 100 G/L).

En 1999 puis 2004, le diagnostic et la prise en charge du HELLP syndrome alimentant toujours la controverse, deux équipes (Martin⁴ et Sibai⁵) proposèrent respectivement deux systèmes de classification afin de stratifier le risque de complications et d'orienter la prise en charge :

- Le « **Tennessee classification system** »⁵ proposé par Sibai, différencie le HELLP syndrome complet (défini par une thrombopénie < 100 G/L, une cytolysé $\geq$ 70UI/L et une hémolyse stigmatisée par un taux de LDH $\geq$ 600UI/L), du HELLP syndrome incomplet lorsque l'un de ces paramètres est manquant.

- Le « **Mississippi triple class system** »⁴ proposé par Martin, distingue 3 classes de HELLP syndrome en fonction du nadir de plaquettes (la classe 1 définie par une thrombopénie < 50 G/L, la classe 2 définie par une thrombopénie < 100 G/L, la classe 3 définie par une thrombopénie < 150 G/L). L'application de ce système de classification sur une large cohorte de 777 patientes (201 HELLP syndromes de classe 1, 300 HELLP syndromes de classe 2, 276 HELLP syndromes de classe 3) a permis de démontrer son intérêt pronostique en objectivant une incidence de défaillance systémique croissante avec la sévérité du HELLP syndrome (Classe 1: 2,5% vs Classe 2 : 0,33% vs Classe 3 : 0% , p <0,001)⁴.

1.1.3. Epidémiologie et présentation clinique

Le HELLP syndrome est une pathologie rare qui complique 0,5 à 0,9% des grossesses⁶.

Son association fréquente à une dysgravidie l'a longtemps fait considérer comme une forme grave de prééclampsie ou d'éclampsie, deux entités appartenant au spectre clinique des complications hypertensives de la grossesse.

La prééclampsie est définie par l'apparition, au-delà de la 20^{ème} semaine d'aménorrhée, d'une hypertension artérielle (PAS > 140 MmHg et/ou PAD > 90 MmHg) associée à une protéinurie significative supérieure à 300 mg/24 heures⁷. Elle survient majoritairement chez la femme jeune et multipare. Les formes sévères de prééclampsie sont associées à la survenue d'un HELLP syndrome dans 10 à 20 % des cas^{6,8}.

L'éclampsie est diagnostiquée devant la survenue d'une crise convulsive tonico-clonique dans un contexte de pathologie hypertensive de la grossesse. Elle s'accompagne d'un tableau de HELLP syndrome dans 30 à 50% des cas⁷.

Cependant, bien que l'association du HELLP syndrome avec les complications hypertensives de la grossesse soit fréquente, elle n'est pas exclusive et on estime que 20% des cas de HELLP syndrome surviennent indépendamment de toute prééclampsie et que 6% et 15% se développent respectivement en l'absence de protéinurie et d'hypertension

gravidique^{9,5,10}. Le phénotype de susceptibilité associé au HELLP syndrome émanant des grandes séries est celui d'une parturiente de race blanche, multipare, âgée en moyenne de 25 ans³.

Le HELLP syndrome peut survenir durant la grossesse comme en post partum.

Parmi les 442 grossesses décrites par Sibai⁹, 70% des HELLP syndromes survenaient entre 27 et 37 semaines d'aménorrhées avec un âge gestationnel moyen de 33 SA tandis que 11% survenaient au cours du deuxième trimestre de grossesse et 30% compliquaient le post partum.

Les manifestations cliniques du HELLP syndrome sont multiples et aspécifiques (*table 1*), entravant parfois la rapidité du diagnostic. La présentation initiale peut mimer plusieurs pathologies associées à la grossesse (*table 2*), ce qui lui vaut la dénomination de « grand imitateur »¹¹.

Table 1 .Fréquence des signes cliniques lors du diagnostic de HELLP syndrome

	Weinstein (n=29) ¹	Sibai (n=442) ⁹
	(%)	(%)
Douleurs abdominales	100	90
Malaises	100	90
Nausées	100	50
HTA sévère	45	50

Table 2. Principaux diagnostics différentiels de HELLP syndrome et leurs symptômes

	PTT	SHU	SHAG	HELLP
Nausées		+ /+++	+++	+ /+++
Signes neurologiques	+++	+	- /+++	-
Cytolyse	- /+	- /+	+++	++
Glycémie	-	-	↘	-
CIVD	-	-	++	-
IRA	-	+++	-	+ /++

PTT : Purpura Thrombopénique Thrombocytaire; **SHU** : Syndrome Hémolytique et Urémique; **SHAG** : Stéatose Hépatique Aigue Gravide; **CIVD** : Coagulation Intravasculaire Disséminée; **IRA** : Insuffisance Rénale Aigue

Bien que son incidence soit faible, le HELLP syndrome reste la pathologie la plus redoutable de la grossesse avec un taux de mortalité maternelle oscillant entre 1,1 et 24 %^{1, 9, 12} et un taux de mortalité périnatale variant de 7 à 60 %^{13,10}.

La plupart des décès maternels au cours du HELLP syndrome sont associés à des complications hépatiques, neurovasculaires, cardiovasculaires ou obstétricales engageant le pronostic vital (*table 3*).

Les complications hémorragiques représentent la première cause de décès. L'hématome sous capsulaire du foie semble le plus spécifique du HELLP syndrome et survient dans environ 1% des cas^{9,10}. Il peut être favorisé par une coagulation intravasculaire disséminée mais sa physiopathologie précise reste incomplètement élucidée.

Le HELLP syndrome peut également être pourvoyeur d'insuffisance rénale aiguë dans 7,7 à 36 % des cas^{9,10,14}, d'œdème aigu pulmonaire (8% des cas) ou de syndrome de détresse respiratoire aiguë (1%)¹⁵.

La mortalité fœtale (*table 4*) ne résulte pas directement du HELLP syndrome mais essentiellement de la prématurité induite par l'interruption de grossesse. Les principaux décès périnataux surviennent avant la 28^{ème} semaine d'aménorrhée dans un contexte de retard de croissance intra-utérin ou de décollement placentaire¹⁵.

Table 3. Principales complications maternelles du HELLP syndrome

Complications maternelles	Prévalence
Hépatiques	
hématome sous capsulaire du foie	0,9 % ⁹
rupture hépatique	1 % ⁹
Neurovasculaires	
éclampsie	4 -9 % ¹³
œdème cérébral	1-8 % ¹³
hémorragie cérébrale	1,5-40 % ¹³
Cardiovasculaire et rénale	
insuffisance rénale aigue	7 -36 % ^{9,13,14,16}
œdème aigu pulmonaire	3-10 % ¹⁵
Coagulation intravasculaire disséminée	38-100 % ¹⁵
Décollement placentaire	20 % ¹¹

Table 4. Principales complications fœtales du HELLP syndrome^{16,13}

Complications fœtales	Prévalence
Décès périnatal	7,4-34%
Retard de croissance intra utérin	38-61%
Prématurité	70%
Thrombopénie néonatale	15-38%

Ainsi, la gravité potentielle de ses complications et leurs implications materno-fœtales imposent un diagnostic rapide et une prise en charge optimale du HELLP syndrome, tous deux mis en défaut par le caractère aspécifique de ses symptômes et la connaissance incomplète de sa physiopathologie.

1.2. Cadre nosologique et physiopathologie du HELLP syndrome

A ce jour, la physiopathologie du HELLP syndrome reste en partie énigmatique et la question du cadre nosologique donne lieu à une controverse opposant deux écoles : La première, inspirée de Weinstein ¹ considère le HELLP syndrome comme une entité clinique biologique à part entière, la seconde¹⁶ comme une forme sévère de prééclampsie.

1.2.1. Le HELLP syndrome, forme sévère de prééclampsie ou entité physiopathologique à part entière?

A ce jour, plusieurs données épidémiologiques et expérimentales supportent l'hypothèse d'un continuum entre prééclampsie et HELLP syndrome.

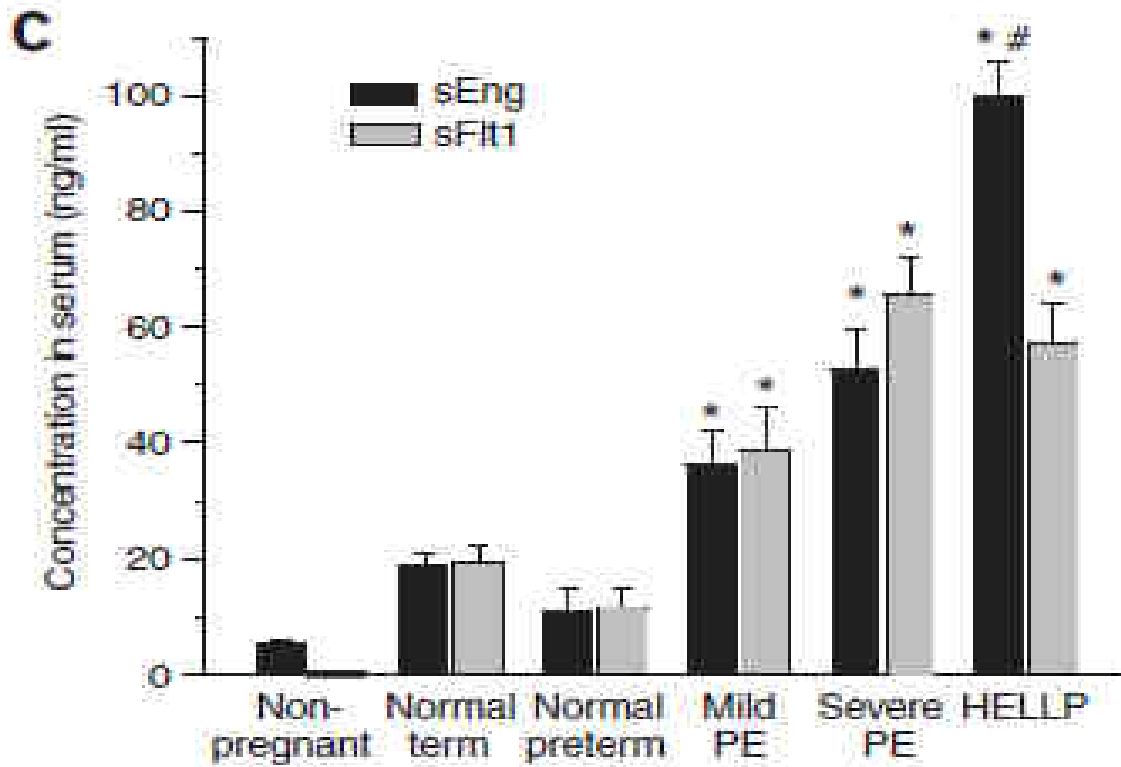
La fréquence d'association du HELLP syndrome aux complications hypertensives de la grossesse, en particulier la prééclampsie, suggère qu'il puisse représenter une forme sévère de syndrome pré-éclampsique ^{6,8}.

Plusieurs travaux ont permis d'identifier un déficit en VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) comme dénominateur commun de la physiopathologie de la prééclampsie et du HELLP syndrome. Au cours de ces deux pathologies, l'action pro angiogénique du VEGF, principal système de survie et de réparation de l'endothélium, est antagonisée par des facteurs solubles se liant à leur cibles spécifiques et générant un état anti-angiogénique à l'origine d'une dysfonction endothéliale^{17,18}.

Des données cliniques et expérimentales récentes ont ainsi mis en évidence l'implication d'un excès de sFlt1 et d'endogline, facteurs anti angiogénique solubles, dans la genèse des lésions endothéliales à l'origine des manifestations systémiques de la

prééclampsie et du HELLP syndrome. Le sFlt1 (forme soluble du récepteur de type 1 au VEGF) et l'endogline soluble (*figure A*), sécrétés en excès par le placenta, exercent leur action en inhibant les effets pro angiogéniques de trois principaux acteurs du système du VEGF : le VEGF et le PlGF, inhibés par le sFlt1 et le TGF β , inhibé par l'endogline soluble^{17,18} (*figure B*).

Figure A. L'excès de facteurs anti-angiogéniques solubles participe à la physiopathologie de la prééclampsie et du HELLP syndrome.

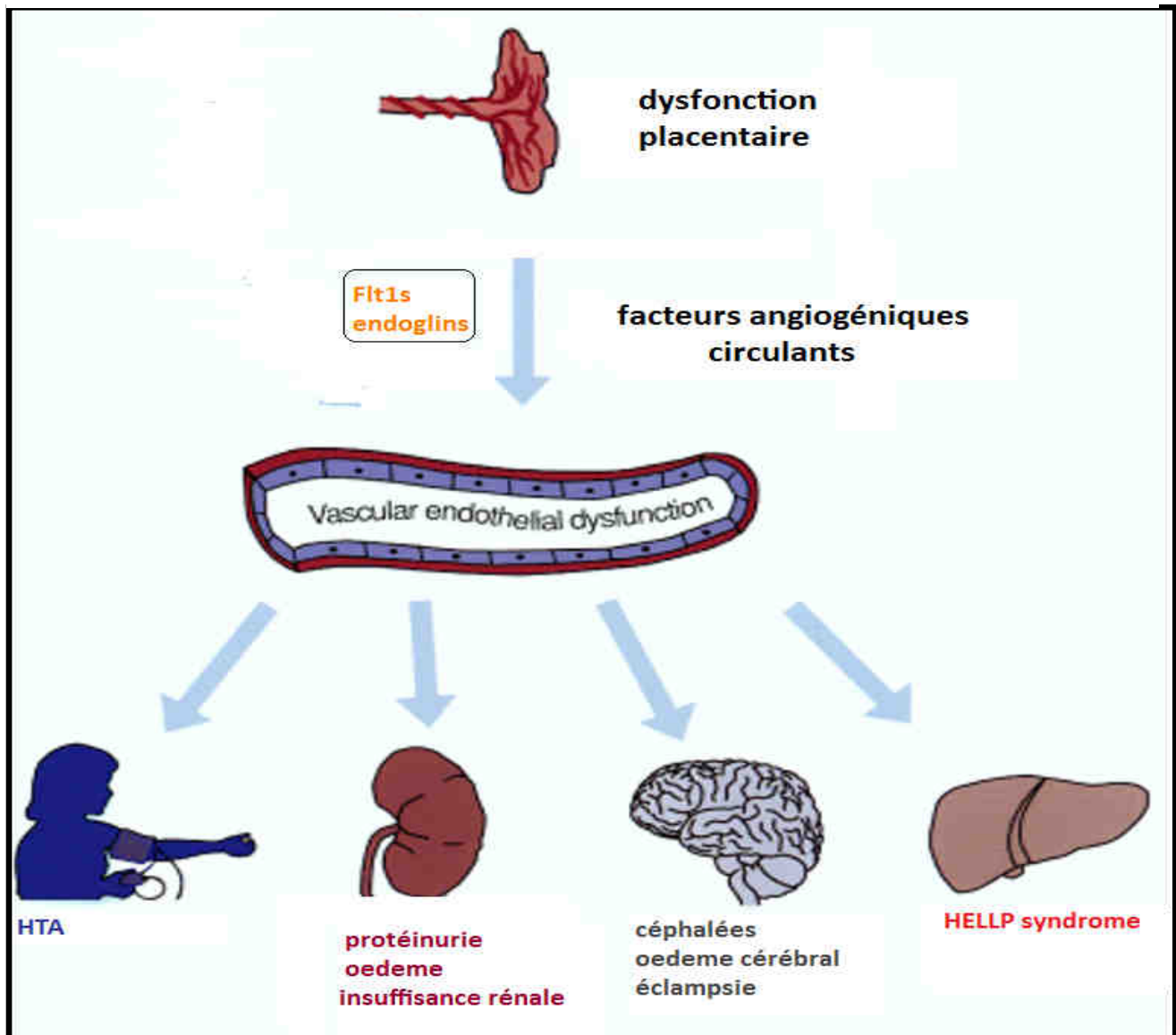


(c) Résultats des dosages d'Endogline soluble et de sFlt1 par technique ELISA dans le sérum de parturientes présentant différents degrés d'HTA gravidiques et comparé à des sujets contrôles.

* $p < 0.05$ comparé aux contrôles sans grossesses, # $p < 0.05$ comparé à la prééclampsie sévère.

Venkatesha. S. et al.

Figure B. Implication de médiateurs solubles anti-angiogéniques dans la physiopathologie des dysgravidies.



D'après Karumanchi et al

Cependant, bien que ces données récentes fassent suggérer une pathogénie commune à la prééclampsie et au HELLP syndrome, certaines divergences clinico-biologiques supportent la théorie princeps de Weinstein.

Si le HELLP syndrome est fréquemment associé à une complication hypertensive de la grossesse, celle-ci n'est pas exclusive et les données épidémiologiques émanant des grandes séries de la littérature mettent en évidence un taux de HELLP syndrome diagnostiqué en l'absence d'HTA gravidique et de prééclampsie de respectivement 25% et 20%. Par ailleurs, la prévalence du HELLP syndrome chez les patientes prééclamptiques varie de 4 et 14 % dans la série de Sibai¹⁵.

Enfin, si le HELLP syndrome partage certaines caractéristiques communes avec les HTA gravidiques, il présente également de nombreuses similitudes avec une entité physiopathologique bien individualisée, ***la microangiopathiethrombotique***.

1.2.2. Le HELLP syndrome : microangiopathiethrombotique de la grossesse

La grossesse peut être un facteur déclenchant de microangiopathiethrombotique (MAT), terme désignant une lésion de l'endothélium micro vasculaire aboutissant à la formation d'agrégats plaquettaires et de thromboses, responsable d'une thrombopénie de consommation et d'une anémie hémolytique secondaire à la fragmentation des hématies dans les vaisseaux lésés. Les lésions endothéliales de MAT peuvent concerner différents organes cibles, principalement le rein et le système nerveux central et être à l'origine d'une défaillance de ces organes.

L'exemple le plus illustratif de lésion de MAT est le syndrome Hémolytique et Urémique (SHU), caractérisé par l'association d'une anémie hémolytique mécanique, d'une thrombopénie et d'une insuffisance rénale aiguë résultant de la formation de thrombi fibrino-plaquettaire dans la microcirculation rénale¹⁹.

Trois grandes familles de SHU peuvent être distinguées:

- les **SHU typiques** post diarrhéique, survenant préférentiellement chez l'enfant et de pronostic relativement favorable et **secondaires**, survenant dans un contexte de maladies de système, de prise médicamenteuse, de néoplasies, de grossesse ou de post-partum.
- Les **SHU atypiques**, MAT rénales rares (0,3 cas /1 million) pouvant survenir à tout âge dont la physiopathologie est longtemps restée énigmatique, entravant significativement la prise en charge et le pronostic rénal des patients.

Ce n'est qu'au cours de la dernière décade que le rôle pathogène clé du système du complément a émergé et il est actuellement admis qu'une dysrégulation avec activation incontrôlée de la voie alterne du complément est un facteur de risque majeur de SHU atypique. Toute perte de fonction des protéines de régulation de la voie alterne, qu'elle soit constitutionnelle (mutations/délétions des gènes codants) ou acquise (anticorps), entraîne une dysfonction endothéliale qui fait le lit des lésions de microangiopathiethrombotique ciblant spécifiquement la micro circulation rénale²⁰.

A l'instar du SHU atypique, le HELLP syndrome se caractérise par une anémie hémolytique et une thrombopénie associées à une atteinte micro vasculaire d'organe comme en témoigne l'atteinte endothéliale hépatique²¹. Ces éléments biologiques et histologiques plaident pour son appartenance au spectre des microangiopathies thrombotiques et amènent à considérer le rôle de la voie alterne du complément dans sa pathogénie.

1.3. Le système du complément

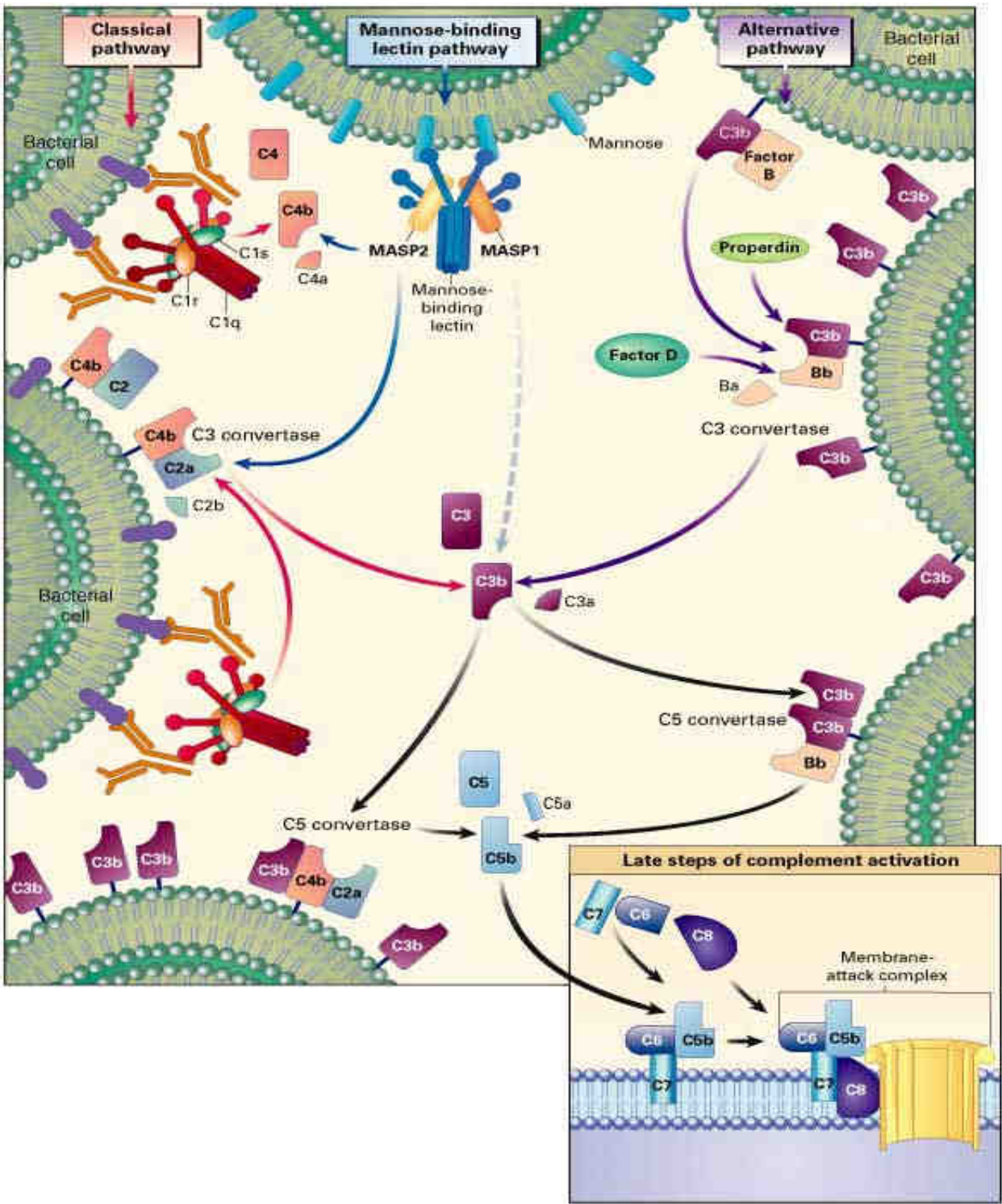
1.3.1. Définition et fonctions

Le système du complément, élément central de l'immunité innée, assure une première ligne de défense anti infectieuse grâce à plusieurs propriétés : chimiotactisme des cellules inflammatoires, élimination des immuns complexes circulants, opsonisation et lyse directe des microorganismes et des cellules du non soi.

Il comprend plus de 30 protéines, solubles ou membranaires, à activité enzymatique ou régulatrice. Après activation, il fonctionne selon un mécanisme d'amplification en cascade aboutissant à l'effecteur final, le complexe d'attaque membranaire (C5-9).

Le système du complément peut être activé par 3 voies distinctes : la voie classique, la voie des mannose-binding lectines et la voie alterne. Ces différentes voies se différencient par leurs activateurs et convergent toutes vers la formation d'une C5 convertase qui active le C5 par clivage enzymatique, aboutissant à terme à la formation du complexe d'attaque membranaire²². (Figure C)

Figure C. Schéma récapitulatif des voies d'activation et de régulation du système du complément



Walport et al, NEJM 2001

1.3.2. La voie alterne du complément

La voie alterne représente la première ligne de défense contre les agents infectieux et présente la particularité, à l'inverse de la voie classique et de la voie des mannoses, d'être dans un état d'activation permanente amplifié par différents stimuli et dont l'élément clé est la C3 convertase alterne.

Cascade d'activation

Le clivage continu du C3 par une C3 convertase constitutivement activée en phase fluide génère en permanence de petites quantités de C3b, qui, en se fixant sur une surface activatrice recrutent le facteur B. Le facteur B lié au C3b devient sensible à l'activité sérine protéase du facteur D qui entraîne son clivage pour générer un fragment Bb. Le fragment Bb s'associe avec le fragment C3b pour former la C3 convertase alterne (C3bBb) qui clive le C3 en C3a, anaphylatoxine libérée en phase soluble et en C3b, qui exprime transitoirement un site de fixation à l'agent pathogène. Ce C3b peut alors participer à une boucle amplificatrice en reformant une C3 convertase, interagir avec divers récepteurs membranaires ou contribuer à la formation d'une C5 convertase aboutissant à la libération de l'anaphylatoxine C5a et à la formation du complexe d'attaque membranaire. Ce complexe, constitué des molécules C5b, C6, C7, C8 et C9, entraîne une lyse cellulaire secondaire à une altération membranaire.

Système de régulation

L'activation spontanée de la voie alterne expose de fait l'endothélium à des lésions complément-dépendantes et le maintien d'un contrôle étroit de la C3 convertase alterne en phase fluide et/ou à la surface cellulaire est déterminant pour préserver l'intégrité endothéliale (*figure D*).

La régulation de la C3 convertase alterne se fait grâce à un système fin reposant sur plusieurs protéines clés :

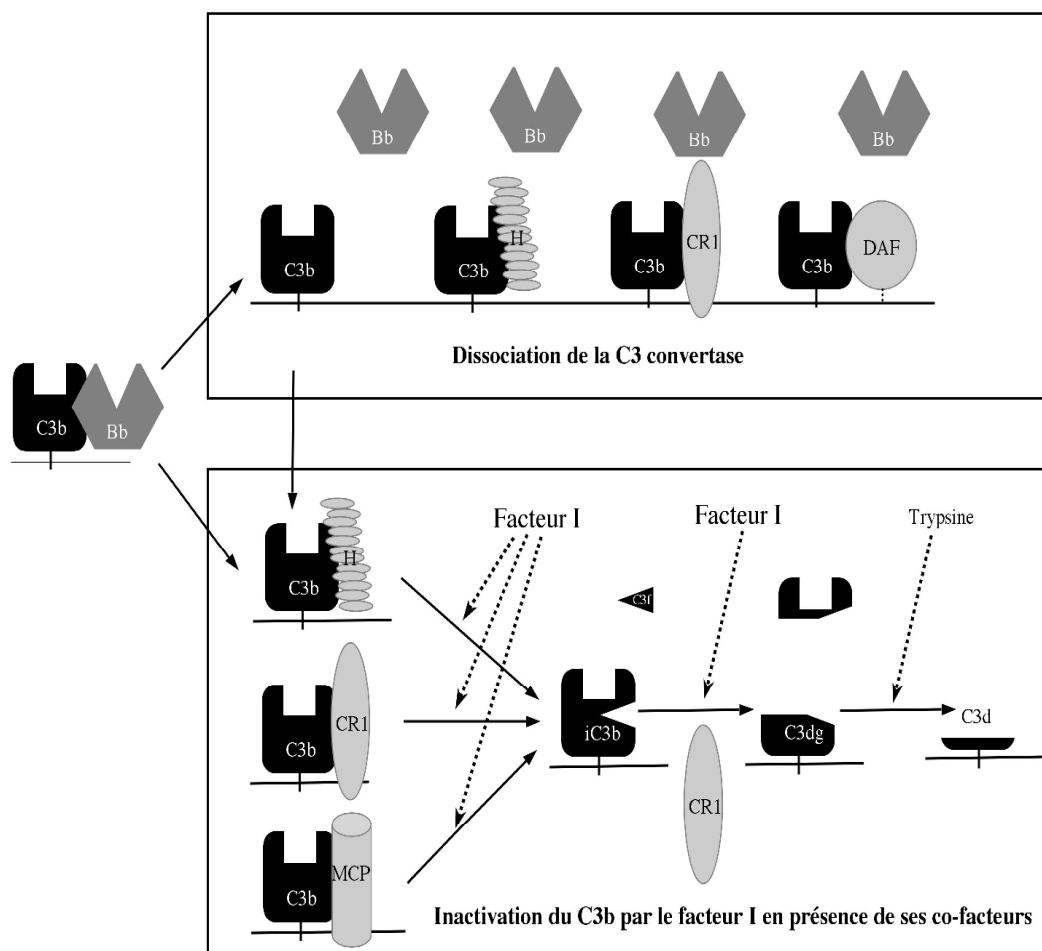
- Le **facteur H (FH)**, glycoprotéine circulante, fixe le C3b avec une forte affinité, exerçant une inhibition compétitive pour la fixation du facteur B, prévenant ainsi la formation de la C3 convertase alterne. Le Facteur H présente également une activité

cofacteur du Facteur I pour dégrader le C3b, accélérant la dissociation de la C3 convertase alterne.

- Le **Facteur I (FI)**, glycoprotéine circulante de la famille des sérines protéases, clive le C3b pour générer un produit de dégradation (iC3b) incapable de reformer une C3 convertase.

- La **MCP** et le **CR1**, protéines transmembranaires, agissent comme cofacteurs du facteur I pour prévenir la formation de la C3 convertase alterne.

Figure D. Principaux mécanismes de régulation de la voie alterne du complément



1.3.3. Système du complément et microangiopathie thrombotique

Si le rôle du complément dans la pathogénie des MAT est suggéré de longue date, ce n'est qu'en 1998 que Warwicker et al.²³ identifient le gène codant pour le Facteur H comme premier gène candidat impliqué dans la survenue du SHU atypique. Cette première découverte ouvrit la voie à de nombreux travaux aboutissant à la découverte de mutations des gènes codant pour trois protéines de régulation du complément (FH, FI et MCP) et deux protéines constitutives de la C3 convertase (C3 et FB) (*Figure F*). Ces anomalies, non retrouvées dans une population témoin, représentent des facteurs de susceptibilité majeurs de SHU atypique et ont en commun un défaut de dissociation de la C3 convertase alterne à la surface de l'endothélium vasculaire, à l'origine d'une dysfonction endothéliale et de lésions thrombotiques complément-dépendantes qui font le lit de la MAT (*figure E*).

On estime actuellement que 60% des patients atteints de SHU atypique présentent une anomalie génétique (mutation, variant, polymorphisme) des gènes de la voie alterne du complément²⁰. Les fréquences respectives de ces anomalies sont présentées dans la *table 5*.

Figure E. Mécanismes de l'atteinte endothéliale résultante d'une activation incontrôlée de la voie alterne du complément

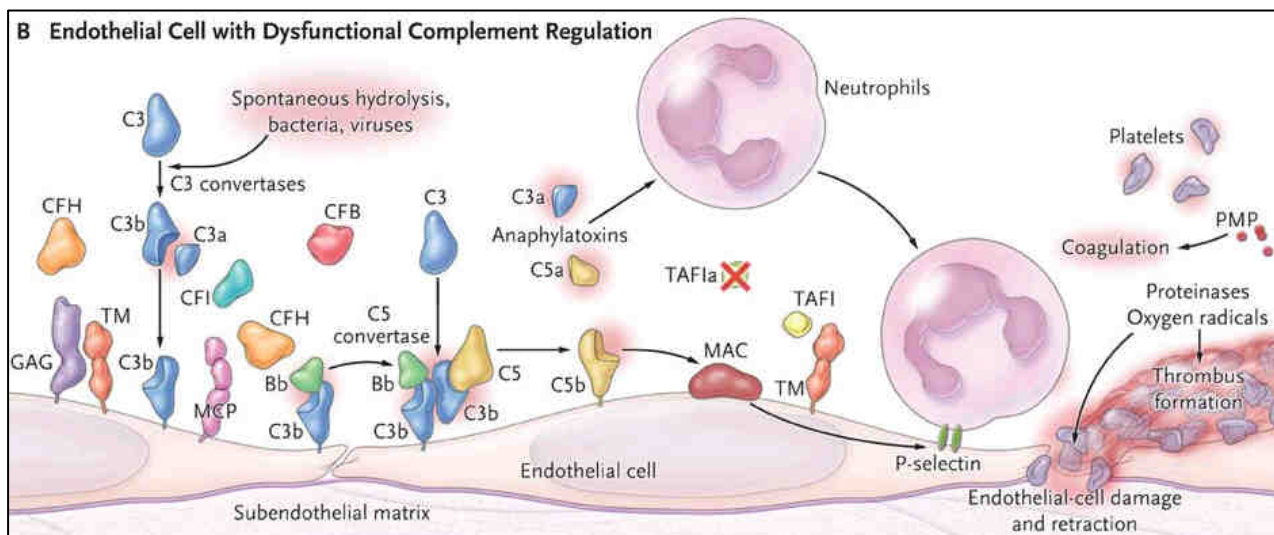
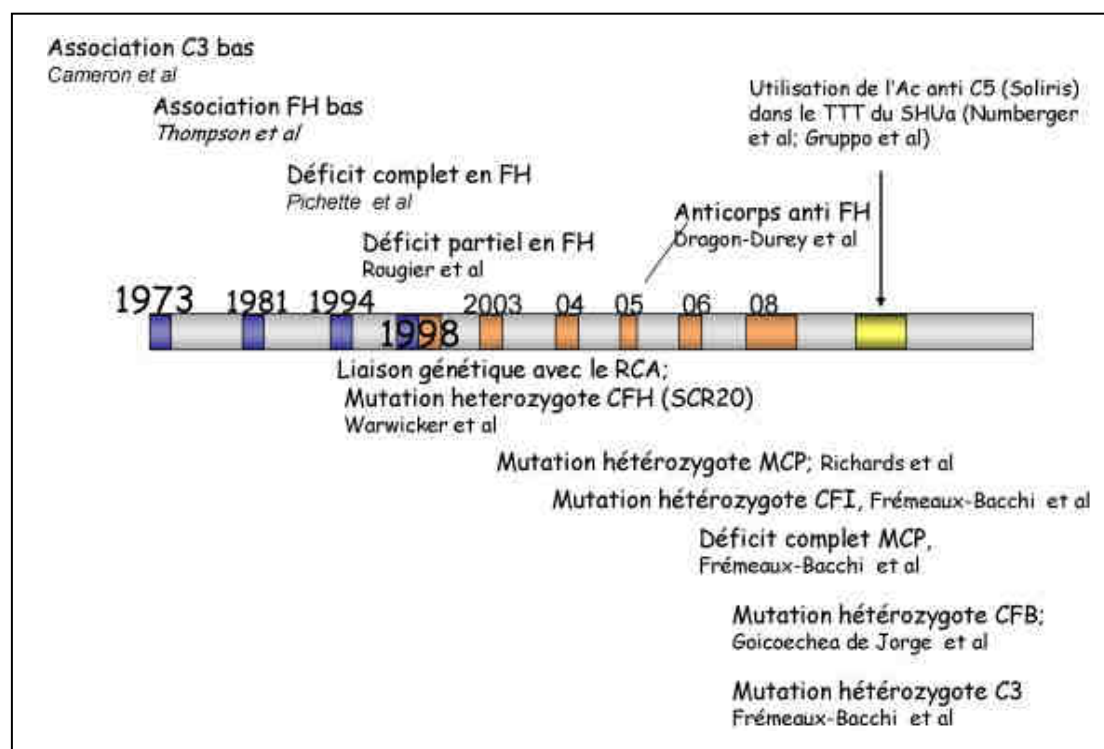


Figure F : historique de la découverte des anomalies constitutionnelles de la voie alterne du complément impliquées dans la physiopathologie du SHU atypique



Frémeaux Bacchi et al.

Table 5. Fréquences des anomalies génétiques de la voie alterne du complément au cours du SHU atypique

Gène	protéine affectée	principales conséquences fonctionnelles	fréquence (%)	Références
CFH	Facteur H	défaut de fixation aux surfaces endothéliales	20-30%	24, 25,26 ,27 ,28,29
MCP	Membran Cofactor protein	défaut d'expression en surface membranaire	10-15%	24,30 ,31
CFI	Facteur I	diminution des taux circulants ou altération de l'activité des cofacteurs	4-10%	24,32,33,34
CFB	Facteur B	Stabilisation de la C3 convertase alterne avec maintien d'une activation chronique	1-2%	35
C3	Fraction C3 du complément	formation d'une C3 convertase résistante à la dissociation	5-10%	36

Noris and Remuzzi, N Engl J Med 2009

1.4. Microangiopathies thrombotiques et grossesse

La grossesse peut être associée à la survenue de lésions de MAT dans 1 /25 000 cas, avec pour principales conséquences une morbi mortalité maternelle et périnatale significative^{24,25}. Les deux principales microangiopathies associées à la grossesse et reconnues à ce jour sont le SHU atypique lié à la grossesse et le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) de la grossesse, qui ciblent respectivement le rein et le système nerveux central.

Deux études menées par Fakhouri et al.^{26,27} ont mis en évidence le rôle central de la dysrégulation de la voie alterne du complément dans la physiopathologie des syndromes microangiopathies liés à la grossesse, supportant l'évidence de l'implication de cet acteur immun dans la survenue des lésions endothéliales.

Ces données récentes amènent à considérer la place d'une dysrégulation de la voie alterne du complément dans la pathogénie du HELLP syndrome en tant que MAT de la grossesse.

Identifier, au cours du HELLP syndrome, d'éventuelles anomalies génétiques du système de régulation de la voie alterne du complément permettrait d'en préciser la physiopathologie exacte, d'identifier d'éventuels facteurs de susceptibilités et de dégager des critères prédictifs de complications.

L'objectif de cette étude est de déterminer la fréquence de ces anomalies génétiques au cours du HELLP syndrome, et leur corrélation éventuelle avec le phénotype clinico-biologique de ces patientes.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Type de l'étude

L'étude, *observationnelle, prospective multicentrique et non contrôlée*, a été réalisée à partir du registre du laboratoire d'immunologie biologique de l'hôpital Européen Georges Pompidou (Paris, France).

Toute patiente ayant présenté un HELLP syndrome a été incluse après obtention d'un consentement éclairé sur la recherche génétique.

2.2. Critères d'inclusion et d'exclusion

L'inclusion a été réalisée pour :

- toute patiente ayant présenté un HELLP syndrome qu'il soit récent ou ancien, survenant en per ou post partum
- et ayant signé un consentement écrit autorisant la réalisation de prélèvements destinés au laboratoire d'immunologie biologique de l'hôpital Européen Georges Pompidou (Paris, France) dans le but de réaliser des explorations génétiques.

Les critères d'exclusion de l'étude ont été définis par :

- une dysgravidie (HTA gravidique, éclampsie ou prééclampsie) isolée sans HELLP syndrome
- un SHU atypique de la grossesse, défini par la présence de stigmates de MAT (haptoglobine effondrée, élévation du taux des LDH, présence de schizocytes) en l'absence de cytolyse hépatique
- une pathologie auto-immune sous-jacente pouvant donner lieu à un syndrome de microangiopathie de la grossesse (lupus érythémateux systémique, syndrome des antiphospholipides)
- l'absence de recueil de consentement écrit
- des prélèvements non exploitables pour la réalisation des explorations génétiques

2.3. Définitions

Le **diagnostic de certitude de HELLP syndrome** était retenu devant l'association :

- * d'une thrombopénie $< 150 \text{ G/L}$
- * d'une cytolysé hépatique définie par un taux de transaminases (ASAT et/ou ALAT) $\geq 70 \text{ UI/L}$ soit $\geq 2 \times$ la valeur normale supérieure (35 UI/L)
- * d'une élévation du taux de LDH $\geq 600 \text{ UI/L}$ soit $\geq 1,5 \times$ la valeur normale supérieure (390 UI/L).

La **sévérité du HELLP syndrome** était évaluée par le nadir du taux de plaquettes lors de la survenue du HELLP syndrome conformément au système de la classification de Mississippi en :

- * HELLP syndrome de classe 1 si le taux de plaquettes était $< 50 \text{ G/L}$
- * HELLP syndrome de classe 2 si le taux de plaquettes était compris entre 50 et 100 G/L
- * HELLP syndrome de classe 3 si le taux de plaquettes était compris entre 100 et 150 G/L

Le **diagnostic d'insuffisance rénale** lors de la survenue du HELLP syndrome était retenu lorsque le taux de créatinine s'élevait au-delà de $88 \mu\text{mol/L}^{28}$, quel que soit le terme de la grossesse.

2.4. Modalités d'exploration du système du complément

Les prélèvements sanguins étaient réalisés par le centre d'origine de la patiente, après obtention de son consentement écrit, et comportaient :

- Deux tubes EDTA conservés à 4°C et adressés au laboratoire pour les dosages plasmatiques de CH50, C3, C4, Facteur B, Facteur H et facteur I.
- Un tube EDTA prélevé sur sang total et conservé à température ambiante pour le dosage de l'expression membranaire de MCP.
- Un tube EDTA conservé à température ambiante pour la réalisation des études génétiques du facteur H, du Facteur I et de MCP après extraction de l'ADN.

Les concentrations plasmatiques des facteur H (FH) et facteur I (FI) ont été mesurées par technique ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) et leur résultat exprimé en pourcentage (valeurs normales : FI, 65-140% ; FH, 70-130%).

Les concentrations des fractions C3 et C4 du complément et du facteur B (FB) ont été mesurées par néphélométrie et leur résultat exprimé en mg/l (valeurs normales : C4, 94-390mg/l ; C3, 660-1250mg/l ; FB, 90-320mg/l).

L'expression membranaire de MCP a été analysée par technique de cytométrie de flux.

L'extraction de l'ADN a été réalisée sur sang total par kit d'extraction en sucrose selon le protocole fourni par le fabricant.

Le séquençage direct des séquences codantes (exons) des gènes du FH, du FI et de MCP a été réalisé par séquençage capillaire à l'aide du kit Big Dye terminator V3.1 selon le protocole du fabricant.

Seuls les variants non synonymes, c'est à dire entraînant une modification protéique, ont été retenus. Le caractère rare de ceux-ci a été défini par l'absence de variant identique dans la séquence de 100 donneurs sains et par l'absence de référencement dans les différentes bases de données (dbSNP, 1000 genomes).

La présence d'un polymorphisme rare a été définie par la présence d'un variant retrouvé chez des contrôles sains avec une fréquence allélique inférieure à 5 % (MAF, Minor Allele Frequency).

2.5. Recueil de données

Les données cliniques et biologiques, personnelles et familiales des patientes ont été retenues à l'inclusion pour l'analyse de la cohorte.

2.6. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en valeur numérique et pourcentage pour les variables qualitatives. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ écart type ou médiane [quartile inférieur ; quartile supérieur] pour les variables quantitatives selon la normalité de distribution et la variance.

Les analyses statistiques entre sous-groupes (présence d'une mutation ou d'une insuffisance rénale) ont été réalisées par ANOVA, test de Kruskal-Wallis, test de Student ou du Chi2 selon le type de variable étudié et la distribution.

L'analyse informatique a été réalisée à l'aide du logiciel SIGMASTAT.

Une valeur de p inférieure à 0,05 a été fixée comme seuil de significativité.

3. RESULTATS

3.1. Caractéristiques générales de la population

Quarante-cinq patientes issues de 15 centres européens (Belgique, France) et ayant développé un HELLP syndrome entre 1995 et 2011 ont été incluses dans cette étude.

Parmi ces quarante-cinq cas de HELLP syndrome, onze ont été précédemment décrits par l'équipe de Fakhouri et al. en 2008 ²⁶.

Les caractéristiques générales et démographiques de la cohorte sont détaillées dans la *table 6*.

Table 6. Caractéristiques générales de 45 patientes atteintes de HELLP syndrome.

	classification Mississipi				population générale n=45
	Classe 1 n= 21	Classe 2 n= 15	Classe 3 n= 6	p value	
Insuffisance rénale aigue	60%	66,70%	0%	0,016	55%
Mutations des gènes du complément	9%	20,00%	0%	0,394	11%
Polymorphismes rares des gènes du complément	7%	9,50%	0%	0,724	9%
Données démographiques					
Age (années)	31 ± 4	31± 6	30 ± 3	0,475	31 ± 5 (21-41)
rang de grossesse	1[1-2]	1[1-2]	1[1-2]	0,994	1,6 ±1 (1-4)
Age gestationnel lors du HELLP syndrome (SA)	33 ±5	31±4	32±4	0,319	32 ± 5 (22-40)
HELLP syndrome du post partum					20%
Antécédents personnels					
Néphropathie, MAT, HTA	25%	7%	20%	0,425	18%
Obstétricaux	25%	43%	40%	0,565	35%
Caractéristiques clinico-biologiques					
Tension artérielle Systolique/Diastolique (MmHg)					173 ±24 / 99 ±12
Plaquettes (G/L)	29±9	75±14	118±9	<0,001	58 ±34 (16-128)
Hémoglobine (g/dl)	8±2	10±3	11±2	0,048	9 ±2 (6-15)
LDH (x normale supérieure)	7,5 [4-16]	3 [2-4]	2[1-3]	0,009	7 ±8 (1-31)
ASAT (x normale supérieure)	16[10-31]	6[2-10]	3[2-5]	0,005	18,2 ±25 (1-116)
ALAT(x normale supérieure)	9[6-19]	2[2-6,2]	2[3-12]	0,006	9±11 (1-60)
Créatininémie (μmol/l)	151[67-260]	95,5[88-103]	53[41,7-62]	0,014	220,4 ± 398,6 (41-2400)
Prise en charge					
accouchement par voie basse	33%	8%	25%	0,279	25%
échanges plasmatiques	31%	8%	0%	0,185	19%
transfusion de plasma frais congelé	13%	0%	33%	0,189	8%
transfusion plaquettaire	25%	0%	0%	0,116	13%
transfusion érythrocytaire	25%	8%	0%	0,359	13%
recours à l'épuration extrarénale	31%	8%	0%	0,185	17%
Complications et devenir					
complications maternelles :	36%	23%	33%	0,767	34%
Complications hémorragiques (hématome hépatique /rétro placentaire/utérin)					69%
mort fœtale					9%
insuffisance rénale chronique séquellaire					15%

3.1.1. Caractéristiques démographiques

L'âge moyen des patientes lors de la survenue du HELLP syndrome était de 31 ± 5 années avec un rang de grossesse moyen de $1,6 \pm 1$.

Vingt-sept femmes (60%) étaient primipares lors de la survenue du HELLP syndrome tandis que 10 (22,2%), 4 (8,9%) et 3 (6,7%) ont développé le HELLP syndrome respectivement lors de la deuxième, troisième et quatrième grossesse.

Quatre-vingt pour cent des cas de HELLP syndrome (n=36) sont survenus durant la grossesse et 20% (n=9) en post partum.

En per partum, 13 cas de HELLP syndrome (36,1%) ont été diagnostiqués au deuxième trimestre de grossesse (< 29SA) tandis que 23 cas (63,8%) sont survenus au cours du troisième trimestre de grossesse ($\geq 29SA$).

3.1.2. Antécédents médicaux

Sept patientes présentaient des antécédents médicaux remarquables préalablement à la survenue du HELLP syndrome, parmi lesquels deux tableaux de microangiopathies thrombotiques :

- Le premier caractérisé par la survenue d'un syndrome hémolytique et urémique atypique dans l'année précédant la grossesse, et d'évolution favorable après un traitement par hémodialyse et échanges plasmatiques réalisés à la phase aigüe.
- Le second caractérisé par des stigmates biologiques de microangiopathie thrombotique (thrombopénie modérée et haptoglobine effondrée) sans atteinte rénale associée et survenu au cours de deux précédentes grossesses.

Un seul cas d'insuffisance rénale chronique préalable au HELLP syndrome était noté.

Trois patientes présentaient des antécédents familiaux de néphropathie dont deux tableaux d'insuffisance rénale terminale d'étiologie indéterminée présentées par des ascendants au second degré.

3.1.3. Antécédents obstétricaux

Trois complications hypertensives de la grossesse (7%) étaient notées : deux cas de prééclampsie (4%) dont l'un compliqué de HELLP syndrome et un cas d'hypertension artérielle gravidique isolée.

Six des quarante-cinq patientes (13,3%) présentaient un antécédent de fausse couche spontanée précoce.

Les antécédents familiaux obstétricaux étaient marqués par 3 cas familiaux d'hypertension artérielle gravidique ou de prééclampsie sans HELLP syndrome associé et un cas de pertes fœtales itératives dans la fratrie.

3.1.4. Caractéristiques clinico - biologiques lors de la survenue du HELLP syndrome

Toutes les patientes présentaient des stigmates biologiques d'hémolyse définis par la présence de schizocytes et /ou une haptoglobine effondrée et/ou une élévation significative du taux de LDH ≥ 600 UI ($\geq 1,5$ N).

Le HELLP syndrome survenait dans un contexte d'hypertension artérielle gravidique dans 97,7% des cas.

La majorité des patientes incluses présentaient un HELLP syndrome sévère (classe 1, 46,6% ; classe 2, 33,3%) d'après la classification de Mississippi. Seule 6 patientes ont présenté un HELLP syndrome de classe 3.

La sévérité du HELLP syndrome estimée d'après la classification de Mississippi était directement associée à la survenue d'une cytolyse sévère ainsi de complications néphrologiques. (cytolyse en ASAT : Classe 1 vs Classe 2 vs Classe 3, **$p = 0,005$** ; cytolyse en ALAT : Classe 1 vs Classe 2 vs Classe 3, **$p = 0,006$** ; créatininémie : Classe 1 vs Classe 2 vs Classe 3, **$p = 0,014$**)

La valeur moyenne de créatininémie pour l'ensemble de la cohorte était de $220,4 \pm 398,6$ μ mol/l.

La prévalence de l'insuffisance rénale aiguë était de 55,5% (n=25).

3.1.5. Prise en charge

L'accouchement par césarienne représentait la modalité d'accouchement prédominante (75%).

Dix-neuf pour cent des patientes ont nécessité la réalisation de plasmaphérèse à la phase aigüe. La majorité des patientes traitées par échanges plasmatiques présentaient un HELLP syndrome de classe 1.

Le recours à l'épuration extrarénale était indiqué à la phase aigüe chez 6 patientes, soit 24% des cas de HELLP syndrome compliqués d'atteinte rénale.

3.1.6. Complications et devenir

Aucun décès maternel n'est survenu au décours du HELLP syndrome.

Trente-quatre pour cent des patientes ont présenté des complications au décours du HELLP syndrome. La majorité de ces complications étaient d'ordre hémorragique (69%). Parmi les complications hémorragiques, 4 hématomes sous capsulaires du foie et 4 hématomes rétro placentaires ont été relevés.

La mortalité fœtale, évaluée à 8,9%, survenait secondairement à des complications maternelles dans 75% des cas.

Quatre-vingt-quatre pour cent des patientes ayant présenté une défaillance rénale ont évolué favorablement en restaurant une fonction rénale normale. Parmi les 6 patientes ayant développé une insuffisance rénale chronique séquellaire, deux ont nécessité une épuration extrarénale au long cours.

3.2. Exploration du système du complément

Les résultats des explorations immunochimique et génétique du système du complément sont résumés dans la *table 7*.

L'exploration des gènes codant pour les protéines de régulation de la voie alterne du complément a permis de documenter pour 5 patientes différentes, 5 variants rares non synonymes à l'état hétérozygote (prévalence de 11,1% dans la cohorte).

Trois de ces variants concernent le gène **CFH** (P968L, G400K, R333Q), un le gène **MCP** (R218H) et un le gène **CFI** (R345Q). Aucune mutation du gène codant pour le **C3** n'a été identifiée au sein de la cohorte.

Les analyses des conséquences fonctionnelles de ces variant n'ont pas été réalisées à ce jour.

Les domaines fonctionnels des variants du gène CFH n'intéressent pas le domaine de liaison du facteur C3 (respectivement SCR16, SCR7, SCR5). Les variants des gènes MCP et CFI intéressent respectivement les domaines fonctionnels SCR 5 et SCR9.

Aucune anomalie de dosage plasmatique du complément n'a été identifiée chez les patientes porteuses d'une mutation (*table 7*). Quatre-vingt pour cent de celles-ci ont présenté une insuffisance rénale concomitante du HELLP syndrome, d'évolution défavorable dans 50% des cas.

Les caractéristiques cliniques des patientes présentant une mutation sont résumées dans la *table 8*.

Quatre patientes étaient porteuses d'un polymorphisme rare des gènes codant pour les protéines de régulation du complément :

- gène CFI : rs75612300 ; Minor Allele Frequency (MAF) 0,237% (1000genomes)
- gène CFI : CFI/IVS 12+5 G>T ; MAF 0,9% (325 contrôles sains français)
- gène CFH : Q950H ;
- gène MCP : A304V ; MAF 2,1% WTCC (Wellcome Trust Case Control Consortium)

Parmi ces 4 patientes, deux ont développé une insuffisance rénale ayant évolué favorablement pour l'une d'entre elle.

Les caractéristiques cliniques des patientes présentant un polymorphisme rare sont résumées dans la *table 9*.

Table 7. Résultats des explorations immunochimique et génétique du complément

Toutes anomalies confondues		n= 18 (40 %)
anomalies des dosages plasmatiques du complément		n= 9 (20%)
<u>isolées:</u>		n =8
	Facteur B abaissé	2
	Facteur H abaissé	0
	Facteur I abaissé	2
	expression de MCP abaissée	4
<u>combinées</u>		n=1
	C3 + Facteur B abaissés	1
<u>Anticorps anti facteur H</u>		n=1
mutations des gènes de la voie alterne du complément		n= 5 (11,1%)
	CFH	3
	MCP	1
	CFI	1
polymorphismes rares des gènes de la voie alterne du complément		n= 4 (8,8%)
	CFH	1
	MCP	1
	CFI	2

Valeur exprimées en pourcentage de la population à l'étude.

CFH : complement factor H; MCP : membran cofactor protein; CFI :complement factor I

Table 8. Caractéristiques cliniques et biologiques de 5 patientes atteintes de HELLP syndrome et présentant une mutation des gènes de la voie alterne du complément

	P1	P2	P3	P4	P5
insuffisance rénale aigue	O	O	O	N	O
mutations :					
gène	CFH	CFH	CFH	MCP	CFI
SCR	5	7	16	5	9
Variant	R333Q	G400K	P968L	R218H	R345Q
	Hétérozygote	Hétérozygote	Hétérozygote	Hétérozygote	Hétérozygote
Anomalies des dosages plasmatiques du complément	N	N	N	N	N
Age (années)	24	31	28	29	21
rang de grossesse	1	3	2	2	1
HELLP syndrome du post partum	N	N	N	O	N
âge gestationnel (SA)	34	31	31		28,5
TA Systolique (MmHg)	160	180	>140	190	180
TA Diastolique (MmHg)	110	100	>90		120
classe Mississipi	1	2	2	1	2
Plaquettes (G/L)	39	69	67	18	78
hémoglobine (g/dl)	9,8	6,6	8	9,5	10,2
LDH (x normale supérieure)	4	28	ND	ND	4
ASAT (x normale supérieure)	2,5	116	ND	23	10
ALAT (x normale supérieure)	2,8	ND	10	7	6,2
créatininémie (μmol/l)	220	550	129	65	93
antécédents	insuffisance rénale chronique non terminale post pyélonéphrite précipitée par le HELLP syndrome	première grossesse compliquée de fausse couche spontanée, deuxième grossesse compliquée de prééclampsie	première grossesse compliquée de fausse couche spontanée, insuffisance rénale d'étiologie indéterminée chez le grand-père maternel, HTA familiale	HTA gravidique modérée non traitée lors de la précédente grossesse, HTA familiale	perte fœtale
prise en charge spécifique		épuration extrarénale et transfusion érythrocytaire			
complications			œdème pulmonaire et épanchement pleural bilatéral compliqués de détresse respiratoire aigüe, hématome sous capsulaire du foie		
évolution	insuffisance rénale chronique hémodialysée. A 3 et 6 ans du HELLP syndrome : deux échecs précoces de transplantations rénales secondaires à des lésions thrombotiques micro vasculaires	rémission complète	insuffisance rénale chronique		rémission complète

Table 9. Caractéristiques cliniques et biologiques de 4 patientes atteintes de HELLP syndrome et porteuses d'un polymorphisme rare des gènes de la voie alterne du complément

	P1'	P2'	P3'	P4'
insuffisance rénale aiguë	N	N	O	O
polymorphismes rares				
gène	MCP	CFI	CFH	CFI
Variant	A304V	IVS 12+5 G>T	Q950H	H183R
Anomalies des dosages plasmatiques du complément	N	N	N	N
Age (années)	33	28	37	41
rang de grossesse	1	1	1	ND
HELLP syndrome du post partum	O	O	N	O
âge gestationnel (SA)			34	
TA Systolique (MmHg)	184	180	180	150
TA Diastolique (MmHg)	114	110	100	95
classe Mississipi	1	1	2	
Plaquettes (G/L)	30	39	66	< 100
hémoglobine (g/dl)	10		6,4	
LDH (x normale supérieure)			2,5	3,6
ASAT (x normale supérieure)	10	23	2	
ALAT (x normale supérieure)			2	12
créatininémie (μmol/l)	67	68	100	247
prise en charge spécifique	transfusion plaquettaire		ND	échanges plasmatiques
complications			hématome rétro placentaire	hématome sous capsulaire du foie
évolution			rémission complète	insuffisance rénale chronique

Des anomalies des taux plasmatiques des protéines du complément témoignant d'une dysrégulation ont été documentées chez 9 patientes (20% de la cohorte) : une diminution des taux de facteur B circulant était retrouvée chez 2 patientes, des taux abaissés de facteur I étaient documentés chez 2 patientes et l'expression membranaire de MCP était abaissée chez une patiente.

Aucunes de ces anomalies plasmatiques ne s'associait à la présence d'une mutation génétique.

La présence d'anticorps anti facteur H à des taux faibles a été détectée chez une seule patiente et s'associait à une diminution de l'expression membranaire de MCP.

Parmi ces patientes présentant des stigmates de dysrégulation de la voie alterne du complément, 77% (n=7) ont présenté une insuffisance rénale aigue concomitante de la survenue du HELLP syndrome.

Toutes ces patientes ont présenté un HELLP syndrome de classe 1.

Les caractéristiques des patientes sont détaillées dans la *table 10*.

Table 10. Caractéristiques de 9 patientes présentant des anomalies plasmatiques du complément

Patient	C3 mg/l	C4 mg/l	Facteur B mg/l	Facteur H %	Facteur I %	MCP MFI	polymorphismes O/N	mutations O/N	insuffisance rénale O/N	classe Mississippi
15	639	109	82	normal	normal	894	N	N	O	1
25	664	169	85	109	90	1097	N	N	O	ND
26	976	245	75	ND	ND	906	N	N	O	1
42	1030	166	96	123	49	1209	O	N	N	1
20	775	247	162	99	53		N	N	O	1
28	753	106	112	80	78	310	N	N	N	1
34	899	217	127	normal	normal	359	N	N	O	1
44	1150	254	151	140	101	376	N	N	O	1
4	1100	181	117	102	97	506	N	N	O	1
valeurs normales	660- 1250	93- 380	90-320	65-140	70-130	600- 1400	MFI: Mean fluorescence intensity, ND: non déterminé			

3.3. Analyses comparatives

3.3.1. Présence d'une mutation

Les résultats de l'analyse comparative des patientes en fonction de la présence ou non de mutations sont présentés dans la *table 11*.

Les patientes porteuses d'une mutation étaient plus jeunes (26.4 ± 4 ans vs 31.4 ± 4.4 ans; $p=0.026$) et présentaient plus fréquemment des antécédents de grossesse pathologique (80% vs 28.6% ; $p=0.017$).

La présence d'une mutation sur les gènes de la voie alterne du complément n'était pas significativement associée à un phénotype clinique ou biologique plus sévère.

Aucune différence significative concernant l'incidence de l'atteinte rénale n'a pu être mise en évidence malgré une tendance positive en cas de mutations (80% vs 53,8% ; $p=0,37$).

Table 11. Caractéristiques de 45 grossesses compliquées de HELLP syndrome en fonction de la présence de mutation des gènes de la voie alterne du complément

	mutations n=5	aucune mutation n=40	p
<u>insuffisance rénale aigue</u>	4 (80 %)	21 (53,8 %)	0,4
<u>données démographiques</u>			
Age (années)	26,6 ± 4	31,4 ± 4	0,03
Rang de grossesse	2 [1-2,5]	1[1-2]	0,5
Age gestationnel (SA)	32 ± 5	31 ± 5	0,51
HELLP syndrome du post partum	20%	20%	1
<u>Antécédents personnels :</u>			
Néphropathie, MAT, HTA	40%	16,1%	0,13
obstétricaux	80%	28,6%	0,02
<u>caractéristiques clinico-biologiques</u>			
Tension artérielle Systolique (MmHg)	180 [170-185]	180 [170-190]	0,96
Tension artérielle diastolique (MmHg)	110 [102,5-117,5]	100 [95-110]	0,21
taux de plaquettes (G/L)	54 ± 25	60 ± 34	0,73
Mississippi classification system	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,7	0,98
Mississippi classe 1 et 2	100%	85%	1
Mississippi classe 3	0	15 %	
taux d'hémoglobine (g/dL)	8,8 ± 1,5	9,4 ± 2	0,62
LDH (x normale supérieure)	4[4 -22]	4[2,6-7,9]	0,39
ASAT (x normale supérieure)	16,5 [6 -69,5]	9,7 [2,5-20]	0,35
ALAT(x normale supérieure)	6,6 [4,5-8,5]	4 [2-11]	0,85
créatininémie (μmol/l)	129 [86 -302,5]	95 [66 -188]	0,38
<u>prise en charge</u>			
accouchement par voie basse	14%	85%	0,55
échanges plasmatiques	0	23%	1
transfusion de plasma frais congelé	0	11%	
transfusion plaquettaire	0	17%	1
transfusion érythrocytaire	50%	14%	0,3
Recours à l'épuration extrarénale	25%	28%	0,37
<u>complications et devenir</u>			
complications maternelles	33%	42%	1
mort fœtale	0	10%	1
insuffisance rénale chronique séquellaire	50%	24%	0,603

3.3.2. Présence d'une insuffisance rénale

Les résultats de l'analyse comparative des données clinico- biologiques et génétiques en fonction de la présence ou non d'une atteinte rénale sont présentés dans la *table 12*.

Vingt-cinq patientes (55,5%) ont développé une insuffisance rénale à la phase aigüe du HELLP syndrome. Parmi ces patientes, 4 étaient porteuses d'une mutation des gènes des protéines de régulation du complément (CFH/R333Q, CFH/G400K, CFH/G968L, CFI/R345Q).

Une seule patiente n'ayant pas présenté d'atteinte rénale était porteuse d'une mutation (MCP/R218K).

Le taux d'incidence des mutations dans ces deux groupes était respectivement de 16 % pour le groupe avec atteinte rénale et de 5,3% pour le groupe sans atteinte rénale ($p=0,37$).

Le degré de sévérité du HELLP syndrome était statistiquement associé à la survenue d'une insuffisance rénale. Toutes les patientes ayant présenté un HELLP syndrome compliqué d'atteinte rénale appartenaient aux classes Mississippi 1 et 2, à la différence du second groupe (100% versus 68%, $p=0,004$).

Aucune différence significative n'était notée concernant les paramètres clinico-- biologiques restants.

Bien qu'aucune différence significative n'ait été observée concernant la fréquence globale des antécédents personnels ou familiaux, trois patientes présentaient des antécédents remarquables.

Une patiente, porteuse d'une anomalie du CFH, présentait une insuffisance rénale chronique non terminale secondairement précipitée par le HELLP syndrome et émaillée de la perte de greffons successifs secondaire à des lésions de MAT.

Deux patientes, non porteuses de mutations, présentaient des antécédents de MAT caractérisés pour la première par un épisode de SHU atypique authentique survenu une année avant le HELLP syndrome et pour la deuxième par une thrombopénie profonde associée à un effondrement de l'haptoglobine au cours de deux précédentes grossesses.

Table 12. Comparaison des caractéristiques cliniques, biologiques et génétiques en fonction de la survenue d'une atteinte rénale

	atteinte rénale n=25	pas d'atteinte rénale n=20	p
données démographiques			
Age (années)	31, ± 5	31±4	0,8
Rang de grossesse	1 [1-2]	1[1-2]	0,73
Age gestationnel (SA)	31,7 ± 4,7	31,8± 4,6	0,96
HELLP syndrome du post partum	20%	16%	1
Antécédents personnels :			
Néphropathie, MAT, HTA	25%	12%	0,42
obstétricaux	30%	41%	0,72
caractéristiques clinico-biologiques			
Tension artérielle Systolique (MmHg)	184,5 ±21,1	168,1±24,7	0,05
Tension artérielle diastolique (MmHg)	103 ±9,5	99,5 ±15,6	0,43
taux de plaquettes (G/L)	39 [30-69]	70 [30,5-106,2]	0,15
Mississippi classification system	1,45±0,5	1,85±0,86	0,15
Mississippi classe 1 et 2	100%	68%	0,004
Mississippi classe 3	0	30%	
taux d'hémoglobine (g/dL)	8,9± 2,2	9,75± 2,4	0,3
LDH (x normale supérieure)	4 [3,6-16]	3,25[2-7,2]	0,1
ASAT (x normale supérieure)	12 [6,9 - 32,5]	5,2[2,3 - 18,5]	0,07
ALAT(x normale supérieure)	6,8 [2,8-11,5]	3[2-8]	0,16
créatininémie (μmol/l)	129 [97,7-258,7]	65[53,7-67,7]	<0,001
prise en charge			
accouchement par voie basse	11%	38%	0,1
échanges plasmatiques	30%	8%	0,21
transfusion de plasma frais congelé	5%	18%	0,54
transfusion plaquettaire	15%	18%	1
transfusion érythrocytaire	25%	0%	0,13
Recours à l'épuration extrarénale	35%	0%	0,06
complications et devenir			
complications maternelles	53%	20%	0,12
mort fœtale	12%	5%	0,62
insuffisance rénale chronique séquellaire	35%	0%	
génétique			
mutations	4 (16 %)	1 (5 %)	0,37
gène CFH	3 (12 %)	0	0,24
gène MCP	0	1 (5 %)	0,43
gène CFI	1 (4 %)	0	1
polymorphismes (n=)	2	2	1
gène CFH	2 (8%)	0	
gène MCP	0	1 (5%)	
gène CFI	0		
anomalies plasmatiques des protéines du complément	8 (32%)	5 (25%)	0,5

Valeurs exprimées en moyenne ±écart type pour les variables de distribution normales.

Valeurs exprimées en médiane et quartile inférieur (25%) et supérieur (75%) pour les variables ne répondant pas à une distribution normale.

Valeurs exprimées en pourcentage de la population à l'étude

Valeurs de références des dosages plasmatiques du complément :

CH50 : 70-130 %; C3 antigène : 660-1250 mg/l; C4 antigène : 93-380 mg/l; FB antigène: 90-320 mg/l; H antigène: 65-140 %; I antigène: 70-130 %;

CD46 membranaire: 600-1400 MFI

4. DISCUSSION

Si le système du complément est connu de longue date, son rôle en physiopathologie ne cesse de croître, élargissant progressivement le spectre des pathologies « liées au complément »²⁹.

Ces dix dernières années, l'avènement des techniques d'exploration génomique, a ouvert la voie à l'ère des mutations de la voie alterne du complément et permis des avancées considérables dans la compréhension et la prise en charge des syndromes de microangiopathies thrombotiques, démontrant notamment que 60 à 80% des cas de SHU atypiques sont liés à une anomalie génétique responsable d'une activation incontrôlée de la voie alterne du complément²⁰.

Le complément exerce également un rôle déterminant au cours de la grossesse.

En effet, la grossesse représente une condition immunologique privilégiée au cours de laquelle le fœtus, porteur d'allo antigènes paternels, se développe et survit dans l'utérus maternel.

La tolérance à l'égard du fœtus, apparenté à un greffon semi-allogénique, est le fait d'une réponse immune adaptative maternelle sous tendue par des mécanismes multiples et complexes permettant le maintien d'une interaction materno-fœtale équilibrée³⁰.

Cet équilibre, indispensable à la survie fœtale, impose un contrôle strict des différents acteurs immuns engagés dans les mécanisme de rejet allogénique, parmi lesquels le système du complément³¹.

Au cours de la période gestationnelle, le système du complément exerce un rôle à la fois privilégié et ambivalent : en situation physiologique, son activation contrôlée assure la défense de l'interface utéroplacentaire contre les agents pathogènes infectieux³¹, comme en témoigne le dépôt de ses nombreux produits d'activation à la surface placentaire³². A l'inverse, sa dysrégulation avec activation incontrôlée aboutit à un rejet du fœtus médié par des lésions placentaires complément-dépendantes, soulignant le rôle clé du système de régulation dans le maintien de l'intégrité de la grossesse.

Durant la dernière décade, un nombre croissant d'arguments expérimentaux et cliniques ont permis de relier l'activation avec perte de régulation du complément à diverses complications gravidiques, démontrant que la régulation du système du complément, en particulier de la voie alterne, est un élément indispensable au maintien de l'intégrité de l'interface utéroplacentaire³³.

Le système du complément joue un rôle central dans la pathogénie des ***pertes fœtales récurrentes***, qu'elles surviennent ou non dans un contexte auto-immun.

Chez la souris, l'administration d'anticorps anti phospholipides au cours de la grossesse est à l'origine d'une activation du complément avec libération de C5a, son principal produit d'activation, aboutissant à des lésions placentaires complément-dépendantes et à la perte du fœtus. Chez ce même modèle murin, l'effet délétère de l'activation du complément est prévenu par l'inhibition spécifique du récepteur du C5a (C5aR) ou l'invalidation du gène codant pour le C5 (souris transgénique C5-/-) supportant l'évidence du rôle central du couple agoniste-récepteur C5a/C5aR dans la pathogénie des pertes fœtales³⁴.

Chez la souris, un déficit en *Cryy*, équivalent murin des protéines de régulation du complément MCP et DAF; est à l'origine d'avortements spontanés précoces résultants de lésions placentaires complément-dépendantes. L'invalidation du gène du C3 chez ce même modèle murin *Cryy*/-, permet de mener la grossesse à terme, supportant également le rôle délétère de l'activation du complément³⁵.

Il a de plus pu être démontré, chez des patientes indemnes de pathologie auto-immune et présentant des avortements spontanés récurrents inexpliqués, que des taux élevés de C3 et de C4 étaient prédictifs de la récurrence de pertes fœtales lors des grossesses ultérieures³⁶.

Plus récemment, des données expérimentales supplémentaires ont permis de préciser les mécanismes par lesquels l'activation du complément, en particulier la voie alterne, aboutit à cette dysfonction placentaire responsable de la perte fœtale.

En 2008, Girardi et al.³⁷ ont relié l'activation du complément, en particulier le C5a, à une dysrégulation de la balance entre facteurs pro et anti angiogéniques, dont l'équilibre est indispensable à une placentation normale. Les auteurs ont pu objectiver que les grossesses compliquées d'avortements précoces récurrents se caractérisent par un défaut de placentation associé à une élévation significative des taux de sFlt1 circulant responsable d'une séquestration du VEGF et du PlGF, deux facteurs anti angiogéniques garant d'un développement placentaire normal. In vivo, l'inhibition de l'activation du complément par des anticorps bloquant le C5a ou le Facteur B ou par un antagoniste du C5a récepteur reversent l'élévation des taux de sFlt1 circulant et permettent la restauration d'une placentation et une grossesse normales. In vitro, la liaison du C5a à son récepteur spécifique exprimé à la surface des monocytes, stimule directement la sécrétion monocyttaire de sFlt1, suggérant une nouvelle voie métabolique initiée par les produits d'activation du complément³⁷.

Ainsi, au cours des pertes fœtales, l'activation incontrôlée du complément est à l'origine d'un état anti angiogénique générant une dysfonction endothéliale placentaire qui entrave les mécanismes physiologiques de placentation.

Cependant, l'action délétère du complément sur la placentation n'est pas restreinte aux pertes fœtales et plusieurs arguments plaident également pour son implication dans la **prééclampsie**.

Il est actuellement admis que la prééclampsie se caractérise par un état anti angiogénique médié par un excès de facteurs solubles (sFlt1 et endogline) avec comme principale conséquence une dysfonction placentaire à l'origine des manifestations systémiques maternelles et des complications materno fœtales¹⁸.

Le profil sérologique des patientes atteintes de prééclampsie se caractérise par une élévation significative des taux de C5a³⁸ et des fragments Bb³⁹, témoins d'une activation désinhibée du complément, plus particulièrement de la voie alterne. De la même façon, la mise en évidence à la surface placentaire des patientes prééclamptiques d'un excès de produits d'activation du complément semble désigner le placenta comme cible de l'activation incontrôlée du complément⁴⁰. Enfin, l'obésité, facteur de risque reconnu de prééclampsie, est associée à des taux plasmatiques anormalement élevés des fragments Bb et C3a, amenant à considérer ces produits d'activation du complément comme de potentiels bio marqueurs prédictifs de la survenue d'un syndrome prééclamptique⁴¹.

Tous ces arguments cliniques plaident pour l'implication d'une activation de la voie alterne du comme principal médiateur d'un état anti angiogénique au cours de la prééclampsie et sont étayés par des données expérimentales qui démontrent que chez des souris transgéniques CBA X DBA/2 exprimant un phénotype pré-éclamptique, l'inhibition pharmacologique de la voie alterne de complément prévient l'élévation des taux de sFlt1 et la survenue des manifestations de prééclampsie⁴².

Ainsi, ces données cliniques et expérimentales suggèrent-elles une voie métabolique initiée par l'activation incontrôlée de la cascade du complément et aboutissant à la genèse d'un état anti angiogénique participant à la physiopathologie de la prééclampsie.

A l'ère de l'exploration génomique du système du complément, ces avancées physiopathologiques ont conduit à s'intéresser à la place des mutations des gènes codant pour ses protéines de régulation qui, en affectant leur fonction, favorise sa dysrégulation.

En 2011, l'équipe de Salmon et al.⁴³ a réalisé le séquençage des gènes codant pour trois protéines régulatrices de la voie alterne du complément – la MCP, le facteur I et le facteur H- sur deux populations de patientes atteintes de prééclampsie. La première cohorte regroupait 40 patientes présentant une pathologie auto immune sous-jacente (SAPL ou lupus érythémateux disséminé), la deuxième était constituée de 59 patientes présentant une prééclampsie non auto- immune.

Les résultats des explorations génétiques ont permis de documenter, pour la première fois au cours de la prééclampsie, des anomalies génétiques du système de régulation du complément. L'incidence des mutations s'élevait respectivement à 8,4% et 18% chez les patientes développant une prééclampsie non auto-immune (n=5/59) et auto-immune (n=7/40). Toutes ces mutations entraînent une altération des fonctions inhibitrices des protéines codées et sont pour la plupart actuellement reconnues comme un facteur de risque majeur de SHU atypique.

Cette étude suggère clairement qu'un défaut d'inhibition de la voie alterne du complément puisse favoriser l'état anti angiogénique sous tendant les mécanismes lésionnels de la prééclampsie.

Si ces avancées récentes ont permis d'identifier le système du complément comme principal acteur responsable de la dysfonction placentaire au cours des pertes fœtales et de la prééclampsie, son activation incontrôlée, principal stimulus du relargage de facteurs anti angiogéniques, pourrait également véhiculer d'autres complications gravidiques caractérisées par une dysfonction endothéliale, tel que les microangiopathies thrombotiques.

En effet, la grossesse peut favoriser le développement de lésions thrombotiques micro vasculaires ciblant préférentiellement l'endothélium maternel et responsables de manifestations systémiques parfois sévères.

Le terme de microangiopathie thrombotique liée à la grossesse n'a émergé que récemment et désigne deux principales pathologies : le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) de la grossesse et le SHU associé à la grossesse. Ces deux entités se différencient par une physiopathologie bien distincte convergeant vers une dysfonction endothéliale avec constitution de lésions de MAT ciblant respectivement le système nerveux central (PTT) et le rein (SHU de la grossesse).

Le PTT est une MAT associée à un déficit acquis ou constitutionnel en ADAMTS 13, métallo protéase spécifique du facteur Willebrand, et se caractérise par des lésions endothéliales indépendantes du complément^{44,45}. Le SHU atypique de la grossesse, entité restée longtemps méconnue, se caractérise par des lésions de MAT complément – dépendantes et se distribuant préférentiellement à la microcirculation rénale.

Bien que la place des mutations de la voie alterne du complément dans le SHU atypique soit actuellement démontrée, peu d'études se sont intéressées à leur implication au cours du **SHU atypique de la grossesse**.

En 2010, une étude menée par Fakhouri et al.²⁷ a cependant permis de relier ces anomalies génétiques à la survenue du SHU atypique de la grossesse, indiquant clairement la place du complément dans le spectre des MAT de la grossesse.

Cette étude, menée sur une cohorte de 21 parturientes ayant présenté un SHU atypique lié à la grossesse a ainsi identifié 18 anomalies situées sur les séquences codantes des protéines de régulation (facteur H- facteur I- MCP) ou des composants (facteur B- C3) de la C3 convertase alterne. Ces mutations, non retrouvées dans une population de sujets sains, intéressaient majoritairement le gène codant pour le facteur H (n = 10/21, 45%) et plus rarement les séquences codantes du facteur I (n=2/21, 9%), de MCP (n=1/21, 4%) ou du C3 (n=2/21, 9%). Trois patientes (14%) étaient porteuses d'une double mutation (CFH+C3, CFH+MCP, CFI+CFI).

Toutes ces anomalies génétiques entraînent un déficit quantitatif ou une altération de la fonction régulatrice de la protéine encodée, avec pour résultante une activation supra physiologique de la C3 convertase alterne avec consommation du C3 circulant, identifiant clairement le SHU atypique de la grossesse comme un syndrome de MAT gravidique lié à une dysrégulation génétique de la voie alterne du complément.

Par ailleurs, de la même façon que pour le SHU atypique non gravidique, la présence d'une anomalie génétique est associée à un pronostic rénal défavorable pour 76% des patientes de la cohorte.

Bien que la physiopathologie du **HELLP syndrome** reste incomplètement connue, ses mécanismes semblent conjuguer une dysfonction endothéliale placentaire secondaire à un état anti angiogénique à des lésions de microangiopathie thrombotique maternelles ciblant le plus souvent la microcirculation hépatique, plus rarement la microcirculation rénale.

A l'heure actuelle, seules deux équipes se sont intéressées à la génétique de la voie alterne du complément au cours du HELLP syndrome :

Une première étude préliminaire réalisée par Fakhouri et al.²⁶ sur une cohorte de 11 patientes atteintes de HELLP syndrome compliqué d'insuffisance rénale, a permis d'identifier 4 anomalies (36%) des gènes de la voie alterne du complément (CFH /R303Q ,CFI/R345Q,CFI/H183R, MCP/A304V) , suggérant ainsi son implication dans la physiopathologie du HELLP syndrome et de son atteinte rénale.

La seconde étude, menée par Crovetto et al.⁴⁶ sur une plus large cohorte de 33 patientes atteintes de HELLP syndrome toute fonction rénale confondue, a documenté 3 anomalies génétiques (11%) de la voie alterne du complément (1 polymorphisme : CFI/G261D et 2 variants rares : CFI/P402S et MCP/S13F).

La *table 13* résume l'ensemble des arguments cliniques et expérimentaux démontrant l'implication du système du complément et de ses anomalies génétiques au cours de la grossesse.

Table 13-1 : principaux arguments cliniques, expérimentaux et génétiques supportant l'implication du complément au cours des dysgravidies

arguments cliniques		
<i>Girardi, G et al.</i> Complement activation induces dysregulation of angiogenic factors and causes fetal rejection and growth restriction. Exp Med. 2006 Sep 4;203(9):2165-75.	Avortements spontanés récurrents	Excès de sFlt1 avec diminution des taux de VEGF et de PlGF chez les femmes présentant des avortements récurrents. Lésions histologiques objectivant un défaut de placentation secondaire à un état anti angiogénique
<i>Sinha, D et al.</i> Immunological studies of human placenta: complement components in pre-eclamptic chorionic villi. Clin Exp Immunol. 1984 Apr;56(1):175-84.	Prééclampsie	Dépôts d'un excès des composants terminaux du complément (C1q, C4, C3, C5b, C6 et C9) à la surface placentaire chez les patientes prééclamptiques.
<i>Soto et al.</i> Preeclampsia and pregnancies with small-for-gestational age neonates have different profiles of complement split products. J Matern Fetal Neonatal Med. 2010 Jul;23(7):646-57	Prééclampsie	Elévation des taux de C5a chez les femmes prééclamptiques comparé aux femmes non prééclamptiques.
<i>Lynch, A. M. et al.</i> Pregpregnancy obesity and complement system activation in early pregnancy and the subsequent development of preeclampsia. Am. J. Obstet. Gynecol. 206, 428.e1–8 (2012).	Prééclampsie	Elévation significative des taux de C3a et de Bb chez les femmes obèses, condition à risque de prééclampsie.
<i>Lynch, A. M. et al.</i> Alternative complement pathway activation fragment Bb in early pregnancy as a predictor of preeclampsia. Am. J. Obstet. Gynecol. 198, 385.e1–9 (2008).	Prééclampsie	Elévation significatives des taux sériques de Bb chez les femmes prééclamptiques.
génétique du complément et grossesse		
<i>Salmon, J. E. et al.</i> Mutations in complement regulatory proteins predispose to preeclampsia: a genetic analysis of the PROMISSE cohort. PLoS Med. 8, e1001013 (2011).	Prééclampsie	Mutations des gènes codant pour les protéines de régulation de la voie alterne du complément au cours de la prééclampsie, qu'elle soit associée ou non à un mécanisme auto-immun. incidence : - prééclampsie auto-immunes: 18%, - prééclampsie non auto-immunes : 8,4%
<i>Fakhouri, F. et al.</i> Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations . J. Am. Soc. Nephrol. 21, 859–867 (2010)	SHU atypique de la grossesse	Mutations des gènes codant pour les protéines de régulation (FH, FI, MCP) ou les composants de la C3 convertase alterne. Incidence : 86%.
<i>Fakhouri, F. et al.</i> Factor H, membrane cofactor protein, and factor I mutations in patients with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count syndrome. Blood 112, 4542–4545 (2008).	HELLP syndrome	Mutations des gènes codant pour les protéines de régulation (FH, FI, MCP) au cours du HELLP syndrome compliqué d'atteinte rénale. Incidence=36%
<i>Crovetto, F. et al.</i> The genetics of the alternative pathway of complement in the pathogenesis of HELLP syndrome.	HELLP syndrome	Mutations des gènes codant pour les protéines de régulation (FH, FI, MCP) au cours du HELLP syndrome, toute atteinte rénale confondue. Incidence=11%

Table 13-2 : principaux arguments cliniques, expérimentaux et génétiques supportant l'implication du complément au cours des dysgravidies

arguments expérimentaux		
<i>Xu, C. et al.</i> A critical role for murine complement regulator crry in fetomaternal tolerance. <i>Science</i> 287, 498–501 (2000).	Pertes fœtales	Efficacité de l'inhibition pharmacologique du C5a récepteur ou de l'invalidation du gène du C5 dans la restauration du déroulement d'une grossesse normale chez un modèle murin de de pertes fœtales récurrentes liées au SAPL. Efficacité de l'invalidation du gène du C3 chez la souris <i>Crry</i>^{-/-} pour prévenir les pertes fœtales survenant indépendamment d'un mécanisme auto immun.
<i>Girardi, G et al.</i> Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. <i>J Clin Invest.</i> 2003 Dec;112(11):1644-54.	Pertes fœtales induites par le SAPL	Elévation excessive des taux de C5a dans les modèles murins de SAPL compliqués de pertes fœtales. Efficacité de l'inhibition pharmacologique du C5a récepteur ou de l'invalidation du gène du C5a dans la restauration d'une grossesse normale chez ces mêmes souris.
<i>Sugiura-Ogasawara ,M et al.</i> Complement as a predictor of further miscarriage in couples with recurrent miscarriages <i>Hum Reprod.</i> 2006 Oct;21(10):2711-4.	Avortements spontanés récurrents non médié par des anticorps	Elévation des taux de C3 et de C4 témoignant d'une activation du complément. Corrélation entre l'excès de C3 et de C4 circulants et la récurrence de perte fœtale au cours des grossesses suivantes.
<i>Girardi ,Get al.</i> Complement activation induces dysregulation of angiogenic factors and causes fetal rejection and growth restriction. <i>Exp Med.</i> 2006 Sep 4;203(9):2165-75.	pertes fœtales	Activation incontrôlée du complément initiant une sécrétion excessive de sFlt1 responsable d'un état anti angiogénique à l'origine d'une dysfonction placentaire et d'un défaut de placentation.
<i>Qing, X. et al.</i> Targeted inhibition of complement activation prevents features of preeclampsia in mice. <i>Kidney Int.</i> 79, 331–339 (2011)	Prééclampsie	Efficacité de l'administration d'un C3 inhibiteur (CR2-Crry) sur la prévention des manifestations prééclamptiques chez les souris CBA X DBA/2 , modèle murin de pertes fœtales exprimant également un phénotype prééclamptique.

Notre étude, réalisée sur une population de 45 patientes ayant présenté ou non une insuffisance rénale aigue, confirme également l'implication d'une dysrégulation de la voie alterne du complément au cours du HELLP syndrome.

Quarante pour cent des patientes incluses présentent des anomalies plasmatiques ou génétiques de la voie alterne du complément, indiquant que le HELLP syndrome appartient au spectre croissant des complications gravidiques associées à un défaut de régulation du système du complément. La fréquence des mutations des gènes codant pour le facteur H, le facteur I ou la MCP dans notre cohorte s'élève à 11,2% tandis que 8,8 % des patientes présentent un polymorphisme rare de ces mêmes gènes. Par ailleurs, des stigmates d'activation de la voie alterne du complément, qu'ils soient ou non associés à des anomalies génétiques, sont retrouvés chez 20% patientes.

Cette étude s'inscrit dans la continuité du travail de Fakhouri et al. réalisé précédemment⁴⁴, et si l'incidence des mutations est moindre, corrobore leurs résultats sur une plus large cohorte. Bien que l'équipe de Crovetto et al. ait objectivé un taux d'anomalies génétiques s'élevant à 11%, l'incidence des mutations (n=2) retrouvées dans leur cohorte de 33 patientes était de 6%, soit deux fois moins que dans notre étude.

Cette première différence peut être expliquée par deux divergences principales :

La première concerne les critères d'inclusion des patientes : dans l'étude de Crovetto et al. les critères retenus étaient larges, incluant de fait les patientes présentant une condition favorisant la survenue du HELLP syndrome, telles que des pathologies auto-immunes. En effet, 8 des 33 patientes explorées (24% de la cohorte) présentaient un tableau associé de syndrome des antiphospholipides et/ou de lupus érythémateux disséminé ; deux pathologies à un risque de HELLP syndrome^{47, 48}. Ce facteur confondant exclu, l'incidence des mutations dans cette cohorte s'élève à 8%. A la différence, notre étude excluait toute pathologie à risque de HELLP syndrome, permettant de documenter un taux de mutation plus important (11,1%).

La seconde divergence entre les deux travaux intéresse les modalités de recrutement : dans notre étude multicentrique, le recrutement des patientes était réalisé par l'intermédiaire des centres de Néphrologie, à l'inverse de l'étude de Crovetto et al. menée au sein d'un centre gynécologique et obstétrical. Dans la mesure où la voie alterne du complément occupe une place centrale dans la pathogénie des microangiopathies thrombotiques rénales (SHU atypique lié ou non à la grossesse)⁴⁹, les modalités d'inclusion dans notre étude pourraient représenter un biais de recrutement en surestimant l'incidence des complications rénales au cours du HELLP syndrome.

Ainsi, 55,5 % des cas de HELLP syndrome dans notre étude étaient associés à une atteinte rénale, contre seulement 1/3 dans l'étude précédente.

Cependant, si les complications néphrologiques concernent plus de la moitié des patientes de notre cohorte, nos données montrent que la dysrégulation de la voie alterne du complément n'est pas restreinte au HELLP syndrome compliqué d'atteinte rénale.

Bien que la plupart des mutations sont documentées chez les patientes ayant présenté une insuffisance rénale, leur fréquence dans cette sous population n'apparaît pas significativement différente de celle documentée dans le groupe des HELLP syndromes sans atteinte rénale (16 % versus 5,3 %, $p = 0,37$).

De la même façon, le taux d'insuffisance rénale est plus élevé chez les patientes porteuses d'une mutation, sans différence significative par comparaison au groupe des patientes ne présentant pas de mutation (80% versus 53,8%, $p=0,37$).

Ces résultats sont cependant difficiles d'interprétation compte tenu de la petite taille de l'effectif de notre étude et de la faible fréquence des mutations.

Bien que nos résultats ne mettent pas de mettre en évidence d'association significative entre anomalies génétiques et insuffisance rénale, l'analyse comparative des données démographiques et clinico-biologiques permet de relier les anomalies de la voie alterne du complément à un phénotype plus sévère de HELLP syndrome selon le système de classification Mississippi (*table 1*). Elle permet aussi de proposer un profil de patiente à risque de HELLP syndrome lié à une dysrégulation de la voie alterne du complément ; celui d'une

femme de moins de 30 ans, aux antécédents de dysgravidie et développant un tableau de HELLP syndrome sévère fréquemment compliqué d'atteinte rénale.

L'identification dans notre cohorte de nouvelles mutations apporte un nouvel élément à l'édifice grandissant des dysgravidie liées au système du complément, confortant le rôle pathogène de son activation incontrôlée au cours de la grossesse et précisant les mécanismes physiopathologiques du HELLP syndrome, entité à la frontière entre prééclampsie et micro angiopathiethrombotique.

La présence d'une dysrégulation de la voie alterne du complément amène clairement à considérer le HELLP syndrome comme un syndrome de MAT, confortant ainsi les données de l'histologie hépatique qui objectivent essentiellement une atteinte endothéliale thrombotique^{50, 21}.

A l'inverse, l'atteinte rénale survenant au cours du HELLP syndrome ne semble pas impliquer directement le système du complément, comme le démontrent nos résultats. Ce dernier point s'accorde avec la faible incidence des lésions de MAT (15%) objectivées par l'histologie rénale en cas d'atteinte rénale associée au HELLP syndrome⁵¹ et permet d'appréhender le HELLP syndrome comme un syndrome de microangiopathie thrombotique affectant essentiellement le foie, et potentiellement lié à une dysrégulation de la voie alterne du complément.

A ce jour, bien que la dysrégulation de la voie alterne du complément soit admise comme un facteur déterminant dans la survenue du SHU atypique, les mécanismes précis sous tendant l'atteinte rénale privilégiée restent encore énigmatiques.

De la même façon, le HELLP syndrome semble ajouter un niveau de complexité dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques précis engagés dans les syndromes de microangiopathie thrombotique ; les mécanismes véhiculant l'atteinte spécifique de l'endothélium hépatique au cours du HELLP syndrome restant également en suspens.

Les données de notre étude démontrent que le HELLP syndrome et le SHU atypique partagent un facteur prédisposant génétique commun, la dysrégulation avec perte de contrôle de la voie alterne du complément. Cependant, si celle-ci semble jouer un rôle dans la survenue du HELLP syndrome, la fréquence des mutations reste moindre que dans le SHU atypique (60-80%)²⁰ ou le SHU de la grossesse (86 %)²⁷, suggérant l'implication possible de déterminants génétiques supplémentaires, et à ce jour non identifiés.

Bien que nos résultats ne permettent pas de désigner ces anomalies génétiques principal facteur de susceptibilité du HELLP syndrome, elles pourraient concourir à sa physiopathologie par plusieurs mécanismes actuellement à l'étude :

- un mécanisme polygénique, au cours duquel l'association de plusieurs variants génétiques maternels, fœtaux et paternels, prédisposerait à la survenue du HELLP syndrome. Cette hypothèse fait l'objet d'un travail d'exploration génétique du complément chez 10 des pères de nouveaux nés issues de notre cohorte afin d'identifier d'éventuelles mutations ayant pu faire l'objet d'une transmission paterno-fœtale. A ce jour, nos résultats préliminaires n'ont pas permis d'objectiver de génotype paternel muté mais ne permettent pas d'exclure la transmission parentale d'un facteur de risque génétique apparenté ou non au système du complément, impliqué dans la survenue du HELLP syndrome.

- la présence d'un haplotype à risque de HELLP syndrome défini par l'association de plusieurs variants des gènes de régulation du complément et spécifique du HELLP syndrome. Cette seconde hypothèse fait actuellement l'objet d'un travail en cours basé sur le génotypage de 19 SNP (Single Nuclear Polymorphism) localisés sur 5 gènes candidats codant pour les protéines de régulation du complément (CFH, CFI, MCP, C3, CFHR1). La comparaison des haplotypes de patientes atteintes de HELLP syndrome avec les haplotypes retrouvés dans la population générale permettrait de déterminer l'existence ou non d'une association allélique à risque de HELLP syndrome.

5. CONCLUSION

Nos résultats démontrent que 40 % des patientes atteintes de HELLP syndrome, qu'il soit compliqué ou non d'atteinte rénale, présentent des anomalies immunochimiques ou génétiques du système du complément.

Ces anomalies reflètent ou entraînent une dysrégulation de la voie alterne du complément médiée par une altération fonctionnelle ou quantitative des composants protéiques de la C3 convertase alterne (C3 et facteur B) ou de son système de régulation (facteur H, facteur I, MCP). Ces altérations aboutissent le plus souvent à la formation d'une C3 convertase alterne « hyperactive » ayant la capacité de générer des lésions endothéliales complément-dépendantes, ciblant spécifiquement le foie dans le cas du HELLP syndrome.

Cette étude suggère donc l'appartenance du HELLP syndrome au spectre croissant des microangiopathies thrombotiques associées à une dysrégulation du système du complément et démasque une nouvelle facette de la complexité de ses mécanismes physiopathologiques.

A l'inverse du SHU atypique lié à la grossesse qui se caractérise par des lésions de MAT rénales complément-dépendantes, les lésions de MAT associées au HELLP syndrome ciblent plus spécifiquement l'endothélium hépatique, expliquant l'absence d'association significative entre la présence d'anomalies génétiques et la survenue d'une atteinte rénale.

Cette nouvelle avancée dans la compréhension des voies métaboliques véhiculant les lésions de HELLP syndrome pourrait faire suggérer le complément comme un nouvel élément clé à la fois pronostique et thérapeutique.

L'association de la présence d'anomalies génétiques à un phénotype plus sévère de la maladie pourrait les faire considérer comme des facteurs de risques transmissibles mais également comme un marqueur pronostic, notamment de l'intensité de la thrombopénie et des anomalies hépatiques.

De plus, le système du complément pourrait représenter la cible thérapeutique spécifique, restée jusqu'alors énigmatique, dont l'inhibition permettrait de marquer un tournant dans la prise en charge et le pronostic du HELLP syndrome.

6. BIBLIOGRAPHIE

1. Weinstein, L. Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **142**, 159–167 (1982).
2. Killam, A. P., Dillard, S. H., Patton, R. C. & Pederson, P. R. Pregnancy-induced hypertension complicated by acute liver disease and disseminated intravascular coagulation. Five case reports. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **123**, 823–828 (1975).
3. Sibai, B. M. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **162**, 311–316 (1990).
4. Martin, J. N., Jr *et al.* The spectrum of severe preeclampsia: comparative analysis by HELLP (hemolysis, elevated liver enzyme levels, and low platelet count) syndrome classification. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **180**, 1373–1384 (1999).
5. Sibai, B. M. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol* **103**, 981–991 (2004).
6. Geary, M. The HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* **104**, 887–891 (1997).
7. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* **77**, 67–75 (2002).
8. Karumanchi, S. A., Maynard, S. E., Stillman, I. E., Epstein, F. H. & Sukhatme, V. P. Preeclampsia: a renal perspective. *Kidney Int.* **67**, 2101–2113 (2005).
9. Sibai, B. M. *et al.* Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am. J. Obstet. Gynecol.* **169**, 1000–1006 (1993).
10. Haram, K., Svendsen, E. & Abildgaard, U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A Review. *BMC Pregnancy Childbirth* **9**, 8 (2009).
11. Martin, J. N., Jr & Stedman, C. M. Imitators of preeclampsia and HELLP syndrome. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* **18**, 181–198 (1991).
12. Sullivan, C. A. *et al.* The recurrence risk of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP) in subsequent gestations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **171**, 940–943 (1994).
13. Sibai, B. M. *et al.* Maternal-perinatal outcome associated with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia-eclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **155**, 501–509 (1986).

14. Celik, C. *et al.* Results of the pregnancies with HELLP syndrome. *Ren Fail* **25**, 613–618 (2003).
15. Sibai, B. M., Ramadan, M. K., Chari, R. S. & Friedman, S. A. Pregnancies complicated by HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): subsequent pregnancy outcome and long-term prognosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **172**, 125–129 (1995).
16. Monnier, J. C., Vaksman, S., Vinatier, D., Patey-Savatier, P. & Maunoury-Lefebvre, C. [Is it necessary to specify the HELLP syndrome?]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* **16**, 765–771 (1987).
17. Venkatesha, S. *et al.* Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat. Med.* **12**, 642–649 (2006).
18. Levine, R. J. *et al.* Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N. Engl. J. Med.* **355**, 992–1005 (2006).
19. Noris, M. & Remuzzi, G. Hemolytic uremic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* **16**, 1035–1050 (2005).
20. Frémeaux-Bacchi, V., Fakhouri, F., Roumenina, L., Dragon-Durey, M.-A. & Loirat, C. [Atypical hemolytic-uremic syndrome related to abnormalities within the complement system]. *Rev Med Interne* **32**, 232–240 (2011).
21. Barton, J. R. *et al.* Hepatic histopathologic condition does not correlate with laboratory abnormalities in HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count). *Am. J. Obstet. Gynecol.* **167**, 1538–1543 (1992).
22. Walport, M. J. Complement. First of two parts. *N. Engl. J. Med.* **344**, 1058–1066 (2001).
23. Warwicker, P. *et al.* Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int.* **53**, 836–844 (1998).
24. Fakhouri, F., Vercel, C. & Frémeaux-Bacchi, V. Obstetric Nephrology: AKI and Thrombotic Microangiopathies in Pregnancy. *Clin J Am Soc Nephrol* (2012).doi:10.2215/CJN.13121211
25. Dashe, J. S., Ramin, S. M. & Cunningham, F. G. The long-term consequences of thrombotic microangiopathy (thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome) in pregnancy. *Obstet Gynecol* **91**, 662–668 (1998).
26. Fakhouri, F. *et al.* Factor H, membrane cofactor protein, and factor I mutations in patients with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count syndrome. *Blood* **112**, 4542–4545 (2008).
27. Fakhouri, F. *et al.* Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J. Am. Soc. Nephrol.* **21**, 859–867 (2010).
28. Maynard, S. E. & Thadhani, R. Pregnancy and the kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20**, 14–22 (2009).
29. Dragon-Durey, M.-A. & Frémeaux-Bacchi, V. [Complement component deficiencies in human disease]. *Presse Med* **35**, 861–870 (2006).

30. Warning, J. C., McCracken, S. A. & Morris, J. M. A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system. *Reproduction* **141**, 715–724 (2011).
31. Girardi, G., Bulla, R., Salmon, J. E. & Tedesco, F. The complement system in the pathophysiology of pregnancy. *Mol. Immunol.* **43**, 68–77 (2006).
32. Weir, P. E. Immunofluorescent studies of the uteroplacental arteries in normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* **88**, 301–307 (1981).
33. Denny, K. J., Woodruff, T. M., Taylor, S. M. & Callaway, L. K. Complement in Pregnancy: A Delicate Balance. *American Journal of Reproductive Immunology* n/a–n/a (2012).doi:10.1111/aji.12000
34. Girardi, G. *et al.* Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Invest.* **112**, 1644–1654 (2003).
35. Xu, C. *et al.* A critical role for murine complement regulator *cr1* in fetomaternal tolerance. *Science* **287**, 498–501 (2000).
36. Sugiura-Ogasawara, M., Nozawa, K., Nakanishi, T., Hattori, Y. & Ozaki, Y. Complement as a predictor of further miscarriage in couples with recurrent miscarriages. *Hum. Reprod.* **21**, 2711–2714 (2006).
37. Girardi, G., Yarilin, D., Thurman, J. M., Holers, V. M. & Salmon, J. E. Complement activation induces dysregulation of angiogenic factors and causes fetal rejection and growth restriction. *J. Exp. Med.* **203**, 2165–2175 (2006).
38. Soto, E. *et al.* Preeclampsia and pregnancies with small-for-gestational age neonates have different profiles of complement split products. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* **23**, 646–657 (2010).
39. Lynch, A. M. *et al.* Alternative complement pathway activation fragment Bb in early pregnancy as a predictor of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **198**, 385.e1–9 (2008).
40. Sinha, D., Wells, M. & Faulk, W. P. Immunological studies of human placentae: complement components in pre-eclamptic chorionic villi. *Clin. Exp. Immunol.* **56**, 175–184 (1984).
41. Lynch, A. M. *et al.* Prepregnancy obesity and complement system activation in early pregnancy and the subsequent development of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **206**, 428.e1–8 (2012).
42. Qing, X. *et al.* Targeted inhibition of complement activation prevents features of preeclampsia in mice. *Kidney Int.* **79**, 331–339 (2011).
43. Salmon, J. E. *et al.* Mutations in complement regulatory proteins predispose to preeclampsia: a genetic analysis of the PROMISSE cohort. *PLoS Med.* **8**, e1001013 (2011).
44. Furlan, M. *et al.* von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N. Engl. J. Med.* **339**, 1578–1584 (1998).

45. Coppo, P. *et al.* Severe ADAMTS13 deficiency in adult idiopathic thrombotic microangiopathies defines a subset of patients characterized by various autoimmune manifestations, lower platelet count, and mild renal involvement. *Medicine (Baltimore)* **83**, 233–244 (2004).
46. Crovetto, F. *et al.* The genetics of the alternative pathway of complement in the pathogenesis of HELLP syndrome. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* (2012).doi:10.3109/14767058.2012.694923
47. Appenzeller, S., Souza, F. H. C., Wagner Silva de Souza, A., Shoenfeld, Y. & de Carvalho, J. F. HELLP syndrome and its relationship with antiphospholipid syndrome and antiphospholipid antibodies. *Semin. Arthritis Rheum.* **41**, 517–523 (2011).
48. Fang, C. J., Richards, A., Liszewski, M. K., Kavanagh, D. & Atkinson, J. P. Advances in understanding of pathogenesis of aHUS and HELLP. *Br. J. Haematol.* **143**, 336–348 (2008).
49. Barbour, T., Johnson, S., Cohn, S. & Hughes, P. Thrombotic microangiopathy and associated renal disorders. *Nephrol. Dial. Transplant.* **27**, 2673–2685 (2012).
50. Miha, D., Costin, N., Miha, C. M., Seicean, A. & Ciortea, R. HELLP syndrome - a multisystemic disorder. *J Gastrointest Liver Dis* **16**, 419–424 (2007).
51. Abraham, K. A., Kennelly, M., Dorman, A. M. & Walshe, J. J. Pathogenesis of acute renal failure associated with the HELLP syndrome: a case report and review of the literature. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **108**, 99–102 (2003).

NOM : VERCEL

PRENOM : Caroline

Titre de Thèse :

Anomalies de la voie alterne du complément au cours du HELLP syndrome

RESUME

- Introduction : Le HELLP (Hemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets) syndrome, syndrome frontière entre prééclampsie et microangiopathie thrombotique (MAT), est une pathologie rare mais redoutée de la grossesse exposant à des complications materno-fœtales, parmi lesquelles l'insuffisance rénale aigue. Sa physiopathologie reste à ce jour incomplètement élucidée et le rôle de la voie alterne du complément, pourvoyeur de lésions de MAT, reste à définir.
- Méthodes et résultats : L' étude, multicentrique et prospective, a permis l'exploration de la voie alterne du complément et de son système de régulation chez 45 patientes atteintes de HELLP syndrome. Quarante pour cent d'anomalies immunochimiques ou génétiques ont été documentées. Onze pour cent de mutations et 8,8% de polymorphismes rares des gènes codant pour les protéines de régulation de la voie alterne du complément (FH- FI- MCP) ont été retrouvées, , sans corrélation significative avec la survenue de complications néphrologiques.
- Conclusion : Le HELLP syndrome est relié à des anomalies génétiques de la voie alterne du complément qui, bien qu'elles ne représentent pas le facteur génétique déterminant, suggère son appartenance au spectre des microangiopathies thrombotiques de la grossesse. La dysrégulation du système du complément dans le HELLP syndrome, démasque une nouvelle facette de la complexité de ses mécanismes physiopathologiques et suggère une nouvelle cible thérapeutique potentielle.

MOTS-CLES

HELLP SYNDROME, MICROANGIOPATHIE THROMBOTIQUE, VOIE ALTERNE DU COMPLEMENT, GENETIQUE