



ELSEVIER

MISE AU POINT

**Néphrologie
& Thérapeutique**

www.elsevier.com/locate/nephro

Du syndrome d'Alport à l'hématurie familiale bénigne : aspects cliniques et génétiques

From Alport syndrome to benign familial hematuria: clinical and genetic aspect

Nicolas Maziers, Karin Dahan, Yves Pirson *

Service de néphrologie et centre de génétique humaine, cliniques universitaires Saint-Luc, université catholique de Louvain, 10, avenue Hippocrate, 1200 Bruxelles, Belgique

Reçu le 8 novembre 2004 ; accepté le 17 mars 2005

MOTS CLÉS

Syndrome d'Alport ;
Hématurie familiale
bénigne ;
Membranes basales
minces ;
Néphropathie
héréditaire ;
Collagène de type IV

KEYWORDS

Alport syndrome;
Benign familial hematuria;

Résumé Le syndrome d'Alport (SA) est une glomérulopathie héréditaire, associée ou non à une surdité de perception et à des anomalies oculaires. Sa prévalence est estimée à 1/50 000 naissances. La maladie est due à une mutation des gènes codant pour une des chaînes α constituant le collagène de type IV. Dans 85 % des cas, la mutation porte sur le gène *COL4A5* situé sur le chromosome X. Chez l'hémizygote (garçon atteint), il existe une microhématurie dès l'enfance, évoluant constamment vers la protéinurie et l'insuffisance rénale, dont le stade terminal est habituellement atteint avant l'âge de 40 ans. Chez l'hétérozygote (fille conductrice), l'atteinte clinique est très variable, allant de l'absence totale de manifestation à l'insuffisance rénale terminale, atteinte alors le plus souvent après l'âge de 40 ans. Dans 15 % des cas, la mutation porte sur le gène *COL4A3* ou *COL4A4*, situé sur le chromosome 2. L'individu dont les deux allèles sont mutés (forme autosomique récessive) a un phénotype sévère, comparable à celui de l'hémizygote atteint de la forme liée à X. Chez l'hétérozygote, l'atteinte clinique est très variable, allant de l'absence totale de manifestation jusqu'au développement d'une protéinurie – on parle alors de SA autosomique dominant – et même d'une insuffisance rénale, éventuellement terminale (atteinte après l'âge de 40 ans), en passant par le phénotype le plus fréquent, à savoir une microhématurie, demeurant isolée et méritant alors la qualification de bénigne – on parle alors de porteurs sains. Les déterminants du phénotype demeurant méconnus, la plus grande prudence s'impose quant au pronostic rénal des individus atteints d'une mutation hétérozygote de *COL4A3/A4* et n'ayant au moment de l'examen qu'une microhématurie.

© 2005 Elsevier SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

Abstract Alport syndrome (AS) is a hereditary glomerulonephritis variably associated with neural hearing loss and ocular abnormalities. The prevalence of the disease is estimated at approximately 1 in 50,000 live births. AS arises from mutations in genes encoding α chains constituting type IV collagen. In 85% of patients, the disease results from mutations

Abréviations : SA, syndrome d'Alport ; MB, membranes basales ; MBG, membrane basale glomérulaire ; AR, (forme) autosomique récessive ; MBE, membrane basale épidermique ; IEC, inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II ; HFB, hématurie familiale bénigne.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : pirson@nefr.ucl.ac.be (Y. Pirson).

1769-7255/\$ - see front matter © 2005 Elsevier SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

doi: 10.1016/j.nephro.2005.03.005

Thin basement
membrane
nephropathy;
Hereditary
nephropathy;
Type IV collagen

in the *COL4A5* gene located on X chromosome. In the hemizygous male, persistent microhematuria is present from early life, then proteinuria and renal insufficiency occur with time, leading to end-stage renal failure before age 40. In the heterozygous female, clinical manifestations vary from completely healthy state to end-stage renal failure, most often reached after the age of 40. In 15% of patients, the disease results from mutations in either the *COL4A3* or the *COL4A4* gene, both located on chromosome 2. When both alleles are mutated (autosomal recessive form), the phenotype is constantly severe, resembling that of the hemizygous male in the X-linked form. In the heterozygous individual, the clinical spectrum vary from the absence of any manifestation to the development of proteinuria – the so-called autosomal-dominant AS –, and even renal insufficiency, sometimes reaching end-stage (after the age of 40) through the most frequently encountered phenotype, i.e. a persistently isolated microhematuria, accounting for the so-called benign familial hematuria (or healthy carrier state). The determinants of the phenotype remain largely unknown, so that it may be risky to predict renal prognosis in the individual with a single *COL4A3/A4* mutation and an isolated microhematuria at the time of examination.

© 2005 Elsevier SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

Introduction

Le syndrome d'Alport (SA) est une glomérulopathie héréditaire, associée ou non à une surdité de perception et à des anomalies oculaires. Sa prévalence est estimée à 1/50 000 naissances [1]. Il rend compte de 0,3 à 1 % des cas d'insuffisance rénale nécessitant un traitement de suppléance (dialyse et/ou transplantation rénale) [2].

La maladie fut décrite pour la première fois dans une famille anglaise au début du ^{xx}e siècle. En 1902, Guthrie observe l'existence d'une hématurie microscopique chez 12 membres de cette famille. Le suivi de ces patients apprend à Hurst que plusieurs d'entre eux sont devenus urémiques. En 1927, Alport complète le tableau en ajoutant que plusieurs des patients atteints sont sourds et que l'insuffisance rénale ne touche que les hommes [3].

Durant un demi-siècle, les cliniciens vont affiner la description de la maladie tandis que pathologistes et biochimistes mettent le doigt sur les anomalies structurelles des membranes basales (MB), et plus précisément du collagène de type IV, qui rendent compte des manifestations cliniques.

Au cours des 15 dernières années, les gènes responsables de la forme liée à X (85 % des cas) puis de la forme autosomique récessive (représentant la grande majorité des cas restants) ont enfin été identifiés [4,5]. Outre son intérêt diagnostique, cette avancée majeure permet aujourd'hui de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie.

Nous revoyons dans cet article les bases morphologiques et moléculaires du SA, puis ses manifestations cliniques. Nous proposons une démarche diagnostique. Nous envisageons ensuite les perspectives thérapeutiques qui se dessinent, grâce notamment à l'étude de plusieurs modèles animaux de SA.

Nous verrons pour terminer que le spectre du SA s'est récemment étendu, d'une part à une variété autosomique dominante (beaucoup plus rare que les deux précédentes), et d'autre part à l'hématurie familiale bénigne (beaucoup plus fréquente).

Syndrome d'Alport classique

De l'anatomopathologie aux bases moléculaires

Il y a plus de 30 ans, les pathologistes mirent en évidence l'anomalie caractéristique de la néphropathie à la phase d'état : en ultrastructure, la MB glomérulaire (MBG) apparaît très épaissie (jusqu'à 1200 nm pour une épaisseur normale de 350 nm), feuilletée et de contours irréguliers. [6]. Au stade précoce, la MBG est au contraire anormalement fine (jusqu'à 100 nm), expliquant peut-être le passage plus aisé des globules rouges. La recherche du mécanisme de la maladie s'oriente dès lors vers un composant de la MBG. Deux observations complémentaires vont le préciser. Alors que les anticorps anti-MBG se fixent intensément sur un rein normal, leur fixation est souvent complètement absente sur un rein provenant d'un homme atteint de SA. On rapporte ensuite que certains hommes atteints de SA développent, après avoir été transplanté d'un rein, des anticorps anti-MBG [7]. La cible de ces anticorps étant le collagène de type IV, il devient très probable qu'un antigène normalement présent dans ce composant fait défaut dans le SA.

Comme les autres collagènes, le collagène de type IV se compose de trois chaînes α qui s'enroulent en triple hélice. Chaque chaîne comporte un domaine central, une extrémité aminoterminal et une extrémité carboxyterminale (par où commence l'assemblage des trois chaînes).

On sait maintenant qu'il existe six isotypes différents de chaînes α , codés par six gènes arrangés par paires sur trois chromosomes différents : *COL4A1* et *COL4A2* sur le chromosome 13, *COL4A3* et *COL4A4* sur le chromosome 2, *COL4A5* et *COL4A6* sur le chromosome X [8]. Les chaînes $\alpha 1(IV)$ et $\alpha 2(IV)$, exprimées dans toutes les MB de l'organisme, n'interviennent pas dans le SA. En revanche, les chaînes $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$ et $\alpha 6$ ne sont exprimées dans les MB que de certains organes (voir plus loin). L'assemblage en triple hélice donne lieu à la formation de trois types majeurs de molécules appelées protomères : $\alpha 1.\alpha 1.\alpha 2(IV)$, $\alpha 3.\alpha 4.\alpha 5(IV)$, $\alpha 5.\alpha 5.\alpha 6(IV)$ [9]. Ces protomères forment un réseau en s'unissant (par deux) à leur extrémité carboxyterminale et (par 4) à leur extrémité aminoterminal. Le protomère $\alpha 3.\alpha 4.\alpha 5(IV)$ n'est exprimé que dans le rein (MBG et certaines membranes basales tubulaires), le poumon, le testicule, la cochlée et l'œil, le protomère $\alpha 5.\alpha 5.\alpha 6(IV)$ étant, lui, exprimé dans la peau, le muscle lisse, l'œsophage et la capsule de Bowman [9].

Le groupe de Billy Hudson [9] a en outre montré que, durant le développement embryonnaire du glomérule, il se produit, à partir du 150^e jour, un remplacement progressif de la triple chaîne $\alpha 1.\alpha 1.\alpha 2$ par la triple chaîne $\alpha 3.\alpha 4.\alpha 5$ dans la MBG et par la triple chaîne $\alpha 5.\alpha 5.\alpha 6$ dans la capsule de Bowman, cette substitution paraissant une étape critique dans la maturation du glomérule (voir plus loin).

Dans environ 85 % des familles atteintes, la maladie est liée au chromosome X et toutes les mutations identifiées à ce jour siègent dans le gène *COL4A5* : elles sont de tous types (depuis de larges remaniements jusqu'à des mutations ponctuelles) et sont disséminées tout au long du gène. Dix à 15 % des mutations sont des néomutations [2]. Dans les quelques familles où la maladie est associée à une léiomyomatose (voir plus loin), on a mis en évidence une délétion contiguë des gènes *COL4A5* et *COL4A6* [10].

Dans la grande majorité des cas restants, la transmission est autosomique récessive : les mutations siègent alors soit dans le gène *COL4A3*, soit dans le gène *COL4A4* [5,11-14].

Physiopathologie

Il apparaît maintenant clairement que la majorité des mutations affectant un des trois gènes *COL4A3/*

A4/A5, perturbent l'assemblage et l'enroulement des trois chaînes devant former le protomère $\alpha 3.\alpha 4.\alpha 5(IV)$, avec, pour résultat, la dégradation rapide des chaînes, ce qui se traduit, en immunohistochimie (cf. plus loin) par l'absence d'expression des chaînes $\alpha 3$, $\alpha 4$ et $\alpha 5$ dans la MBG [2,9]. Le même phénomène vaut pour les autres MB (en particulier l'œil et la cochlée) où s'expriment ces chaînes. Dans le SA, c'est donc la triple chaîne fœtale $\alpha 1.\alpha 1.\alpha 2(IV)$ qui persiste. L'absence de la triple chaîne $\alpha 3.\alpha 4.\alpha 5(IV)$ rend compte de la minceur uniforme de la MBG, qui est l'anomalie la plus précocement mise en évidence. Le monomère $\alpha 1.\alpha 1.\alpha 2(IV)$ étant beaucoup moins résistant que le monomère $\alpha 3.\alpha 4.\alpha 5(IV)$ à l'action des protéases, la MBG du SA se dégrade et se reconstruit avec le seul protomère disponible : $\alpha 1.\alpha 1.\alpha 2(IV)$. Ce remodelage anormal donne finalement à la MBG son aspect pathologique, si particulier du SA (épaissi, feuilleté et irrégulier) avec, pour conséquence, une perméation anormale aux protéines et, comme dans d'autres glomérulopathies, une évolution progressive vers la glomérulosclérose (peut-être à la faveur d'une néphrite interstitielle, conséquence de la protéinurie) [9].

Manifestations cliniques

Dans la forme liée à X, la maladie est constamment sévère chez les sujets masculins (hémizyotes) et de sévérité variable chez les sujets féminins (appelés conducteurs ou hétérozygotes X), cette variabilité reflétant l'inactivation aléatoire du chromosome X [15]. Chez les patients atteints de la forme autosomique récessive (AR), – soit les homozygotes (même mutation des deux allèles) ou les hétérozygotes composites (mutation différente des deux allèles) – l'atteinte est aussi sévère dans les deux sexes, tandis que les porteurs (hétérozygotes simples) sont, en règle, asymptomatiques. Il existe néanmoins, dans cette dernière catégorie, des exceptions notables qui seront discutées plus loin (forme autosomique dominante et hématurie familiale bénigne).

Manifestations rénales (Tableau 1)

L'hématurie microscopique d'origine glomérulaire (acanthocyturie en microscopie à contraste de

Tableau 1 Fréquence des anomalies rénales dans le SA.

	Hémizyote (%)	Hétérozygote X (%)	Forme AR (%)
Hématurie microscopique	100	95	100
Hématurie macroscopique	60	30	70
Protéinurie	100	75	100
Probabilité d'atteindre l'IRT avant l'âge de 40 ans	90	12	90

AR : patient atteint de la forme autosomique récessive (homozygote ou hétérozygote composite). ([17,19,21]).

phase, et, éventuellement, cylindres hématiques) en est la manifestation précoce et cardinale. Dans la forme liée à X, l'hématurie microscopique est constante chez les garçons dès les premières années de vie, tandis qu'elle peut être intermittente chez les filles, retrouvée néanmoins chez plus de 90 % d'entre elles. Un épisode d'hématurie macroscopique survient au moins une fois chez 60 % des garçons (faisant parfois suite à un épisode d'infection des voies respiratoires comme dans la néphropathie à IgA), le plus souvent avant l'âge de 15 ans et se retrouve chez environ un tiers des hétérozygotes X [13,14,16-19].

La protéinurie, absente au cours des premières années de vie, apparaît chez tous les hémizygotés et les patients atteints de la forme AR, conduisant au syndrome néphrotique chez environ 30 % d'entre eux. Une protéinurie pathologique se retrouve chez environ 3/4 des hétérozygotes X.

Comme on s'y attend, le risque de progression vers l'insuffisance rénale terminale est le plus élevé chez les hémizygotés et les patients atteints de la forme AR, de l'ordre de 90 % avant l'âge de 40 ans [18]. C'est d'ailleurs l'âge d'arrivée en insuffisance rénale terminale chez l'hémizygoté qui a conduit à distinguer (arbitrairement) la forme « juvénile » de la forme « adulte », selon que ce stade est atteint avant ou après l'âge de 31 ans [20]. La forme juvénile est réputée de loin la plus fréquente, tout en sachant que la forme tardive, encore trop souvent méconnue, reste sous-diagnostiquée. Chez les hétérozygotes X, la probabilité d'atteindre le stade d'insuffisance rénale terminale est de 12 % à l'âge de 40 ans pour atteindre 30 à 40 % après l'âge de 60 ans [21]. Le pronostic de la néphropathie est déterminé, au moins en partie, par le type et la localisation de la mutation. Ainsi, chez les hémizygotés, la probabilité d'atteindre l'insuffisance rénale terminale avant l'âge de 30 ans est de 90 % chez les sujets ayant une grande délétion, une mutation non-sens ou une mutation modifiant le cadre de lecture, alors qu'elle est de 70 % pour une mutation du site d'épissage et de 50 % pour une mutation faux-sens [18]. Parmi les mutations faux-sens (qui représentent la majorité), celles qui atteignent l'exon 1 à 20 du gène *COL4A5* sont associées à un phénotype un peu moins sévère que celles qui atteignent l'exon 21 à 47 [22]. Ces distinctions ne doivent néanmoins pas faire perdre de vue qu'il existe une grande variabilité intrafamiliale dans l'âge d'arrivée en insuffisance rénale terminale (la différence atteignant parfois 20 ans) [18]. Il faut donc se garder, de prédire, chez un sujet donné, l'âge d'arrivée en insuffisance rénale terminale sur base de l'histoire familiale.

Manifestations extrarénales

Surdité

Une surdité de perception est mise en évidence chez la majorité des sujets hémizygotés et atteints de la forme AR. Il est tout aussi clair qu'elle reste absente dans une minorité de familles, tant dans la forme liée à X que dans la forme AR [2]. La surdité n'est jamais présente à la naissance. Elle apparaît le plus souvent en même temps que la détérioration de la fonction rénale, parfois un peu plus tard. Au début, elle n'est détectable qu'à l'audiométrie : une perte (définie par un déficit de 30 dB) symétrique et portant sur les fréquences aiguës est caractéristique [17]. Elle atteint ensuite progressivement les fréquences utilisées dans la conversation, nécessitant éventuellement le recours à une prothèse.

La surdité atteint 90 % des hémizygotés et 10 % des hétérozygotes X avant l'âge de 40 ans [18,21]. Comme pour l'atteinte rénale, le type de mutation influence le risque d'apparition de la surdité [18].

Atteintes oculaires

L'atteinte la plus caractéristique est le lenticône (correspondant à une protrusion du cristallin, le plus souvent antérieure, favorisée par le manque de résistance de la MB). Il se rencontre presque exclusivement chez les hémizygotés atteints de la forme juvénile. Il importe de le reconnaître, car il est pathognomonique de l'affection. Sa mise en évidence nécessitant un examen attentif, il est utile d'en avoir demandé la recherche à l'ophtalmologiste. L'anomalie du cristallin peut progressivement s'aggraver et entraîner des troubles de la réfraction. Certains patients peuvent alors développer une cataracte nécessitant une intervention [2,17].

L'ophtalmologiste peut en outre mettre en évidence (ici aussi le plus souvent dans les formes sévères) une atteinte rétinienne sous forme de tâches blanchâtres ou jaunâtres dans la région péri-maculaire ou périphérique. Elle demeure toujours asymptomatique [17].

Enfin, une érosion récidivante de la cornée s'observe chez environ 20 % des patients atteints des formes les plus sévères (hémizygotés atteints de la forme juvénile et patients atteints de la forme AR). Elle est caractérisée par une douleur oculaire aiguë avec rougeur, photophobie et larmoiement sans qu'il y ait eu de traumatisme avéré de la cornée. Cette symptomatologie précède parfois toute autre manifestation du SA [23]. Le facteur déclenchant est par exemple, une sortie par grand vent. L'examen oculaire montre une abrasion de l'épithélium cornéen. L'application quotidienne d'un onguent ophtalmique peut prévenir ces épisodes.

Leiomyomatose

Chez 35 patients appartenant à 19 familles, un SA lié à X et de type juvénile a été rapporté en association avec une léiomyomatose œsophagienne diffuse, se manifestant le plus souvent par une dysphagie et/ou des douleurs rétrosternales. Cette forme très rare de SA correspond à une délétion contiguë des gènes *COL4A5* et *COL4A6* [10]. La léiomyomatose est de sévérité équivalente chez les sujets masculins et féminins, alors que l'atteinte rénale est moins sévère chez les sujets féminins [24]. Les mécanismes de cette atteinte particulière sont encore mal connus.

Caractéristiques histologiques

Microscopie électronique

L'anomalie la plus caractéristique a été évoquée plus haut : l'épaisseur de la MBG, normalement de 350 nm, peut atteindre 1200 nm. L'aspect épaissi, feuilleté et de contour irrégulier de la MBG est très suggestif de SA sans être toutefois pathognomonique : on peut le rencontrer par exemple dans l'ostéo-onychodysplasie héréditaire (ou *nail-patella syndrome*) : on sait maintenant que le gène responsable de cette maladie est un facteur de transcription régulant notamment les gènes *COL4A3* et *COL4A4* [25]. Dans une minorité de familles de SA, la MBG est au contraire anormalement mince (jusqu'à 100 nm) : cette minceur anormale n'est parfois qu'un stade évolutif, précédant un épaississement progressif (voir plus haut), tandis que dans d'autres familles (aussi bien liées à X qu'autosomiques récessives), cette anomalie persiste tout au long de la vie [26,27]. La persistance d'une MBG anormalement fine implique probablement un remodelage moins intense et va souvent de pair avec un phénotype moins sévère [27].

Immunohistochimie du rein

Comme on l'a vu plus haut, les chaînes $\alpha 3$ et $\alpha 4$ (IV) sont toujours associées à $\alpha 5$ dans le rein normal, au sein du protomère $\alpha 3.\alpha 4.\alpha 5$ (IV), tandis que la chaîne $\alpha 5$ est associée à $\alpha 3$ et $\alpha 4$ dans la MBG et certaines MB tubulaires, et à $\alpha 6$ dans la capsule de Bowman et certains segments tubulaires (dont le tube collecteur). Cette différence de profil d'expression est utilisée dans le diagnostic différentiel entre la forme liée à X et la forme AR [28].

Les mutations les plus sévères d'un des trois gènes codant pour $\alpha 3$, $\alpha 4$ ou $\alpha 5$ entraînent en effet, comme on l'a vu, la perte d'expression des trois chaînes là où elles sont associées, c'est-à-dire essentiellement au niveau de la MBG. Une mutation sévère de *COL4A5* aura en outre pour conséquence, l'absence d'expression d' $\alpha 5$ et d' $\alpha 6$ au niveau de la capsule de Bowman. En revanche, une mutation

sévère de *COL4A3* ou de *COL4A4* n'aura pas de conséquence sur l'expression d' $\alpha 5$ dans le protomère $\alpha 5.\alpha 5.\alpha 6$ (IV) au niveau de la capsule de Bowman et de certains segments tubulaires (Tableau 2).

La coabsence des chaînes $\alpha 3$, $\alpha 4$ et $\alpha 5$ dans la MBG est pathognomonique du SA. Cependant, on ne l'observe que dans 85 % des familles (liées à X ou AR) [18], les mutations (moins sévères) dans les 15 % restant permettant la synthèse de la chaîne dont le gène est muté.

Immunohistochimie de la peau

La chaîne $\alpha 5$ étant exprimée dans la membrane basale épidermique (MBE) de la même façon que dans la capsule de Bowman, on pourra tirer parti d'une biopsie de peau pour poser le diagnostic de SA : l'absence d'expression d' $\alpha 5$ dans la MBE est pathognomonique du SA lié à X ; en revanche, sa présence est compatible aussi bien avec un SA lié à X maintenant l'expression d' $\alpha 5$ qu'avec la forme AR [2,17].

Deux remarques doivent être faites concernant l'interprétation de ces profils d'expression en immunohistochimie. Premièrement, dans la forme liée à X, l'interprétation est aisée chez l'hémizygote, mais l'est beaucoup moins chez l'hétérozygote, l'inactivation aléatoire du chromosome X se traduisant par une expression variable (apparaissant le plus souvent comme un marquage discontinu le long des MB). Deuxièmement, la technique d'examen au niveau de la membrane basale épidermique doit suivre une procédure rigoureuse, un examen en parallèle avec une peau normale, devant chaque fois être réalisé à titre de contrôle [2].

Tableau 2 Distribution caractéristique des cinq chaînes de collagène (IV) dans les membranes basales du rein et de la peau chez l'individu normal et les patients atteints de SA.

	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 3$	$\alpha 4$	$\alpha 5$	$\alpha 6$
Normal						
MBG	+	+	+	+	+	-
Capsule de Bowman	+	+	-	-	+	+
Tubule collecteur	+	+	-	-	+	+
MBE	+	+	-	-	+	+
Hémizygote						
MBG	+	+	-	-	-	-
Capsule de Bowman	+	+	-	-	-	-
Tubule collecteur	+	+	-	-	-	-
MBE	+	+	-	-	-	-
Forme AR						
MBG	+	+	-	-	-	-
Capsule de Bowman	+	+	-	-	+	+
Tubule collecteur	+	+	-	-	+	+
MBE	+	+	-	-	+	?

MBG : membrane basale glomérulaire ; MBE : membrane basale épidermique ; AR : autosomique récessive. ([17]).

Démarche diagnostique

Dans un cas sporadique

Il faut évoquer un SA chez tout enfant, adolescent ou jeune adulte présentant une hématurie microscopique persistante d'origine glomérulaire. Il faut également y songer chez tout adulte ayant un tableau clinique ou histologique de glomérulonéphrite non étiquetée. Une anomalie extrarénale (demander un audiogramme et un examen oculaire attentif) doit être recherchée. Le bilan comportera, autant que possible, un examen de dépistage des apparentés au premier degré (au moins un examen d'urines). La mise en évidence d'une hématurie microscopique chez la mère d'un propositus masculin est compatible avec les deux formes héréditaires de la maladie, tandis que sa mise en évidence chez le père suggère fortement l'existence d'une forme AR. Orientent également vers la forme AR, une consanguinité parentale ou un phénotype sévère chez un sujet de sexe féminin. À l'inverse, un phénotype modéré n'exclut pas, comme on le croyait initialement, une forme AR [29].

La valeur diagnostique des anomalies ultrastructurales, du profil d'immunomarquage des chaînes $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$ (IV) ainsi que des manifestations extrarénales est reprise dans les Tableaux 2 et 3.

Dans une famille atteinte de SA

Malgré les progrès techniques, la recherche directe de mutation reste laborieuse en raison de l'hétérogénéité génétique (trois gènes à explorer) et allélique (dispersion des mutations tout au long des gènes) ainsi que de la taille imposante de ces gènes (une cinquantaine d'exons à examiner pour chacun).

Dès lors, une analyse de liaison génétique reste de mise chaque fois qu'elle est réalisable, ce qui

implique que d'autres membres de la famille atteints et non atteints veuillent bien se prêter à un examen phénotypique et à un prélèvement de sang ou de salive. L'analyse de liaison génétique est par ailleurs une étape précieuse avant de choisir le premier gène à explorer.

Les principales indications de diagnostic génétique sont :

- la détermination du statut de conductrice de la forme X, notamment en vue d'un conseil génétique ou d'un don de rein ;
- le diagnostic prénatal ;
- la confirmation ou l'exclusion du diagnostic de SA lorsque la biopsie reste équivoque ;
- le diagnostic précis de la forme génétique en vue d'évaluer le risque de transmission.

Dans la majorité des cas, un diagnostic pourra être posé sans devoir faire appel à une analyse génétique [17]. Ce n'est que lorsqu'il persiste un doute au terme de l'enquête détaillée plus haut que l'on y aura recours.

Traitement

Il n'existe aujourd'hui aucun traitement spécifique du SA. La disponibilité de plusieurs modèles animaux, tant pour la forme liée à X que pour la forme AR, permet maintenant de tester diverses modalités de traitement dont les résultats restent, à ce jour, préliminaires.

Deux modalités thérapeutiques, bien éprouvées en clinique dans d'autres indications, ont fait l'objet de quelques publications encourageantes tant chez l'animal que chez l'homme : les inhibiteurs de l'enzyme de conversion et la cyclosporine.

Inhibiteurs de l'enzyme de conversion

À l'instar d'autres néphropathies protéinuriques progressives, l'évolution de la glomérulopathie du SA pourrait être ralentie par cette classe de médicaments. La réduction de la pression intraglomérulaire serait en outre particulièrement bienvenue dans une maladie où le défaut constitutif de la MBG la rendrait particulièrement vulnérable à une élévation de pression.

Dix enfants atteints de SA, âgés de cinq à 14 ans, ayant une clairance de la créatinine normale mais une protéinurie pathologique, ont été traités par énalapril (à la posologie initiale de 0,05 et maximale de 0,5 mg/kg par jour) durant cinq ans. La protéinurie est en moyenne réduite de 30 % à deux ans ; néanmoins, on n'observe pas d'effet antiprotéinurique chez tous les patients et il semble y avoir un échappement au traitement après 24 mois chez certains répondeurs [30].

Tableau 3 Valeur des signes cliniques et histologiques dans le diagnostic du SA.

Pathognomoniques
Lenticône antérieur
Marquage absent (hémizygotes) ou discontinu (hétérozygote X) de
$\alpha 5$ (IV) dans la MBE
$\alpha 3.\alpha 4.\alpha 5$ (IV) dans la MBG
Très suggestifs
Taches rétinienne
Histoire d'érosion cornéenne récidivante
MBG épaissie et feuilletée
Suggestifs
Surdité de perception
MBG diffusément aminci

MBE : membrane basale épidermique ; MBG : membrane basale glomérulaire.

Des souris invalidées pour le gène *COL4A3* ont été traitées par ramipril 10 mg/kg, certaines avant le stade de protéinurie et d'autres après. C'est le traitement précoce et prolongé qui s'avère le plus efficace : il permet de réduire la protéinurie et de retarder significativement la détérioration de la fonction rénale, ce qui se solde par un doublement de l'espérance de vie (150 jours par rapport à 71 jours chez les souris non traitées) [31].

Cyclosporine

Depuis une dizaine d'années, des auteurs catalans ont traité un petit nombre d'enfants atteints de SA par la cyclosporine. Leurs résultats ont été actualisés en 1999. On peut a priori s'interroger sur le bien-fondé de ce traitement. Il pourrait agir sur la phase d'inflammation interstitielle résultant de la protéinurie. Huit enfants, tous atteints de SA lié à X, âgés de huit à 17 ans et ayant une fonction rénale normale ou subnormale ainsi qu'une protéinurie variant entre 1 et 5 g/24 heures, ont été traités par cyclosporine (posologie initiale de 5 mg/kg) durant sept à dix ans. Chez aucun de ces enfants, on n'observe de détérioration de la fonction rénale, et, chez tous, la protéinurie est réduite de façon drastique dans les semaines ou mois qui suivent l'institution du traitement, cet effet se maintenant au bout de huit années. À défaut d'un groupe témoin, les auteurs ont comparé cette évolution à celle d'autres enfants non traités provenant des mêmes familles que les enfants traités : ils montrent que la fonction rénale n'est préservée que chez les enfants traités [32].

L'équipe de Necker a rapporté récemment des résultats plus mitigés : chez neuf enfants, âgés en moyenne de 13 ans et traités par cyclosporine à la dose de 5 mg/kg, on observe bien, à six mois, une réduction de la protéinurie (de 2,6 à 0,4 g/jour) mais aussi du débit de filtration glomérulaire (de 102 à 74 ml/minute), contraignant à l'arrêt du traitement chez deux d'entre eux [33].

Le traitement par cyclosporine a été testé chez le chien samoyède mâle porteur d'une mutation faux-sens de *COL4A5*. Douze chiens ont été traités par cyclosporine (à la posologie de 20 mg/kg) dès le premier mois de vie, avant l'apparition de la protéinurie (détectable à l'âge de 2 mois). Étonnamment, le traitement n'a aucun effet sur la protéinurie. Il permet, en revanche, de retarder la détérioration de la fonction rénale ainsi que l'apparition de certaines lésions histologiques (épaississement de MBG et sclérose glomérulaire, mais pas la fibrose interstitielle...) [34].

Transplantation rénale

Les patients atteints de SA au stade d'IRT, le plus souvent jeunes, sont d'excellents candidats à la

greffe rénale. On a fait grand cas de quelques patients atteints de SA qui ont développé après la transplantation une glomérulonéphrite à anticorps anti-MBG ayant conduit à la perte du greffon [2]. Ces patients avaient tous un SA sévère dû à une mutation amputant une grande partie de la chaîne α correspondante (expliquant qu'ils n'ont pas développé, durant la vie fœtale, de tolérance vis-à-vis de cette chaîne α). Il s'agissait, soit d'hémizygotés atteints de la forme juvénile, soit de patients atteints de la forme AR.

Une revue portant sur 118 hémizygotés transplantés, a récemment permis de quantifier ce risque : trois patients (soit 2,5 %) ont présenté cette complication. Tous avaient une délétion étendue de *COL4A5*, permettant de confirmer que ce type de mutation constitue un facteur de risque de cette complication (risque multiplié par 6 par rapport aux patients n'ayant pas ce type de mutation). Il faut noter, en revanche, que 13 des 16 patients ayant une délétion étendue de *COL4A5* n'ont pas présenté cette complication [18]. D'autres facteurs que le type de mutation, encore méconnus, doivent donc intervenir dans le développement de cette allo-immunisation. En pratique, une mutation sévère ne doit pas constituer une contre-indication à la transplantation.

Conclusions

Les manifestations rénales et extrarénales du SA classique sont maintenant parfaitement connues. Les trois gènes responsables ont été identifiés. L'assemblage des trois chaînes α en un protomère spécifique des MB de certains organes explique le phénotype commun aux deux formes génétiques. Ces informations apportent par ailleurs, de nouveaux outils diagnostiques : immunohistochimie de la MBE, de la MBG et des autres membranes basales rénales, analyse de liaison génétique et recherche directe de mutation.

La disponibilité de plusieurs modèles animaux de SA permet dorénavant de tester diverses modalités thérapeutiques. Dès maintenant, il paraît indiqué de traiter par un inhibiteur de l'enzyme de conversion (ou par un sartan) tout patient atteint de SA dès qu'apparaît soit une hypertension artérielle, soit une protéinurie. En l'absence d'information complémentaire sur les bénéfices d'un traitement par cyclosporine, celui-ci devrait être réservé aux essais thérapeutiques (certains sont en cours, notamment en France) soit, éventuellement, aux patients protéinuriques résistant à un traitement antiprotéinurique bien conduit (IEC et/ou sartan plus diurétique) après information sur les résultats actuels et les risques de ce traitement.

Y a-t-il une forme autosomique dominante de SA ?

Même si les cas rapportés sont peu nombreux et ne sont pas tous convaincants, l'authenticité d'une forme autosomique dominante de SA paraît aujourd'hui établie. Reste à définir la forme autosomique dominante. À partir du moment où la microhématurie que l'on retrouve chez la majorité des individus ayant une mutation hétérozygote de *COL4A3* ou *COL4A4* n'est pas considérée comme un trait pathologique, c'est l'apparition d'une protéinurie (et a fortiori d'une altération de la fonction rénale) chez l'hétérozygote qui définira la maladie comme autosomique « dominante ». Il faut en outre, s'assurer que ces patients n'ont pas reçu de leur père ou de leur mère une seconde mutation de *COL4A3/A4/A5*. Ces critères ne sont pas réunis dans toutes les publications.

Cas rapportés

Le cas princeps a été décrit dans une grande famille irlandaise [35]. Le diagnostic de SA est établi par la clinique et l'histologie. Il y a un immunomarquage normal de $\alpha 3. \alpha 4. \alpha 5$ (IV) dans la MBG. La liaison à *COL4A5* est exclue. Les six patients atteints ont une mutation d'un site d'épissage de *COL4A3* aboutissant à la disparition de l'exon 21. Tous ont une protéinurie pathologique ; aucun n'atteint le stade d'insuffisance rénale avant l'âge de 35 ans.

Dans une famille d'origine sarde, rapportée comme SA autosomique dominant également dû à une mutation d'un site d'épissage, cette fois de *COL4A4*, l'interprétation des résultats est un peu plus délicate en raison de la consanguinité de cette famille, de l'absence d'examen de la biopsie en immunohistochimie et de l'absence d'exclusion de la liaison de la maladie au locus *COL4A5*. [36]

Dans la série de Heidet portant sur les mutations de *COL4A3*, deux cas paraissent bien correspondre à une forme autosomique dominante [13].

Parmi six familles étudiées par le groupe de Renieri et chez lesquelles une liaison à *COL4A5* avait été exclue, quatre ont une présentation compatible avec une forme autosomique dominante, à savoir une mutation hétérozygote de *COL4A3* (3 cas) ou *COL4A4* (1 cas) et une discrète protéinurie (inférieure à 1 g/24 heures). En comparant ces patients à quatre autres chez lesquels une mutation hétérozygote de *COL4A3/A4* n'entraîne qu'une microhématurie isolée, ces auteurs suggèrent que l'effet de la mutation sur la synthèse de la protéine pourrait déterminer le phénotype : trois des quatre mutations hétérozygotes qui conduisent à la forme récessive ont pour effet, l'absence de la chaîne

mutée avec, pour conséquence, chez l'hétérozygote, un déficit quantitatif (haplo-insuffisance) mais la synthèse d'un protomère de bonne qualité grâce à l'allèle normal ; trois des quatre mutations qui conduisent à la forme dominante ont pour effet, la synthèse d'une chaîne anormale, qui, intégrée dans la triple chaîne, aura un effet délétère, dit « dominant négatif » sur les autres chaînes α , conduisant, *in fine*, à la dysfonction de la MBG se traduisant par une protéinurie [14]. Cette hypothèse demande d'être maintenant vérifiée sur un nombre plus important de patients.

Quatre nouvelles familles italiennes ayant un SA dominant ont été rapportées tout récemment : quatre mutations (toutes ponctuelles) différentes ont été identifiées, deux dans le gène *COL4A3* et deux dans le gène *COL4A4*. La MBG est soit trop fine, soit épaisse et feuilletée. Le phénotype est très variable, y compris dans une même famille, allant de l'absence totale de manifestation à l'âge de 90 ans jusqu'à l'insuffisance rénale terminale (atteinte au-delà de l'âge de 40 ans) [37].

Les manifestations extrarénales du SA dominant se limitent à la surdité. Aucune anomalie oculaire n'a été rapportée.

Au total, il existe bien une forme dominante de SA, due à une mutation hétérozygote, le plus souvent ponctuelle, de *COL4A3* ou *COL4A4*. Le phénotype est clairement moins sévère que chez l'hétérozygote et chez le patient ayant une mutation des deux allèles de *COL4A3/A4*. La grande variabilité dans la sévérité du phénotype, y compris dans la même famille, implique l'intervention de facteurs génétiques et/ou environnementaux encore non identifiés.

Les syndromes d'Epstein et de Fechtner ne sont pas un variant du SA autosomique dominant

On a longtemps pensé que les syndromes d'Epstein et de Fechtner, caractérisés par une glomérulonéphrite, une surdité de perception et une macrothrombocytopénie (s'y ajoutent dans le syndrome de Fechtner, des inclusions leucocytaires et une cataracte), et transmis sur le mode autosomique dominant, étaient des variants du SA : la biologie moléculaire a maintenant exclu cette hypothèse [38].

Dans ces deux maladies (tout comme dans les syndromes de May-Hegglin et de Sebastian qui ne comportent que les inclusions leucocytaires et la macrothrombocytopénie), la mutation porte en effet, sur un gène tout à fait différent, le gène *MYH9*, codant pour une chaîne lourde d'une molécule de myosine non musculaire, qui a la particularité

d'être exprimée, et dans les plaquettes et dans les podocytes.

L'hématurie familiale bénigne (HFB) fait-elle partie du SA ?

Définition

La transmission, de génération en génération, y compris d'homme à homme, d'une hématurie glomérulaire isolée est bien établie dans certaines familles. La qualifier d'hématurie familiale bénigne (HFB) implique, par définition, l'absence de protéinurie et bien sûr l'absence de détérioration de la fonction rénale jusqu'à un âge avancé. Lorsqu'on l'examine en ultrastructure, la MBG est soit d'épaisseur normale (1/3 des cas), soit diffusément fine (2/3 des cas), avec une épaisseur de 150 à 250 nm (pour une normale variant entre 300 et 400 nm).

HBF et membranes basales minces

Si l'HBF est bien caractérisée dans 2/3 des cas par une membrane basale mince, il est tout aussi clair que l'inverse n'est pas vrai, une membrane basale mince pouvant se rencontrer dans un SA authentique (aussi bien dans la forme liée à X que dans la forme autosomique récessive), soit temporairement avant l'épaississement de la MBG, soit comme anomalie définitive, même au stade d'IRT. Enfin et surtout, une membrane basale mince serait une anomalie beaucoup plus fréquente qu'on ne le pensait auparavant, puisque dans des séries autopsiques, la prévalence peut atteindre 85 % [39,40], la variabilité des taux rapportés dépendant en partie de la définition de l'anomalie morphologique.

Présentation clinique

La grande majorité des patients reste totalement asymptomatique. Certains peuvent présenter des épisodes d'hématurie macroscopique, s'accompagnant parfois de lombalgies (le fameux syndrome « hématurie-lombalgies ») ; ces épisodes ont été attribués tantôt à l'occlusion des tubules rénaux par des globules rouges [41], tantôt à la formation de microcristaux dus à une hypercalciurie ou une hyperuricurie, anomalies qui seraient fréquemment associées à l'HFB [42].

Le pronostic est excellent. Comment interpréter alors l'évolution vers l'hypertension artérielle, la protéinurie, voire l'insuffisance rénale de séries de patients atteints soit d'HBF, soit d'une « maladie à membranes basales minces », telle que celle rapportée, il y a quelques années par Nieuwhof [43] ? Il

pourrait bien s'agir d'une forme autosomique dominante de SA : seule une réinvestigation de ces familles avec les outils génétiques appropriés permettrait de le savoir.

Bases moléculaires

Plusieurs auteurs ont testé l'hypothèse, initialement émise par Lemmink [44], selon laquelle l'HFB est due à une mutation hétérozygote (bénigne) de *COL4A3/A4*.

Parmi 11 familles ayant une HFB prouvée par biopsie, le groupe de Torra a trouvé une mutation de *COL4A3* chez deux d'entre elles et de *COL4A4* chez six d'entre elles [45]. Dans une série de 46 patients ayant une HFB (confirmée par biopsie chez la majorité d'entre eux), Savige et al. mettent en évidence une mutation de *COL4A3* et de *COL4A4* chez sept et neuf patients respectivement, soit chez 35 % de l'ensemble de ces patients [46,47]. Ce taux s'élève à 67 % si l'analyse est restreinte aux patients issus de familles dans lesquelles une liaison au locus *COL4A3/A4* avait été établie [47]. Le déficit d'expression de *COL4A3/A4*, causé par la mutation d'un des deux allèles, rendrait bien compte de la minceur de la MBG, la résistance à la protéolyse de la triple chaîne $\alpha3(\text{IV})\alpha4(\text{IV})\alpha5(\text{IV})$ rendant compte de l'absence de détérioration de la MBG au cours de l'évolution.

En revanche, une liaison au locus *COL4A3/A4* a pu être exclue dans d'autres familles atteintes d'HFB : trois familles japonaises [48], deux familles siciliennes [49], dix familles européennes ou asiatiques [50]. Plusieurs explications sont possibles : pénétrance incomplète de l'hématurie dans certaines familles, invalidant l'analyse de liaison ; hématurie d'une autre origine chez certains individus ; enfin et pourquoi pas, existence d'un ou de plusieurs autres gènes rendant compte de l'HFB.

Au total, une mutation à l'état hétérozygote de *COL4A3/A4* pourrait rendre compte d'une HFB chez environ 50 % des familles concernées.

Conclusion : le spectre clinique des mutations de *COL4A5/A6* et de *COL4A3/A4*

Mutations de *COL4A5/A6*

Dans 85 % des cas de SA, la mutation porte sur le gène *COL4A5*. La présentation de l'hémizygote consiste en une microhématurie dès l'enfance, évoluant vers la protéinurie et l'insuffisance rénale terminale. La sévérité de l'atteinte rénale dépend du type de mutation : une mutation sévère telle une grande délétion se traduira par une forme juvénile

avec une surdité de perception et éventuellement un lenticône, une MBG épaissie, l'absence d'expression d' $\alpha 5$ dans la MBG et la MBE et un risque d'environ 15 % de développer une glomérulonéphrite à anti-MBG après transplantation ; à l'autre extrémité du spectre, certaines mutations faux-sens se traduiront par une atteinte rénale tardive, l'absence d'anomalie extrarénale, une MBG mince, une expression normale d' $\alpha 5$ dans la MBG et la MBE et l'absence de risque de développer une glomérulonéphrite à anti-MBG après transplantation.

Chez l'hétérozygote X, l'atteinte clinique est très variable (selon, vraisemblablement, l'inactivation aléatoire du chromosome X), allant de l'absence totale de traduction de la maladie (y compris, rarement il est vrai, l'absence de microhématurie) jusqu'à l'insuffisance rénale terminale atteinte le plus souvent après l'âge de 40 ans.

Dans les quelques familles où le SA est associé à une léiomyomatose, la mutation porte à la fois sur les gènes *COL4A5* et *COL4A6* (syndrome de gène contigu).

Mutations de *COL4A3/A4*

À l'instar de l'hémizyote, l'individu dont les deux gènes autosomiques sont mutés, aura une forme sévère, qu'il s'agisse de la même mutation (homozygote) ou de deux mutations différentes (hétérozygote composite), l'IRT étant habituellement atteinte avant l'âge de 30 ans et ce, dans les deux sexes.

Chez l'individu atteint d'une seule mutation de *COL4A3/A4*, le spectre d'atteinte clinique est très variable, depuis l'absence totale de symptôme jusqu'à l'insuffisance rénale terminale (atteinte à un âge plus tardif que chez l'individu dont les 2 gènes sont mutés) en passant par le phénotype le plus fréquent, à savoir une microhématurie, demeurant isolée et méritant alors son nom de bénigne. Les déterminants du phénotype pourraient être, à côté de la nature de la mutation, des facteurs génétiques (gènes modificateurs) ou environnementaux. Notre ignorance de ces déterminants doit inciter aujourd'hui à la plus grande prudence quant au pronostic rénal des individus atteints d'une mutation hétérozygote de *COL4A3/A4* et n'ayant au moment de l'examen qu'une microhématurie. C'est finalement l'histoire familiale, méticuleusement recueillie, qui sera le meilleur guide, un antécédent avéré de microhématurie demeurant bénigne jusqu'à un âge avancé chez plusieurs ascendants correspondant très vraisemblablement à une HFB.

Remerciements

À Madame Madeleine Putmans pour la mise en page du manuscrit.

Références

- [1] Levy M, Feingold J. Estimating prevalence in single-gene kidney diseases progressing to renal failure. *Kidney Int* 2000;58:925-43.
- [2] Kashtan CE, Michael AF. Alport syndrome. *Kidney Int* 1996; 50:1445-63.
- [3] Alport AC. Hereditary familial congenital haemorrhagic nephritis. *Br Med J* 1927;1:504.
- [4] Hostikka SL, Eddy RL, Byers MC, Höyhty M, Shows TB, Tryggvason K. Identification of a distinct type IV collagen α chain with restricted kidney distribution and assignment of its gene to the locus of X chromosome-linked Alport Syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1606-10.
- [5] Mochizuki T, Lemmik HH, Mariyama M, Antignac C, Gubler MC, Pirson Y, et al. Identification of mutations in the $\alpha 3$ (IV) and $\alpha 4$ (IV) collagen genes in autosomal recessive Alport syndrome. *Nat Genet* 1994;8:77-82.
- [6] Hinglais N, Grünfeld JP, Bois E. Characteristic ultrastructural lesion of the glomerular basement membrane in progressive hereditary nephritis. *Lab Invest* 1972;27:473-87.
- [7] Peten E, Pirson Y, Cosyns JP, Squifflet JP, Alexandre GPJ, Noël LH, et al. Outcome of thirty patients with Alport's syndrome after renal transplantation. *Transplantation* 1991;52:823-6.
- [8] Zhou J, Reenders ST. The α chains of type IV collagen. In: Tryggvason K, editor. *Molecular pathology and genetics of Alport syndrome*. Basel: Karger; 1996. p. 80-104.
- [9] Hudson BG, Tryggvason K, Sundaramoorthy M, Neilson EG. Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome, and type IV collagen. *N Engl J Med* 2003;345:2543-56.
- [10] Antignac C, Heidet L. Mutations in Alport syndrome associated with diffuse esophageal leiomyomatosis. In: Tryggvason K, editor. *Molecular pathology and genetics of Alport syndrome*. Basel: Karger; 1996. p. 172-82.
- [11] Lemmink HH, Schröder CH, Monnens LAH, Smeets HJM. The clinical spectrum of type IV collagen mutations. *Hum Mutat* 1997;9:477-99.
- [12] Boye E, Mollet G, Forestier L, Cohen-Solal L, Heidet L, Cochat P, et al. Determination of the genomic structure of the *COL4A4* gene and of novel mutations causing autosomal recessive Alport syndrome. *Am J Hum Genet* 1998; 63:1329-40.
- [13] Heidet L, Arrondel C, Forestier L, Cohen-Solal L, Mollet G, Gutiérrez B, et al. Structure of the human type IV collagen gene *COL4A3* and mutations in autosomal Alport syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:97-106.
- [14] Longo I, Porcedda P, Mari F, Giachino D, Meloni I, Deplano C, et al. *COL4A3/COL4A4* mutations: from familial hematuria to autosomal-dominant or recessive Alport syndrome. *Kidney Int* 2002;61:1947-56.
- [15] Puck JM, Willard HF. X inactivation in females with X-linked disease. *N Engl J Med* 1998;338:325-7.
- [16] Grünfeld JP. Nephrology forum: the clinical spectrum of hereditary nephritis. *Kidney Int* 1985;27:83-92.
- [17] Pirson Y. Making the diagnosis of Alport's syndrome. *Kidney Int* 1999;56:760-75.

- [18] Jaïs JP, Knebelmann B, Giatras I, De Marchi M, Rizzoni G, Renieri A, et al. X-linked Alport natural history in 195 families and genotype-phenotype correlation in males. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:649-57.
- [19] Grünfeld JP, Knebelmann B. Alport's syndrome. In: Davison AM, Cameron JS, Grünfeld JP, Kerr DNS, Ritz E, Winearls CG, editors. *Oxford textbook of clinical nephrology*. Oxford: Oxford University Press; 1998. p. 2427-37.
- [20] Gregory MC, Terreros DA, Barker DF, Fain PN, Denison JC, Atkin CL. Alport syndrome: clinical phenotypes, incidence and pathology. In: Tryggvason K, editor. *Molecular pathology and genetics of Alport syndrome*. Basel: Karger; 1996. p. 1-28.
- [21] Jaïs JP, Knebelmann B, Giatras I, De Marchi M, Rizzoni G, Renieri A, et al. X-linked Alport syndrome: natural history and genotype-phenotype correlations in girls and women belonging to 195 families: A "European community Alport syndrome concerted action". *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2603-10.
- [22] Gross O, Netzer KO, Lambrecht R, Seibold S, Weber M. Meta-analysis of genotype-phenotype correlation in X-linked Alport syndrome: impact on clinical counselling. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1218-27.
- [23] Rhys C, Snyers B, Pirson Y. Recurrent corneal erosion associated with Alport's syndrome. *Kidney Int* 1997;52:208-11.
- [24] Dahan K, Heidet L, Zhou J, Mettler G, Leppig KA, Proesmans W, et al. Smooth muscle tumors associated with X-linked Alport syndrome: carrier detection in females. *Kidney Int* 1995;48:1900-6.
- [25] Morello R, Zhou G, Dreyer SD, et al. Regulation of glomerular basement membrane collagen expression by LMX1B contributes to renal disease in nail patella syndrome. *Nat Genet* 2001;27:205-8.
- [26] Cangiotti AM, Sessa A, Meroni M, Montironi R, Ragaiolo M, Mambelli V, et al. Evolution of glomerular basement membrane lesions in a male patient with Alport syndrome: Ultrastructural and morphometric study. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:1829-34.
- [27] Gubler MC, Antignac C, Deschênes G, Knebelmann B, Hors-Cayla MC, Grünfeld JP, et al. Genetic, clinical and morphological heterogeneity in Alport syndrome. *Adv Nephrol* 1993;22:15-35.
- [28] Gubler MC, Knebelmann B, Beziau A, Broyer M, Pirson Y, Haddoum F, et al. Autosomal recessive Alport syndrome: immunohistochemical study of type IV collagen chain distribution. *Kidney Int* 1995;47:1142-7.
- [29] Torra R, Badenas C, Cofan F, Callis L, Pérez-Oller L, Darnell A. Autosomal recessive Alport syndrome: linkage analysis and clinical features in two families. *Nephro Dial Transplant* 1999;14:627-30.
- [30] Proesmans W, Van Dijck M. Enalapril in children with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004;19:271-5.
- [31] Gross O, Beirowski B, Koepke ML, et al. Preemptive ramipril therapy delays renal failure and reduces renal fibrosis in COL4A3-knockout mice with Alport syndrome. *Kidney Int* 2003;63:438-46.
- [32] Callis L, Vila A, Carrera M, Nieto J. Long-term effects of cyclosporine A in Alport's syndrome. *Kidney Int* 1999;55:1051-6.
- [33] Charbit M, Dechaux M, Gagnadoux MF, Grünfeld JP, Niaudet P. Cyclosporine A therapy in Alport syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:111A.
- [34] Chen D, Jefferson B, Harvey SC, Zheng K, Gartley CJ, Jacobs RM, et al. Cyclosporine A slows the progressive renal disease of Alport syndrome (X-linked hereditary nephritis): results from a canine model. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:690-8.
- [35] Van der Loop FTL, Heidet L, Timmer EDJ, Van Den Bosch BJC, Leinonen A, Antignac C, et al. Autosomal dominant Alport syndrome caused by a COL4A3 splice site mutation. *Kidney Int* 2000;58:1870-5.
- [36] Ciccicarese M, Casu D, Wong FK, Faedda R, Arvidsson S, Tonolo G, et al. Identification of a new mutation in the $\alpha 4$ (IV) collagen gene in a family with autosomal dominant Alport syndrome and hypercholesterolaemia. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:2008-12.
- [37] Pescucci C, Mari F, Longo I, Vogiatzi P, Caselli R, Scala E, et al. Autosomal-dominant Alport syndrome: natural history of a disease due to COL4A3 or COL4A4 gene. *Kidney Int* 2004;65:1598-603.
- [38] Arrondel C, Vodovar N, Knebelmann B, Grünfeld JP, Gubler MC, Antignac C, et al. Expression of the nonmuscle myosin heavy chain IIA in the human kidney and screening for MYH9 mutations in Epstein and Fechtner syndromes. *J Am Soc Nephrol* 2001;13:65-74.
- [39] Dische FE, Anderson VE, Keane SJ, Taube D, Bewick M, Parsons V. Incidence of thin membrane nephropathy: morphometric investigation of a population sample. *J Clin Pathol* 1990;43:457-60.
- [40] Cosio FG, Falkenhain M, Sedmak DD. Association of thin glomerular basement membrane nephropathy with other glomerulopathies. *Kidney Int* 1994;46:471-4.
- [41] Hebert LA, Betts JA, Sedmak DD, Cosio FG, Bay WH, Carlton S. Loin pain-hematuria syndrome associated with thin glomerular basement membrane disease and hemorrhage into renal tubules. *Kidney Int* 1996;49:168-73.
- [42] Praga M, Martinez MA, Andres A, Alegre R, Vara J, Morales E, et al. Association of thin basement membrane nephropathy with hypercalciuria, hyperuricosuria and nephrolithiasis. *Kidney Int* 1998;54:915-20.
- [43] Nieuwhof CM, de Heer F, de Leeuw P, van Breda Vriesman PJ. Thin GBM nephropathy. Premature glomerular obsolescence is associated with hypertension and late onset renal failure. *Kidney Int* 1997;51:1596-601.
- [44] Lemmink HH, Nillesen WN, Mochizuki T, Schroder CH, Brunner HG, van Oost BA, et al. Benign familial hematuria due to mutation of the type IV collagen alpha4 gene. *J Clin Invest* 1996;98:1114-8.
- [45] Badenas C, Praga M, Tazon B, Heidet L, Arrondel C, Armengol A, et al. Mutations in the COL4A4 and COL4A3 genes cause familial benign hematuria. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1248-54.
- [46] Buzza M, Hayat D, Wang YY, Wilson D, Babon JJ, Cotton RG, et al. Mutations in the COL4A4 gene in thin basement membrane disease. *Kidney Int* 2003;63:447-53.
- [47] Wang YY, Rana K, Tonna S, Lin T, Sin L, Savage J. COL4A3 mutations and their clinical consequences in thin basement membrane nephropathy (TBMN). *Kidney Int* 2004;65:786-90.
- [48] Yamazaki H, Nakagawa Y, Saito A, Nishi S, Sakatsume M, Takeda T, et al. No linkage to the COL4A3 gene locus in Japanese thin basement membrane disease families. *Nephrology* 1995;1:315-21.
- [49] Piccini M, Casari G, Zhou J, Bruttini M, Li Volti S, Ballabio A, et al. Evidence for genetic heterogeneity in benign familial hematuria. *Am J Nephrol* 1999;19:464-7.
- [50] Buzza M, Wilson D, Savage. Segregation of hematuria in thin basement membrane disease with haplotypes at the loci for Alport syndrome. *Kidney Int* 2001;59:1670-6.