



HAL
open science

Facteurs du complément et microangiopathie thrombotique rénale : à propos de 57 observations

Marie Crahes

► **To cite this version:**

Marie Crahes. Facteurs du complément et microangiopathie thrombotique rénale : à propos de 57 observations. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01229035

HAL Id: dumas-01229035

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01229035>

Submitted on 16 Nov 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

ANNEE 2015

**THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'Etat)

PAR

CRAHES Marie

Née Le 4 Juin 1984 à BLOIS

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 19 OCTOBRE 2015

**FACTEURS DU COMPLEMENT
ET
MICROANGIOPATHIE THROMBOTIQUE RENALE :
A PROPOS DE 57 OBSERVATIONS**

PRESIDENT DE JURY :

Pr Jean-Christophe SABOURIN

DIRECTEUR DE THESE :

Dr Arnaud FRANCOIS

MEMBRES DU JURY :

Pr Olivier BOYER

Pr Dominique GUERROT

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

ANNEE 2015

**THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'Etat)

PAR

CRAHES Marie

Née Le 4 Juin 1984 à BLOIS

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 19 OCTOBRE 2015

**FACTEURS DU COMPLEMENT
ET
MICROANGIOPATHIE THROMBOTIQUE RENALE :
A PROPOS DE 57 OBSERVATIONS**

PRESIDENT DE JURY :

Pr Jean-Christophe SABOURIN

DIRECTEUR DE THESE :

Dr Arnaud FRANCOIS

MEMBRES DU JURY :

Pr Olivier BOYER

Pr Dominique GUERROT

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014 - 2015
U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**
Professeur Benoit VEBER
Professeur Pascal JOLY
Professeur Stéphane MARRET

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Bruno BACHY (<i>surnombre</i>)	HCN	Chirurgie pédiatrique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Jean-Paul BESSOU	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise BEURET-BLANQUART (<i>surnombre</i>)	HCN	Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité
Mr Guy BONMARCHAND (<i>surnombre</i>)	HCN	Réanimation médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mr Jean-François CAILLARD (<i>surnombre</i>)	HCN	Médecine et santé au travail
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Pierre CZERNICHOW	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale

Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mme Danièle DEHESDIN (<i>surnombre</i>)	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Frédéric DI FIORE	CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Philippe DUCROTTE	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel GODIN (<i>surnombre</i>)	HB	Néphrologie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Philippe GRISE (<i>surnombre</i>)	HCN	Urologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato - Vénérologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Xavier LE LOET	HCN	Rhumatologie
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
Mr Eric LEREBOURS	HCN	Nutrition
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne

Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Bruno MIHOUT (<i>surnombre</i>)	HCN	Neurologie
Mr Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophtalmologie
Mr Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Jean-Marc PERON (<i>surnombre</i>)	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
Mr François PROUST	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Horace ROMAN	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépto-gastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive

Mr Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mr Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Jeremy BELLIEN	HCN	Pharmacologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas MOUREZ	HCN	Bactériologie
Mr Jean-François MENARD	HCN	Biophysique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mme Dominique LANIEZ	UFR	Anglais
Mr Thierry WABLE	UFR	Communication

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
Mr Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE	Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Isabelle LEROUX - NICOLLET	Physiologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique BOUCHER	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mr Jean CHASTANG	Biomathématiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mr Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie

Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUIVET	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mr Jérémie MARTINET	Immunologie
----------------------------	-------------

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mr Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie
Mr François HALLOUARD	Galénique

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
Mr Jean CHASTANG	Mathématiques
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR

Mr Jean-Loup **HERMIL** UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mr Alain **MERCIER** UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Serguei FETISSOV (med)	Physiologie (ADEN)
Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (phar)	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline GAILDRAT (phar)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (phar)	Neurophysiologie
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle TOURNIER (phar)	Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation SJ – Saint Julien Rouen

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

REMERCIEMENTS

Monsieur le Professeur Sabourin,

Vous me faites l'honneur de présider ce jury.

Vous m'avez encouragé et soutenu durant tout mon internat.

Je vous suis extrêmement reconnaissante de la confiance que vous m'accordez.

Monsieur le Professeur Guerrot,

Vous avez accepté de juger ce travail.

Pour votre aide et le temps consacré à cette tâche je vous en remercie.

Monsieur le Professeur Boyer,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail.

Pour l'intérêt que vous portez à ma thèse, recevez ma sincère gratitude.

Arnaud,

Vous m'avez proposé ce sujet et c'est avec une grande joie et un grand honneur que j'ai accepté.

Après avoir dirigé mon mémoire de DES, nous avons récidivé pour travailler ensemble sur ma thèse, ce qui a été pour moi des plus enrichissants.

Merci pour tout ce temps consacré à nos travaux ainsi que vos nombreux conseils.

Merci de m'avoir fait aimer le C4d, les glomérules, les cardiomyocytes, l'ORL, et l'immunofluorescence.

Merci de votre soutien indéfectible en toutes circonstances et de votre bienveillance à mon égard.

J'espère avoir été digne de la confiance que vous m'avez témoignée.

A tous les médecins du service d'Anatomo Pathologie de Rouen, Mme Gobet, Mme Lemoine, Laurence, Sophie, Florence, Christelle, Mme Macé, Mme Pellerin, Mme Laquerrière, Emmanuel, Moutaz, Philippe, Cataline et M. De Kergal.

Mme Gobet, merci pour votre présence, votre douceur et votre côté maternel. Oui Olivia avait raison, quand on rentre dans votre bureau, c'est comme à la maison.

Une pensée particulière pour Emmanuel Touré. « La petite » te remercie de lui avoir appris à faire une autopsie dans les règles de l'art, à disséquer un cœur comme un livre ouvert et à traquer le micro foyer de carcinome papillaire. Merci aussi de m'avoir appris qu'en 15 min on pouvait en caser 30 voire bien plus....

Sophie merci pour tout ce que tu as fait pour moi et pour tout ce que tu m'as appris.

Au Docteur Francis Roussel.

Au service de Gastroentérologie d'Elbeuf.

Je garderai un merveilleux souvenir de mon premier semestre d'internat passé parmi vous, qui m'a permis de ne pas oublier le lien entre la clinique et l'anatomopathologie.

A tous les médecins du service d'Anatomo Pathologie du Centre Henri Becquerel de Rouen, M. Picquenot, Liana et Anca.

A tous les médecins du service de Médecine Légale de Rouen, M. Proust, Cyril, Damien, Benjamin, Sophie, Emmanuelle, Catherine et Re-Emmanuel !

A tous les médecins du service de Médecine Légale de l'Hôpital Raymond Poincaré de Garches, M. Lorin de la Grandmaison, Dr Rainaud, Anne-Sophie, Emmanuelle, Stéphanie, Cédric.

A tous les techniciens du service de Pathologie de Rouen, Annie et Annie, Carole, Céline, Damien, Danny, Fabien, Ingrid, Laetitia, Lydie, Marianne, Marie-Noël, Martine, Michèle, Myriam, Nadine et Sylvain. C'est avec une grande joie que j'ai passé les années de mon internat à vos côtés.

Martine, la gardienne du temple, merci pour ta bonne humeur et ton enthousiasme.

Sylvain, merci pour toutes les autopsies de fœtus que nous avons faites ensemble avec dynamisme et bonne humeur. Merci pour tous les services rendus toujours avec le sourire, ton professionnalisme et ton efficacité. Merci également pour tous les blocs et lames sortis pour ma thèse.

Une pensée particulière pour **le 4^{ème} étage, Sylvie, Alexandra et Stéphanie**, pour avoir réalisé les techniques d'immunofluorescence et d'immunohistochimie de ma thèse. Merci pour votre gentillesse, votre bonne humeur et votre disponibilité.

A notre regrettée Chantale.

A tous mes co-internes,

Je vous remercie pour tous les moments agréables passés à vos côtés, en stage, en cours, en dehors du service, et bien sûr TOUS les midis à l'internat !!! Une petite pensée pour toutes les calories que je vous ai faites engloutir pendant mon internat, et aux parfums de roses et de fromage que j'ai partagés avec vous lors de mon dernier semestre !!

Fanny et Claire, co-internes, mais surtout amies et confidentes. Que de bons souvenirs à vos côtés ! Fanny ma compère du mardi soir, partenaire des buffets et des séances tablettes de chocolat. Partenaire également dans la souffrance de l'azote liquide.

Claire ma compère des opérations piscine et shopping, des séances « p'tits tom » de la Croix de Pierre. Merci à toutes deux pour les soirées pintades, les calories ingurgitées, les fous rires, les pleurs parfois, les mots réconfortants, les secrets, bref merci pour tous ces moments que nous avons passés ensemble. Les filles je vous adore !!!

Florent dit Floflo, l'unique, le seul, mon coéquipier de l'aventure Lilloise, toujours le sourire et prêt à rendre service. Merci pour ta gentillesse et ton amitié !

Pierre, merci pour ton humour, ta bonne humeur, nos disputes légendaires, et tes gâteaux. Prends bien soin de ta plante verte sur ton bureau, mais ne rêve pas, tu n'égaleras jamais mes roses rouges.

Hélène, nous sommes arrivées ensemble à Rouen en novembre 2010. Je termine avec un an d'avance. Merci pour ta joie de vivre et ton dynamisme.

A Laetitia, Gwendoline, Lucie, Elsa, Marie, Lucille et Mohamed.

A mes anciens co-internes maintenant devenus chefs.

A Nicolas et Emilie, ce fut un plaisir de partager mon début d'internat ensemble. Nicolas merci pour ta discrétion, tes blagues et pour les fonds d'écran horribles sur mon ordinateur !!!!! Emilie, merci pour ta bonne humeur inégalable, tes conseils, ainsi que pour mes dernières séances de divers de ma vie d'interne !!

A Maxime, pour les 1589 blagues sur les loups, les légistes et les fœtus. Oui je n'ai pas réussi à te faire aimer ces trois choses-là mais le principal est que tu aies apprécié mes pâtisseries pendant ces 5 années !!

A Michael pour le merveilleux semestre que tu nous as fait passer à Becquerel avec Claire. C'est une grande joie de t'avoir pour ami. A très bientôt en Amérique du Nord !!!

A Benjamin, pour m'avoir pris sous ton aile les premières semaines de ma vie d'interne, pour m'avoir guidée et encouragée.

A Olivia, Dalila et Solène.

Aux co-internes et chefs des autres spécialités,

Marine, je suis très heureuse d'avoir travaillé avec toi sur les MAT. Merci pour tout le temps que tu y as consacré. Je te souhaite plein de courage pour ton mémoire de DES et la fin de ton internat !

A Agnès, Céline, Marie-Hortense, Nathalie et Vincent.

Aux secrétaires du service,

Merci pour avoir écouté et tapé pendant 5 ans mes comptes rendus !

A tous mes amis, grâce à qui je n'oublie pas qu'il y a une vie en dehors de la médecine.

Cynthia, mon amie et sœur. Que de chemin parcouru depuis les bancs de la faculté de Tours ! L'ENC nous a séparés mais pourtant nous n'avons jamais été aussi proches. Un mariage, une naissance, et encore tant de choses à partager ensemble. Grâce à toi me voilà marraine, je serai digne de la confiance que vous m'accordez ! Ton amitié m'est précieuse.

A Thibaut, merci de si bien veiller sur Cynthia et notre petite Rose.

A Alice et Jérémie, mon premier ami à la faculté. Un petit clin d'œil aux cours d'anatomie mémorables, à ta tarte aux fromages, tes blagues et tes chamailleries avec Cynthia. Merci d'avoir supporté pendant six ans mes crises de panique devant les panneaux d'affichages des résultats d'examen.... Aucune thérapie n'aura jamais fonctionné.

Pauline et Joseph, notre modèle à tous du couple parfait depuis les bancs de la fac.

A Elodie, mon binôme des révisions de l'ECN, nous voilà docteur le même jour !

A Alice et Julien, Magali, Fleur, Chloé, Héroïse, Benjamin et François.

A Emma et Romain. Ma petite Emma, quel bonheur d'avoir croisé ton chemin en Médecine Légale. Merci pour ta réserve de chocolat qui m'a souvent sauvée d'un état de manque aigu.

Au Québec,

Kitanha, la plus merveilleuse des Québécoises. Merci de m'avoir ouvert tes portes. J'ai hâte de partager mon année à Montréal avec toi.

Aux médecins du Laboratoire des Sciences Judiciaires et de Médecine Légale de Montréal.

Merci de m'accueillir parmi vous.

A tous les loups, caribous, écureuils, castors, ratons laveurs et autres amis que je vais avoir la chance de croiser pendant mon année à Montréal !!!!

A la famille Albert

Merci de m'avoir accueilli comme votre fille, avec tendresse et bienveillance.

A Thomas et Nicolas.

A Néfertiti, ma petite compagne de 17 années de bonheur.

A Rodolphe,

Quelques lignes pour t'exprimer ce que tu sais déjà.

Aucun hasard, ni chance, juste une évidence, une nécessité.

Depuis le Ciel de Paris je contemple un horizon, le nôtre, subtil mélange de douceur, force, complicité, tendresse, confiance, respect et amour. Je tourne chaque jour les pages de mon livre ouvert, tandis qu'assis sur une chaise Luxembourg deux écritures s'entremêlent et dessinent un avenir sur un carnet blanc, dont la 1^{ère} page porte l'inscription « 49 », un chiffre magique.

Plus qu'hier et moins que demain.

Avec tout mon amour.

A Elodie,

La vie nous a séparées mais mon cœur et mon esprit sont à tes côtés.

Je n'oublierai jamais que le même sang coule dans nos veines.

Je t'aime ma chère sœur.

A ma mère,

Pour m'avoir donné le bien le plus précieux, la vie.

Merci de m'avoir laissée libre et d'accepter mes choix.

Merci d'être toujours là.

A mon père,

Mon héros, mon mentor, mon meilleur ami, mon ange gardien, la branche sur laquelle me poser.

Si je suis ici aujourd'hui c'est grâce à toi, alors aucun discours ni simple mot ne sera assez fort pour t'exprimer ce que je ressens.

Que le temps passe vite, que de chemins parcourus ensemble, plus ou moins escarpés. Tu m'as tout appris, tout donné mais surtout tu m'as offert la chance d'être moi-même, une femme libre, indépendante et pleine de vie.

J'espère que tu es fier de ta fille car moi, je suis fière de l'être.

Je te dédie cette thèse, le fruit de ton merveilleux dévouement pour ta fille.

Ta fille qui t'aime.

LEXIQUE

Ac	Anticorps
AJG	Artériole juxta glomérulaire
AIL	Artère inter-lobulaire
CG	Capillaire glomérulaire
CPT	Capillaire péri-tubulaire
HES	Hématoxyline Eosine Safran
HTA	Hypertension artérielle
Ig	Immunoglobuline
IF	Immunofluorescence
IFI	Immunofluorescence indirecte
IHC	Immunohistochimie
MAC	Complexe d'attaque membranaire
MAT	Microangiopathie thrombotique
ME	Microscopie électronique
PBR	Ponction biopsie rénale
SHU	Syndrome hémolytique et urémique
SHUa	Syndrome hémolytique et urémique atypique
vWf	Facteur de von Willebrand

Table des matières

I) INTRODUCTION.....	4
A- Les Microangiopathies Thrombotiques.....	4
1- Généralités, critères diagnostiques	4
2- Histologie rénale	8
B- Le système du complément.....	11
C- Le C4d	15
1- Physiopathologie du C4d.....	15
2- Méthode de détection du C4d.....	17
D- Le Complément et les Microangiopathies thrombotiques : Mécanismes physiopathologiques.....	19
E- Perspectives	22
II) BUT DE L'ETUDE	24
III) MATERIEL ET METHODE	24
A- Population étudiée.....	24
B- Evaluation histologique.....	24
C- Etude en immunofluorescence et en immunohistochimie	25
1- Etude en immunofluorescence du C4d, C5b9, C3, C4, C1q.....	25
2- Etude immunohistochimique du C4d	27
D- Données cliniques et biologiques.....	29
E- Analyses statistiques.....	29
IV) RESULTATS.....	30
A- Données démographiques et paramètres cliniques des MAT.....	30
B- Analyse histopathologique des MAT	32
C- Analyse des MAT en immunofluorescence	33
1- Prévalence et localisation du C4d.....	33
2- Prévalence et localisation du C5b9.....	35
3- Prévalence et localisation du C3, C4 et C1q	36
D- Analyse des MAT en immunohistochimie paraffinée.....	36
E- Comparaison des groupes en fonction de l'aspect de la fixation de l'Ac anti-C4d : C4d+ et C4d-.....	38
1- Critères clinico-biologiques en fonction de l'aspect de fixation de l'Ac anti-C4d	38
2- Critères histologiques en fonction de l'aspect de fixation de l'Ac anti-C4d.....	40
3- Aspect de fixation de l'Ac anti-C4d et de l'Ac anti-C5b9 en fonction de l'étiologie de la MAT	42

4- Comparaison du marquage glomérulaire par l'Ac anti-C4d en IHC versus IF	44
V) DISCUSSION	47
A- Limites de notre étude et difficultés rencontrées	47
1- Limites méthodologiques	47
2- Limites liées aux effectifs	48
3- Difficultés d'interprétation du C4d	48
B- Analyse de la fixation de l'Ac anti-C4d et données de l'histologie	48
C- Etude du marquage de l'Ac anti-C4d dans les MAT et données de la littérature	49
1- Fixation de l'Ac anti-C4d au cours du SHUa	51
2- Fixation de l'Ac anti-C4d au cours des cancers traités ou non	51
3- Fixation de l'Ac anti-C4d au cours de l'HTA maligne	53
D- Les voies d'activation du complément au cours des MAT	54
E- Intérêt du C4d : de la physiopathologie aux thérapeutiques ciblées ..	54
F- C3 et C4 sériques versus IHC et IF	55
G- Hypothèses physiopathologiques C4d, MAT et coagulation	56
VI) CONCLUSION	58
VII) REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	59

I) INTRODUCTION

A- Les Microangiopathies Thrombotiques

1- Généralités, critères diagnostiques

La microangiopathie thrombotique (MAT) est une lésion histologique peu fréquente qui se définit par l'atteinte des petits vaisseaux. Elle traduit la souffrance et la dysfonction des cellules endothéliales constituant le facteur clé de la survenue de la MAT.

Cette MAT se caractérise par la présence d'agrégats plaquettaires multiples et de thromboses fibrineuses dans les artérioles de petit calibre et les capillaires glomérulaires (CG) [1]. Ces thromboses ne sont pas retrouvées de façon constante.

La MAT est le plus souvent systémique ; les reins et le cerveau étant le plus souvent affectés.

La présentation clinique se caractérise par une thrombocytopénie périphérique par consommation des plaquettes, une anémie hémolytique, une altération mécanique des érythrocytes (schizocytes) due à la présence d'un flux sanguin turbulent au sein du thrombus et un effondrement de l'haptoglobine. Il existe également une augmentation des mégacaryocytes médullaires ainsi qu'une élévation importante du taux de lactate deshydrogénase (LDH) par hémolyse et nécrose tissulaire [1].

La cellule endothéliale constitue une barrière à la migration des cellules sanguines vers les tissus. De nombreux facteurs peuvent altérer ces cellules endothéliales et déclencher des lésions de MAT [2]. Les différentes étiologies sont résumées dans le tableau 1.

ETIOLOGIES DES MAT

Purpura thrombotique thrombopénique (PTT) acquis ou congénital

Syndrome hémolytique et urémique (SHU) typique ou atypique

MAT et grossesse

HELLP syndrome

Pré éclampsie

Grossesse associée à un PTT acquis ou congénital ou un SHU atypique

Toxicité médicamenteuse

Transplantation

Autres causes

Infections

Tumeurs malignes

Syndrome des Anticorps anti phospholipides (SAPL)

Lupus érythémateux disséminé (LED)

Coagulation intra vasculaire disséminée (CIVD)

Hypertension artérielle maligne

Hypertension artérielle pulmonaire sévère

Sclérodermie

Tableau 1 : Les différentes étiologies des MAT

Le syndrome hémolytique et urémique (SHU) typique, est lié dans plus de 90% des cas à une infection à *Escherichia coli*, le plus souvent de souche 0157 :H7. Cette bactérie produit des shigatoxines (STEC ou Shiga toxin producing *Escherichia Coli*). Plus rarement, le SHU est secondaire à des infections invasives à *Streptococcus pneumoniae*. L'affection survient surtout chez les enfants, avec une prévalence maximale chez les enfants de moins de trois ans. Elle survient en moyenne six jours après le début de la diarrhée. Le SHU se caractérise par une phase prodromique associant diarrhée, vomissements, douleurs abdominales et parfois fièvre. La thrombocytopénie et l'insuffisance rénale s'installent le plus souvent

alors que les signes digestifs se sont estompés [1, 3]. Le traitement est symptomatique [2]. La dialyse est parfois nécessaire.

Le SHU atypique (SHUa), est une forme héréditaire de SHU, beaucoup plus rare, touchant aussi bien les adultes que les enfants [4]. Il résulte le plus souvent d'une mutation sur des protéines intervenant dans la voie du complément. L'expression clinique de découverte est celle de tout syndrome de MAT, avec plus fréquemment une insuffisance rénale aiguë sévère ainsi qu'une hypertension artérielle (HTA) [3]. Les échanges plasmatiques constituent le traitement de première ligne.

Le purpura thrombotique thrombopénique (PTT) est une MAT de l'adulte, dominée par la gravité de l'atteinte neurologique. L'atteinte rénale est rarement sévère. Il s'agit d'une maladie auto immune rare, consécutive à la fabrication d'auto-anticorps (Ac) dirigés contre une métalloprotéase sérique (ADAMTS13) qui a pour rôle de cliver le facteur de von Willebrand (vWf). Le PTT survient en général après un événement déclenchant comme une grossesse, une infection ou une tumeur. Le PTT peut également venir compliquer d'autres pathologies comme le lupus ou d'autres pathologies auto immunes [2]. Le diagnostic repose sur la recherche de l'activité d'ADAMTS13 dans le plasma qui est en général inférieure de 10% par rapport à la normale [3].

Il existe une forme de PTT congénitale (5 à 10% des cas de PTT), encore appelé syndrome d'Upshaw-Schulman, très rare, de transmission autosomique récessive (OMIM #274150). Il existe dans ce cas une mutation sur le gène codant pour ADAMTS13, situé sur le chromosome 9q34.2. Le diagnostic repose sur la mise en évidence de la mutation et l'absence d'Ac anti-ADAMTS13.

Enfin, il existe une forme de PTT acquis idiopathique, sans déficit en ADAMTS13.

Le traitement du PTT réside dans l'administration de plasma par échanges plasmatiques.

Plus de cinquante molécules ont été décrites comme pouvant être responsables de MAT, en particulier les thiéno-pyridines (ticlopidine, clopidogrel) entraînant le plus souvent une MAT après 2 à 12 semaines de traitement, mais aussi

les anti-calcineurines (cyclosporine et tacrolimus), les inhibiteurs de la voie mTOR (sirolimus, everolimus), les anti-VEGF ainsi que la quinine [2].

La MAT est aussi une complication bien connue de la transplantation rénale, même si elle reste rare. Elle peut être de novo ou bien récurrente après la transplantation. Elle est souvent concomitante d'une toxicité médicamenteuse, d'une infection, d'une HTA maligne, d'une récurrence de sclérodémie ou de SHU [5].

Au cours de la grossesse, la MAT fait partie du tableau de l'HELLP syndrome et peut être associée à la pré-éclampsie. La grossesse peut également être un facteur déclenchant du PTT ou d'un SHUa. Les thrombopénies gestationnelles, causes les plus fréquentes de thrombopénie chez la femme enceinte, ne sont pas associées à une anémie hémolytique et sont facilement distinguées des MAT [2].

Les autres étiologies de MAT regroupent diverses affections : l'HTA pulmonaire ou systémique, des pathologies tumorales malignes à un stade avancé (plutôt des adénocarcinomes), la sclérodémie, la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), la sclérodémie et le syndrome des Ac anti-phospholipides (SAPL) ainsi que le lupus érythémateux disséminé (LED) [2].

La figure 1 représente un algorithme pour l'évaluation des MAT, chez les enfants et les adultes.

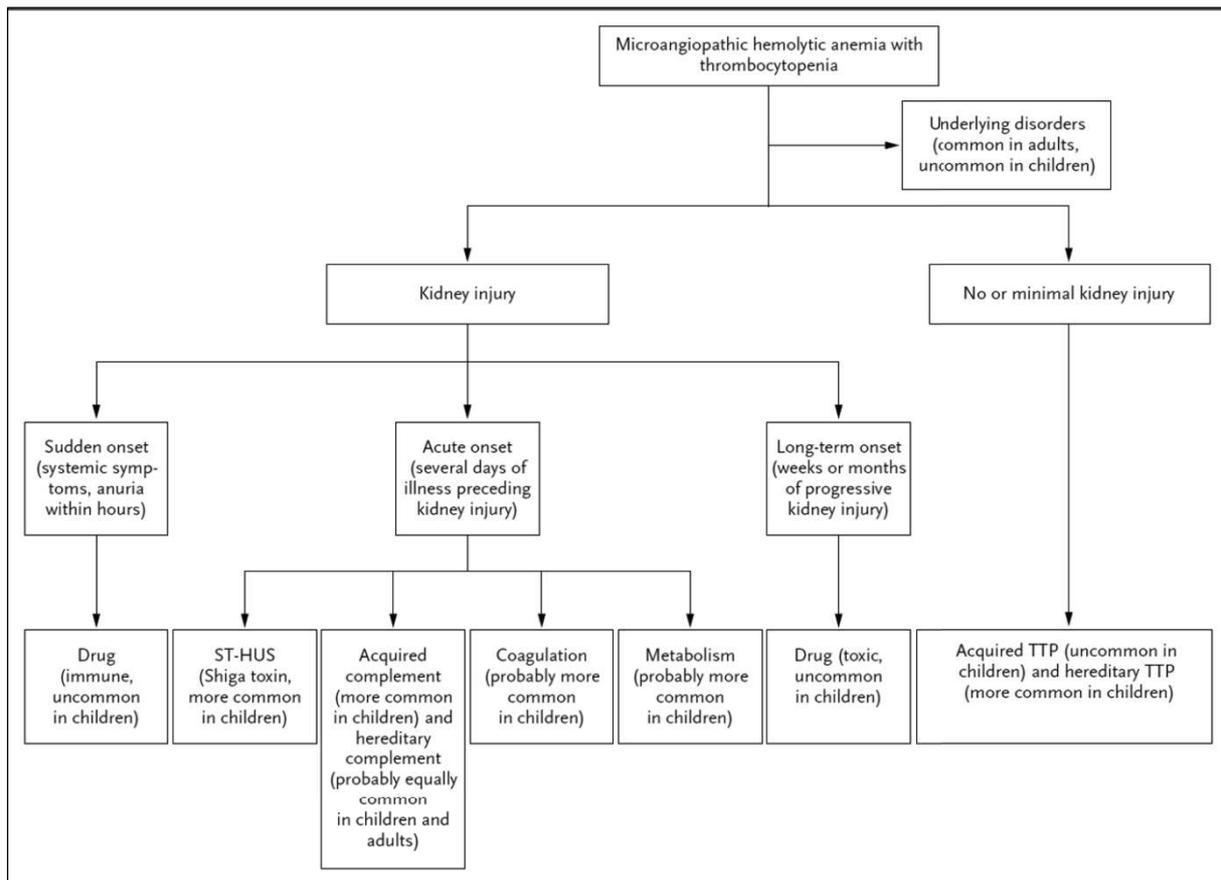


Figure 1 : Algorithme pour l'évaluation des patients présentant une anémie hémolytique avec microangiopathie et thrombocytémie [3].

2- Histologie rénale

Les lésions observées résultent de la présence de thromboses au sein de la micro vascularisation rénale et de l'ischémie qui en résulte. On observe des lésions glomérulaires et/ou artériolaires (figure 2) [6].

Les lésions glomérulaires résultent d'une « atteinte lésionnelle » de la cellule endothéliale. Les atteintes caractéristiques se caractérisent par la présence de thrombi intracapillaires glomérulaires, d'une ischémie glomérulaire (floculus rétracté sur son pied d'implantation), d'une turgescence endothéliale avec une congestion des boucles capillaires (boucles capillaires remplies d'hématies). On retrouve également un aspect de double contour de la paroi capillaire souvent épaissie ou « espace clair sous endothélial » correspondant à des amas de fibrine, de plaquettes

et d'hématies fragmentées. Parfois, on observe une mésangiolyse voire des micro-anévrismes.

Les lésions vasculaires touchent par définition les artères de petit calibre, d'un diamètre inférieur à 200µm. A un stade précoce, il existe un épaissement de la paroi vasculaire avec une turgescence des cellules endothéliales, des thrombi fibrineux, une endartérite mucoïde (œdème mucoïde) ainsi qu'une nécrose fibrinoïde des cellules endothéliales et des myocytes avec disparition des noyaux. La nécrose fibrinoïde évolue vers la constitution de dépôts hyalins dans l'intima et la média. A un stade plus tardif, se développe une prolifération myofibroblastique associée à une production de collagène s'organisant en couches concentriques réalisant un aspect en « bulbe d'oignon » ou « formation gloméruloïde ». Cette prolifération conduit à une oblitération des vaisseaux. Il n'est pas observé d'infiltrat inflammatoire associé. Les artères de plus gros calibre comme les artères inter-lobulaires (AIL) peuvent présenter des modifications mais qui ne sont pas spécifiques des MAT.

L'atteinte tubulo-interstitielle est constante dans les MAT allant de la dilatation tubulaire à des nécroses épithéliales tubulaires jusqu'à un aspect de nécrose tubulaire aiguë. L'interstitium rénal peut présenter un œdème voire une fibrose, avec un infiltrat inflammatoire modéré.

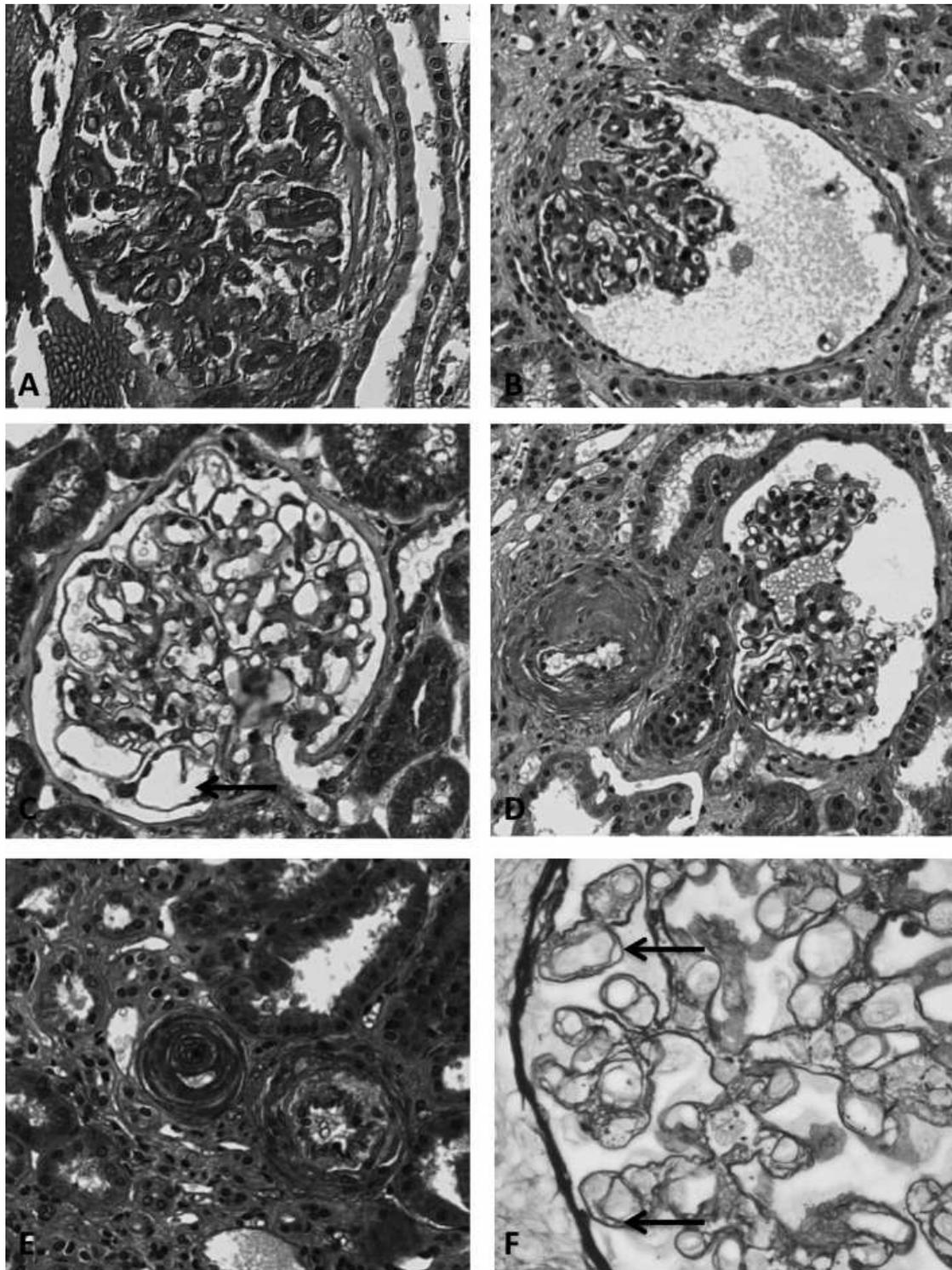


Figure 2 : Lésions histologiques dans les MAT sur la coloration au Trichrome vert de Masson. A) Thromboses glomérulaires avec épaissement des parois des CG et mésangiolyse, x 40; B) Glomérule ischémique avec rétraction du flocculus au pôle vasculaire du glomérule, x40; C) Micro-anévrysmes des CG (flèche), x40; D) Endartérite fibreuse d'une AIL, x20; E) Thrombose artériolaire avec endartérite fibreuse débutante, x40 ; F) Aspect en double contour des CG (flèche) sur l'argentation de Jones, x40.

Depuis la découverte qu'un déficit dans la régulation du complément était la principale cause de SHUa, de nombreuses questions ont été soulevées quant à la pathogénèse du système du complément dans le développement des MAT.

Le système du complément est un système de protéines découvert pour la première fois en 1896 [7]. Il est composé de plus de trente protéines soit solubles, soit membranaires [8, 9]. L'activation du complément conduit à une cascade de réactions enzymatiques jouant un rôle dans l'immunité innée, mais constitue aussi un des principaux mécanismes effecteurs de la réponse spécifique impliquant les lymphocytes B et T, et le maintien de la « mémoire immunologique ». Ce système joue également un rôle dans l'inflammation, la réponse immune à des organismes infectieux (bactéries, virus, parasites), des dommages tissulaires de nature physique biochimique ou néoplasique, ainsi que toute surface considérée comme du « non-soi » [4].

Cette activation du complément peut se dérouler selon trois voies distinctes [4] :

- la voie classique,
- la voie alterne,
- la voie des lectines.

Ces trois voies aboutissent à la voie commune pour former le complexe d'attaque membranaire (MAC).

La voie classique est la voie majoritaire d'activation du complément. Cette voie est activée lors de la formation d'un complexe immun après fixation d'une immunoglobuline (Ig) à une surface pathogène ou une molécule du « non-soi ». L'activation de la voie est initiée par la fixation du C1q, associé à deux sérines estérases (C1r et C1s), à un de ses ligands, le plus souvent IgM, IgG1, mais aussi IgG2 et IgG3, présents dans les complexes immuns. Cette fixation entraîne la formation du complexe C1qrs qui acquiert la capacité de cliver le C4 présent dans le plasma en un fragment de C4a libéré et un fragment majeur de C4b. Le composant C2 circulant dans le plasma peut alors s'associer au C4b et être à son tour clivé en un fragment C2b libéré dans la circulation et un fragment C2a qui reste associé à

C4b. Ainsi se forme le complexe C4b2a, appelé C3 convertase classique, ayant la capacité de cliver le C3 (protéine du complément la plus abondante dans le sang) en C3a et en C3b. Le C3a est relargué dans la circulation.

La voie des lectines est activée par les structures carbohydrates des micro-organismes. La protéine sérique de reconnaissance est la protéine MBL (Mannan Binding Protéine). Elle possède une grande analogie avec la C1q et est associée à des sérines estérases appelées MASP 1, 2 et 3 (Mannan-Associated Serine Protease). Une fois activées, les MASP acquièrent la capacité de cliver les protéines C4 et C2 et participent à la formation de C3 convertase, identique à celle formée à l'issue de l'activation par la voie classique.

La voie alterne est activée par des substances d'origine bactérienne telles que le liposaccharide (LPS) des bactéries Gram positives, des virus ou des cellules infectées ou transformées. Cette voie aboutit à la formation de la C3 convertase alterne. La C3 convertase alterne consiste en l'association d'une molécule de C3 avec le Facteur B, qui sera clivée par une sérine protéase, le Facteur D, produisant des fragments Bb et Ba. Le fragment Bb reste associé au C3b, formant le complexe C3bBb ou C3 convertase de la voie alterne, capable de catalyser le clivage C3 en C3b.

Ces trois voies convergent vers la voie finale commune. L'association des C3 convertases avec des molécules supplémentaires de C3b aboutit à la formation des complexes C4b2a3b et C3bBb3b. Ces complexes se lient à la protéine C5 permettant sa protéolyse et la formation d'une molécule de C5a et de C5b. Le C5b peut alors s'associer aux composants C6, C7, C8, C9, constituant le complexe d'attaque membranaire (MAC ou C5b9) capable d'induire une lyse osmotique de la cellule.

De plus, les puissantes anaphylatoxines C3a et C5a libérées durant le processus sont capables de recruter des cellules inflammatoires sur le site de l'activation (figure 3) [10].

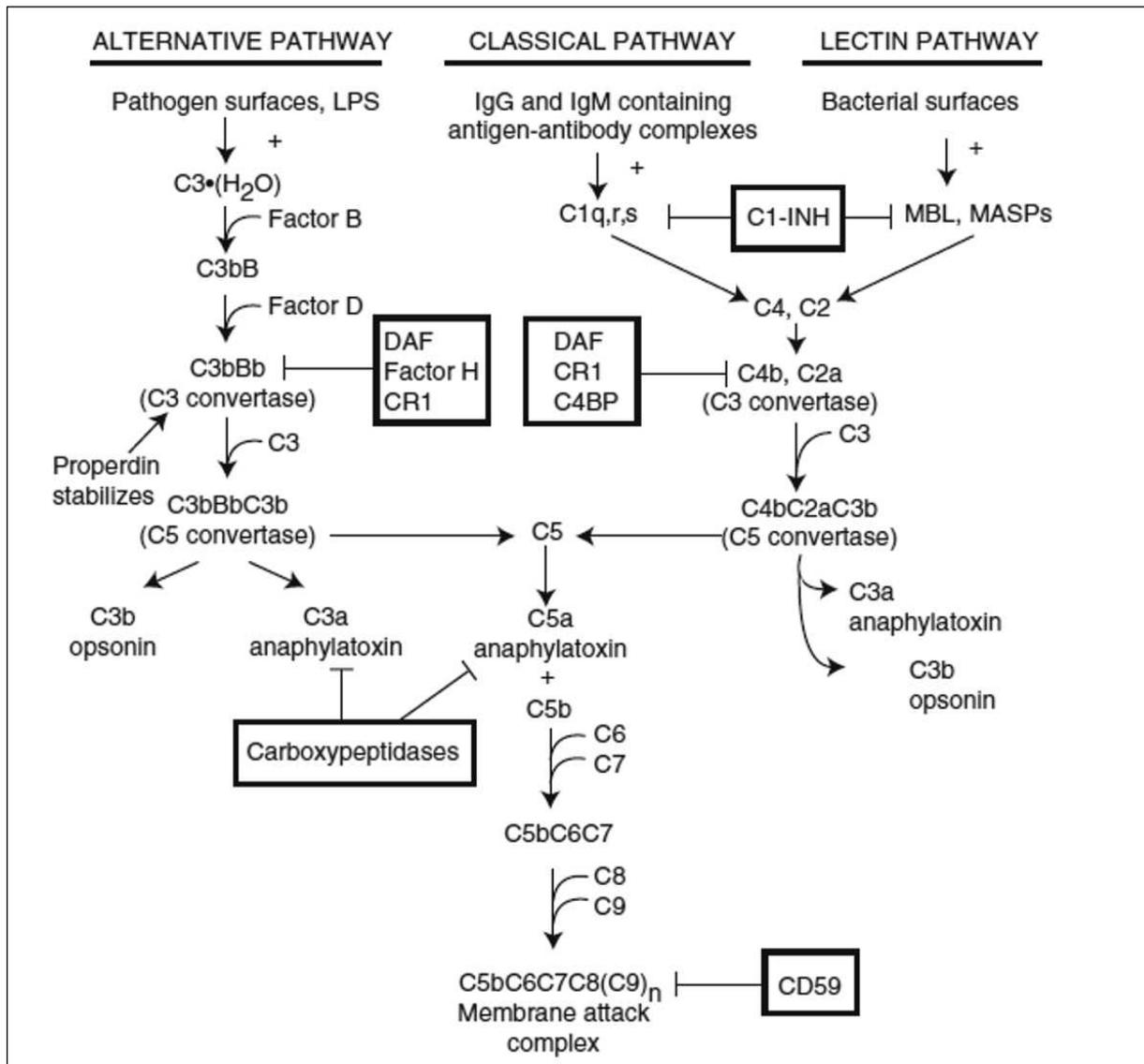


Figure 3 : les trois différentes voies d'activation du complément [4].

Comme pour toute cascade d'activation, il existe de nombreuses protéines circulantes ou membranaires permettant de réguler les différentes voies d'activation et de protéger ainsi les tissus contre la lyse médiée par le complément [4]. L'un des moyens de régulation est de cliver les composants générés par l'activation du système du complément, sous une forme inactive.

Le facteur I permet notamment, dans la voie classique, de cliver C3b et C4b en leur forme inactive (iC3b et iC4b). Le nouveau clivage du iC4b par le facteur I produit une molécule soluble de C4c ainsi qu'un C4d [11, 12]. Comme la production

de C4a et de C4b à partir du C4 résulte de l'activation de la voie classique, la génération de C4d est donc le témoin de l'activation de la voie classique.

D'autres protéines de la régulation existent comme le facteur H qui contrôle l'initiation de la C3-convertase alterne, mais aussi la protéine DAF (Decay Accelerating Factor) qui est régulateur négatif des C3 et C5 convertase classique ou alterne, ou encore le CD59 et la protéine S qui contrôlent la formation du MAC.

L'absence de contrôle de l'activation du complément peut conduire à une perturbation de l'endothélium, à l'activation plaquettaire, au recrutement de leucocytes, autant de facteurs contribuant à la formation du thrombus.

Actuellement, le complément n'est plus considéré comme jouant seulement un rôle dans les mécanismes de défense.

En plus de permettre la phagocytose par opsonisation de micro-organismes et de stimuler l'inflammation grâce à des médiateurs de l'inflammation, le système du complément est également composé de multiples protéines régulatrices et d'inhibiteurs qui permettent à l'organisme de réguler le lieu et l'activation du système, afin de préserver l'homéostasie [13]. Il joue un rôle dans la maturation des synapses, l'élimination des complexes immuns, l'angiogénèse, la mobilisation des cellules hématopoïétiques et des progéniteurs, la régénération des tissus, l'ischémie, ainsi que le métabolisme lipidique [14].

Le système du complément est donc un groupe de protéines dont la dérégulation de l'activation conduit à de nombreuses situations pathologiques, comme les maladies auto-immunes (par exemple le LED), le syndrome d'ischémie-reperfusion, les chocs septiques, l'allergie ou les contextes de rejet de greffe, mais aussi les maladies liées à l'âge comme les pathologies neurodégénératives [4, 14].

1- Physiopathologie du C4d

Le C4d est un produit inactif de dégradation secondaire à l'activation du C4, sans fonction biologique connue, ni récepteur [10]. Bien que le C4d soit considéré comme une preuve de l'activation de la voie classique, il est important de noter que le C4d peut être également produit à partir de la voie des lectines [15-17]. Par conséquent, le C4d peut être produit sans fixation première d'un Ac (figure 4).

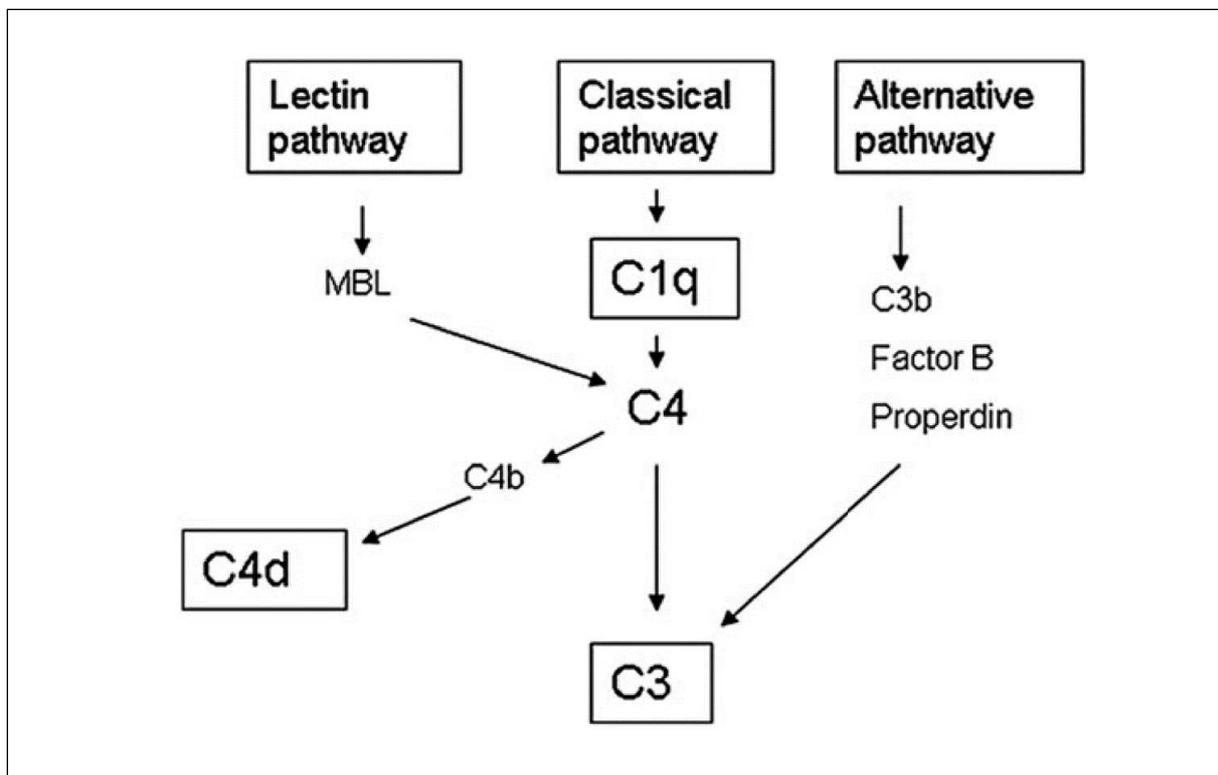


Figure 4 : Place du C4d dans le système du complément [29].

Le C4b possède un thioester interne à la molécule lui donnant la possibilité de créer une liaison covalente avec un groupe hydrogène libre. Quand le C4d est libéré du C4b, la liaison covalente entre le C4d et le tissu reste intacte. Cette liaison covalente qui possède une demi-vie longue, permet donc au C4d de rester « ancré » au tissu, sur le lieu même de l'activation du complément [10].

L'introduction du C4d s'est avérée être un atout majeur dans le diagnostic du rejet Ac-médié. L'accumulation de C4d le long des capillaires péri-tubulaires (CPT) a longtemps été considérée comme le marqueur du rejet à médiation humorale [10], même s'il s'avère qu'en pratique, ce marquage est moins sensible qu'envisagé initialement [18].

La distribution exacte du C4d dans la pathologie du rejet a été montrée grâce à la microscopie électronique [19]. Les particules C4d sont localisées au contact de la lumière des CPT, entre les cellules endothéliales et la membrane basale (et parfois sous la forme de vésicules intracytoplasmiques), réalisant un marquage linéaire le long des CPT (figure 5).

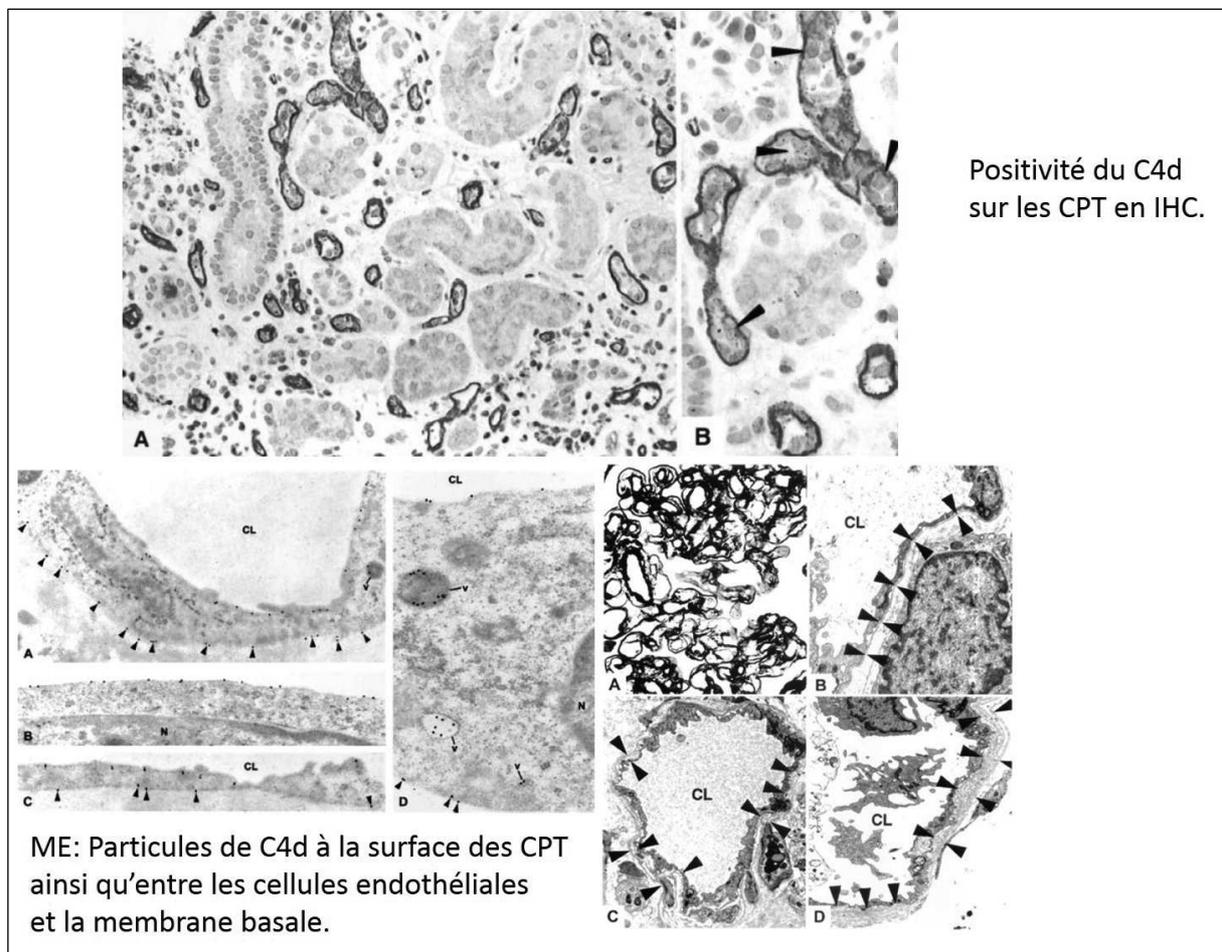


Figure 5 : Aspect du marquage du C4d sur les CPT en IHC et en microscopie électronique [19].

Le C4d est introduit dans la classification de Banff en 2003 comme marqueur de rejet humoral en association avec la présence d'Ac anti-donneur et de critères morphologiques [20]. Dans la dernière classification de Banff de 2013, la détection du C4d au niveau des CPT n'est plus exigée pour le diagnostic de rejet humoral en raison de sa faible sensibilité malgré sa grande spécificité [21].

2- Méthode de détection du C4d

Le C4d peut être facilement détecté en immunofluorescence indirecte (IFI), sur coupe congelée, ou bien sur tissu fixé en paraffine par étude immunohistochimique (IHC) [17].

- L'IFI sur matériel congelé, utilise un Ac monoclonal anti-C4d et une détection à l'aide de la fluorescéine isothiocyanate.
- L'IHC sur tissu formolé et inclus en paraffine, utilise un Ac primaire polyclonal anti-C4d et une détection par immunoperoxydase.

Il a été démontré que la technique par IFI est une technique plus sensible que l'IHC pour la détection du C4d [22-25]. L'interprétation du C4d en IHC est plus difficile et il existe des difficultés d'interprétation avec une plus grande variabilité inter-observateur. L'inclusion en paraffine réduirait en effet la sensibilité et l'intensité du marquage, nécessitant une grande prudence dans l'interprétation de l'IHC [22].

Le score d'évaluation du C4d proposé lors de la conférence de Banff en 2007, dans la cadre du rejet Ac-médié comporte quatre degrés d'évaluation du C4d (C4d0, C4d1+, C4d2+ et C4d3+) [26]. Cette classification a d'ailleurs été révisée en 2013 [21]. La positivité du C4d est définie par un score C4d2+ ou C4d3+ en IFI, ainsi qu'un score C4d1+, C4d2+ ou C4d3+ en IHC, en raison de la plus faible sensibilité du C4d sur coupe en paraffine [22].

Dans les reins normaux, il n'a jamais été retrouvé de dépôt sur les CPT [19, 27]. En revanche, en technique d'IFI, on retrouve de manière physiologique une fixation glomérulaire, de type mésangial (figure 6). Cette fixation n'est pas retrouvée en IHC. La fixation mésangiale est d'intensité faible et plutôt segmentaire [28] dans les reins normaux.

Ce marquage témoigne donc d'une activation physiologique du complément au niveau glomérulaire. Il existe également un marquage sur certaines parois artériolaires [23, 28].

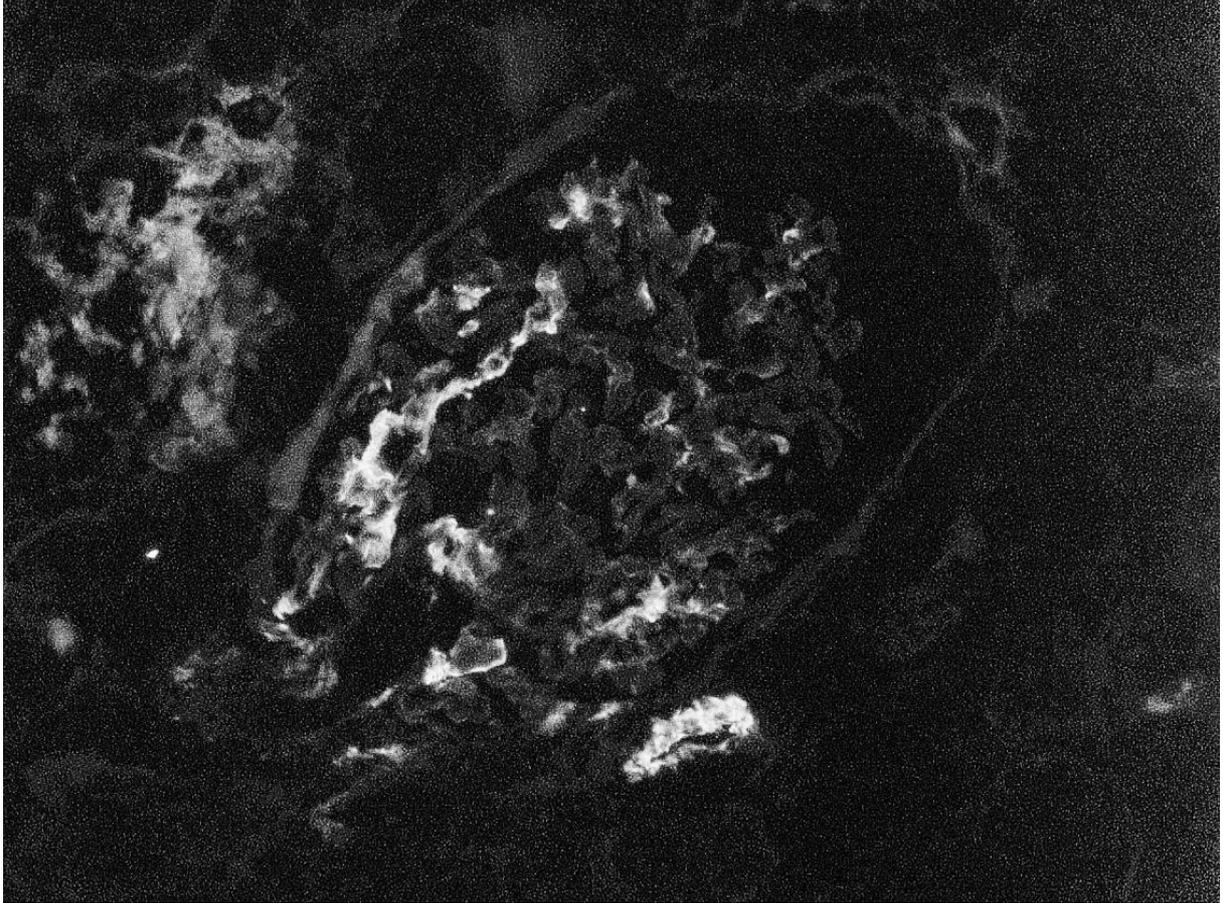


Figure 6 : fixation glomérulaire segmentaire et focale et artériolaire de l'Ac anti-C4d en IFI, dans le rein normal.

En dehors de la pathologie de rejet humoral, le marquage du C4d a été étudié dans d'autres glomérulopathies natives. La présence de dépôts de C4d a notamment été rapportée au cours de glomérulopathies à dépôts d'IgA. Certaines études ont montré que la présence de dépôts glomérulaires de C4d au cours de glomérulopathies à dépôts mésangiaux d'IgA serait associée à une forme plus sévère de la maladie et à un pronostic défavorable [29].

En revanche, toutes les études ont montré qu'il n'existait pas de marquage des CPT quelle que soit la pathologie rénale, ce marquage restant associé à la présence d'un rejet humoral chez le greffé rénal.

La seule exception est la glomérulopathie lupique où un marquage granulaire des CPT a été décrit, de même que des dépôts glomérulaires de C4d [10, 30].

D- Le Complément et les Microangiopathies thrombotiques : Mécanismes physiopathologiques

Les mécanismes exacts rattachant les voies du complément et certaines MAT sont encore inconnus.

En ce qui concerne le SHU, il existe de nombreuses données et hypothèses dans la littérature. Les shigatoxines produites *par Escherichia coli* induisent une altération des cellules endothéliales mais aussi une activation de l'inflammation de même qu'une activation plaquettaire conduisant à des micro thromboses. Plusieurs études ont montré qu'il existait probablement une activation de la voie alterne du complément entraînant une formation de C5b9. Ces patients auraient de faibles taux sériques de C4 indiquant une consommation du C4 avec une augmentation du taux de C5b9 [31]. Il semble que les shigatoxines contribuent à l'activation du complément comme en témoigne la présence de dépôts de C3 au niveau des cellules endothéliales [32].

Le rôle des LPS semble également décisif dans l'activation de la voie alterne du complément. Différentes études ont montré que l'interaction LPS/shigatoxines est nécessaire pour l'activation du complément.

Dans le SHUa, les mutations sont le plus souvent hétérozygotes et intéressent les gènes codant pour les protéines régulatrices de la voie alterne du complément (facteur H, facteur I, CD46). Ces protéines bloquent normalement l'activation de la voie alterne du complément à la surface des cellules endothéliales. En cas de déficit d'une de ces protéines régulatrices, l'activation de la voie alterne du complément est déficitaire conduisant à la lyse des cellules endothéliales par la formation du complexe d'attaque membranaire [4]. Les taux sériques de C3 sont diminués chez

certains patients, associés à des dépôts de C3 et de C5b9 sur les CG ainsi que sur les plaquettes [31].

L'enzyme ADAMTS13 impliquée dans le PTT et synthétisée par les cellules endothéliales, permet le clivage du vWf directement sur la cellule endothéliale. L'inhibition d'ADAMTS13 par les Ac provoque une accumulation de vWf non clivé, et donc une adhésion des plaquettes et la formation d'un thrombus (figure 7). Chez 48 à 90% des patients présentant des signes cliniques, on retrouve une diminution sévère de l'activité ADAMTS13. Les données de la littérature tendent à montrer qu'il existe une activation de la voie du complément [31]. Il a été montré des taux sériques bas de C3 chez les patients atteints, au cours de la phase aiguë. Une étude récente a montré des dépôts de C3d, C4d et C5b9 sur les capillaires de biopsies cutanées [33]. Cependant, le mécanisme exact d'activation de la voie du complément reste encore peu clair.

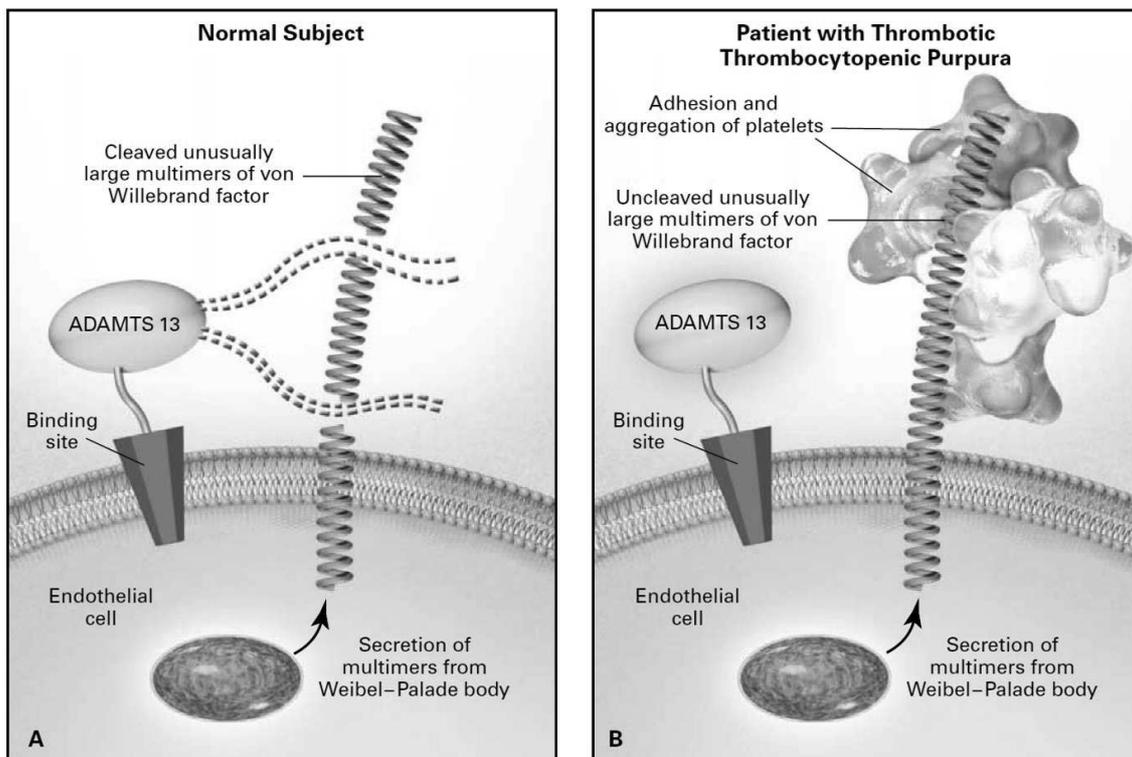


Figure 7 : Mécanismes physiopathologiques conduisant au PTT [1].

La relation entre le complément et la MAT a été également établie dans d'autres étiologies de MAT, comme le lupus notamment. L'atteinte rénale du lupus est présente chez 60% des lupiques [34]. La MAT est une complication rare du LED (environ 3%) mais son mécanisme précis reste inconnu. Chez les patients lupiques, la MAT est très souvent associée à la présence d'Ac anti-phospholipides.

Cohen et al. [34] ont montré que les microthrombi glomérulaires étaient plus souvent retrouvés lorsque l'expression glomérulaire du C4d était diffuse et intense, plutôt que dans les cas au cours desquels le C4d était faible ou focal. Par contre, ces mêmes auteurs n'avaient pas retrouvé de relation entre les dépôts de C4d et la présence d'un syndrome des Ac anti-phospholipides (SAPL). Cependant, ils suggèrent que la positivité du C4d sur les biopsies rénales de patients avec atteinte rénale du LED doit faire suspecter une MAT, même en l'absence de SAPL.

Le C4d reste un marqueur de l'activation de la voie classique du complément mais n'est pas considéré comme un marqueur d'activité de la glomérulopathie lupique ; l'intensité du marquage du C4d ne serait pas corrélée à l'activité de la glomérulopathie lupique [35].

L'expression du C4d a par ailleurs été étudiée dans les MAT post transplantation [36]. Une étude récente sur biopsies de greffons rénaux avec rejet, a montré tout d'abord que la MAT post transplantation est une pathologie rare (3,4% des biopsies de rejet dans la série) mais aussi que sa combinaison avec un C4d positif sur les CPT était un facteur de risque de perte du greffon, par comparaison avec les patients C4d positifs sans MAT [37].

Une inactivation inappropriée ou le non contrôle de la régulation du complément peut donc causer un dommage au niveau de l'endothélium conduisant à une MAT [10].

Il semble donc que les MAT et en particulier le PTT, le SHU typique et atypique représentent trois pathologies différentes avec pour toutes trois un mécanisme commun d'activation anormale du complément.

D'autres études seront nécessaires afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents des multiples autres causes de MAT. Ce groupe hétérogène de MAT secondaires inclut de nombreuses situations pouvant

s'associer au SHU ou au PTT, comme la greffe de moelle, une infection, une tumeur maligne, une HTA maligne, une pré-éclampsie, ou une toxicité médicamenteuse.

E- Perspectives

Le rôle de l'ensemble du système du complément démontré dans de nombreuses situations pathologiques a fait, depuis quelques années, du système du complément la cible de plusieurs molécules à visée thérapeutique.

L'identification des anomalies de la voie du complément notamment de la voie alterne dans le SHUa, a permis l'utilisation de molécules bloquant la cascade du complément. Les Ac dirigés contre la fraction C5 du complément se sont révélés efficaces chez les patients porteurs de SHUa.

L'efficacité de ce traitement a permis de confirmer le rôle primordial du complément dans les MAT.

Parmi ces nouveaux traitements, seul l'Eculizumab cible une protéine spécifique du complément (figure 8).

L'eculizumab est un Ac monoclonal spécifique du C5, inhibant la formation de C5a et de C5b et par conséquent la formation du MAC [38]. Il est couramment utilisé dans l'hémoglobinurie nocturne paroxystique, réduisant de façon efficace l'hémolyse intravasculaire et les besoins en transfusion [39].

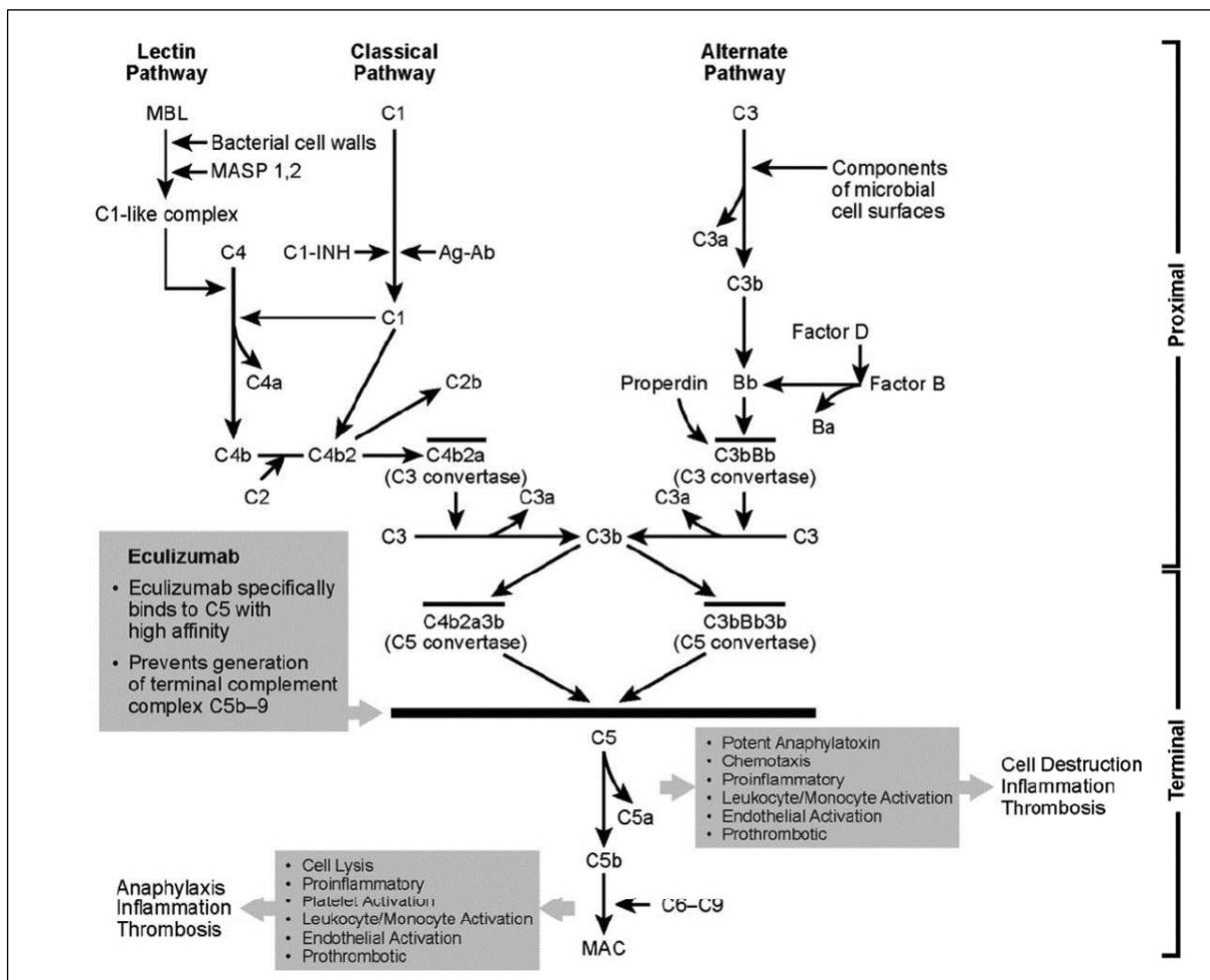


Figure 8 : Place de l'ECULIZUMAB dans la cascade du complément [40].

Il a été également démontré un bénéfice du traitement par cette molécule chez certains patients atteints de SHUa [40, 41]. L'Eculizumab améliorerait la fonction rénale, ferait remonter le taux de plaquettes et empêcherait la formation de microthromboses.

L'émergence de ces nouvelles thérapeutiques qui inhibent l'activation du complément font du C4d un marqueur potentiel afin d'identifier les patients pouvant bénéficier de ces médicaments, le C4d étant un marqueur de l'activation de la voie du complément.

Mieux connaître la localisation et la prévalence de la fixation du C4d pourrait permettre de mieux cibler les patients pouvant bénéficier de cette thérapeutique.

II) BUT DE L'ETUDE

Le but de l'étude est d'étudier la prévalence et la localisation de la fixation du C4d sur le rein natif porteur de MAT et également de rechercher d'éventuelles corrélations anatomo-cliniques avec les différentes étiologies de MAT.

III) MATERIEL ET METHODE

A- Population étudiée

Une étude rétrospective, observationnelle des patients pour lesquels le diagnostic histologique de MAT rénale a été posé au CHU de Rouen, entre 1995 et 2015, a été réalisée.

Les patients ont été inclus selon les critères suivants :

- biopsie réalisée sur un rein natif, entre 1995 et 2015
- patients pour lesquels une MAT histologique a été diagnostiquée.

Les critères d'exclusion étaient l'absence de renseignement clinique ou de matériel pour réaliser l'étude.

B- Evaluation histologique

Les biopsies rénales ont fait l'objet d'une double relecture, par un pathologiste confirmé et un interne. Ces biopsies rénales ont été étudiées après fixation par le Dubosq Brazil puis inclusion en paraffine. Les sections de 3 μ ont été colorées à l'HES (Hématoxyline Eosine Safran), au Trichrome vert et à l'imprégnation argentique de Jones.

L'interprétation a été réalisée sans connaissance des paramètres cliniques.

Les structures rénales étudiées ont été les glomérules (mésangium et parois capillaires), les parois des CPT, les artères juxta glomérulaires (AJG) et les artères inter-lobulaires (AIL).

Les critères histologiques recherchés de MAT ont été les suivants :

- Les glomérules :
 - Micro thromboses
 - Epaissement des parois capillaires
 - Dédoulements membranaires sur l'imprégnation argentique de Jones
 - Ischémie glomérulaire
 - Mésangiolyse
- Les AJG
 - Thromboses
 - Endartérite fibreuse bulbiforme
- Les AIL
 - Thromboses
 - Endartérite fibreuse simple
 - Endartérite fibreuse bulbiforme.

C- Etude en immunofluorescence et en immunohistochimie

La détection du C4d a été étudiée d'une part sur tissu congelé par IFI et d'autre part sur tissu fixé par technique d'IHC.

La détection du C5b9 a été évaluée en IFI tandis que la détection des C3, C4 et C1q était évaluée en IF directe.

1- Etude en immunofluorescence du C4d, C5b9, C3, C4, C1q

Concernant l'immunomarquage anti-C4d, les sections de 5 μ d'épaisseur de tissu congelé ont été analysées par IFI en utilisant en premier lieu un Ac primaire monoclonal murin anti-C4d humain (Ingen Sogaris Quidel, San Diego, USA, dilution 1 :40, incubation dans une chambre humide) puis un Ac secondaire IgG anti-souris marqué à la fluorescéine (Clinisciences, dilution au 1 :30, incubation à température ambiante).

Les structures rénales étudiées ont été les glomérules (mésangium et parois des capillaires), les CPT, AJG et AIL.

Les résultats d'IFI ont été interprétés comme suit pour l'Ac anti-C4d :

- Les glomérules:

- L'intensité du marquage glomérulaire a été gradée de 0 à 3, de la manière suivante : 0 (absence de marquage), 1 (marquage de faible intensité), 2 (marquage d'intensité modérée) et 3 (marquage de forte intensité) (tableau 2).
- Le marquage était considéré comme positif si plus de 50% des glomérules présentait un marquage d'intensité cotée 2 ou 3 de distribution pariétale ou pariéto-mésangiale.
- Le marquage était considéré comme segmentaire s'il intéressait moins de 50% du floculus et global s'il intéressait plus de 50% du floculus.

Score d'évaluation du marquage glomérulaire du C4d en IHC et en IF		
C4d0	Négatif	C4d -
C4d1	Positivité minime	C4d -
C4d2	Positivité modérée	C4d +
C4d3	Positivité sévère	C4d +

Tableau 2 : Score d'évaluation du marquage de l'Ac anti-C4d en IHC et en IF

- Au niveau des CPT, l'interprétation du C4d a été réalisée d'après la classification de Banff 2007, actualisée en 2013, utilisée dans le cadre du diagnostic de rejet humoral, avec une intensité du marquage allant de 0 à 3 [21]. L'IFI était considérée comme positive au niveau des CPT si l'intensité du marquage était supérieure ou égale à 2.
- Pour les AJG ainsi que les AIL, une positivité était admise quand il existait un marquage de la paroi de l'artériole, dont l'intensité était cotée de 0 à 3, de la même façon que pour les glomérules. Une positivité était retenue lorsqu'il existait un marquage de la paroi de l'artériole coté 2 ou 3.

Concernant l'immunomarquage anti-C5b9, les sections de 5µ d'épaisseur de tissu congelé ont été analysées par IFI en utilisant en premier lieu un Ac primaire monoclonal murin anti-C5b9 humain (Clone aE11, DakoCytomation, Denmark,

dilution 1:25 - 1:50, incubation à température ambiante pendant 30 min) puis un Ac secondaire IgG anti-souris marqué à la fluorescéine (Clinisciences, dilution au 1:30, incubation à température ambiante).

Concernant les immunomarquages anti-C3, -C4 et -C1q, l'immunofluorescence n'a pas été renouvelée au moment de la relecture, le compte rendu étant disponible, de même que des documents photographiques.

L'interprétation des immunomarquages anti-C5b9, -C3, -C4 et -C1q a été réalisée de la même manière que pour l'immunomarquage anti-C4d. En revanche les CPT n'ont pas été étudiés. L'intensité du marquage glomérulaire ainsi que celle des AJG ont été cotées de 0 à 3.

Le marquage par le C5b9 était considéré comme positif si plus de 50 % des glomérules présentait un marquage d'intensité 2 à 3 de distribution pariétale ou pariéto-mésangiale. Une positivité des AJG était retenue lorsqu'il existait un marquage de la paroi de l'artériole coté de 2 ou 3.

Le marquage du C3, du C4 et du C1q était considéré comme positif si plus de 50 % des glomérules présentait un marquage d'intensité cotée de 1 à 3. Une positivité des AJG était retenue lorsqu'il existait un marquage de la paroi de l'artériole d'intensité cotée de 1 à 3.

2- Etude immunohistochimique du C4d

Les sections de 4 μ d'épaisseur de tissu fixé puis inclus en paraffine ont été analysées par IHC pour détection du C4d, en utilisant un Ac polyclonal de lapin (Clone A24-T, DB Biotech, Kosice), pré dilué et prêt à l'emploi, selon le protocole Ventana®.

Les structures rénales étudiées ont été les glomérules (mésangium et parois des capillaires), les CPT, AJG et AIL.

Les résultats d'IHC ont été interprétés de la même façon qu'en IFI, sans connaissance des lésions histologiques ni des paramètres cliniques. :

- Les glomérules :
 - L'interprétation du marquage en IHC a été menée de la même manière qu'en IFI (tableau 2). Le marquage était considéré comme positif si plus

de 50 % des glomérules présentait un marquage d'intensité cotée 2 ou 3, de distribution pariétale ou pariéto-mésangiale. La distribution mésangiale isolée du marquage était considérée comme non significative.

- Le marquage était considéré comme segmentaire s'il intéressait moins de 50% du flocculus et global s'il intéressait plus de 50% du flocculus.
- Au niveau des CPT, l'interprétation du C4d a été réalisée d'après la classification de Banff 2007, actualisée en 2013, utilisée dans le cadre du diagnostic de rejet humoral, avec une intensité du marquage cotée de 0 à 3 [21]. L'IHC était considérée comme positive au niveau des CPT si l'intensité du marquage était supérieure ou égale à 1.
- Pour les AJG et les AIL, l'interprétation a été effectuée de la même manière que pour celle de l'IF.

Il faut cependant noter qu'il existe un marquage non spécifique sur la limitante élastique des AIL, confirmé par la corrélation avec une coloration par Orcéine (figure 9). Ce marquage était donc considéré comme un bruit de fond et donc tenu pour négatif (C4d0).

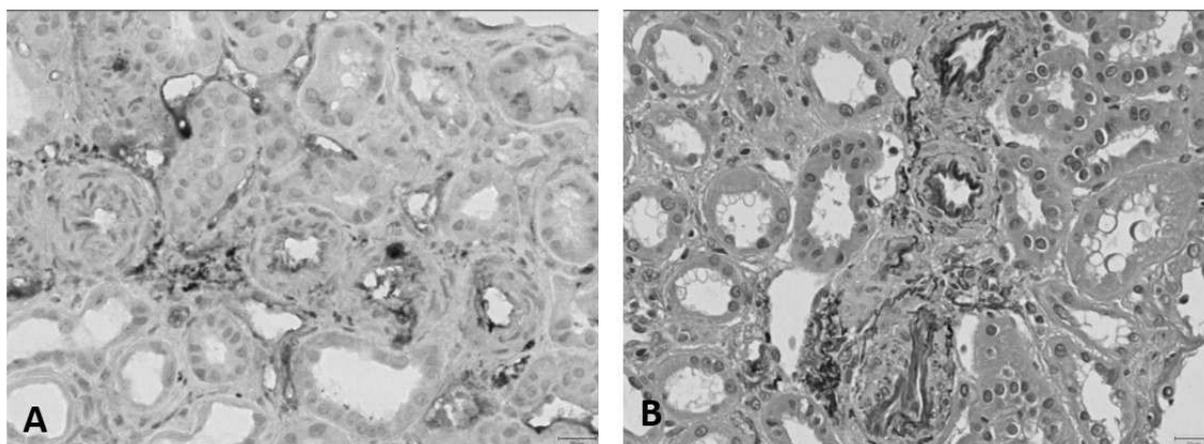


Figure 9 : marquage non significatif par le C4d de la limitante élastique en IHC corrélié à la coloration par Orcéine. A) marquage non spécifique du C4d sur la limitante élastique des parois artérielles en IHC ; B) coloration par orcéine montrant la limitante élastique de la paroi artériolaire.

D- Données cliniques et biologiques

Les données cliniques et les paramètres biologiques ont été extraits à partir des bases de données informatiques et du dossier médical des patients. Les patients ont été suivis jusqu'à la date de la dernière consultation ou celle du décès.

Les paramètres clinico-biologiques retenus au moment de la biopsie ont été le sexe, l'âge, l'étiologie présumée de la MAT, la présence ou non d'une HTA. Le débit de filtration glomérulaire (DFG) était tenu comme marqueur de la fonction rénale, tandis que les valeurs des taux d'haptoglobine, de LDH, d'hémoglobémie et de plaquettes étaient tenues comme marqueurs de l'hémolyse.

La fonction rénale a été mesurée par le taux de créatininémie ; le DFG a été évalué selon la méthode du MDRD.

E- Analyses statistiques

Les logiciels R et Excel ont été utilisés pour l'analyse statistique. Les variables quantitatives sont exprimées en médiane et espace interquartile.

Pour la comparaison des variables non continues (catégorielles), les groupes ont été comparés en utilisant le test exact de Fischer.

Pour la comparaison des variables continues, le test non paramétrique de Mann-Whitney a été utilisé.

Une valeur de p inférieure à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative.

IV) RESULTATS

A- Données démographiques et paramètres cliniques des MAT

Au total, cinquante-sept patients ont été colligés, dont trente-quatre femmes et vingt-trois hommes. L'étiologie suspectée de leur MAT est indiquée dans le tableau 3.

ETIOLOGIES	Total (n= 57)
SHU	n=1 (1.8%)
SHUa	n=4 (7%)
HTA maligne	n=7 (12.9%)
SAPL	n=4 (7%)
Sclérodermie	n=5 (8.8%)
Cancer avec ou sans chimiothérapie associée	n=11 (19.3%)
VIH	n=2 (3.5%)
Cause indéterminée	n=18 (31.6%)
Autre étiologie	n=5 (8.8%)

Tableau 3 : Etiologie des MAT. Résultats exprimés en n= (pourcentage).

Dans le groupe « cancer avec ou sans chimiothérapie », on retrouve :

- Une gammopathie monoclonale acutisée en myélome,
- Un carcinome mammaire associé de façon concomitante à un dermato-fibro-sarcome de Darier- Ferrand,
- Deux carcinomes mammaires métastatiques traités par Gemcitabine,
- Deux lymphomes hodgkiniens,
- Un adénocarcinome de prostate traité par Gemcitabine,
- Une aplasie médullaire allogreffée,
- Un myélome multiple,
- Un adénocarcinome pulmonaire traité par Carboplatine et Gemcitabine,
- Un adénocarcinome rectal traité par radiothérapie et chimiothérapie.

Dans le groupe « autre étiologie », on retrouve :

- Une drépanocytose sous hydroxycarbamide,
- Une infection ORL associée à un syndrome grippal,
- Une hémorragie de la délivrance,
- Un déficit en cobalamine C,
- Une hépatite C associée à une héroïnomanie.

Dans le groupe « SHUa », les différentes mutations suivantes ont été mises en évidence :

- Deux mutations hétérozygotes du facteur H,
- Une mutation du gène CFHR1,
- Une mutation du gène MCP (CD46).

Les principales caractéristiques cliniques et biologiques sont résumées dans le tableau 4.

L'âge médian à la date de la PBR est de 48 ans. Quatorze patients ont un antécédent d'HTA. Douze patients présentent des signes extra rénaux à type de diarrhées, douleurs abdominales, troubles neurologiques, altération de l'état général, céphalées, polyarthralgies, purpura et syndrome grippal. La pression artérielle médiane au moment de la biopsie est de 175/100.

Sur le plan biologique, dix-neuf patients (52,8%) présentent des schizocytes sur les frottis sanguin. L'haptoglobine médiane est de 0,17 (0,10-1,1) et les LDH médians à 783 (339-1310). Le taux de plaquettes médian est de $159 \times 10^9/L$ (106,8-255,5).

La créatininémie initiale médiane est de 316,5 $\mu\text{mol/l}$ avec un DFG médian calculé selon le MDRD à 16,5 ml/min/1,73m².

Le taux médian de C3 sérique est de 1,5 g/L (1,24-1,5) et le C4 sérique médian à 0,4 g/L (0,28-0,40).

	TOTAL (N=57)	MEDIANE ou %	ESPACE INTERQUARTILE
Age (ans)	57	48	37-47
Sexe féminin	34	-	-
Antécédent d'HTA	14/38	36.8%	-
Signes extra rénaux	12/26	46.2%	-
BILAN BIOLOGIQUE INITIAL			
Pression artérielle à l'entrée	39	175/100	145-207.7/81-120
Présence de schizocytes sur le frottis sanguin	19/36	52.8%	-
Hémoglobine (g/L)	41	9.3	7.6-11.5
Plaquettes (x10 ⁹ /L)	40	159	106.8-255.5
Haptoglobine (g/L)	36	0.17	0.10-1.14
LDH (UI/L)	32	783	339-1310
Protéinurie initiale (g/24h)	34	1.4	0.62-2.3
Hématurie macroscopique	20/36	55.6%	-
Créatininémie initiale (μmol/L)	40	316.5	174.5-515.8
DFG (ml/min/1.73m ²)	40	16.5	9.5-29.5
C3 sérique (g/L)	38	1.5	1.24-1.5
C4 sérique (g/L)	37	0.4	0.28-0.40
BILAN BIOLOGIQUE A 6 MOIS			
Hémoglobine (g/L)	31	12.1	11.22-13.18
Plaquettes (x10 ⁹ /L)	31	230.5	192-285.2
Haptoglobine (g/L)	44	1.32	0.4-1.6
LDH (UI/L)	44	364	174-449
Créatininémie (μmol/L)	23	134	90-221.5
DFG (ml/min/1.73m ²)	23	41	20-71

Tableau 4 : Données démographiques et paramètres clinico-biologiques des patients au moment de la biopsie. Résultats exprimés en médiane (espace interquartile) pour les variables continues, ou en n= pour les variables non continues.

B- Analyse histopathologique des MAT

En terme d'histologie rénale, le nombre médian de glomérules observés sur les biopsies est de 7,5 (4-14). Le nombre médian de glomérules pathologiques est de 5,5 (2-10,3), soit une médiane de 95,5% (63-100) de glomérules pathologiques. Les caractéristiques histologiques sont résumées dans le tableau 5.

Une grande majorité des patients atteints de MAT présente un épaississement pariétal des CG (92,2%), une ischémie glomérulaire (96,5%) et une mésangiolyse (67,9%). L'endartérite bulbiforme des AJG est présente dans 56,1% des cas.

Lésions histologiques	MAT (n=57)
LÉSIONS GLOMÉRULAIRES	
Microthromboses glomérulaires	21 (47.4%)
Epaississement pariétal	52 (91.2%)
Dédouplements membranaires	23 (40.4%)
Ischémie glomérulaire	55 (96.5%)
Mésangiolyse	37 (64.9%)
ARTÉRIOLES JUXTA GLOMÉRULAIRES	
Thromboses	28 (49.1%)
Endartérite fibreuse bulbiforme	32 (56.1%)
ARTÈRES INTERLOBULAIRES	
Thromboses	7 (12.3%)
Endartérite fibreuse simple	47 (82.5%)
Endartérite fibreuse bulbiforme	13 (22.8%)

Tableau 5 : Données histologiques des patients au moment de la biopsie. Résultats exprimés en n= (pourcentage).

C- Analyse des MAT en immunofluorescence

1- Prévalence et localisation du C4d

L'étude en IFI du C4d a pu être réalisée et interprétée pour 36 des 57 patients. Il existe des dépôts de C4d sur les CG chez 17/36 patients (47,2%), d'intensité supérieure ou égale à 2, de distribution pariétale pour 8/17 patients (47,1%) ou pariéto-mésangiale pour 9/17 patients (52,9%). Au niveau des AJG, 15/35 patients (42,9%) présentent un marquage d'intensité supérieure ou égale à 2 et 1/33 patients (3%) ont un marquage sur les AIL d'intensité supérieure ou égale à 2 (figure 10).

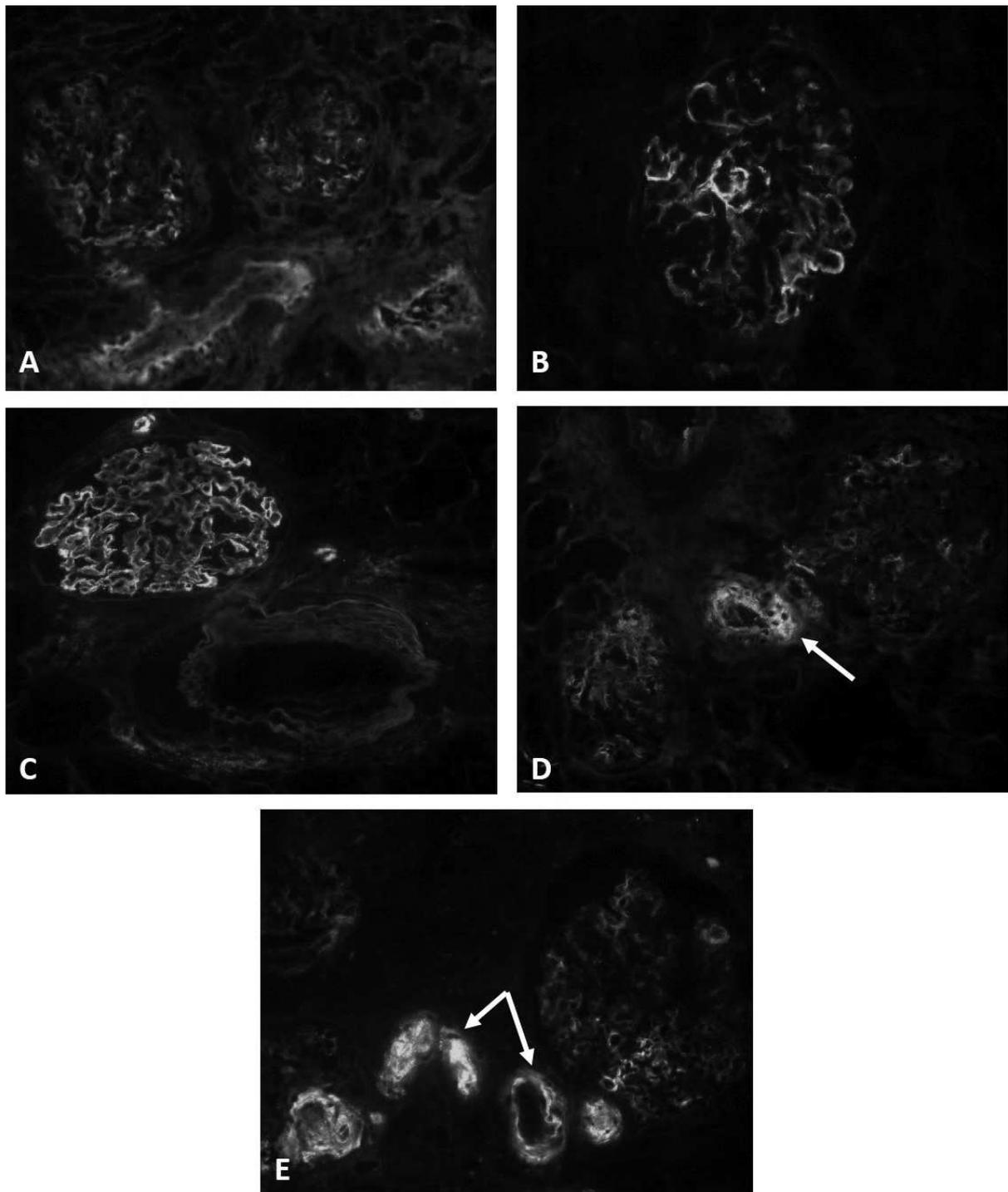


Figure 10 : Fixation glomérulaire et artériolaire du C4d en IFI.

A) marquage de faible intensité sur les CG (C4d1), x25 ; B) marquage d'intensité modérée sur plus de 50% des CG (C4d2), x40 ; C) marquage d'intensité forte sur plus de 50% des CG (C4d3), x40 ; D) marquage d'intensité modérée sur les AJG (C4d2), (flèche), x25 et E) marquage de forte intensité sur les AJG (C4d3) (flèches), x40.

2- Prévalence et localisation du C5b9

L'étude en IFI du C5b9 a pu être réalisée et interprétée pour 36 des 57 patients.

L'immunofluorescence du C5b9 a montré que 8/36 patients (22,2%) présentent un marquage d'intensité supérieure ou égale à 2 sur les CG. Ce marquage est granuleux et de distribution pariéto-mésangiale dans la totalité des cas. 25/36 patients (69,4%) présentent un marquage des AJG et des AIL (figure 11).

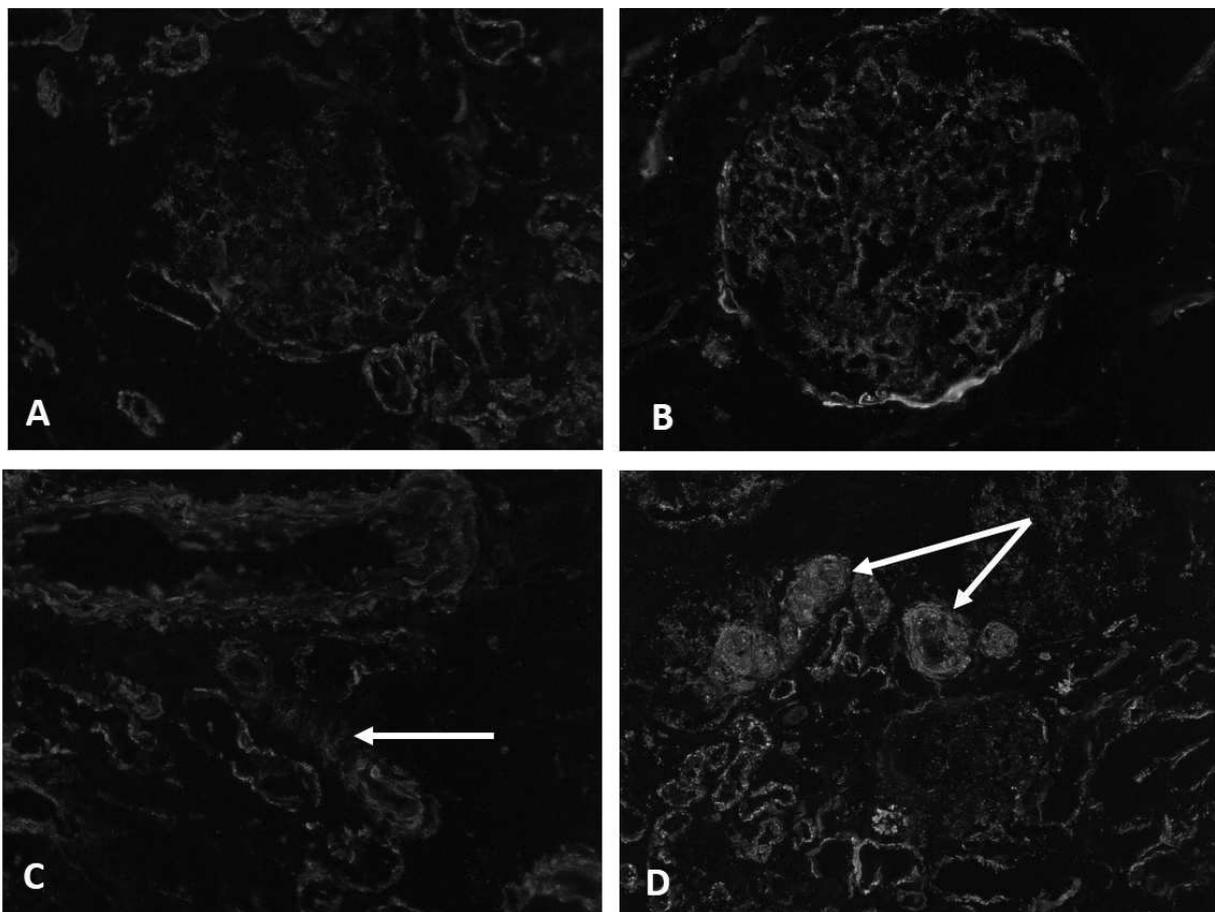


Figure 11 : Fixation glomérulaire et artériolaire du C5b9 en IFI.

A) marquage de faible intensité, pariéto-mésangiale, sur plus de 50% des CG, x40 ; B) marquage d'intensité modérée, pariéto-mésangiale, sur plus de 50% des CG, x40 ; C) marquage granuleux, d'intensité modérée sur les AJG, x40 et D) marquage de forte intensité, granuleux, sur les AJG, x40.

3- Prévalence et localisation du C3, C4 et C1q

L'étude du C3 en immunofluorescence a permis de retrouver 5/44 patients (11,4%) positifs, de distribution pariétale ou pariéto-mésangiale, d'intensité supérieure ou égale à 1. 27/44 patients (61,4%) présentent un marquage des AJG.

Concernant le C4, 1/43 patients (2,3%) présente un marquage d'intensité supérieure ou égale à 1 sur les glomérules, de distribution pariétale. Les AJG sont positives chez 6/43 patients (14%).

Enfin, l'étude du C1q a permis de retrouver 1/43 patients (2,3%) dont le marquage est positif sur les glomérules, de distribution pariétale, et 9/43 patients (20,9%) sur les AJG.

D- Analyse des MAT en immunohistochimie paraffinée

L'étude en IHC de l'expression du C4d a pu être réalisée et interprétée pour 52/57 patients.

Il est retrouvé 24/52 patients (46,2%) présentant un marquage glomérulaire pour le C4d, d'intensité supérieure ou égale à 2, sur plus de 50% des glomérules observés. Le marquage est pariétal pour 66,7% d'entre eux et pariéto-mésangial pour 33,3%. Au niveau des AJG, 33/49 patients (67,3%) présentent un marquage d'intensité supérieure ou égale à 2 (Figure 12).

Il n'a pas été retrouvé de marquage sur les CPT sur les 52 patients analysés (0/52 patients).

Un marquage d'intensité supérieure ou égale à 2 sur les AIL a été retrouvé pour 8/49 patients (16,3%).

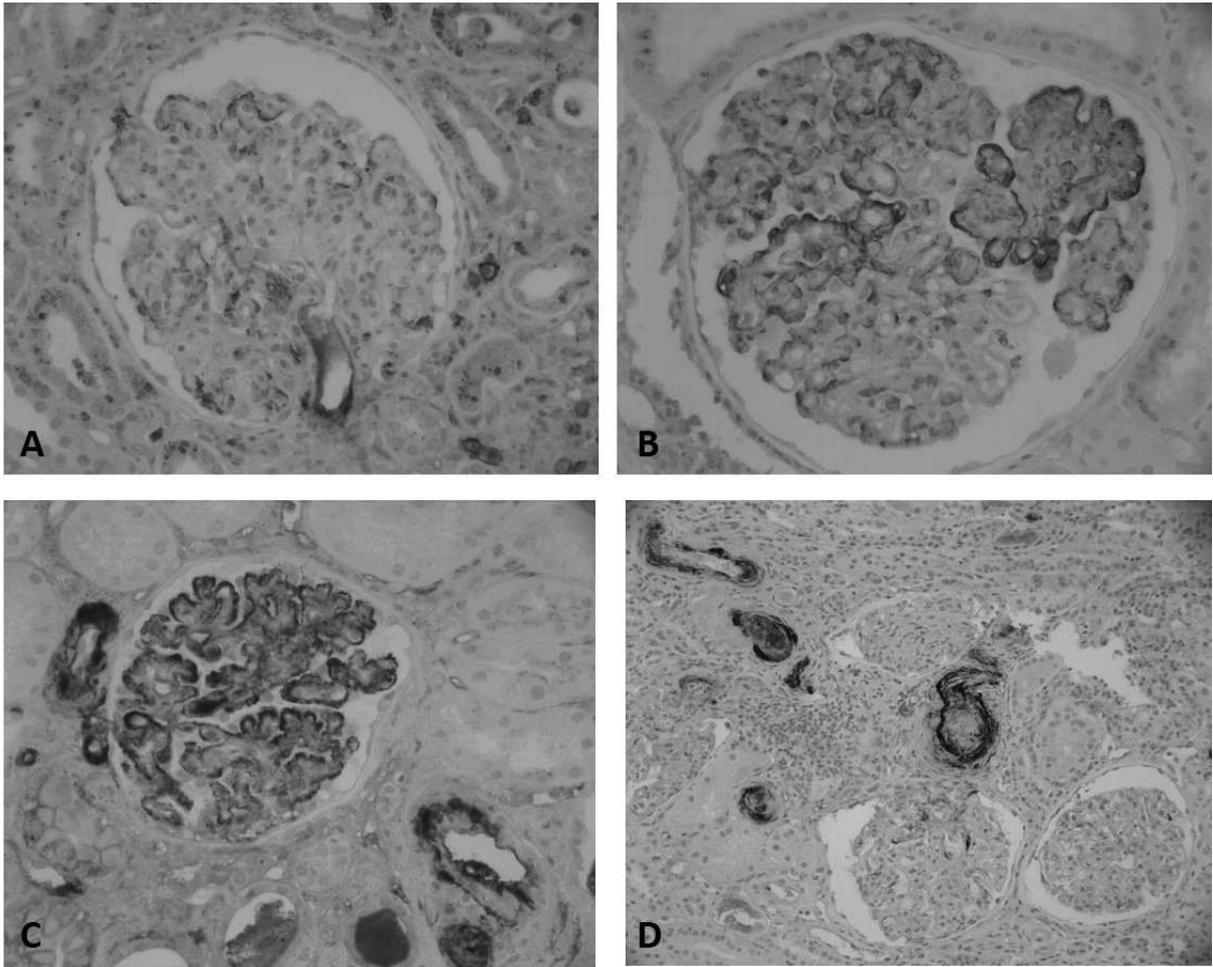


Figure 12 : Immunohistochimie paraffinée glomérulaire vis à vis du C4d chez les patients atteints de MAT.

A) marquage de faible intensité sur les CG (C4d1), x40 ; B) marquage d'intensité modérée sur plus de 50% des CG (C4d2), x40 ; C) marquage de forte intensité sur plus de 50% des CG (C4d3), x40 et D) marquage de forte intensité sur les AJG (C4d3), x25.

Le tableau 6 résume la fixation des différents marquages sur les CG et les AJG au cours des MAT.

	Positivité des glomérules	Positivité des AJG
C4d + en IHC	24/52 (46.2%)	33/49 (67.3%)
C4d + en IF	17/36 (47.2%)	15/35 (42.9%)
C5b9 + en IF	8/36 (22.2%)	25/36 (69.4%)
C3 + en IF	5/44 (11.4%)	27/44 (61.4%)
C4 + en IF	1/43 (2.3%)	6/43 (14%)
C1q + en IF	1/43 (2.3%)	9/43 (20.9%)

Tableau 6 : positivité des différents marquages sur les glomérules et les AJG. Résultats exprimés en n= (pourcentage).

E- Comparaison des groupes en fonction de l'aspect de la fixation de l'Ac anti-C4d : C4d+ et C4d-

1- Critères clinico-biologiques en fonction de l'aspect de fixation de l'Ac anti-C4d

Le nombre de patients ayant une hématurie macroscopique est significativement plus élevé dans le groupe C4d+ glomérulaire en IHC que dans le groupe C4d- (70.6% versus 35,5%, $p = 0,049$). Le C4 sérique est également significativement plus élevé dans ce groupe C4d+ glomérulaire en IHC (médiane 0,4 g/L versus 0,37g/L, $p = 0,047$).

Par ailleurs, le groupe C4d+ glomérulaire en IHC possède un C3 sérique plus élevé que le groupe C4d-, mais non significatif (1,5 g/L versus 1,38 g/L, $p = 0,28$),

une hémoglobininémie plus faible que le groupe C4d- (8,15 g/L versus 10,8 g/L, p = 0,052), une haptoglobine plus faible (0,10 versus 0,46, p = 0,098), plus de schizocytes sur le frottis sanguin (66,6% versus 40%, p=0,16) et un DFG moins important que le groupe C4d+ (20,5 ml/min/1,73m² versus 17 ml/min/1,73m², p = 0,63). Dans le groupe des AJG C4d+, l'haptoglobine est significativement plus élevée que dans le groupe des AJG C4d- (0,1 g/L versus 1,08 g/L, p=0,045) (tableau 7).

Il n'a pas été retrouvé de corrélation entre le marquage par le C4d et les critères biologiques à 6 mois après la biopsie initiale, en particulier le DFG.

	C4d+ glomérulaire IHC (n=24)	C4d- glomérulaire IHC (n=28)	p-value	C4d+ AJG IHC (n=33)	C4d- AJG IHC (n=16)	p-value
Age (ans)	48 (37.75-59)	48 (40.8-57)	0.85	48 (37-53)	56 (45.5-67.5)	0.06
Sexe féminin	15 (62.5%)	14 (50%)	0.41	16 (48.5%)	11 (68.8%)	0.23
BILAN INITIAL						
Pression artérielle à l'entrée (systolique/diastolique)	173 (160-197.5)/ 100 (90-107)	180 (142.5-216)/ 105 (80-138.8)	0.95 0.51	180 (160-205) 100 (90-120)	160.5 (139-233) 85 (68.8-142.5)	0.66 0.57
Présence de schizocytes	12 (66.6%)	6 (40%)	0.16	11 (50%)	5 (62.5%)	0.68
Hémoglobininémie (g/L)	8.15 (6.6-10.17)	10.8 (8.5-12.1)	0.052	9.6 (7.6-11.5)	9.3 (6.2-11.5)	0.88
Plaquettes (x10 ⁹ /L)	154.5 (113.5-229;2)	300 (107-262)	0.59	159 (109.8-215)	258.5 (117-268)	0.43
Haptoglobine (g/L)	0.10 (0.10-0.36)	0.46 (0.10-1.67)	0.098	0.1 (0.1-0.39)	1.08 (0.37-1.58)	0.045
LDH (UI/L)	681.5 (392-1913.8)	858 (253-1317.5)	0.78	710 (396-1741)	874 (211-1020)	0.55
Protéinurie initiale (g/24h)	1.8 (0.7-2.4)	1 (0.45-1.76)	0.326	1.45 (0.83-2.38)	1.4 (0.18-2.1)	0.44
Hématurie macroscopique	12 (70,6%)	6 (35.5%)	0.049	14 (60.9%)	4 (50%)	0.69
Créatininémie initiale (μmol/L)	270 (154-515.8)	335 (207-416)	0.54	261 (159-398)	399 (186-1028)	0.37
DFG (ml/min/1.73m ²)	20.5 (9.5-32.5)	17 (11-22)	0.63	21 (10.5-31.8)	13 (4.7-27)	0.36
C3 sérique (g/L)	1.5 (1.23-1.5)	1.38 (1.15-1.5)	0.28	1.5 (1.1-1.5)	1.4 (1.37-1.5)	0.94
C4 sérique (g/L)	0.4 (0.4-0.42)	0.37 (0.20, 0.4)	0.047	0.4 (0.32-0.4)	0.38 (0.26-0.4)	0.28
BILAN BIOLOGIQUE A 6 MOIS						
Hémoglobininémie (g/L)	12.5 (10.97-12.9)	12.8 (11.8-13.)	0.35	12 (10.9-13.4)	12.6 (12.3-13.1)	0.42
Plaquettes (x10 ⁹ /l)	245 (198.8-292.3)	240 (204.5-275.5)	0.902	238 (189-288)	297 (253-437.8)	0.2
Haptoglobine (g/L)	0.95 (0.33-1.58)	1.53 (1.49-.156)	0.53	1.43 (0.33-1.63)	1.45 (1.45-1.45)	1
LDH (UI/L)	439.5 (285.5-503.8)	155 (145.5-164.5)	0.089	367.5 (251-503)	174 (174-174)	0.66
Créatininémie (μmol/L)	148 (106-267)	119 (82.25-167.5)	0.25	157.5 (133-259)	101 (77-106)	0.064
DFG (ml/min/1.73m ²)	30 (18.25-46.5)	50 (41-71)	0.21	35 (19-45.5)	53 (43-5.67)	0.17

Tableau 7 : Caractéristiques clinico-biologiques des patients C4d+ et C4d-. Résultats exprimés en médiane (espace interquartile) pour les variables continues (comparaison avec le test de Mann-Whitney), ou en n= pour les variables non continues (comparaison avec le test exact de Fisher).

2- Critères histologiques en fonction de l'aspect de fixation de l'Ac anti-C4d

La fixation glomérulaire du C4d en IHC est significativement associée à la présence de dédoublements membranaires en histologie, sur l'argentation de Jones ($p=0,00056$). Les patients C4d+ glomérulaire présentent également plus de microthromboses glomérulaires (45,8% versus 28,6%, $p=0,25$). Ils ont aussi plus de thromboses des AJG (58,3% versus 36%, $p=0,16$), de même que d'endartérite bulbiforme de ces artères (62,5% versus 53,6%, $p=0,58$).

Il n'a pas été retrouvé de corrélation significative entre le marquage artériolaire du C4d et l'histologie ($p>0,05$) (Tableau 8).

IHC	C4d+ glomérulaire (N=24)	C4d- glomérulaire (N=28)	p-value	C4d + AJG (N=33)	C4d - AJG (N=16)	p-value
LÉSIONS GLOMÉRULAIRES						
Microthromboses glomérulaires	11 (45.8%)	8 (28.6%)	0.25	9 (27.3%)	8 (50%)	0.19
Épaississement pariétal	21 (87.5%)	26 (92.8%)	0.65	31 (93.9%)	14 (87.5%)	0.59
Dédoublements membranaires	16 (66.6%)	5 (17.8%)	0.00056	14 (42.4%)	6 (37.5%)	1
Ischémie glomérulaire	24 (100%)	26 (92.8%)	0.49	32 (96.9%)	16 (100%)	1
Mésangiolyse	14 (58.3%)	21 (75%)	0.24	23 (69.7%)	9 (56.25%)	0.52
ATÉRIOLES JUXTA GLOMÉRULAIRES						
Thromboses	14 (58.3%)	10 (36%)	0.16	15 (45.5%)	8 (50%)	1
Endartérite fibreuse bulbiforme	15 (62.5%)	15 (53.6%)	0.58	20 (60.6%)	9 (56.3%)	0.77
ARTÈRES INTERLOBULAIRES						
Thromboses	4 (16.6)	3 (10.7%)	0.69	4 (12.1%)	3 (18.8%)	0.67
Endartérite fibreuse simple	21 (87.5%)	23 (82.1%)	0.71	30 (90.9%)	12 (75%)	0.19
Endartérite fibreuse bulbiforme	5 (20.8%)	7 (25%)	0.75	8 (24.2%)	3 (18.8%)	0.73

Tableau 8 : Caractéristiques histologiques des patients C4d+ et C4d- en IHC. Résultats exprimés en n= (pourcentage) et comparés avec le test exact de Fisher.

La même comparaison avec les critères histologiques a été réalisée en fonction du marquage du C4d en IFI. Le même résultat qu'en IHC est retrouvé en IF. La fixation glomérulaire du C4d en IF est en effet significativement associée à la présence de dédoublements membranaires en histologie, sur l'argentation de Jones ($p=0,039$). Les patients C4d+ glomérulaire présentent également plus de thromboses des AJG (58,8% versus 31,6%, $p=0,18$), de même que d'endartérite bulbiforme des AIL (11,8% versus 31,6%, $p=0,24$) (tableau 9).

IF	C4d+ glomérulaire (N=17)	C4d- glomérulaire (N=19)	p-value	C4d + AJG (N=15)	C4d - AJG (N=20)	p-value
LÉSIONS GLOMÉRULAIRES						
Microthromboses glomérulaires	6 (35.3%)	6 (31.6%)	1	5 (33.3%)	7 (3.5%)	1
Epaississement pariétal	16 (94.1%)	17 (89.5%)	1	15 (100%)	17 (85%)	0.24
Dédoublements membranaires	10 (58.8%)	4 (21.1%)	0.039	7(46.7%)	7 (35%)	0.51
Ischémie glomérulaire	16 (94.1%)	18 (94.7%)	1	14 (93.3%)	19 (95%)	1
Mésangiolyse	10 (58.8%)	14 (73.7%)	0.48	10 (66.7%)	13 (65%)	1
ATÉRIOLES JUXTA GLOMÉRULAIRES						
Thromboses	10 (58.8%)	6 (31.6%)	0.18	6 (40%)	9 (45%)	1
Endartérite fibreuse bulbiforme	10 (5.9%)	11 (57.9%)	1	11 (73.3%)	9 (45%)	0.17
ARTÈRES INTERLOBULAIRES						
Thromboses	2 (11.8%)	1 (5.3%)	0.59	-	3 (15%)	-
Endartérite fibreuse simple	15 (88.2%)	17 (89.5%)	1	13 (86.7%)	18 (90%)	1
Endartérite fibreuse bulbiforme	2 (11.8%)	6 (31.6%)	0.24	4 (26.7%)	4 (20%)	0.70

Tableau 9 : Caractéristiques histologiques des patients C4d+ et C4d- en IF. Résultats exprimés en n= (pourcentage) et comparés avec le test exact de Fisher.

3- Aspect de fixation de l'Ac anti-C4d et de l'Ac anti-C5b9 en fonction de l'étiologie de la MAT

La fixation glomérulaire du C4d en IHC, est significativement corrélée au SHUa ($p=0,04$) ainsi qu'à la présence d'un cancer traité ou non par chimiothérapie ($p=0,01$).

En revanche, l'HTA maligne n'est significativement pas corrélée à la présence de C4d glomérulaire ($p=0,01$).

Aucune corrélation significative n'a été retrouvée entre le marquage du C4d sur les AJG et l'étiologie de la MAT (tableau 10).

ETIOLOGIE	C4d+ glomérulaire (n=24)	C4d- glomérulaire (n=28)	p- value	C4d + AJG (n=33)	C4d – AJG (n=16)	p-value
SHUa (n=4)	4	0	0.04	3	0	0.54
SHU (n=1)	0	1	1	-	-	-
HTA maligne (n=7)	0	7	0.01	4	3	0.67
SAPL (n=4)	1	2	1	2	1	1
Sclérodermie (n=5)	2	3	1	3	2	1
Cancer avec ou sans chimiothérapie associée (n=11)	9	2	0.01	8	3	0.73
VIH (n=2)	1	1	1	1	1	1
Cause indéterminée (n=18)	5	10	0.36	8	6	0.5
Autre étiologie (n=5)	2	2	1	4	0	0.29

Tableau 10 : Comparaison de la fixation glomérulaire et artériolaire du C4d en IHC, en fonction de l'étiologie de la MAT. Résultats exprimés en n= et comparés avec le test exact de Fisher.

En IF, il existe également une corrélation significative entre le marquage glomérulaire du C4d et les SHUa ($p=0,04$) ainsi qu'avec l'association à un cancer traité ou non par chimiothérapie ($p=0,016$). Il existe en outre une corrélation avec le groupe des « causes indéterminées » ($p=0,016$).

En revanche, la corrélation entre l'HTA maligne et l'absence de marquage pour le C4d n'est retrouvée que sur les AJG ($p=0,027$) et non sur les glomérules ($p=0,18$) (tableau 11).

ETIOLOGIE	C4d+ glomérulaire IF (n=17)	C4d- glomérulaire IF (N=19)	p-value	C4d + AJG (n=15)	C4d – AJG (n=20)	p-value
SHUa (n=4)	4	0	0.04	3	1	0.29
SHU (n=1)	0	1	1	0	1	1
HTA maligne (n=7)	1	5	0.18	6	1	0.027
SAPL (n=4)	0	1	1	0	1	1
Sclérodermie (n=5)	1	2	1	1	2	1
Cancer avec ou sans chimiothérapie associée (n=11)	7	1	0.016	3	5	1
VIH (n=2)	-	-	-	-	-	-
Cause indéterminée (n=18)	7	1	0.016	1	6	0.19
Autre étiologie (n=5)	3	2	0.65	1	4	0.36

Tableau 11 : Comparaison de la fixation du C4d glomérulaire et artériolaire en IF, en fonction de l'étiologie de la MAT. Résultats exprimés en n= et comparés avec le test exact de Fisher.

En ce qui concerne la fixation du C5b9, il existe une corrélation significative entre le marquage glomérulaire et l'HTA maligne ($p=0,00819$). Il n'a pas été observé d'autre corrélation avec les différentes étiologies de MAT (tableau 12).

ETIOLOGIE	C5b9 + glomérulaire IF (n=8)	C5b9 - glomérulaire IF (n=28)	p-value	C5b9 + AJG IF (n=25)	C5b9 - AJG IF (n=11)	p-value
SHUa (n=4)	0	3	1	2	1	1
SHU (n=1)	0	1	1	0	1	0.31
HTA maligne (n=7)	5	1	0.00819	6	0	0.15
SAPL (n=4)	0	1	1	1	0	1
Sclérodermie (n=5)	0	3	1	1	2	0.26
Cancer avec ou sans chimiothérapie associée (n=11)	0	8	0.16	7	1	0.39
VIH (n=2)	-	-	-	-	-	-
Cause indéterminée (n=18)	2	7	1	5	4	0.41
Autre étiologie (n=5)	1	4	1	3	2	0.63

Tableau 12 : Comparaison de la fixation du C5b9 glomérulaire et artériolaire en IF, en fonction de l'étiologie de la MAT. Résultats exprimés en n= et comparés avec le test exact de Fisher.

4- Comparaison du marquage glomérulaire par l'Ac anti-C4d en IHC versus IF

La fixation glomérulaire du C4d en IHC est significativement corrélée à la fixation glomérulaire en IF ($p=0,0019$). Les deux techniques de détection du C4d sont donc concordantes (tableau 13).

	C4d + Glomérulaire IHC	C4d – Glomérulaire IHC	TOTAL
C4d + Glomérulaire IF	16	0	16
C4d - Glomérulaire IF	8	11	19
TOTAL	24	11	35

Tableau 13 : Comparaison du marquage glomérulaire de l'Ac anti-C4d entre l'IHC et l'IF. Résultats exprimés n= et comparés avec le test exact de Fisher.

En revanche, il n'a pas été retrouvé de corrélation entre la fixation glomérulaire du C4d en IF et la fixation glomérulaire du C5b9 en IF ($p = 0.70$) (tableau 14).

	C4d + Glomérulaire IF	C4d - Glomérulaire IF	TOTAL
C5b9 + glomérulaire IF	3	5	8
C5b9 - glomérulaire IF	13	14	28
TOTAL	17	19	

Tableau 14 : Comparaison du marquage glomérulaire de l'Ac anti-C4d en IHC et de l'Ac anti-C5b9 en IF. Résultats exprimés n= et comparés avec le test exact de Fisher.

Il n'a également pas été retrouvé de corrélation entre le marquage glomérulaire du C4d en IHC et le marquage glomérulaire du C5b9 en IF ($p = 0.10$) (tableau 15).

	C4d + Glomérulaire IHC	C4d - Glomérulaire IHC	TOTAL
C5b9 + glomérulaire IF	1	7	8
C5b9 - glomérulaire IF	14	13	28
TOTAL	24	28	

Tableau 15 : Comparaison du marquage glomérulaire de l'Ac anti-C4d en IHC et de l'Ac anti-C5b9 en IF. Résultats exprimés n= et comparés avec le test exact de Fisher.

V) DISCUSSION

Notre étude anatomo-clinique décrit l'activation de la cascade du complément dans les MAT, essentiellement à travers l'expression du C4d, produit inactif de dégradation du C4, témoignant de l'activation du complément. A notre connaissance, l'analyse de la fixation du C4d dans les MAT n'a été rapportée que dans une seule étude très récente de la littérature [42].

Ces données pourraient avoir un impact thérapeutique avec l'apparition de thérapies ciblant la voie terminale du complément.

A- Limites de notre étude et difficultés rencontrées

1- Limites méthodologiques

L'étude que nous avons réalisée est une étude rétrospective, sur une pathologie peu fréquente. Afin de recueillir un nombre suffisant de cas, nous avons dû élargir notre recherche jusqu'en 1995. Pour les dossiers anciens, il a été difficile de recueillir les informations clinico-biologiques, les dossiers étant parfois introuvables, souvent incomplets.

Au niveau anatomo-pathologique, nous nous sommes souvent heurtés au manque de matériel, notamment congelé en IFI. Pour les cas les plus anciens, nous ne disposons plus de matériel (pas de matériel congelé à l'époque), ou bien le matériel était épuisé ou encore le matériel était inexistant en raison de problèmes de stockage liés à la congélation. En IHC, il s'agissait d'un épuisement du bloc (quatre patients). Ceci souligne l'intérêt de la réalisation du C4d sur bloc paraffiné, qui permet notamment une conservation plus longue et plus sûre du matériel.

Néanmoins, la fiabilité d'un immunomarquage sur des blocs paraffinés stockés de longue date est discutée. Il a été décrit dans la littérature que l'expression du C4d est préservée sur les blocs paraffinés pendant au moins 2 ans [23]. Ces auteurs ont comparé l'expression du C4d sur les CPT de greffon rénal en IHC paraffinée et en IF congelée. La comparaison avec des blocs plus anciens n'a pu être réalisée en raison le plus souvent de l'absence de matériel congelé disponible sur ces cas anciens.

Dans notre étude, nous avons réalisé l'étude IHC sur des blocs paraffinés anciens sans difficulté, avec des résultats souvent positifs, intégrant les témoins internes tissulaires positifs.

2- Limites liées aux effectifs

Une autre difficulté rencontrée a été l'étroitesse des effectifs. Compte tenu de la faible prévalence des MAT, nous n'avons disposé que d'effectifs de petite taille, limitant ainsi la puissance de nos analyses statistiques.

3- Difficultés d'interprétation du C4d

L'interprétation du C4d reste un problème notamment en IHC. La récente évolution en 2013 de la classification de Banff [21] souligne cette difficulté ; en effet le seuil de positivité en IHC pour l'évaluation du marquage des CPT a été abaissé à une intensité supérieure ou égale à 1, en raison d'un marquage moins sensible qu'en IF. En dehors de la pathologie de transplantation, aucune règle n'a formellement été établie, d'autant plus pour les MAT, pour lesquelles l'étude du marquage du C4d n'a été décrite que dans une étude très récente [42].

B- Analyse de la fixation de l'Ac anti-C4d et données de l'histologie

Dans notre étude, nous avons mis en évidence une corrélation significative entre la fixation glomérulaire du C4d aussi bien en IFI qu'en IHC et la présence de dédoublements membranaires en histologie sur les CG. Cet aspect de dédoublements membranaires a été également constaté par Regele et al dans leur étude, non pas sur les glomérules, mais sur les CPT, dans le cadre de biopsies de greffon rénal, rentrant dans le cadre des lésions d'allogreffe [19].

Au cours du rejet de greffe, la présence de dépôts de C4d a également été mise en évidence en ME, d'abord au niveau du pôle apical des cellules endothéliales de CPT, puis entre les cellules endothéliales et la membrane basale, et parfois sous la forme de vésicules au sein même des cellules endothéliales. Les dépôts de C4d

semblent donc être de disposition intra-cytoplasmique et non interstitielle, comme aurait pu le suggérer la présence de dédoublements membranaires.

Par ailleurs, aucune étude de l'expression du C4d n'a été effectuée en ME afin de déterminer la localisation exacte des dépôts au niveau des CG.

Ces données suggèrent une activation ciblée du complément au niveau des cellules endothéliales, plutôt qu'une précipitation des composants plasmatiques. Les dépôts endothéliaux semblent également être répartis inégalement au sein de la circulation rénale. En effet, les MAT, qui ne touchent que les vaisseaux de petit calibre, présentent d'après notre étude et celle de Chua, des dépôts sur les CG et les AJG mais non sur les CPT qui sont pourtant de très petite taille. De même, les AIL ne semblent pas présenter de dépôts de C4d, étant des artères de plus gros calibre et donc non touchées par des lésions de MAT. Au contraire, dans le rejet humoral, les dépôts de C4d sont classiquement retrouvés sur les CPT, plus récemment rapportés au niveau des CG des glomérulopathies d'allogreffe [19, 43]. L'hypothèse permettant d'expliquer cette expression variable, fonction de la structure histologique touchée, pourrait être expliquée par la présence de mécanismes variables suivant la structure vasculaire, qui empêcheraient la persistance des dépôts de complément au niveau des cellules endothéliales par augmentation de la régénération cellulaire et donc élimination rapide du C4d devenant indétectable en IHC ou IFI.

Ainsi, un récent travail de thèse au CHU de Poitiers a montré que la présence de dépôts glomérulaires pariétaux de C4d au cours des rejets Ac-médiés était corrélée à la diminution de la survie du greffon à long terme. La prise en compte de la distribution glomérulaire du C4d permettrait de mieux évaluer le pronostic des glomérulopathies d'allogreffe en pathologie de rejet humoral [43].

C- Etude du marquage de l'Ac anti-C4d dans les MAT et données de la littérature

Les données de la littérature concernant l'étude de l'expression du C4d dans les MAT étaient jusqu'à très récemment inexistantes. Une étude récente datant de début 2015 a analysé la fixation du C4d au cours des MAT [42]. Ces auteurs ont retrouvé une prévalence de 76,7% de l'expression du C4d au niveau des glomérules, dans leur cohorte de reins natifs, toutes étiologies de MAT confondues. Dans notre

étude, la prévalence de l'expression glomérulaire du C4d est de 46,2% en IHC et de 47,2% en IF. Au niveau des AJG, Chua et al ont retrouvé une positivité de 50%, versus 67,3% dans notre étude.

Concernant la fixation du C5b9, les résultats de l'étude de Chua et al sont proches de nos résultats. Ils retrouvent en effet une positivité du C5b9 dans 76,7% des cas (marquage artériolaire prédominant), versus dans notre étude, 22,2% de positivité glomérulaire et 69,4% de positivité sur les AJG.

Certains points méritent cependant d'être relevés concernant les résultats de Chua et al. Tout d'abord, il faut noter que leur cohorte de reins natifs est de petite taille, avec un total de 30 biopsies analysables, alors que dans notre étude, 52 biopsies sont analysées en IHC et 36 en IF. D'autre part, leur technique d'interprétation du marquage par le C4d et le C5b9 en IHC n'est pas clairement définie. En effet, le marquage du C4d glomérulaire a été évalué dans cette étude comme « absent, focal ou diffus », avec un marquage requis comme « positivité globale le long des CG ». Aucun seuil de positivité en terme de nombre de glomérules positifs pour le C4d n'a été a priori proposé. On ne sait pas en particulier si un seul glomérule, positif de façon diffuse, permettait de considérer le cas comme C4d positif. La positivité des AJG était, quant à elle, définie comme un marquage circonférentiel le long de la paroi des vaisseaux.

Par ailleurs le marquage du C5b9 a été réalisé en IHC dans l'étude de Chua et al. et en IF dans notre étude.

L'interprétation du marquage reste donc, d'une étude à l'autre, un problème majeur. Aucune donnée consensuelle n'existe sur ce sujet. La comparaison des données entre études doit donc rester prudente.

Enfin, Chua et al n'ont réalisé d'étude statistique que par rapport à leur population témoin normal. Les dépôts de C4d sont ainsi significativement plus présents dans les MAT que sur les biopsies de reins natifs normaux ($p < 0,001$). A la différence de notre étude, aucune statistique de l'expression du C4d et du C5b9 glomérulaire n'a été réalisée entre les différentes étiologies de MAT, les auteurs ayant probablement considéré que les effectifs étaient trop petits dans chacun des sous-groupes de MAT, fonction de l'étiologie.

Grâce à nos effectifs plus conséquents dans chacun des sous-groupes étiologiques, nous avons ainsi pu étudier plus en détail le marquage par l'Ac anti-C4d.

1- Fixation de l'Ac anti-C4d au cours du SHUa

Dans notre étude, nous mettons en évidence une fixation du C4d glomérulaire en IHC et en IF significativement corrélée au SHUa (respectivement $p=0,04$ et $p=0,04$). Nous avons déjà rappelé que les SHUa sont secondaires à des anomalies génétiques des protéines de la voie du complément. Il existe alors une perte de la protection des endothéliums vasculaires contre l'activation du complément, secondaire à des mutations sur les gènes de protéines régulatrices de la cascade du complément. Le déficit de ces protéines régulatrices entraîne une activation de la voie du complément, bien mis en évidence par la présence de dépôts de C4d en IHC et en IF sur les glomérules. Nos données sont donc concordantes avec les connaissances actuelles sur la physiopathologie du SHUa et permettent de confirmer l'activation de la voie du complément dans cette pathologie [31].

2- Fixation de l'Ac anti-C4d au cours des cancers traités ou non

La MAT est une complication bien connue des cancers et de leurs traitements. Il est parfois difficile d'établir un lien direct entre une chimiothérapie et la MAT, la maladie cancéreuse elle-même pouvant être la cause de la MAT. De plus, les patients bénéficient le plus souvent de plusieurs traitements concomitants rendant difficile l'imputabilité précise d'un médicament. Cependant, il semble que les cancers induisant une MAT sont le plus souvent des cancers à un stade avancé, souvent au stade métastatique, alors que les chimiothérapies induisant une MAT sont associées à des tumeurs de petite taille, voire indétectables suite au traitement [44].

Dans notre série, nous avons retrouvé un marquage significatif du C4d glomérulaire en IHC et en IF chez les patients atteints d'un cancer, traités ou non par chimiothérapie ($p=0,01$ en IHC et $p=0,016$ en IF). Il n'existe aucune donnée dans la littérature sur l'étude de l'expression du C4d dans les MAT secondaires à un cancer ou chimiothérapie. Dans la cohorte de Chua et al, on ne retrouvait que six

observations de MAT secondaires à une greffe de moelle, sans précision quant à l'indication de cette greffe [42].

La physiopathologie de la MAT induite par le cancer est encore inconnue à ce jour. Certaines hypothèses ont été soulevées comme l'action délétère de la mucine des adénocarcinomes sur les cellules endothéliales avec libération de facteur de vWf, ou encore le contact direct des érythrocytes avec les cellules tumorales circulantes ou enfin la diminution de l'ADAMTS-13 [45, 46]. D'autres auteurs contredisent ces hypothèses et ont montré que l'activité d'ADAMTS-13 est normale au cours des MAT induites par le cancer [47].

Concernant la physiopathologie des MAT induites par des traitements, plusieurs hypothèses ont également été formulées dans la littérature. L'atteinte de la cellule endothéliale par l'agent thérapeutique est supposée être l'évènement déclenchant [44]. Il a été aussi proposé que certaines thérapies puissent agir comme évènement déclenchant de la MAT chez des patients déjà prédisposés à la maladie thrombotique par une anomalie génétique dans la cascade du complément. La diminution du VEGF dans le cadre de thérapie ciblée anti-VEGF, pourrait être également à l'origine d'une agression des cellules endothéliales [44]. Comme pour les MAT induites par les cancers, il a été rapporté chez des patients traités par cyclosporine A, mitomycin-C ou polychimiothérapie, des anomalies du facteur de vWf [48].

Les données de la littérature sont donc rares et souvent contradictoires.

Le taux d'activité de l'ADAMTS-13 n'était pas disponible pour nos patients. De plus, les thérapies exactes utilisées n'étaient pas rapportées dans toutes les observations de notre étude, rendant difficile l'imputabilité de la MAT au cancer ou à son traitement.

En revanche il semble important de suggérer la très probable activation de la voie du complément au cours du traitement pour tumeurs malignes. Au vu de nos résultats, la cascade du complément est clairement activée du fait de la présence de dépôts de C4d, signant l'activation de la voie du complément.

3- Fixation de l'Ac anti-C4d au cours de l'HTA maligne

D'après notre étude, les dépôts de C4d sont significativement moins importants en IHC ($p=0,01$) dans le groupe « HTA maligne » comparativement à la population totale de MAT. Il existe cependant des dépôts de C4d significatifs ($p=0,027$) en IF, sur les AJG.

En revanche, il existe un marquage en IF du C5b9, significatif ($p=0,00819$) sur les glomérules, chez nos patients présentant une HTA maligne. En effet, sur les 8 biopsies positives pour le C5b9 (sur les 36 testés), 5 proviennent du groupe « HTA maligne ».

Les seules données du marquage par le C4d glomérulaire en IHC pourraient nous inciter à envisager qu'il n'existe pas d'activation de la voie du complément au cours de l'HTA maligne. Cependant, l'association significative avec un marquage glomérulaire du C5b9 de même que la présence de dépôts de C4d sur les AJG indiquent qu'il y a néanmoins une activation de la voie terminale du complément.

Les données de la littérature concernant un quelconque lien entre HTA et la voie du complément sont rares. Une diminution de l'expression du CD59 a été mise en évidence chez des patients hypertendus, avec *in vivo*, des dépôts de C5b9 sur les cellules endothéliales [49]. Cette molécule permet de bloquer l'assemblage du MAC. Dans notre étude, nous avons également mis en évidence un marquage significatif du C5b9 glomérulaire, ce qui est en accord avec cette donnée de la littérature. Il existerait donc, dans l'HTA, une diminution de la protection des cellules endothéliales contre l'activation du complément.

Les hypothèses sont donc nombreuses : l'augmentation de la pression artérielle cause-t-elle des dommages à la cellule endothéliale susceptible de moduler l'expression de certaines molécules de la voie du complément ? Ou bien, très probablement, est-ce le défaut d'expression d'un composant de la voie du complément qui joue un rôle de co-facteur dans le développement d'une HTA ? Par ailleurs, existe-il une activation de la voie terminale du complément par une autre voie que celle générant le C4d, par exemple celle de la voie alterne, connue pour être activée par des substances d'origine bactérienne ?

D- Les voies d'activation du complément au cours des MAT

Nous avons vu que les dépôts de C4d peuvent résulter de l'activation de la voie classique ou de la voie des lectines.

Chua et al ont étudié la voie classique par le marquage du C1q et la voie des lectines par le MBL. Nous ne disposons pas au cours de notre travail de l'IHC anti-MBL. En revanche nous avons pu réaliser le C1q. Nos résultats diffèrent nettement de ceux de Chua et al, avec une positivité de seulement 2,3% des glomérules et 20,9% des AJG versus 92,5% dans l'étude de Chua (marquage glomérulaire et artériolaire confondus) [42].

Il faut noter que le marquage a été réalisé en IHC dans l'étude de Chua et en IF dans notre étude.

Cette différence pourrait être expliquée d'une part par une surestimation du marquage en IHC mais aussi par une variation dans l'interprétation du marquage par le C1q entre les deux études.

E- Intérêt du C4d : de la physiopathologie aux thérapeutiques ciblées

Comme dans l'étude de Chua et al, nous avons constaté la présence de dépôts glomérulaires et artériolaires de C4d au cours de la MAT, signant ainsi l'activation de la cascade du complément dans cette pathologie [42].

L'intérêt pronostique de l'étude du C4d a été rapporté dans plusieurs pathologies, et pourrait bientôt être considéré comme un biomarqueur en vue de l'administration de thérapies ciblées sur la voie terminale du complément.

Des essais thérapeutiques ont été menés au cours des SHUa. L'utilisation de l'Eculizumab dans le SHUa permettrait une augmentation puis une normalisation du taux de plaquettes, une amélioration de la fonction rénale, avec arrêt de la dialyse dans certains cas. Il est donc souhaitable de pouvoir cibler les patients susceptibles de bénéficier de ce traitement. L'étude de la fixation du C4d pourrait alors s'avérer être un outil de choix afin de mettre en évidence l'activation du complément qui, d'après les données de la littérature et nos propres résultats, est présente au cours des SHUa.

Inhiber les derniers éléments de la cascade du complément expose cependant les patients à certaines complications, notamment le risque accru d'infections [40]. Le risque d'infection par le méningocoque n'est pas négligeable lors du traitement par Eculizumab et doit être pris en compte [3].

Le coût actuellement élevé de cette thérapie reste également un problème difficile puisque le coût annuel était d'environ 600000 \$, pour un adulte, à l'Université d'Oklahoma, Medical Center Pharmacy, en mars 2014 [3].

Chua et al ont également retrouvé dans leur étude une forte positivité du C5b9 (76,7%), avec un marquage prédominant au niveau des artérioles dans la plupart des étiologies de MAT [42]. Les auteurs ont donc identifié également le C5b9 comme un autre marqueur fiable de l'activation de la voie du complément. La co-localisation avec les dépôts de C4d est présente dans 59,5% des cas. Dans notre étude, nous n'avons retrouvé que 8 cas positifs pour le C5b9 (22,2%) au niveau des glomérules, parmi les 36 cas testés. En revanche, il existe une positivité de 25 des 36 cas (69,4%) pour le C5b9 sur les AJG. Ces résultats sont donc concordants avec ceux de Chua et al. Il semble que les dépôts de C5b9 soient plus importants au niveau des AJG que des glomérules ; leur présence au niveau des AJG confirmant bien l'existence d'un mécanisme d'activation de la voie du complément.

F- C3 et C4 sériques versus IHC et IF

Dans notre série de MAT, nous avons retrouvé un taux médian de C4 sérique dans les limites de la normale (médiane de 1,4). Le taux de C4 sérique est par ailleurs significativement plus élevé dans le groupe C4d+ glomérulaire que dans le groupe C4d- glomérulaire en IHC

Le taux médian de C3 sérique est également dans les limites de la normale (médiane de 1,5).

Des études ont permis de montrer que certaines étiologies de MAT comme le SHUa, s'accompagnaient de taux de C3 et C5b9 sériques proches de la normale dans la majorité des cas à la phase aiguë, associés à des dépôts tissulaires de C3 et de C5b9 [50]. Les taux de C3 et de C5b9 sériques ne seraient donc pas des

marqueurs fiables de l'activation du complément dans les MAT alors qu'une activation du complément devrait se traduire par une baisse du complément sérique.

De la même manière qu'il existe une hétérogénéité dans l'atteinte des lésions au sein du réseau vasculaire rénal, il pourrait également exister une inégalité dans l'activation du complément entre les tissus et la circulation. Le phénomène chronique et évolutif qu'est l'activation locale du complément au niveau rénal au cours des MAT ne se traduit peut être pas de façon instantanée par une baisse du complément au niveau sérique. L'activation du complément au cours des MAT semble être un phénomène sélectif, à la fois entre différents tissus mais aussi au sein d'un même tissu.

G- Hypothèses physiopathologiques C4d, MAT et coagulation

Les MAT se caractérisent par la présence de thrombi plaquettaires et une dysfonction des cellules endothéliales.

Un lien existe entre coagulation, plaquettes et complément [14, 51].

Le complément favoriserait la coagulation et inhiberait la fibrinolyse, principalement par le biais du C5a [52]. La protéine MASP-2, intervenant dans la voie des lectines, peut, quant à elle, activer simultanément la coagulation et le complément, générant par la suite de la thrombine, produit final de la cascade de la coagulation [53]. La thrombine peut, quant à elle, générer du C5a et du C5a.

L'activation des plaquettes par le complément se fait grâce à des récepteurs se situant à la surface plaquettaire. Il a été démontré la présence de récepteurs aux anaphylatoxines C3a (C3aR) et C5a (C5bR), ainsi que des récepteurs au C1q (C1qR), au C3b et à la P-selectin. Les plaquettes expriment et peuvent se lier à leur surface à de nombreuses protéines de contrôle du complément [54].

Il a par ailleurs été montré une expression du C4d sur les plaquettes de patients porteurs de SAPL [55].

Inversement, l'agrégation plaquettaire joue un rôle dans l'activation du complément [12]. Il existe un relargage de caséine-kinases qui phosphorylent le C3b, retardant son clivage et conduisant à une prolongation de l'activation du

complément. De plus, le C3b se lie à la P-selectin qui initie la voie alterne du complément [56].

Les plaquettes contiennent également des protéines précurseurs de C3 et C4, venant renforcer, lors de l'activation des plaquettes, une rétroaction positive [12].

Le complément peut donc activer les plaquettes qui, elles-mêmes, lorsqu'elles sont activées par la thrombine peuvent initier la voie du complément.

Au final, lorsque la voie du complément est activée par une dérégulation quelconque, un cercle vicieux de perturbation endothéliale s'enclenche, induisant une activation et un recrutement plaquettaire et lymphocytaire, des dépôts de protéines du complément, le tout conduisant à la formation d'une microthrombose.

Les lésions de la cellule endothéliale dans la MAT résultent probablement d'une cascade d'évènements multifactoriels intriqués les uns avec les autres.

VI) CONCLUSION

L'intérêt de la recherche de la fixation de l'Ac anti-C4d est bien démontré au niveau des CPT dans la pathologie de rejet de greffe rénale.

L'expression du C4d est de plus en plus étudiée hors de la pathologie de rejet, comme facteur pronostique mais aussi en raison du développement de thérapies ciblées sur la voie du complément.

Notre étude a permis de souligner l'intérêt du marquage par l'Ac anti-C4d mais aussi sa difficulté d'interprétation.

Nos résultats sont concordants avec les rares données de la littérature disponibles sur ce sujet. Nous avons pu mettre en évidence une corrélation entre l'existence de dédoublements membranaires en histologie et la présence de dépôts glomérulaires de C4d, ainsi qu'une corrélation entre les dépôts glomérulaires de C4d et certaines étiologies de MAT (SHUa, cancer avec ou sans traitement). Nous avons également posé de nombreuses questions sur le lien éventuel entre HTA et complément en constatant dans notre étude à la fois l'absence de dépôts de C4d et la présence de dépôts de C5b9.

Les faibles effectifs de nos différents groupes et le manque d'homogénéité entre études, dans l'interprétation du marquage anti-C4d, doivent cependant nous inciter à ne pas tirer de conclusions hâtives.

En raison des enjeux thérapeutiques qu'implique une activation du complément dans certaines étiologies de MAT, il serait intéressant de pouvoir réaliser une étude sur une population plus importante, mais la rareté des MAT rend celle-ci difficile.

VII) REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med.* 2002; 22;347(8):589-600.
- [2] Rosove MH. Thrombotic microangiopathies. *Semin Arthritis Rheum.* 2014; 43(6): 797-805.
- [3] George JN, Nester CM. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med.* 2014; 6;371(19): 1847-48.
- [4] Sarma JV, Ward PA. The complement system. *Cell Tissue Res.* 2011; 343(1):227-35.
- [5] Caires RA, Marques ID, Repizo LP, Sato VA, Carmo LP, Machado DJ, et al. De novo thrombotic microangiopathy after kidney transplantation: clinical features, treatment, and long-term patient and graft survival. *Transplant Proc.* 2012 ; 44(8): 2388-90.
- [6] Laure-Hélène NOEL. Atlas de pathologie rénale. Ed Médecine Sciences Flammarion. 2008 ; 427-62.
- [7] Dunkelberger JR, Song WC. Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res.* 2010; 20(1): 34-50.
- [8] Walport MJ. Complement. First of two parts. *N Engl J Med.* 2001; 5;344(14): 1058-66.
- [9] Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med.* 2001; 12;344(15): 1140-44.
- [10] Cohen D, Colvin RB, Daha MR, Drachenberg CB, Haas M, Nickleit V., Pros and cons for C4d as a biomarker. *Kidney Int.* 2012; 81(7): 628-39.

- [11] Nilsson SC, Sim RB, Lea SM, Fremeaux-Bacchi V, Blom AM et al. Complement factor I in health and disease. *Mol Immunol*. 2011; 48(14): 1611-20.
- [12] Murata K, Baldwin WM 3rd. Mechanisms of complement activation, C4d deposition, and their contribution to the pathogenesis of antibody-mediated rejection. *Transplant Rev (Orlando)*. 2009; 23(3):139-50.
- [13] Corrêa RR, Machado JR, da Silva MV, Helmo FR, Guimarães CS, Rocha LP, et al. The importance of C4d in biopsies of kidney transplant recipients. *Clin Dev Immunol*. 2013; 2013: 678180.
- [14] Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol*. 2011; 11(9): 785-97.
- [15] Roos A, Daha MR, van Pelt J, Berger SP. Mannose-binding lectin and the kidney. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22(12):3370-77.
- [16] Berger SP, Roos A, Daha MR. Complement and the kidney: what the nephrologist needs to know in 2006? *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20(12): 2613-19.
- [17] Nickeleit V, Mihatsch MJ. Kidney transplants, antibodies and rejection: is C4d a magic marker? *Nephrol Dial Transplant*. 2003; 18(11): 2232-39.
- [18] Djamali A, Kaufman DB, Ellis TM, Zhong W, Matas A, Samaniego M. Diagnosis and management of antibody-mediated rejection: current status and novel approaches. *Am J Transplant*. 2014; 14(2):255-71.
- [19] Regele H, Böhmig GA, Habicht A, Gollowitzer D, Schillinger M, et al. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: a contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13(9): 2371-80.

[20] Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant*. 2003; 3(6): 708-14.

[21] Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, et al; Banff meeting report writing committee. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant*. 2014; 14(2): 272-83.

[22] Seemayer CA, Gaspert A, Nিকেleit V, Mihatsch MJ. C4d staining of renal allograft biopsies: a comparative analysis of different staining techniques. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22(2): 568-76.

[23] Nadasdy GM, Bott C, Cowden D, Pelletier R, Ferguson R, Nadasdy T. Comparative study for the detection of peritubular capillary C4d deposition in human renal allografts using different methodologies. *Hum Pathol*. 2005; 36(11): 1178-85.

[24] Chantranuwat C, Qiao JH, Kobashigawa J, Hong L, Shintaku P, Fishbein MC. Immunoperoxidase staining for C4d on paraffin-embedded tissue in cardiac allograft endomyocardial biopsies: comparison to frozen tissue immunofluorescence. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2004; 12(2): 166-71.

[26] Solez K1, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant*. 2008; 8(4): 753-60.

[25] Ludovico-Martins H, Silva C, Teodoro WR, Martini Filho D, Noronha IL. Analysis of different staining techniques for c4d detection in renal allograft biopsies. *Transplant Proc*. 2009; 41(3): 862-65.

[26] Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant*. 2008; 8(4): 753-60.

- [27] Regele H, Exner M, Watschinger B, Wenter C, Wahrmann M, Osterreicher C, et al. Endothelial C4d deposition is associated with inferior kidney allograft outcome independently of cellular rejection. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16(10): 2058-66.
- [28] Zwirner J, Felber E, Herzog V, Riethmüller G, Feucht HE. Classical pathway of complement activation in normal and diseased human glomeruli. *Kidney Int*. 1989; 36(6): 1069-77.
- [29] Espinosa M, Ortega R, Sánchez M, Segarra A, Salcedo MT, González F, et al; Spanish Group for Study of Glomerular Diseases (GLOSEN). Association of C4d deposition with clinical outcomes in IgA nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014; 9(5): 897-904.
- [30] Shen Y, Chen XW, Sun CY, Dai M, Yan YC, Yang CD. Association between anti-beta2 glycoprotein I antibodies and renal glomerular C4d deposition in lupus nephritis patients with glomerular microthrombosis: a prospective study of 155 cases. *Lupus*. 2010; 19(10): 1195-203.
- [31] Noris M, Mescia F, Remuzzi G. STEC-HUS, atypical HUS and TTP are all diseases of complement activation. *Nat Rev Nephrol*. 2012; 8(11): 622-33.
- [32] Morigi M, Galbusera M, Gastoldi S, Locatelli M, Buelli S, Pezzotta A, et al. Alternative pathway activation of complement by Shiga toxin promotes exuberant C3a formation that triggers microvascular thrombosis. *J Immunol*. 2011; 187(1): 172-80.
- [33] Chapin J, Weksler B, Magro C, Laurence J. Eculizumab in the treatment of refractory idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 2012; 157(6): 772-74.
- [34] Cohen D, Koopmans M, Kremer Hovinga IC, Berger SP, Roos van Groningen M, et al. Potential for glomerular C4d as an indicator of thrombotic microangiopathy in lupus nephritis. *Arthritis Rheum*. 2008; 58(8): 2460-69.

- [35] Kim SH, Jeong HJ. Glomerular C4d deposition indicates in situ classic complement pathway activation, but is not a marker for lupus nephritis activity. *Yonsei Med J.* 2003; 44(1): 75-80.
- [36] Noris M1, Remuzzi G. Thrombotic microangiopathy after kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2010; 10(7): 1517-23.
- [37] Meehan SM, Kremer J, Ali FN, Curley J, Marino S, Chang A, Kadambi PV. Thrombotic microangiopathy and peritubular capillary C4d expression in renal allograft biopsies. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011; 6(2): 395-403.
- [38] Wagner E, Frank MM. Therapeutic potential of complement modulation. *Nat Rev Drug Discov.* 2010; 9(1): 43-56.
- [39] Parker C. Eculizumab for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Lancet.* 2009 ; 28;373(9665): 759-67.
- [40] Schmidtko J, Peine S, El-Housseini Y, Pascual M, Meier P. Treatment of atypical hemolytic uremic syndrome and thrombotic microangiopathies: a focus on eculizumab. *Am J Kidney Dis.* 2013; 61(2): 289-99.
- [41] Keating GM. Eculizumab: a review of its use in atypical haemolytic uraemic syndrome. *Drugs.* 2013; 73(18): 2053-66.
- [42] Chua JS, Baelde HJ, Zandbergen M, Wilhelmus S, van Es LA, de Fijter JW, Bruijn JA, Bajema IM, Cohen D. Complement Factor C4d Is a Common Denominator in Thrombotic Microangiopathy. *J Am Soc Nephrol.* 2015; 26(9): 2239-47.
- [43] Céline Debiais, Etude de la fixation glomérulaire de l'anticorps anti-C4d en pathologie du greffon rénal, Thèse de doctorat en médecine, sous la direction du Pr Guy Touchard, Poitiers, Faculté de médecine, 27 juin 2014, 70 p.

- [44] Lechner K, Obermeier HL. Cancer-related microangiopathic hemolytic anemia: clinical and laboratory features in 168 reported cases. *Medicine (Baltimore)*. 2012; 91(4): 195-205.
- [45] Izzedine H, Perazella MA. Thrombotic Microangiopathy, Cancer, and Cancer Drugs. *Am J Kidney Dis*. 2015 May 2. pii: S0272-6386(15)00543-0. doi: 10.1053/j.ajkd.2015.02.340.
- [46] Mannucci PM, Karimi M, Mosalaei A, Canciani MT, Peyvandi F. Patients with localized and disseminated tumors have reduced but measurable levels of ADAMTS-13 (von Willebrand factor cleaving protease). *Haematologica*. 2003; 88(4): 454-58.
- [47] Ducos G, Mariotte E, Galicier L, Canet E, Boutboul D, Lemiale V, et al. Metastatic cancer-related thrombotic microangiopathies: a cohort study. *Future Oncol*. 2014; 10(10): 1727-34.
- [48] Charba D, Moake JL, Harris MA, Hester JP. Abnormalities of von Willebrand factor multimers in drug-associated thrombotic microangiopathies. *Am J Hematol*. 1993; 42(3): 268-77
- [49] Castagna F1, Wang J, Emit M, Wang G, Jelic S, Parati G. 9A.09: Protection against complement activity is reduced in arterial hypertension. *J Hypertens*. 2015; 33 Suppl 1: e119.
- [50] Noris M, Galbusera M, Gastoldi S, Macor P, Banterla F, Bresin E, et al. Dynamics of complement activation in aHUS and how to monitor eculizumab therapy. *Blood*. 2014; 11;124(11): 1715-26.
- [51] Markiewski MM, Nilsson B, Ekdahl KN, Mollnes TE, Lambris JD. Complement and coagulation: strangers or partners in crime? *Trends Immunol*. 2007; 28(4): 184-92.

[52] Ritis K, Doumas M, Mastellos D, Micheli A, Giaglis S et al. A novel C5a receptor-tissue factor cross-talk in neutrophils links innate immunity to coagulation pathways. *J Immunol.* 2006; 1;177(7): 4794-802.

[53] Krarup A, Wallis R, Presanis JS, Gál P, Sim RB. Simultaneous activation of complement and coagulation by MBL-associated serine protease 2. *PLoS One.* 2007; 18;2(7): e623.

[54] Patzelt J, Verschoor A, Langer HF. Platelets and the complement cascade in atherosclerosis. *Front Physiol.* 2015; 2;6: 49.

[55] Navratil JS, Manzi S, Kao AH, Krishnaswami S, Liu CC, Ruffing MJ, et al. Platelet C4d is highly specific for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006; 54(2): 670-74.

[56] Ota H, Fox-Talbot K, Hu W, Qian Z, Sanfilippo F, Hruban RH. Terminal complement components mediate release of von Willebrand factor and adhesion of platelets in arteries of allografts. *Transplantation.* 2005 ;15;79(3): 276-81.

RESUME

INTRODUCTION : Le système du complément est un acteur clé de l'immunité innée, nécessaire à la défense de l'hôte contre les agents pathogènes mais aussi impliqué dans de diverses pathologies rénales, dont les microangiopathies thrombotiques (MAT). La MAT est une affection rare, touchant fréquemment les reins et qui se caractérise par la formation de thrombi vasculaires, d'une hémolyse et d'une thrombocytopénie. L'activation du complément a été démontrée comme jouant un rôle clé dans certaines étiologies de MAT. Le C4d est un produit inactif de dégradation secondaire à l'activation du complément. L'émergence de thérapies ciblant la voie terminale du complément incite à trouver des biomarqueurs de l'activation du complément. Le but de cette étude est de déterminer la prévalence et la localisation du C4d, dans les reins natifs atteints de MAT et également de rechercher d'éventuelles corrélations anatomo-cliniques entre les différentes étiologies de MAT.

MATERIEL ET METHODE : L'ensemble des cas histologiques de MAT, à l'exception de ceux sur greffon rénal, répertoriés au CHU de Rouen, entre 1995 et 2015, ont été relus par deux anatomopathologistes. L'ensemble des données cliniques ont été recueillies sur dossier médical. Une étude du C4d et du C5b9 a été réalisée en immunofluorescence (IF), et également en immunohistochimie (IHC) pour le C4d. Les dépôts de C4d ont été étudiés au niveau des glomérules, artérioles juxta glomérulaires (AJG), artères inter-lobulaires et capillaires péri-tubulaires, cotés de 0 à 3 en fonction de l'intensité du marquage.

RESULTATS : Nous avons recueillis 57 biopsies rénales, d'étiologies très diverses. Des dépôts glomérulaires de C4d sont observés en IF dans 17/36 cas (47.2%). Des dépôts sur les AJG sont observés dans 15/35 cas (42.9%). Des dépôts de C5b9 sont observés dans 8/36 cas (22.2%) sur les glomérules et 25/36 cas (69.4%) sur les AJG. En IHC, 24/52 (46.2%) présentent un marquage glomérulaire du C4d et 33/49 (67.3%) sur les artérioles. La fixation glomérulaire du C4d en IHC et en IF est significativement associée à la présence de dédoublements membranaires en histologie (respectivement $p=0.00056$ et $p=0.039$). Il existe une corrélation significative entre le marquage glomérulaire du C4d en IHC et en IF ($p=0.0019$). La fixation glomérulaire du C4d en IHC est significativement corrélée au SHUa et aux MAT secondaires à un cancer avec chimiothérapie (respectivement $p=0.04$ et $p=0.01$). Les MAT secondaires à une hypertension artérielle maligne ne sont significativement pas liés à la fixation glomérulaire du C4d ($p=0.01$).

CONCLUSION : La MAT est une pathologie rare, d'étiologies très variées. Les dépôts glomérulaires et artériolaires de C4d sont présents dans la plupart des étiologies de MAT, témoignant d'une activation de la voie du complément. Le C4d et le C5b9 pourraient ainsi devenir des biomarqueurs chez certains patients atteints de MAT, en relation avec l'activation du complément et permettre à certains de ces patients de bénéficier ainsi de thérapies ciblées.

RESUME

INTRODUCTION : Le système du complément est un acteur clé de l'immunité innée, nécessaire à la défense de l'hôte contre les agents pathogènes mais aussi impliqué dans de diverses pathologies rénales, dont les microangiopathies thrombotiques (MAT). La MAT est une affection rare, touchant fréquemment les reins et qui se caractérise par la formation de thrombi vasculaires, d'une hémolyse et d'une thrombocytopénie. L'activation du complément a été démontrée comme jouant un rôle clé dans certaines étiologies de MAT. Le C4d est un produit inactif de dégradation secondaire à l'activation du complément. L'émergence de thérapies ciblant la voie terminale du complément incite à trouver des biomarqueurs de l'activation du complément. Le but de cette étude est de déterminer la prévalence et la localisation du C4d, dans les reins natifs atteints de MAT et également de rechercher d'éventuelles corrélations anatomo-cliniques entre les différentes étiologies de MAT.

MATERIEL ET METHODE : L'ensemble des cas histologiques de MAT, à l'exception de ceux sur greffon rénal, répertoriés au CHU de Rouen, entre 1995 et 2015, ont été relus par deux anatomopathologistes. L'ensemble des données cliniques ont été recueillies sur dossier médical. Une étude du C4d et du C5b9 a été réalisée en immunofluorescence (IF), et également en immunohistochimie (IHC) pour le C4d. Les dépôts de C4d ont été étudiés au niveau des glomérules, artérioles juxta glomérulaires (AJG), artères inter-lobulaires et capillaires péri-tubulaires, cotés de 0 à 3 en fonction de l'intensité du marquage.

RESULTATS : Nous avons recueillis 57 biopsies rénales, d'étiologies très diverses. Des dépôts glomérulaires de C4d sont observés en IF dans 17/36 cas (47.2%). Des dépôts sur les AJG sont observés dans 15/35 cas (42.9%). Des dépôts de C5b9 sont observés dans 8/36 cas (22.2%) sur les glomérules et 25/36 cas (69.4%) sur les AJG. En IHC, 24/52 (46.2%) présentent un marquage glomérulaire du C4d et 33/49 (67.3%) sur les artérioles. La fixation glomérulaire du C4d en IHC et en IF est significativement associée à la présence de dédoublements membranaires en histologie (respectivement $p=0.00056$ et $p=0.039$). Il existe une corrélation significative entre le marquage glomérulaire du C4d en IHC et en IF ($p=0.0019$). La fixation glomérulaire du C4d en IHC est significativement corrélée au SHUa et aux MAT secondaires à un cancer avec chimiothérapie (respectivement $p=0.04$ et $p=0.01$). Les MAT secondaires à une hypertension artérielle maligne ne sont significativement pas liés à la fixation glomérulaire du C4d ($p=0.01$).

CONCLUSION : La MAT est une pathologie rare, d'étiologies très variées. Les dépôts glomérulaires et artériolaires de C4d sont présents dans la plupart des étiologies de MAT, témoignant d'une activation de la voie du complément. Le C4d et le C5b9 pourraient ainsi devenir des biomarqueurs chez certains patients atteints de MAT, en relation avec l'activation du complément et permettre à certains de ces patients de bénéficier ainsi de thérapies ciblées.