

# GÉNÉTIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIE DU SYNDROME HÉMOLYTIQUE ET URÉMIQUE (SHU) ET DU PURPURA THROMBOTIQUE THROMBOCYTOPÉNIQUE (PTT)

par

T. HJ GOODSHP\*

Le syndrome hémolytique et urémique (SHU) est caractérisé par la triade : anémie hémolytique microangiopathique (avec test de Coombs négatif), thrombopénie et insuffisance rénale aiguë. La classification habituelle des SHU distingue les SHU post-diarrhée (D+) et les SHU non associés à une diarrhée (D-), appelés aussi SHU atypiques. Les SHU (D-) sont eux-mêmes divisés en formes sporadiques (un seul individu touché dans une famille) et en formes familiales (au moins un membre de la famille est également atteint). Les formes sporadiques et familiales peuvent toutes deux récidiver. Enfin, les SHU atypiques peuvent survenir au cours de différentes situations telles que la grossesse, le lupus érythémateux disséminé (LED), l'infection par le VIH ou encore la prise de médicaments tels que les contraceptifs oraux ou la ciclosporine.

Au cours de ces dernières années, des progrès importants ont été accomplis dans la génétique et la compréhension des mécanismes qui sont à l'origine des SHU. Dans les SHU associés aux diarrhées, il a été démontré que la virulence des souches d'*E. coli* 0157 est liée à l'adhésion (via l'intimine) et au transport des vérotoxines par les polynucléaires. Ces cellules jouent donc un rôle important de médiateurs. Des modifications précoces de la coagulation sont des signes précurseurs de ce type de SHU.

Les mutations du facteur H, qui intervient dans la voie alterne du complément, ont été identifiées chez 15 à 30 p. 100 des patients avec un SHU familial ou sporadique [(SHU (D-))]. Les mutations sont principalement localisées au niveau C-terminal du facteur H, région impliquée dans la liaison au C3b, mais aussi dans

\* The Institute of Human Genetics and School of Clinical Medical Sciences, University of Newcastle upon Tyne, United Kingdom.

la liaison aux structures polyanioniques de la surface cellulaire. Ces mutations rendent les cellules endothéliales plus sensibles aux lésions induites par le complément. Des mutations dans le gène d'une protéine appelée « *membrane bound complement regulator* » ou « *membrane cofactor protein* » (MCP ; CD46) ont été décrites dans trois familles. Ces mutations ont pour conséquence une incapacité à inhiber le C3b à la surface des cellules. Enfin, il existe des mutations dans le gène du facteur I (sérine protéase impliquée dans la voie alterne du complément) qui entraînent un déficit en cette protéase et qui ont été caractérisées chez deux patients atteints de SHU. Il y a donc aujourd'hui un faisceau de preuves suffisant pour affirmer que la dysrégulation de la voie alterne du complément prédispose au développement d'une microangiopathie thrombotique.

### SHU (D+)

Dans la plupart des cas, les SHU (D+) sont secondaires à une infection par *E. coli* 0157. Les premières descriptions impliquant cette souche de *coli*, responsable de diarrhée sanglante et de SHU, datent de 1982. Depuis cette date, la description de petites épidémies à *E. coli* 0157 croît de façon exponentielle. Les facteurs de virulence de ces souches de *E. coli* sont les vérotoxines et l'intimine, qui est une adhésine [1]. Par le biais de l'intimine, *E. coli* 0157 se lie aux cellules du côlon et cette liaison facilite le transfert des vérotoxines dans la cellule colique [2, 3]. *E. coli* 0157 produit deux vérotoxines (VT-1 et VT-2), également appelées « *shiga-toxins* ». Chaque vérotoxine a une sous-unité A et cinq sous-unités B. Les sous-unités B se lient à un récepteur membranaire des cellules endothéliales ; ce récepteur est un glycosphingolipide globotriaosyl céramide appelé Gb3. Après liaison des sous-unités B, la sous-unité A est internalisée et inhibe la synthèse protéique [4, 5]. La cellule endothéliale passe alors d'un phénotype anticoagulant à un phénotype procoagulant, facilitant ainsi le développement de la microangiopathie thrombotique. Comment la vérotoxine passe-t-elle de la cellule intestinale à l'endothélium rénal ? Cette question est longtemps restée sans réponse. Les différentes hypothèses impliquaient les globules rouges, les plaquettes, les lipoprotéines ou les leucocytes. Des études récentes suggèrent que ce sont les leucocytes qui jouent ce rôle de transporteurs. En effet, Too et coll. ont montré *in vitro* que la vérotoxine se lie rapidement, et de façon exclusive, aux polynucléaires [6]. Le récepteur à la surface des polynucléaires n'est pas Gb3. Il n'y a donc pas d'internalisation de la vérotoxine dans les polynucléaires. La constante de dissociation (Kd) pour la liaison aux polynucléaires est moindre que celle pour le Gb3. Cette moindre affinité facilite le transfert de la vérotoxine vers la surface des cellules endothéliales.

Les mêmes auteurs ont ensuite démontré la présence de VT-2 liée à la surface des polynucléaires dans le sang périphérique de patients qui ont un SHU (D+) [7]. C'est la première démonstration de la présence de vérotoxine circulante au cours du SHU. La vérotoxine liée aux polynucléaires est également détectable chez 82 p. 100 des sujets (incluant les sujets asymptomatiques) vivant au domicile des patients atteints de SHU [8]. Qu'est-ce qui sépare donc les porteurs sains des sujets malades ? Le lipopolysaccharide (LPS) produit par *E. coli* 0157 est également détectable dans la circulation. Il est possible que le LPS module

le fait de développer ou non un SHU. Siegler et coll. ont conduit des expériences sur des babouins qui, comme les humains, ont des récepteurs endothéliaux G3b. Ils ont constaté qu'une injection unique intraveineuse directe de VT-1 induit une microangiopathie thrombotique, alors que l'injection de la même quantité de toxine, mais fractionnée en 4 doses sur 24 heures, n'entraînait aucune lésion [9].

Par la suite, les mêmes auteurs ont démontré que l'adjonction de LPS aux 4 injections fractionnées entraînait alors le développement du SHU [10]. Ainsi, il semble que le LPS soit un facteur prédisposant à la microangiopathie thrombotique induite par la vérotoxine. Plusieurs auteurs se sont intéressés au rôle des anomalies prothrombotiques dans la genèse des SHU. Chandler a récemment étudié plusieurs marqueurs reflétant l'activation de la coagulation chez des enfants infectés par *E. coli* 0157. Il a montré que le fragment 1 + 2 de la prothrombine, l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA), son inhibiteur de type I (PAI-1) et les D-dimères étaient augmentés très précocement, avant même les premières manifestations du SHU [11]. Ces modifications sont-elles causes ou conséquences de l'activation endothéliale ? Quel est, en particulier, le rôle du facteur tissulaire, dont l'expression est très augmentée ? Ces questions restent sans réponse.

Les connaissances acquises récemment dans la physiopathologie des SHU ont-elles des implications thérapeutiques dans la prise en charge des patients avec SHU (D+) ? La possibilité de lier la toxine dans le tube digestif avant qu'elle ne se fixe aux cellules coliques a conduit au développement du SYNSORB Pk. Il s'agit d'un substrat de silice auquel sont fixés des trisaccharides synthétiques qui se lient à la vérotoxine. Les essais de phase I avaient donné des résultats satisfaisants [12] mais les études ultérieures n'ont pas démontré d'efficacité nette [13]. Un nouveau ligand, constitué d'hydrates de carbone et qui est soluble dans l'eau, est en cours de développement [14]. Il est nommé STARFISH et a une activité inhibitrice puissante de la vérotoxine *in vitro*. Des essais faisant appel à l'utilisation d'anticorps antivérotoxine sont également en cours [15, 16]. La prescription d'antibiotiques est associée à un risque augmenté de développer un SHU, sans que l'on en sache précisément les raisons [17].

## SHU ATYPIQUES (D-)

Les formes familiales de SHU sont connues depuis 1956, mais la définition de ces formes a été clarifiée par l'immense travail de Bernard Kaplan [18]. La transmission de la maladie peut être autosomique dominante ou autosomique récessive.

Récemment, les études génétiques menées dans certaines familles ont permis de caractériser certains des mécanismes moléculaires impliqués dans la genèse des SHU. Warwicker a été le premier à décrire une mutation dans le gène du facteur H (FH), facteur régulateur de la cascade d'activation du complément dans un cas de SHU familial et un cas de SHU sporadique [19]. L'association d'un taux bas de FH et de la survenue de SHU avait déjà été plusieurs fois décrite [20-25]. Le gène du FH est localisé sur le chromosome 1, au sein d'une région codant pour d'autres protéines régulatrices du complément. Ces protéines ont toutes la même structure : elles sont constituées de modules répétés homologues contigus appelés « *Complement Control Protein Modules* » (CCP), anciennement appelés « *Short Consensus Repeats* » (SCR). Chaque CCP comprend environ 60 acides aminés et a 4 résidus cystéines qui forment deux ponts disulfures. Le FH est formé de

20 CCP, chacun codé par un seul exon, à l'exception du second CCP qui est codé par les exons 2a et 2b. Dans le travail publié par Warwicker en 1998, le patient avec un SHU sporadique avait une délétion de l'exon 1 avec modification du cadre de lecture et présence d'un codon stop prématuré. Le patient avec un SHU familial avait une mutation ponctuelle au niveau de l'exon 20.

Depuis ce travail, plusieurs mutations différentes dans le gène du FH ont été décrites [26-31]. En fait, 15 à 30 p. 100 des formes atypiques ont une mutation du FH. Il y a donc une hétérogénéité génétique dans les formes familiales, et une proportion importante de formes dites sporadiques sont secondaires à une anomalie génétique.

De plus, il a été démontré qu'un taux normal de C3 et un taux normal de FH n'excluaient pas la possibilité d'une mutation dans le gène du FH. La majorité des patients qui ont une mutation de type faux sens ont un taux normal de FH. Ces mutations concernent l'extrémité C-terminale du FH. Un petit nombre de patients ont des mutations réparties tout au long du gène du facteur H, avec pour conséquence un déficit en facteur H.

La voie alterne du complément est importante dans les phénomènes de reconnaissance du soi et du non-soi, et le facteur H joue un rôle majeur dans la régulation de la voie alterne et ce, de 4 façons différentes :

- le FH agit comme un cofacteur du facteur I dans la dégradation du C3b ;
- il accélère le turn-over de la C3 convertase C3bBb ;
- il entre en compétition avec le facteur B pour la liaison au C3 ;
- enfin, le facteur H se lie aux polyanions présents à la surface cellulaire.

Le rôle de cofacteur et l'action sur la C3 convertase sont localisés au niveau des 4 premiers domaines de l'extrémité N-terminale (CCP-1 à CCP-4), région qui se lie au C3b intact. Il existe un second site de liaison au C3 (CCP-6 à CCP-10). Ce site lie le fragment C3c. Il y a enfin un troisième site de liaison au fragment C3d (CCP-16 à CCP-20) [32, 33]. Le site de liaison aux molécules polyanioniques est localisé au niveau des régions CCP-7 et CCP-20 [34, 35].

La structure dans l'espace du facteur H intact a été récemment établie par analyse aux rayons X et par dispersion de neutrons [36]. Les mutations faux sens associées à la survenue d'un SHU ont été analysées au sein de la structure du facteur H [37]. Ces mutations concernent une région qui code pour trois résidus basiques hautement conservés et qui sont indispensables à l'interaction avec les groupes sulfates d'une molécule polyanionique : l'héparine. Les études structure-fonction ont montré que les mutations du facteur H, qui siègent dans les régions codant pour l'extrémité C-terminale de la protéine, conduisent à un défaut de liaison du facteur H au C3b présent à la surface cellulaire [38-40].

Comment ces anomalies du facteur H conduisent-elles à des lésions de microangiopathie thrombotique ? Il est possible que, après une agression initiale de la cellule endothéliale, le maintien d'un phénotype procoagulant soit assuré du fait d'une dysrégulation de la voie alterne. Cependant, cette hypothèse ne suffit pas à expliquer le tropisme rénal et cérébral observé au cours des SHU. On sait que le plasma des patients qui ont un SHU entraîne une apoptose des cellules endothéliales rénales et cérébrales, mais pas des cellules endothéliales des gros vaisseaux. Le tropisme des lésions pourrait être secondaire à une expression différentielle de gènes pro- et anti-apoptotiques selon le type cellulaire [41].

Ces anomalies du complément jouent-elles un rôle dans la pathogénie des SHU (D+) ? Plusieurs auteurs ont rapporté un taux bas de C3 circulant chez environ

50 p. 100 des patients avec SHU (D+). Il y a donc au cours des SHU (D+) une activation de la voie alterne du complément. De plus, le taux de C3 circulant est inversement corrélé au pronostic [42, 43]. On ne sait pas si cette activation du complément est la conséquence de l'activation entodhéliale ou si elle est la conséquence d'autres phénomènes.

Quel est l'apport des modèles animaux de déficit en facteur H dans la compréhension du SHU ? Les modèles de déficit en facteur H existent chez le porc [44] et chez la souris. Dans tous les cas, les lésions rénales associées au déficit chez les animaux homozygotes sont des glomérulonéphrites mésangiocapillaires (glomérulonéphrites membrano-prolifératives) et non des SHU.

Des lésions rénales identiques ont été décrites par Ault chez un enfant de 13 mois avec un taux de C3 bas, un taux de facteur H indétectable et la présence de mutations au niveau des allèles paternel et maternel [45]. Les mutations portaient sur un résidu cystéine impliqué dans la sécrétion intracellulaire du facteur H. Les connaissances actuelles permettent donc d'affirmer :

- que les déficits en facteur H sont associés fréquemment (bien que non exclusivement), aux glomérulonéphrites mésangiocapillaires ;
- tandis que les mutations faux sens, préférentiellement localisées dans les exons codant pour l'extrémité C-terminale, s'accompagnent d'un taux normal de facteur H, sont toujours associées à la survenue de SHU.

Les anomalies du facteur H n'étant détectées que dans 15 à 30 p. 100 des cas de SHU atypique, il est probable que des mutations portant sur d'autres gènes soient associées aux SHU.

Dans notre expérience, dans des familles ou chez des individus qui n'ont pas de mutation du facteur H, d'autres gènes du complément sont impliqués. D'une part, les expériences de liaison à partir de ces familles, désignent à la région codant pour plusieurs protéines du complément au niveau du chromosome 1. D'autre part, de nombreux cas isolés ont un taux de C3 bas, témoin de l'activation de la voie alterne du complément. Nous avons donc étudié un grand nombre de gènes du complément, et nous avons trouvé des mutations dans le gène d'une protéine régulatrice, liée à la membrane, appelée *Membrane Cofactor Protein* (MCP ou CD46) [46]. La protéine MCP est exprimée par la quasi-totalité des cellules humaines, exception faite des érythrocytes [47-51, revue dans 52]. En association avec le facteur I, MCP dégrade le C3b et le C4b liés à la surface cellulaire. La protéine MCP [53-58], est composé de quatre régions appelées *Complement Control Modules* (CCP) qui hébergent les sites de régulation du complément. Viennent ensuite une région O-glycosylée puis la queue intracytoplasmique qui médie les signaux intracellulaires [52]. Le gène codant pour MCP est localisé en position 1q32. Des mutations dans le gène codant pour MCP ont été mises en évidence dans trois familles :

- une délétion de deux acides aminés dans le domaine CCP4 (D237/S238) dans une famille hétérozygote (famille 1) ;
- une substitution toujours dans le domaine CCP4 (S206P) dans une famille hétérozygote (famille 2) ;
- et la même substitution dans une famille homozygote (famille 3).

Nous avons étudié l'expression de la protéine et sa fonction dans les cellules mononucléées des patients avec mutations.

Un patient avec délétion D237/S238 a un taux réduit de MCP et sa capacité à lier le C3b est réduite de moitié, par rapport aux sujets normaux. Les patients qui ont la substitution S206P expriment une quantité normale de protéines mais la

liaison au C3b est anormale : absence totale de liaison chez les homozygotes, et liaison diminuée de moitié chez les hétérozygotes. L'expression et la fonction de ces mutants de MCP ont été étudiées après expériences de transfection. En cas de délétion, la protéine MCP reste intracellulaire. En cas de substitution, la protéine mutée est exprimée à la surface cellulaire, mais n'est plus capable de prévenir l'activation du complément, probablement par diminution de liaison au C3b.

Dans la famille 1, trois membres ont été atteints de microangiopathie thrombotique : les 3 ont reçu une greffe rénale avec succès, sans signes de rechute.

En plus des anomalies décrites dans les protéines de régulation solubles ou membranaires du complément, on a décrit récemment des mutations du facteur I au cours des SHU atypiques. Le facteur I est une sérine protéase soluble qui clive la chaîne alpha du C3b et la chaîne alpha du C4b, inactivant ainsi ces 2 protéines.

Le facteur I est un hétérodimère de 88 kD, composé d'une chaîne lourde de 50 kD, et d'une chaîne légère de 38 kD qui possède l'activité catalytique. Les deux chaînes sont liées par un pont disulfure. La protéine est synthétisée essentiellement dans le foie, sous forme d'un précurseur monochaine de 565 acides aminés. Après clivage de quatre acides aminés basiques, l'hétérodimère est sécrété. Comme la plupart des protéines du système du complément, le facteur I a une structure modulaire. La chaîne lourde contient deux domaines de type « récepteurs des LDL », un domaine CD5 et un module qui n'est présent que dans le facteur I et les protéines C6 et C7 du complément. Le gène codant pour le facteur I est localisé sur le chromosome 4 en position 4q25, et est long de 63 kb [59]. Il comprend treize exons, et il existe une analogie de structure entre l'organisation des exons et la composition en modules de la protéine. La chaîne légère du facteur I (qui contient l'activité sérine-protéase) est codée par cinq exons. La structure du gène de cette chaîne légère est analogue à la structure du gène codant pour la trypsine. La structure de ce gène est inhabituelle dans la mesure où le premier exon est petit (86 paires de bases) et est séparé du reste du gène par un très long premier intron (36 kb). Le déficit en facteur I a déjà été décrit et se traduit en général par une prédisposition aux infections à pyogènes [60-61]. L'équipe de Frémeaux-Bacchi a décrit des mutations du gène du facteur I chez deux adultes avec un SHU, sans signes d'activation de la voie alterne du complément. Dans les deux cas, la mutation avait pour conséquence un codon stop avec déficit hétérozygote du facteur I.

## CONCLUSION

Au cours de ces dernières années, de gros progrès ont été réalisés dans la compréhension des mécanismes moléculaires responsables de la survenue d'un SHU. La découverte des mécanismes de transport et de cytotoxicité des vérotoxines va ouvrir la porte à de nouvelles thérapeutiques dans les formes D(+). Les anomalies génétiques du facteur H, de la protéine MCP et du facteur I du complément devraient déboucher, dans le futur, à la mise en place de traitements ciblés.

## Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce aux soutiens des organismes suivants :  
– Medical Research Council ;

- Action Research ;
- The Foundation for Nephrology ;
- The National Kidney Research Fund ;
- The Northern Counties Kidney Research Fund.

Nous remercions très vivement Marie-Noëlle Péraldi qui a bien voulu se charger de la traduction de ce texte.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. LAW D. Virulence factors of *Escherichia coli* Ø157 and other Shiga toxin-producing *E. coli*. J Appl Microbiol, 2000, **88**, 729-745.
2. FRANKEL G, PHILLIPS AD, ROSENSHINE I et al. Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* : more subversive elements. Mol Microbiol, 1998, **30**, 911-921.
3. DELAHAY RM, FRANKEL G, KNUITON S. Intimate interactions of enteropathogenic *Escherichia coli* at the host cell surface. Current Opinion in Infectious Diseases, 2001, **14**, 559-565.
4. MEAD PS, GRIFFIN PM. *Escherichia coli* Ø157 : H7. Lancet, 1998, **352**, 1207-1212.
5. SANDVIG K, VAN DEURS B. Entry of ricin and Shiga toxin into cells : molecular mechanisms and medical perspectives. EMBO J, 2000, **19**, 5943-5950.
6. TE LOO DMWM, MONNENS LAH, VAN DER VELDEN TJAM et al. Binding and transfer of verocytotoxin by polymorphonuclear leukocytes in hemolytic uremic syndrome. Blood, 2000, **95**, 3396-3402.
7. TE LOO DM, VAN HINSBERGH VW, VAN DEN HEUVEL LP et al. Detection of verocytotoxin bound to circulating polymorphonuclear leukocytes of patients with hemolytic uremic syndrome. J Am Soc Nephrol, 2001, **12**, 800-806.
8. TE LOO DM, HEUVELINK AE, DE BOER E et al. Verocytotoxin binding to polymorphonuclear leukocytes among households with children with hemolytic uremic syndrome. J Infect Dis, 2001, **184**, 446-450.
9. SIEGLER RL, PYSHER TJ, TESH VL et al. Response to single and divided doses of Shiga toxin-1 in a primate model of hemolytic uremic syndrome. J Am Soc Nephrol, 2001, **12**, 1458-1467.
10. SIEGLER RL, PYSHER TJ, LOU R et al. Response to Shiga toxin-1, with and without lipopolysaccharide, in a primate model of hemolytic uremic syndrome. Am J Nephrol, 2001, **21**, 420-425.
11. CHANDLER WL, JELACIC S, BOSTER DR et al. Prothrombotic coagulation abnormalities preceding the hemolytic-uremic syndrome. N Engl J Med, 2002, **346**, 23-32.
12. ARMSTRONG GD, ROWE PC, GOODYER P et al. A phase I study of chemically synthesized verotoxin (Shiga-like toxin) Pk-trisaccharide receptors attached to chromosorb for preventing hemolytic-uremic syndrome. J Infect Dis, 1995, **171**, 1042-1045.
13. TRACHTMAN H, CNAAN A, CHRISTEN E et al. Effect of an oral Shiga toxin-binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children : a randomized controlled trial. JAMA, 2003, **290**, 1337-1344.
14. KITOV PI, SADOWSKA JM, MULVEY G et al. Shiga-like toxins are neutralized by tailored multivalent carbohydrate ligands. Nature, 2000, **403**, 669-672.
15. MUKHERJEE J, CHIOS K, FISHWILD D et al. Human Stx2-specific monoclonal antibodies prevent systemic complications of *Escherichia coli* Ø157 : H7 infection. Infect Immun, 2002, **70**, 612-619.
16. MARCATO P, MULVEY G, READ RJ et al. Immunoprophylactic potential of cloned shiga toxin 2 B subunit. J Infect Dis, 2001, **183**, 435-443.
17. WONG CS, JELACIC S, HABEEB RL et al. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* Ø157 : H7 infections. N Engl J Med, 2000, **342**, 1930-1936.
18. KAPLAN BS, CHESNEY RW, DRUMMOND KN. Hemolytic uremic syndrome in families. N Engl J Med, 1975, **292**, 1090-1093.

19. WARWICKER P, GOODSHIP THJ, DONNE RL et al. Genetic studies into inherited and sporadic haemolytic uraemic syndrome. *Kidney Int*, 1998, **53**, 836-844.
20. THOMPSON RA, WINTERBORN MH. Hypocomplementaemia due to a genetic deficiency of beta-1H globulin. *Clin Exp Immunol*, 1981, **46**, 110-119.
21. ROODHOFT AM, MCLEAN RH, ELST E et al. Recurrent hemolytic uremic syndrome and acquired hypomorphic variant of the third component of complement. *Pediatr Nephrol*, 1990, **4**, 597-599.
22. PICHETTE V, QUERIN S, SCHURCH W et al. Familial hemolytic-uremic syndrome and homozygous factor-H deficiency. *Am J Kidney Dis*, 1994, **24**, 936-941.
23. OHALI M, SHALEV H, SCHLESINGER M et al. Hypocomplementemic autosomal recessive hemolytic uremic syndrome with decreased factor H – Original article. *Pediatr Nephrol*, 1998, **12**, 619-624.
24. ROUGIER N, KAZATCHKINE MD, ROUGIER J-P et al. Human complement factor H deficiency associated with hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*, 1998, **9**, 2318-2326.
25. NORIS M, RUGGENENTI P, PERNA A et al. Hypocomplementemia discloses genetic predisposition to hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura : role of factor H abnormalities. Italian Registry of Familial and Recurrent Hemolytic Uremic Syndrome/Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *J Am Soc Nephrol*, 1999, **10**, 281-293.
26. YING L, KATZ Y, SCHLESINGER M et al. Complement factor H gene mutation associated with autosomal recessive atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet*, 1999, **65**, 1538-1546.
27. BUDDLES MR, DONNE RL, RICHARDS A et al. Complement factor H gene mutation associated with autosomal recessive atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet*, 2000, **66**, 1721-1722.
28. RICHARDS A, BUDDLES MR, DONNE RL et al. Factor H mutations in hemolytic uremic syndrome cluster in exons 18-20, a domain important for host cell recognition. *Am J Hum Genet*, 2001, **68**, 485-490.
29. CAPRIOLI J, BETTINAGLIO P, ZIFFEL PF et al. The molecular basis of familial hemolytic uremic syndrome : Mutation analysis of factor H gene reveals a hot spot in short consensus repeat 20. *J Am Soc Nephrol*, 2001, **12**, 297-307.
30. PÉREZ-CABALLERO D, GONZÁLEZ-RUBIO C, GALLARDO ME et al. Clustering of missense mutations in the C-terminal region of factor H in atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet*, 2001, **68**, 478-484.
31. NEUMANN HP, SALZMANN M, BOHNERT-IWAN B et al. Haemolytic uraemic syndrome and mutations of the factor H gene : a registry-based study of German speaking countries. *J Med Genet*, 2003, **40**, 676-681.
32. JOKIRANTA TS, HELLWAGE J, KOISTINEN V et al. Each of the three binding sites on complement factor H interacts with a distinct site on C3b. *J Biol Chem*, 2000, **275**, 27657-27662.
33. PANGBURN MK. Host recognition and target differentiation by factor H, a regulator of the alternative pathway of complement. *Immunopharmacology*, 2000, **49**, 149-157.
34. BLACKMORE TK, SADLON TA, WARD HM et al. Identification of a heparin-binding domain in the 7<sup>th</sup> short consensus repeat of complement factor H-1. *J Immunol*, 1996, **157**, 5422-5427.
35. BLACKMORE TK, HELLWAGE J, SADLON TA et al. Identification of the second heparin-binding domain in human complement factor H. *J Immunol*, 1998, **160**, 3342-3348.
36. ASLAM M, PERKINS SJ. Folded-back solution structure of monomeric factor H of human complement by synchrotron X-ray and neutron scattering, analytical ultracentrifugation and constrained molecular modelling. *J Mol Biol*, 2001, **309**, 1117-1138.
37. PERKINS SJ, GOODSHIP THJ. Molecular modelling of the C-terminal domains of factor H of human complement. A correlation between haemolytic uraemic syndrome and a predicted heparin binding site. *J Mol Biol*, 2002, **316**, 217-224.
38. PANGBURN MK. Cutting edge : localization of the host recognition functions of complement factor H at the carboxyl-terminal : implications for hemolytic uremic syndrome. *J Immunol*, 2002, **169**, 4702-4706.
39. SANCHEZ-CORRAL P, PEREZ-CABALLERO D, HUARTE O et al. Structural and functional characterization of factor H mutations associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet*, 2002, **71**, 1285-1295.
40. MANUELIAN T, HELLWAGE J, MERI S et al. Mutations in factor H reduce binding affinity to C3b and heparin and surface attachment to endothelial cells in hemolytic uremic syndrome. *J Clin Invest*, 2003, **111**, 1181-1190.

41. KIM J, WU H, HAWTHORNE L et al. Endothelial cell apoptotic genes associated with the pathogenesis of thrombotic microangiopathies : an application of oligonucleotide genechip technology. *Microvasc Res*, 2001, **62**, 83-93.
42. MONNENS L, MOLENAAR PH, LAMBERT PH et al. The complement system in hemolytic-uremic syndrome. *Clin Nephrol*, 1980, **13**, 168-171.
43. KAPLAN BS, THOMSON PD, MACNAB GM. Serum-complement levels in haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*, 1973, **2**, 1505-1506.
44. HOGASEN K, JANSEN JH, MOLLNES TE et al. Hereditary porcine membranoproliferative glomerulonephritis type-II is caused by factor-H deficiency. *J Clin Invest*, 1995, **95**, 1054-1061.
45. AULT BH, SCHMIDT BZ, FOWLER NL et al. Human factor H deficiency - mutations in framework cysteine residues and block in H protein secretion and intracellular catabolism. *J Biol Chem*, 1997, **272**, 25168-25175.
46. RICHARDS A, KEMP EJ, LISZEWSKI MK et al. Mutations in human complement regulator, membrane cofactor protein (CD46), predispose to development of familial hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, **100**, 12966-12971.
47. ENDOH M, YAMASHINA M, OHI H et al. Immunohistochemical demonstration of membrane cofactor protein (MCP) of complement in normal and diseased kidney tissues. *Clin Exp Immunol*, 1993, **94**, 182-188.
48. ICHIDA S, YUZAWA Y, OKADA H et al. Localization of the complement regulatory proteins in the normal human kidney. *Kidney Int*, 1994, **46**, 89-96.
49. MCNEARNEY T, BALLARD L, SEYA T et al. Membrane cofactor protein of complement is present on human fibroblast, epithelial, and endothelial cells. *J Clin Invest*, 1989, **84**, 538-545.
50. NAKANISHI I, MOUTABARRIK A, HARA T et al. Identification and characterization of membrane cofactor protein (CD46) in the human kidneys. *Eur J Immunol*, 1994, **24**, 1529-1535.
51. JOHNSTONE RW, LOVELAND BE, MCKENZIE IF. Identification and quantification of complement regulator CD46 on normal human tissues. *Immunology*, 1993, **79**, 341-347.
52. LISZEWSKI MK, FARRIES TC, LUBLIN DM et al. Control of the complement system. *Adv Immunol*, 1996, **61**, 201-283.
53. BARILLA-LABARCA ML, LISZEWSKI MK, LAMBRIS JD et al. Role of membrane cofactor protein (CD46) in regulation of C4b and C3b deposited on cells. *J Immunol*, 2002, **168**, 6298-6304.
54. DEVAUX P, CHRISTIANSEN D, FONTAINE M et al. Control of C3b and C5b deposition by CD46 (membrane cofactor protein) after alternative but not classical complement activation. *Eur J Immunol*, 1999, **29**, 815-822.
55. KOJIMA A, IWATA K, SEYA T et al. Membrane cofactor protein (CD46) protects cells predominantly from alternative complement pathway-mediated C3-fragment deposition and cytolysis. *J Immunol*, 1993, **151**, 1519-1527.
56. OGLESBY TJ, ALLEN CJ, LISZEWSKI MK et al. Membrane cofactor protein (CD46) protects cells from complement-mediated attack by an intrinsic mechanism. *J Exp Med*, 1992, **175**, 1547-1551.
57. SEYA T, ATKINSON JP. Functional properties of membrane cofactor protein of complement. *Biochem J*, 1989, **264**, 581-588.
58. SEYA T, TURNER JR, ATKINSON JP. Purification and characterization of a membrane protein (gp45-70) that is a cofactor for cleavage of C3b and C4b. *J Exp Med*, 1986, **163**, 837-855.
59. VYSE TJ, BATES GP, WALPORT MJ et al. The organization of the human complement factor I gene (IF) : a member of the serine protease gene family. *Genomics*, 1994, **24**, 90-98.
60. VYSE TJ, SPATH PJ, DAVIES KA et al. Hereditary complement factor I deficiency. *Quarterly JM ed*, 1994, **87**, 385-401.
61. VYSE TJ, MORLEY BJ, BARTOK I et al. The molecular basis of hereditary complement factor I deficiency. *J Clin Invest*, 1996, **97**, 925-933.