

ARTICLE SCIENTIFIQUE

ACQUISITIONS RECENTES CONCERNANT UNE MALADIE PEU FREQUENTE : L'OEDEME ANGIONEUROTIQUE ASSOCIE A UN DEFICIT EN C1 INHIBITEUR

C. DUMESTRE-PERARD, L. BOUILLET

Laboratoire d'Immunologie, CHRU Hôpital sud, Grenoble

Article reçu le 3-11-1998

Accepté le 20-11-1999

Correspondance : C Dumestre-Pérard
Laboratoire d'Immunologie du CHRU
Hôpital sud
Avenue de Kimberley
38130 Echirolles
Tel : 04 76 76 54 16
Fax : 04 76 76 52 66

Résumé :

Le C1 inhibiteur (C1 inh), protéine appartenant à la famille des serpins (" serine protease inhibitor "), est impliquée dans la régulation des système du complément (C1r et C1s), de la coagulation et de la fibrinolyse. Le déficit en C1 inh est responsable de pathologies graves, l'oedème angio-neurotique héréditaire et l'oedème angio-neurotique acquis. La structure, la génétique, le mécanisme d'action et le spectre d'inhibition du C1 inh sont aujourd'hui bien connus, mais certaines questions ne sont pas encore complètement élucidées comme la physiopathologie de l'angioedème ou la classification des oedèmes angio-neurotiques acquis. Les pathologies d'angioedème sont caractérisées par des oedèmes cutané-muqueux récidivants, avec ou sans antécédent familial, ce tableau clinique apportant des éléments d'orientation pour le diagnostic. Le diagnostic est confirmé par des explorations qui sont du domaine de la biologie spécialisée. Une collaboration étroite entre cliniciens et biologistes est donc indispensable pour une bonne prise en charge des patients. Le danazol reste le traitement de fond de première intention de l'oedème angio-neurotique héréditaire, le traitement de l'oedème angio-neurotique acquis étant plus complexe.

Mots clés : C1 inhibiteur, complément, oedème angio-neurotique héréditaire, oedème angio-neurotique acquis.

RECENT ACQUISITIONS ABOUT RARE DISEASE : ANGIONEUROTIC EDEMA
ASSOCIATED WITH C1 INHIBITOR DEFICIT.

Summary :

C1 inhibitor, a member of the serpin. (" serine protease inhibitor ") family, is involved in regulation of the complement system (C1r and C1s), coagulation and fibrinolysis. C1 inhibitor deficiency is associated with hereditary angioneurotic edema and acquired angioneurotic edema, both serious pathological diseases. The structure, genetics, mechanism of action and inhibitory spectrum of C1 inhibitor are today well known, but many questions such as physiopathology and classification of acquired angioneurotic edema remain unsatisfactorily defined. These diseases are characterized by recurrent mucocutaneous edema, with or without family history, these clinical observations are important to guide diagnosis. To confirm diagnosis, specific biological tests are necessary. So, an intimate collaboration between clinicians and biologists is essential for a good identification of patients. Treatment of hereditary angioneurotic edema is based largely on the use of danazol, but choice of treatment for acquired angioneurotic edema is more difficult.

Key words :

C1 inhibitor, complement, hereditary angioneurotic edema, acquired angioneurotic edema.

INTRODUCTION

La protéine C1 inhibiteur (C1 inh) est impliquée dans la régulation de différents systèmes comprenant le complément, la coagulation et la fibrinolyse. Il est le seul inhibiteur plasmatique de C1r et de C1s. Il a été nommé initialement inhibiteur de la C1-estérase. Le C1 inh appartient à la superfamille d'inhibiteurs de protéase à sérine, désignée sous le terme de serpin ("serine protease inhibitor"), groupe d'enzymes qui hydrolysent les liaisons peptidiques des protéines.

Le rôle physiologique de cette protéine est illustré par les symptômes cliniques graves chez les patients atteints de déficits génétiques ou acquis en C1 inh. Ces déficits provoquent l'apparition paroxystique d'œdèmes sous cutanés et sous muqueux caractérisant l'œdème angioneurotique héréditaire ou acquis. Ces œdèmes angioneurotiques ou angioœdèmes sont classés dans la rubrique des urticaires. C'est en 1876 que fut évoquée pour la première fois par Milton une forme particulière d'œdème dans le cadre des urticaires géantes (25). Von Quincke et Osler décriront la symptomatologie de l'œdème angioneurotique et son caractère héréditaire (27). L'œdème angioneurotique héréditaire est une maladie rare, avec une prévalence d'environ 1/150000 en France, c'est une maladie génétique à transmission autosomale dominante à forme hétérozygote exclusive. En ce qui concerne l'œdème angioneurotique acquis, il faudra attendre 1972 pour que soit décrit son association à un syndrome lymphoprolifératif et 1986 pour que la présence d'anticorps anti-C1 inh soit montrée. Actuellement, les cas d'œdèmes angioneurotiques acquis sont en augmentation, probablement grâce à un meilleur dépistage.

A. BIOCHIMIE DU C1 INHIBITEUR

Le C1 inh est synthétisé par le foie, les monocytes, les fibroblastes, les plaquettes et les cellules placentaires. Sa synthèse est induite principalement par l'interféron- γ (IFN- γ), mais aussi par d'autres cytokines comme le "tumor necrosing factor- α " (TNF- α), l'IFN- γ , le "monocyte-colony stimulating factor" (M-CSF) et l'interleukine-6 (IL-6). Le taux de synthèse du C1 inh est de 0,22 mg/kg/h et sa concentration circulante de 210 à 345 mg/l.

Le gène du C1 inh est de 17 Kb et est situé sur le chromosome 11 (11q11-q13.1) (1).

Le C1 inh est une glycoprotéine monocaténaire et monomérique de poids moléculaire 105 000 kDa (figure 1) (3). Il comprend une seule chaîne polypeptidique de 478 acides aminés, accompagnée dans la cellule d'un peptide signal aminoterminal de 22 résidus (11, 22). Cette protéine de 478 acides aminés est divisée en deux domaines, comprenant pour l'un une région C-terminale et pour l'autre une région N-terminale très glycosylée de 120 acides aminés.

Le C1 inh contient 35% de carbohydrates et est une des protéines les plus glycosylées du plasma. La composition en carbohydrates du C1 inh est inhabituelle ; en effet, elle comprend une grande quantité de galactose et de N-acétylgalactosamine. Les sites de glycosylation ont été déterminés par séquençage des acides aminés. Le rôle biologique de la glycosylation du C1 inh demeure inconnu. La déglycosylation de la molécule par des O et N-glycanases ne modifie pas sa capacité d'interaction avec C1r. La glycosylation pourrait cependant intervenir dans l'activité de l'inhibiteur vis à vis d'autres protéases ou encore sur la stabilité plasmatique de la protéine.

Les premières informations concernant la structure primaire du C1 inh ont été rapportées par Harrison (16), qui séquençait les 40 résidus de la partie amino terminale de la protéine. Sa structure primaire complète a été déterminée en associant le séquençage direct des acides aminés de la protéine et l'isolement et la caractérisation des clones d'ADN complémentaire (ADNc) codant pour le C1 inh.

Ces renseignements ont montré que le C1 inh appartenait à la superfamille des serpins (tableau I). En effet, ces protéines sont réparties dans cette famille uniquement sur le critère d'homologie de séquence en acides aminés. Ces protéines peuvent avoir soit une activité inhibitrice de protéases à sérine, c'est le cas du C1 inh, de l'alpha-1-antitrypsine, de l'antithrombine III, de l'alpha-2-antiplasmine, de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène ; soit ne pas avoir de fonction inhibitrice connue, c'est le cas de l'angiotensinogène et de l'ovalbumine.

Le C1 inh possède une homologie de séquence avec les autres serpins de l'ordre de 25 à 30 %, cette homologie est identique entre les autres membres de cette famille (excepté entre l'alpha-1-antichymotrypsine et l'alpha-1-antitrypsine).

L'homologie du C1 inh avec les autres serpins est localisée sur la portion protéique du 121^{ème} résidu jusqu'à l'extrémité carboxy-terminale, soit près de 75% de la protéine. La région aminoterminal des serpins est une caractéristique de chaque inhibiteur.

Le **site réactif du C1 inh** est exposé sur une boucle peptidique qui fait protrusion hors de la molécule, comme chez tous les membres de la famille des serpins (29).

Les serpins diffèrent des autres inhibiteurs par le fait que leur centre réactif est mobile et peut se déplacer à l'intérieur et à l'extérieur d'une partie caractéristique de la molécule, le feuillet A.

L'archétype de la famille des serpins est l'alpha-1-antitrypsine, dont la structure possède 30% d'hélices a et 40% de feuilletes ? .

Le site réactif des serpins est représenté par une petite région variable entourée par une région très hautement conservée (22).

B.MECANISME D'ACTION DU C1 INHIBITEUR

Le C1 inh inactive les protéases comme les autres membres de la superfamille des serpins, par liaison covalente entre le site de fixation de l'enzyme et le site actif de l'inhibiteur, inhibiteur qui imite le substrat naturel de ces protéases.

De façon générale, les protéases à sérine hydrolysent des liaisons peptidiques ou des esters en trois étapes :

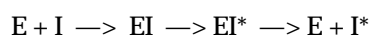
- **La formation d'un complexe stable avec le substrat.** Le site de fixation de l'enzyme sur le substrat est une sérine. Il faut noter la formation d'un dérivé intermédiaire stable acyl-enzyme.

- **L'hydrolyse de la liaison peptidique.**

- **La dissociation du complexe enzyme-substrat.** Il y a libération de la protéase, prête à de nouveaux clivages et de l'inhibiteur clivé et inactif, incapable de former des complexes avec une protéase cible.

Le mécanisme d'action des serpins est caractérisé, d'une part par le clivage de la liaison peptidique du site réactif et d'autre part par la force de liaison du complexe enzyme-inhibiteur résistante aux agents chimiques dénaturants (par exemple : Sodium dodécylsulfate-urée) (34).

Le schéma suivant résume la réaction :



E : protéase.

I : inhibiteur intact.

I* : inhibiteur clivé inactif.

C.PROTEASES CIBLES DU C1 INHIBITEUR

In vitro, le C1 inh inactive un certain nombre de protéases comprenant le C1r et C1s, la kalllicréine, le facteur XII (facteur Hageman ou facteur contact), la plasmine et le facteur XI de la coagulation.

Dans le plasma, le C1 inh contribue à l'inhibition de C1r et C1s, du facteur XIIa et XIIIf, de la kalllicréine et du facteur XI.

Le C1 inh a donc un rôle biologique important dans la régulation de l'activation du système complément et/ou de la libération de kinine, moindre dans la régulation de la coagulation et de la fibrinolyse ; son rôle dans la régulation de l'activation du complément par la voie des lectines n'est pas encore étudié.

C.1. Action du C1 inh sur le système complément

Le système du complément joue un rôle essentiel dans la défense immunitaire innée (non adaptative) ; il participe à la défense de l'organisme contre les agents pathogènes en aboutissant, au terme de son activation, à des processus de lyse cellulaire.

Il existe trois voies d'activation du complément, la voie classique, la voie alterne et la voie des lectines de connaissance plus récente (figure 2) (24).

Le C1 inh est le seul inhibiteur plasmatique de C1r et de C1s. Il participe donc au contrôle de la voie classique d'activation du complément. Il agit, d'une part sur l'autoactivation de C1, d'autre part sur les molécules C1r et C1s activées. C1 est un complexe réversible calcium dépendant, constitué d'une molécule de C1q et de deux molécules de proenzymes C1r et de C1s (C1r C1s)₂.

L'activation de C1 se fait essentiellement par des complexes immuns (antigène-anticorps), après leur fixation sur C1q.

Il existe deux étapes d'activation :

- Activation autocatalytique du proenzyme C1r : une molécule de C1r clive une autre molécule de C1r.

- Conversion par le C1r du C1s en C1s activé.

C1s clive ensuite C4 et C2 et il y a formation de C3 convertase classique C4b2a.

Le C1 inh prévient l'autoactivation du C1, mais ce contrôle n'a plus lieu en présence d'activateurs de la voie classique.

Le C1 inh contrôle l'activité protéolytique de C1, en se liant avec le C1r et le C1s. Il induit la dissociation de C1 et la libération de deux complexes C1 inh-C1r-C1s-C1 inh à partir de C1q (2).

Ces complexes sont équimolaires covalents et très stables. Ils ne sont pas dissociés par la chaleur, le sodium dodécylsulfate, la guanidine, l'urée ou les faibles pH ; mais ils sont complètement dissociés par l'hydroxylamine.

La mise en évidence des complexes C1 inh-C1r-C1s-C1 inh dans le sérum est un témoin de l'activation de la voie classique du complément. La mesure de ces complexes se fait par ELISA ("enzyme linked immunosorbant assay"), par RIA ("radio immuno assay") ou par "immunoblotting". Cette mesure permet de détecter une activation du complément lors d'un œdème angioneurotique héréditaire, d'un lupus érythémateux systémique ou d'une glomérulonéphrite.

C.2. Action du C1 inh sur la coagulation et la fibrinolyse

Un bref rappel de l'activation de ces deux systèmes est résumé sur la figure 3 (18).

Le C1 inh est un élément important dans la régulation de l'activation des systèmes de la coagulation et de la fibrinolyse. Il est l'inhibiteur plasmatique principal de la kallibréine, du facteur XII et aussi du facteur XI, d'après des données plus récentes (37, 9).

La kallibréine est connue pour avoir trois grandes fonctions :

- Elle agit sur la libération de kinines en formant un peptide actif pharmacologiquement, la bradykinine, à partir du kininogène de haut poids moléculaire (kininogène HPM).

- Elle participe à la fibrinolyse en activant le plasminogène (les principaux stimulants restent les activateurs du plasminogène t-PA et u-PA).

- Par un mécanisme de feedback, elle agit sur la phase contact de la coagulation en amplifiant l'activation du facteur XII.

Il faut noter que l'alpha-2-macroglobuline peut, au même titre que le C1 inh, inhiber la kallibréine.

Des études basées sur des analyses cinétiques et sur la quantification de formation de complexes dans le plasma ont montré que le C1 inh contrôlait 42% à 84% de la capacité d'inhibition de la **kallibréine** dans le plasma, alors que l'alpha-2-macroglobuline en contrôlait 50% et tous les autres inhibiteurs réunis 8%.

L'action inhibitrice du C1 inh sur les facteurs **XIIa et XIIb** (produits de clivage du facteur XII) est supérieure puisque le C1 inh contrôle 90% de l'inactivation de ces deux facteurs.

D. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ANGIOEDEME

Le déficit en C1 inh se manifeste par des œdèmes sous-cutanés ou sous-muqueux, apparaissant par crises. L'œdème est non inflammatoire et non prurigineux, il siège plus particulièrement aux extrémités et sur le visage. La localisation au niveau du larynx peut se révéler fatale (25 % de mortalité en l'absence de traitement adapté). Le tractus gastrointestinal peut être touché, il s'agit de crises pseudo-occlusives nécessitant souvent des hospitalisations. Les œdèmes sont classiquement ubiquitaires, souvent asymétriques, notamment au visage. Les principaux facteurs déclenchants connus sont les traumatismes tissulaires locaux et les stress émotionnels, mais aussi la puberté, les menstruations et les contraceptifs oraux chez la femme.

Deux hypothèses sont émises pour expliquer le mécanisme de l'œdème (1, 20) :

- L'activation de la phase contact de la coagulation au cours de crises et la génération de plusieurs protéases pourraient prendre part au mécanisme de l'œdème. En effet, il a été observé une activation du facteur XII et de la kallibréine et une consommation de la prékallibréine et du kininogène de haut poids moléculaire ; ce qui a pour conséquence la génération de bradykinine, médiateur de l'œdème. Les taux de bradykinine seraient élevés lors des crises d'angioœdème (26). Cependant, même si la bradykinine est l'acteur principal, elle ne serait pas seule responsable des symptômes (30).

- Les produits de clivage du C2 seraient également responsables de l'œdème. La voie classique du complément est activée pendant les crises d'angioœdème (10) ; l'activation directe de C1 entraîne la coupure de C2 et formation de C2b ; par action de la plasmine sur le C2b il y a libération d'un C2 peptide, le C2k. Ce produit de clivage de C2 serait responsable d'une activité vasoperméatrice et anaphylatoxique et donc du mécanisme de l'œdème.

La formation de l'angioœdème semble donc impliquer deux mécanismes intriqués : l'activation du système contact de la coagulation avec activation de plasmine et de kallibréine, protéases en partie contrôlées par le C1 inh ; ainsi que l'activation de la voie classique du complément avec clivage du C2 dépendant du C1s, également contrôlé par le C1 inh (figure 4) (33).

E. DIFFERENTES FORMES D'ANGIOEDEME

L'œdème angioneurotique est héréditaire ou acquis.

E.1. Oedème angioneurotique héréditaire

L'œdème angioneurotique héréditaire (OANH) est une maladie génétique à transmission autosomale dominante rare, dont la fréquence est de l'ordre de un sur 150 000 naissances. Elle touche de la même façon l'homme et la femme, est toujours hétérozygote et n'a pas de lien avec d'autres maladies génétiques. Les premiers symptômes apparaissent le plus souvent lors de l'adolescence. 30 % des cas sont dus à des néomutations (absence d'antécédents familiaux) (6).

L'angioœdème héréditaire peut être séparé en deux types :

- Le type I :

Il représente 85% des OANH.

Il est caractérisé par un déficit quantitatif en C1 inh. Le C1 inh est présent en faible quantité dans le plasma des malades, environ 30% de sa valeur normale. Les taux de C1 inh sont souvent inférieurs à 50%, donc plus faibles que ceux prévus dans les déficiences hétérozygotes. Ceci semble dû au catabolisme *in vivo* du C1 inh. Une autre hypothèse serait la transinhibition de l'expression normale du gène dans la synthèse du C1 inh (19).

- Le type II :

Il représente 15% des OANH.

Il est beaucoup plus rare que le précédent. Il est caractérisé par une protéine C1 inh non fonctionnelle, en quantité normale ou même plus élevée que la normale.

Il faut noter une hétérogénéité génétique de la maladie. Cette anomalie provient soit d'une mutation par substitution d'acides aminés au niveau du centre réactif de la molécule, soit de mutations de la partie N-terminale permettant de définir deux familles de protéines (21, 32) :

Dans deux tiers des cas (type IIa), le C1 inh muté donne naissance à des molécules dysfonctionnelles ne réagissant pas avec les protéases cibles. Il n'y a pas formation de complexes (10), le C1 inh reste sous sa forme native de 105 kDa.

Dans un tiers des cas (type IIb), le C1 inh muté peut réagir et former des complexes avec des protéases cibles. Ces complexes sont peu stables, facilement hydrolysés en protéase libre active et en C1 inh clivé de 95 kDa (10).

E.2.Oedème angioneurotique acquis

L'oedème angioneurotique acquis est une affection plus rare et sans doute moins bien diagnostiquée que l'oedème angioneurotique héréditaire, avec des symptômes cliniques identiques dans les deux cas. Il touche plus particulièrement l'adulte et n'a pas de caractère héréditaire (5).

L'oedème angioneurotique acquis peut être séparé en trois types :

-Le type I :

Il est dû à une hyperactivation de la voie classique du complément, qui pourrait être due à des complexes immuns formés d'immunoglobulines monoclonales exprimées à la surface de cellules B et de leurs anticorps anti-idiotype (type d'une réaction immune anti-idiotype). Les complexes immuns formés se lieraient au C1, activeraient la voie classique du complément et consommeraient le C1 inh (12).

Il est associé à des lymphoproliférations B bénignes ou malignes (lymphome non Hodgkinien, lymphome à cellules B, myélome multiple, macroglobulinémie de Waldenstrom, lymphosarcome, gammopathie monoclonale, leucémie lymphoïde chronique), des infections, des vascularites... Ces maladies associées peuvent survenir des mois après la découverte de l'oedème angioneurotique, il est donc important de surveiller attentivement ces patients.

-Le type II :

Il est caractérisé par la présence d'autoanticorps anti-C1 inh (17).

Ces autoanticorps sont principalement de classe Ig G, mais peuvent être de classe Ig A et Ig M. Ces autoanticorps sont d'une grande spécificité (un épitope différent pour chaque patient) et sont souvent monoclonaux. Ils ne réagissent pas avec les autres membres de la famille des Serpins.

Les autoanticorps se lient directement au niveau du site actif du C1 inh. (13, 15, 23, 35). Ils agissent sur le C1 inh natif, mais pas sur le C1 inh clivé, ni sur le C1 inh complexé à C1s ; ils induisent des changements de conformation du C1 inh, ce qui transforme le C1 inh en simple substrat sans activité inhibitrice, et empêche la formation de complexe protéase/serpin stable.

Même s'il est présent en faibles concentrations, l'autoanticorps peut cliver de grandes quantités de C1 inh.

Le type II peut être associé à des pathologies lymphoprolifératives (caractéristique du type I), la distinction rigoureuse entre le type I et le type II est donc remise en question ; elle doit reposer sur la présence ou non d'auto-anticorps anti-C1 inh (4, 8).

Le type médicamenteux :

- Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) :

1 à 3 /1000 consommateur d'IEC déclenchent un oedème angioneurotique. Les patients prédisposés semblent être ceux qui ont des antécédents d'urticaire, un taux bas de C1 inh et/ou de carboxypeptidase N. Les IEC, en contrôlant l'enzyme de conversion de l'angiotensine (analogue de la kininase II), inhibent la dégradation de la bradykinine et favorisent l'émergence d'angioedème (31). Le diagnostic est difficile, les dosages de C1 inh peuvent être normaux, le dosage de la bradykinine pouvant aider au diagnostic. La guérison est obtenue par l'éviction du traitement en cause.

- Contraception orale : Cyproteronacétate (Diane 35^r) :

Par ses propriétés anti-androgène, Diane 35^r favorise l'apparition d'angioedème. Le mécanisme physiopathologique de cet oedème angioneurotique est encore mal connu. 5 cas sont publiés dans la littérature : le taux pondéral du C1 inh est normal, mais l'activité fonctionnelle est effondrée et l'analyse par électrophorèse montre plus de 50% du C1 inh sous forme coupée (28). Les patientes guérissent totalement à l'arrêt de la pilule.

F. TABLEAU BIOLOGIQUE DU DEFICIT EN C1 INHIBITEUR

Le diagnostic d'angioedème repose sur des arguments cliniques d'orientation et biologiques de certitude.

Le diagnostic biologique repose sur le taux sérique du C1 inh et sur son dosage fonctionnel. Il permet d'étiqueter les deux types de déficit (tableaux II et III) :

- un déficit quantitatif caractérisé par un taux protéique effondré, toujours inférieur ou égal à 30% de la valeur normale (valeurs normales de 210 à 345 mg/l).

- un déficit qualitatif où l'activité fonctionnelle est effondrée et le dosage immunochimique normal ou supranormal.

Il est donc indispensable d'associer une évaluation de l'activité fonctionnelle du C1 inh à son dosage immunochimique.

Oedème angioneurotique héréditaire :

Il est caractérisé par un taux normal de C1q, des taux réduits de C4 et C2 et un taux normal ou bas de C3.

Le type I se distingue du type II par un taux sérique du C1 inh bas dans le 1^{er} cas, normal à élevé dans le 2^{ème} cas. Le dosage fonctionnel du C1 inh est dans les deux cas bas.

Oedème angioneurotique acquis :

- Le type I se caractérise par le taux sérique effondré de C1q. Cette observation est importante pour le diagnostic étiologique de ces formes acquises. On observe aussi des taux diminués du C1 inh, C2 et C4.

Les faibles taux de C1q mettent en évidence une hyperactivation de la voie classique du complément secondaire à la présence de complexes immuns.

- Le type II se caractérise par une activité fonctionnelle du C1 inh effondrée et un taux sérique normal ou bas (la protéine est sous sa forme clivée de 95 kDa, tableau III), ainsi que par la présence d'anticorps anti-C1 inh. On observe aussi des taux bas de C2 et C4 et des taux bas ou normaux de C1q.

Il faut nuancer les résultats de l'exploration du complément pendant et en dehors des crises d'angioedème. Pendant les crises, l'activité fonctionnelle hémolytique totale du complément dans le plasma (CH 50), les taux de C2 et C4 sont diminués. En dehors des crises le CH 50 est normal et les taux de C2 et C4 sont normaux ou diminués.

G. METHODES DE DOSAGE DU C1 INHIBITEUR

Dosage pondéral du C1 inh :

Ce dosage est réalisé par des techniques immunochimiques : Immuno-diffusion radiale selon Mancini ou néphélométrie.

Dosage fonctionnel du C1 inh : Détermination de l'activité inhibitrice du C1 inh à l'aide d'un substrat synthétique de C1s.

Le C1 inh de l'échantillon inhibe C1s apporté en excès et en quantité connue. l'activité estérasiq ue résiduelle de C1s est déterminée par un test cinétique. Elle est mesurée vis à vis d'un substrat synthétique, le benzoyl-L-arginine éthyl-ester ; si le substrat est protéolysé, il y a libération d'éthanol, qui est dosé grâce au couple alcool déshydrogénase/nicotine adénine dinucléotide (NAD) (14).

Ce test doit être impérativement fait sur du plasma, car sur sérum, il peut y avoir lors de la coagulation, activation *in vitro* du complément pouvant fausser les résultats.

Les résultats de ce test sont exprimés en unités arbitraires par ml, les valeurs normales sont de 17,2 à 27,4 U/ml.

D'autres kits commercialisés peuvent être utilisés pour ces dosages, IMMUNO, QUIDEL, BEHRING.

Analyse par électrophorèse du C1 inh :

La protéine C1 inh est analysée dans ses trois formes (native de PM 105 kDa, complexée de PM 180 kDa et clivée de PM 95 kDa) par électrophorèse verticale en gel de polyacrylamide et sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE) suivi d'un "immunoblot" anti-C1 inh. Ce test fonctionnel confirme l'étude des œdèmes angioneurotiques héréditaires de types II en deux sous-groupes : protéines dans la forme native ou dans la forme clivée.

Le C1 inh est étudié dans deux conditions :

- Dans le plasma seul, ce qui permet d'illustrer l'état de la protéine circulante.
- Dans le plasma après incubation avec C1s pour tester la capacité du C1 inh à former des complexes avec C1s.

Recherche d'anticorps anti-C1 inh :

Pour le diagnostic de l'œdème angioneurotique acquis de type II, les auto-anticorps anti-C1 inh doivent être recherchés, par une technique ELISA : le plasma des patients est incubé dans des micro-plaques préalablement "coatées" avec du C1 inh purifié fonctionnel, la liaison des auto-anticorps au C1 inh est détectée par des anticorps anti-immunoglobulines humaines spécifiques des classes et sous-classes, la révélation se fait grâce à des immunoglobulines conjuguées à la peroxydase (4).

H.TRAITEMENT

H.1.Traitements disponibles

Le danazol (Danatrol®) est un androgène, alkylé en C17, dérivé de la testostérone. Il augmente la synthèse hépatique des protéines, en particulier celle du C1 inh. Le Danazol est commercialisé par les laboratoires Sanofi-Winthrop, les comprimés sont à 200 mg et la posologie peut varier de 50 à 600 mg/j. La réponse biologique (augmentation du C1 inh, de C2 et de C4) apparaît dès le 5^{ème} jour avec un effet maximum entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour. Les effets secondaires sont nombreux : effets androgéniques de type acné, séborrhée, chute de cheveux, prise de poids ; troubles hormonaux (dysménorrhée chez la femme, baisse de la libido chez l'homme) ; nervosité ; complications hépatiques à type d'élévation des transaminases, ictère cholestatique. Ces effets secondaires sont réversibles à l'arrêt du traitement. De rares cas d'adénomes et d'adénocarcinomes ont été décrits dans la littérature chez des patients traités par danazol (7, 36). Les contre-indications sont la grossesse (contre-indication formelle lors du 1^{er} trimestre), l'allaitement, les antécédents de thrombose artérielle ou veineuse, les hépatopathies et le cancer de la prostate.

Les antifibrinolytiques, comme **l'acide tranexamique (Exacyl®)**, laboratoires Sanofi-Winthrop. Ils agiraient en inhibant la production de plasmine et en empêchant l'activation de C1 par la plasmine. L'acide tranexamique peut être utilisé de 1 à 4 g/j. Les effets secondaires assez rares sont la thrombose, la nécrose musculaire et l'hypotension artérielle. Les contre-indications sont les maladies thromboemboliques, l'insuffisance rénale grave. L'allaitement est déconseillé.

Le **concentré de C1 inh (Estérasiner®)**, fabriqué par Immuno-France, est un produit rare et onéreux qui est conditionné en flacon de 250, 500 ou 1000 unités (une unité correspondant à l'activité du C1 inh présent dans 1 ml de plasma frais normal). Il s'administre par perfusion ou injection intra-veineuse lente. Les effets cliniques apparaissent dès la 30^{ème} minute avec un

maximum à 6 heures. Les risques viraux sont quasi nuls, ce produit a subi un traitement par la vapeur.

H.2. Indications

Le traitement des **oedèmes angioneurotiques héréditaires, de fond** (plus d'une crise par mois), comprend le danazol en première intention ; les antifibrinolytiques sont réservés en cas de contre-indication à celui-ci ou en cas de crises d'intensité modérée. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion doivent être proscrits, car ils inhibent la dégradation de la bradykinine.

Le traitement prophylactique doit être appliqué avant toute intervention chirurgicale, même minime, qui doit être pratiquée à l'hôpital. Il comprend principalement le danazol : 600 mg/j 5 à 10 jours avant le geste, puis diminution progressive du traitement. Le concentré de C1 inh n'est utilisé qu'en cas d'intervention très urgente.

Le traitement des crises graves, (oedèmes laryngés ou crises abdominales intenses avec hypovolémie) nécessite une hospitalisation en soins intensifs (remplissage vasculaire, adrénaline...) et éventuellement du concentré de C1 inh (1000 à 1500 unités). Le relais est fait par le danazol. Les crises plus modérées peuvent être traitées par les antifibrinolytiques.

Le traitement des **oedèmes angioneurotiques acquis** est souvent difficile. Dans tous les cas, il est nécessaire de traiter la pathologie associée. Le traitement de 1^{er} choix est le danazol dans le type I, l'acide tranexamique est utilisé dans le type II (pour cause de résistance au danazol), ainsi que les immunosuppresseurs.

CONCLUSION

L'oedème angioneurotique est une pathologie rare, avec des symptômes cliniques, un âge auquel apparaissent les premières crises, très variables d'un individu à l'autre. C'est une maladie en perpétuelle évolution avec la découverte récente des formes acquises par auto-anticorps, mais elle reste encore mal maîtrisée sur le plan thérapeutique.

La réalisation d'un diagnostic précoce est primordiale du fait de la morbidité importante. Le tableau clinique d'oedème récidivant apporte des éléments d'orientation et la biologie permet de confirmer le diagnostic. Ce diagnostic biologique est souvent difficile et nécessite des tests spécialisés, en particulier pour différencier les types I et II d'oedème angioneurotique acquis. Une collaboration étroite entre cliniciens et biologistes reste indispensable pour une bonne prise en charge de ces patients.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Docteur D. Ponard pour ses conseils avisés.

BIBLIOGRAPHIE

1) Alvin E, Davis III. CI inhibitor gene and hereditary angioneurotic edema. In : Volanakis JE, Frank MM eds, *The human complement system in health and disease.*, Marcel Dekker, 1998:455-80.

2) Arlaud GJ, Colomb MC, Gagnon J. A functional model of the human C1 complex. *Immunology Today*, 1987;8,4:106-11.

3) Bock SC, Skriver K, Nielsen E et al. Human C1 inhibitor : Primary structure, cDNA cloning, and chromosomal localization. *Biochemistry*, 1986;25:4292-301.

4) Chevailler A, Arlaud G, Ponard D et al. C1-inhibitor binding monoclonal immunoglobulins in three patients with acquired angioneurotic edema. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996;97:998-1008.

- 5) Chevrant-Breton J. Oedème angioneurotique : Acquisitions récentes. *Objectif peau*, 1994;133-36.
- 6) Cicardi M, Agostoni A. Hereditary angioedema *N. Engl. J. Med.*, 1996;334:1666-67.
- 7) Cicardi M, Castelli R, Zingale LC, Agostoni A. Side effects of long term prophylaxis with attenuated androgens in hereditary angioedema : Comparison of treated and untreated patients. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996;99:194-96.
- 8) Cicardi M, Bisiani G, Cugno M, Spath P, Agostoni A. Autoimmune C1 inhibitor deficiency : Report of eight patients. *Am. J. Med*, 1993;95:169-75.
- 9) Cugno M, Cicardi M, Bottasso B et al. Activation of the coagulation cascade in C1-inhibitor deficiencies. *Blood*, 1997;89,9:3213-18.
- 10) Cugno M, Nuijens J, Hack E et al. Plasma levels of C1 inhibitor complexes and cleaved C1 inhibitor in patients with hereditary angioneurotic edema. *J. Clin. Invest*, 1990;85:1215-20.
- 11) Davis III AE. C1-Inhibitor (C1 INH) : Genes, biosynthesis and biology. *Behring Inst. Mitt.*, 1989;84:142-50.
- 12) Day NK, Good RA. Acquired C1-INH deficiency. In : *The complement System*, Rother k./Till G.O., 1988.
- 13) Donaldson VH, Wagner CJ, Davis III AE. An autoantibody to C1-inhibitor recognizes the reactive center of the inhibitor. *J. Lab. Clin. Med.*, 1996;127,2:229-32.
- 14) Drouet C, Alibeu C, Ponard D, Arlaud G, Colomb M. A sensitive method to assay blood complement C1 inhibitor activity. *Clin. Chim. Acta* , 1988;174:121-30.
- 15) He S, Sim RB, Whaley K. Mechanism of action of anti-C1-inhibitor autoantibodies : Prevention of the formation of stable C1s-C1-inh complexes. *Molecular Medicine*, 1998;4:119-28.
- 16) Harrison RA. Human C1 inhibitor: Improved isolation and preliminary structural characterization. *Biochemistry*, 1983;22:5001-07.
- 17) Jackson J. Autoantibody-facilitated proteolytic cleavage : A new pathogenic mechanism in autoimmunity. *Biochem. Soc. T.*, 1991;19:176-80.
- 18) Kaplan AP, Silverberg M. The coagulation-kinin pathway of human plasma. *The Journal of the American Society of Hematology*, 1987;70,1:1-15.
- 19) Kramer J, Rosen FS, Colten HR, Rajczy K, Strunk RC. Transmission of C1 inhibitor synthesis in type I Hereditary Angioneurotic Edema. *J. Clin. Invest.*, 1993;91:1258-62.
- 20) Laurent J, Lagrue G. Œdème angioneurotique héréditaire : Mécanisme, diagnostic et traitement. *Immunologie médicale*, 1986;17:37-40.
- 21) Levy NJ, Ramesh N, Cicardi M, Harrison RA, Davis III AE. Type II hereditary angioneurotic edema that may result from a single nucleotide change in the codon for alanine-436 in the C1 inhibitor gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990;87:265-68.
- 22) Magnusson S, Bock SC, Skriver K. C1 inhibitor : Structure, genetic variants and genetic homologies. *Method in Protein Sequence Analysis*, 1991;301-11.
- 23) Mandle R, Baron C, Roux E et al. Acquired C1 inhibitor deficiency as a result of an autoantibody to the reactive center region of C1 inhibitor. *J. Immunol.*, 1994;152:4680-85.

- 24) Meri S, Jarva H. Complement regulation. *Vox Sanguinis*, in press.
- 25) Milton JL. On giant urticaria. *Edinburgh M. J.*, 1876;22:513-26.
- 26) Nussberger J, Cugno M, Amstutz C, Cicardi M, Pellacani A, Agostoni A. Plasma bradykinin in angio-oedema. *The Lancet*, 1998;351:1693-97.
- 27) Osler W. Hereditary angio-neurotic oedema. *Am. J. Med. Sci.*, 1988;95:362-67.
- 28) Pichler WJ, Lehner R, Spath PJ. Recurrent angioedema associated with hypogonadism or anti-androgen therapy. *Ann. Allerg.*, 1989;63:301-05.
- 29) Robin W, Carell and Dyfed LI Evans. Serpins: Mobile conformations in a family of proteinase inhibitors. *Current Opinion in Structural Biology*, 1992;2:438-46.
- 30) Schoemaker LR, Schurman SJ, Donaldson VH, Davis III AE. Hereditary angioneurotic oedema : Characterization of plasma kinin and vascular permeability-enhancing activities. *Clin. Exp. Immunol.*, 1994;95:22-28.
- 31) Sigler C, Annis K, Cooper K, Haber H, Van de Carr S. Examination of baseline levels of carboxypeptidase N and complement components as potential predictors of angioedema associated with the use of an angiotensin converting enzyme inhibitor. *Arch. Dermatol.*, 1997;133:972-75.
- 32) Skriver K, Wikoff WR, Patston PA et al. Substrate properties of C1 inhibitor Ma (Alanine 434 → Glutamic Acid). *J. Biol. Chem.*, 1991;266,14:9216-21.
- 33) Strang CJ, Cholin S, Spragg J et al. Angioedema induced by a peptide derived from complement component C2. *J. Exp. Med.*, 1988;168:1685-98.
- 34) Travis J, Salvesen GS. Human plasma proteinase inhibitors. *Ann. Rev. Biochem.*, 1983;52:655-709.
- 35) Whaley K, Sim RB, He S. Autoimmune C1-inhibitor deficiency. *Clin. Exp. Immunol.*, 1996;106:423-26.
- 36) Weill BJ, Menkes CJ, Cormier C, Louvel A, Dougados M, Houssin D. Hepatocellular carcinoma after danazol therapy. *J. Rheumatol*, 1988;15:1447-49.
- 37) Wuillemin WA, Minnema M, Meijers JCM et al. Inactivation of factor XIa in human assessed by measuring factor XIa-protease inhibitor complexes : Major role for C1-inhibitor. *Blood*, 1995;85,6:1517-26.

Tableau I : Différentes serpins humaines et leurs cibles**A** : Serpins essentiellement plasmatiques et ayant une fonction inhibitrice.**B** : Serpin essentiellement tissulaire

SERPINS	CIBLES CONNUES
A/ Alpha-1-antitrypsine ou Alpha-1-protéase inhibiteur	élastase
Alpha-1-antichymotrypsine	cathepsine G, chymases chymotrypsines mastocytaires
C1 inhibiteur	C1r, C1s, XIa, XIIa, kallikréine
Antithrombine III	thrombine, IXa, Xa, XIa, XIIa
Cofacteur II de l'héparine	thrombine
Protéine c inhibiteur	protéine C
Human Leu.serpine 2 (hLS2)	cathepsine G, chymases
Alpha-2-antiplasmine	plasmine
Inhibiteur endothélial de l'activateur du plasminogène (PA)	t-PA, u-PA
Inhibiteur placentaire de l'activateur du plasminogène	u-PA

B/ Protéase Nexine I	C1r, C1s

Tableau II : Anomalies du complément associées à l'angioedème

Type angioedème	C1q	C4	C2	C3	C1 inh pondéral	C1 inh fonctionnel	Auto-Acqs
Héréditaire Type I	N	↓	↓	N ou ↓	↓	↓	-
Héréditaire Type II	N	↓	↓	N ou ↓	N	↓	-
Acquis Type I	↓	↓	↓	N ou ↓	N ou ↓	↓	-
Acquis Type II	N ou ↓	↓	↓	N ou ↓	N ou ↓	↓	+

Tableau III : Différentes formes de C1 inh après électrophorèse

Déficit	Type	Formes de C1 inh		
		Native	Coupée	complexée
Héréditaire	I	+/-	0	0
	IIa	+/-	0	0
	IIb	0	+++	+/-
Acquis	I	+/-	+	+++
	II	0	+++	0

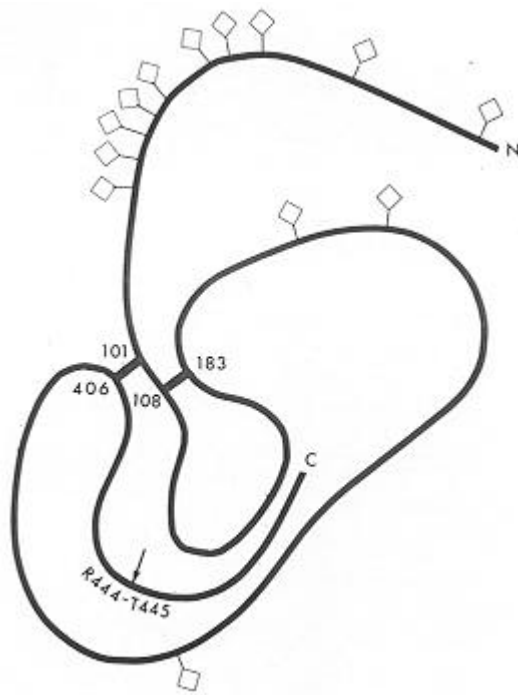


Figure 1 : Schéma du C1 inhibiteur dans sa forme circulante et plasmatique (3)

N et C : Extrémités N- et C- terminales de la chaîne polypeptidique de 478 acides aminés

— : Ponts disulfures

□ : Sites connus de glycosylation

→ : Site réactif (Arg 444-Thr 445)

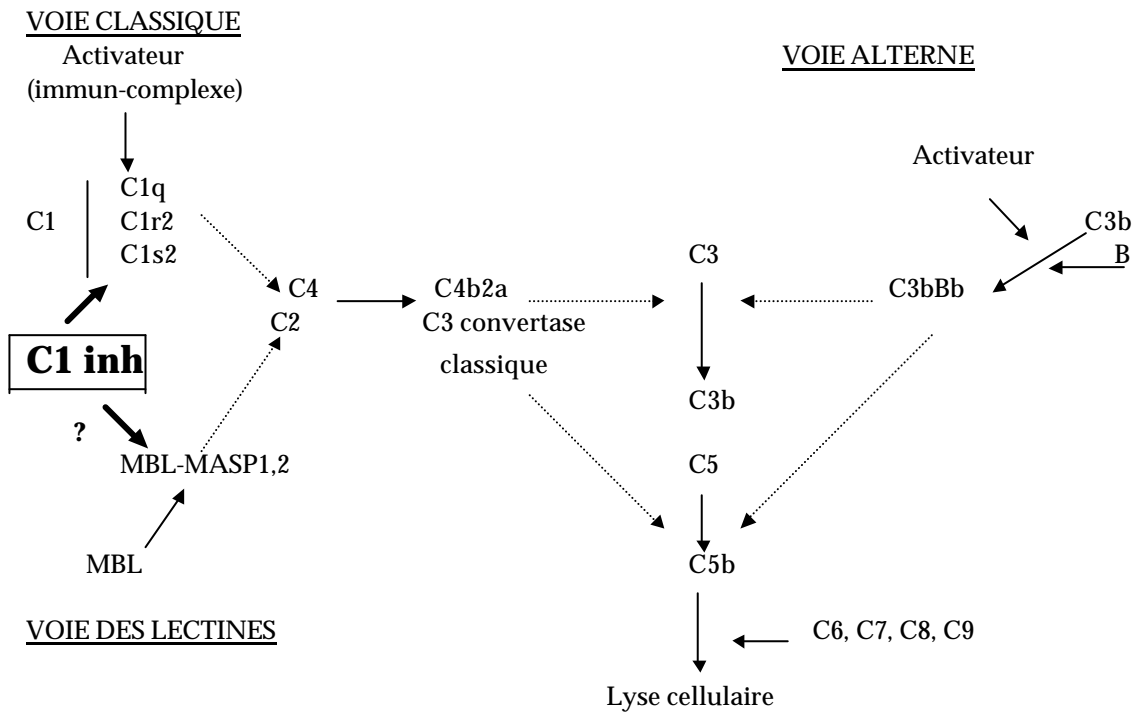


Figure 2 : Schéma simplifié des voies d'activation du complément (d'après Meri et al) (24)

..... → Activité enzymatique

En gras : effets du C1 inhibiteur

MBL : " mannan binding lectin ", MASP : " mannan binding lectin associated serine protease "

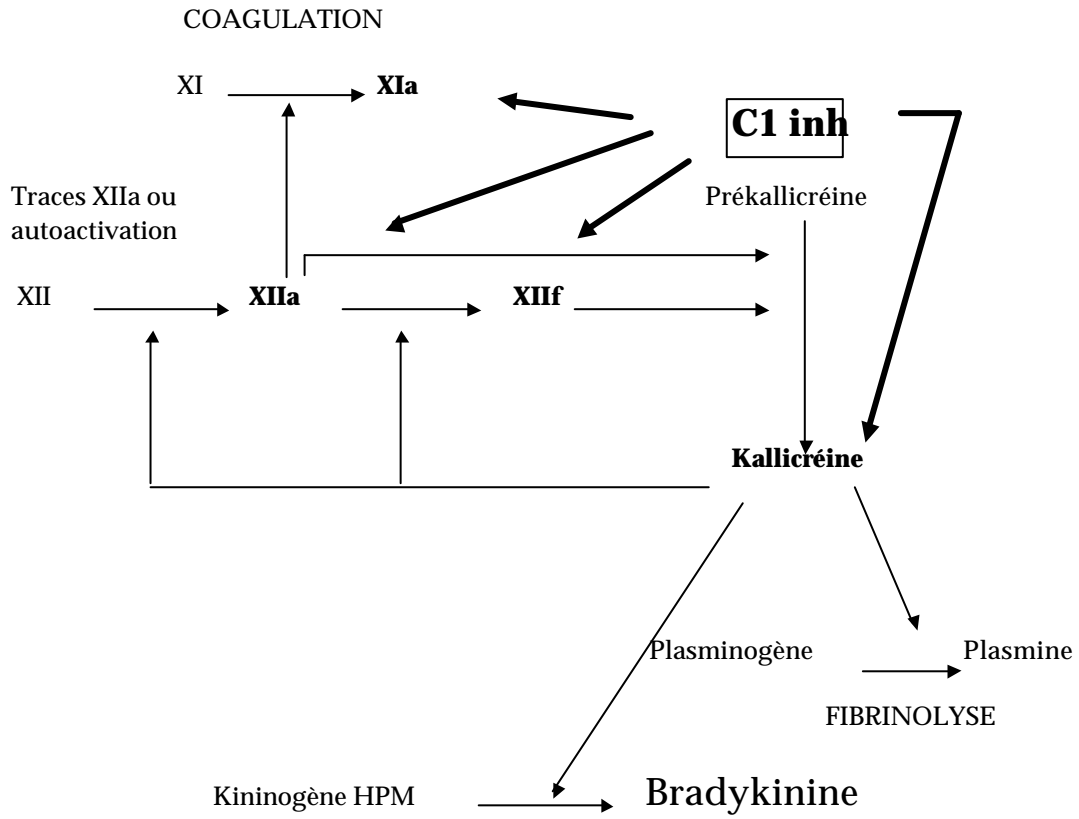


Figure 3 : Activation des systèmes de la coagulation et de la fibrinolyse par le facteur XII.

En gras sont notées les protéases contrôlées par le C1 inh.

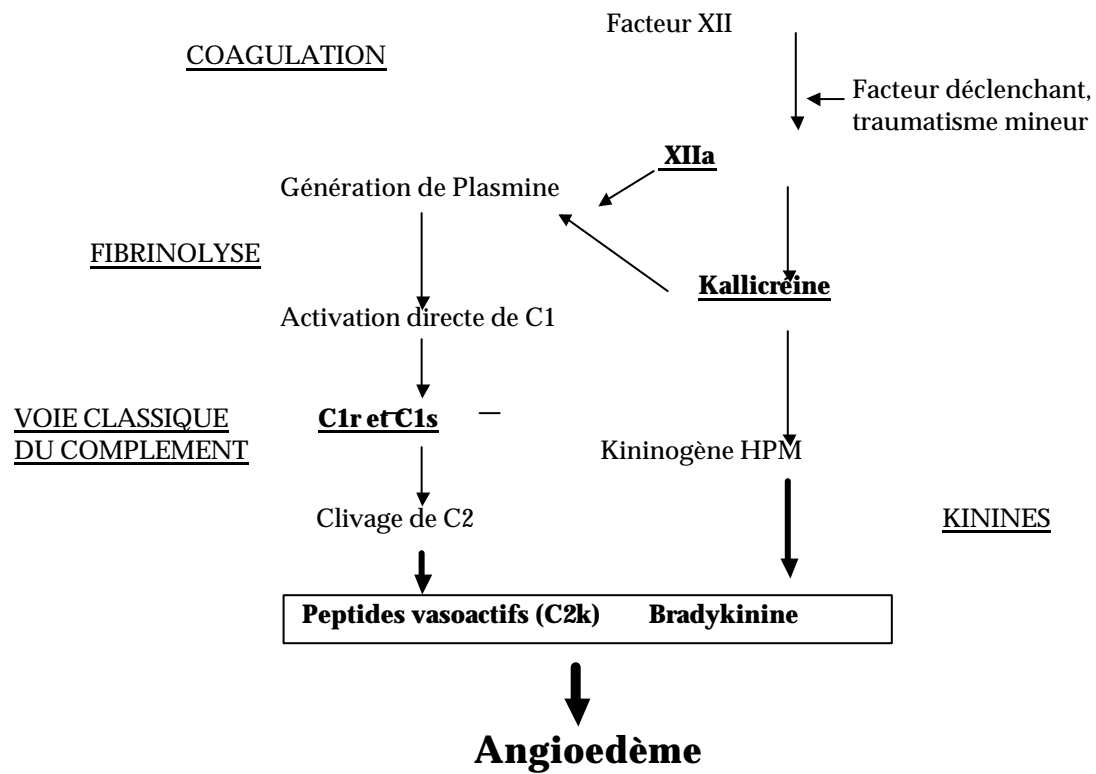


Figure 4 : Mécanismes d'apparition de l'angioedème

(en gras et souligné: protéases cibles du C1 inh dont l'inhibition est diminuée, suite à un déficit en C1 inh)