

SEMMELWEIS EGYETEM
DOKTORI ISKOLA

Ph.D. értekezések

2837.

GODNIC-PÓLAI ZSÓFIA

Vaszkuláris patofiziológia / atherosclerosis
című program

Programvezető: Dr. Prohászka Zoltán, egyetemi tanár

Témavezető: Dr. Farkas Henriette, egyetemi tanár

**Komplement paraméterek és klinikai tünetek
hosszú távú nyomon követése
szerzett C1-inhibitor hiányos angioödémában**

Doktori értekezés

Godnic-Pólai Zsófia

Semmelweis Egyetem

Elméleti és Transzlációs Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Farkas Henriette, az MTA doktora, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Hidvégi Bernadett Ph.D., egyetemi docens

Dr. Kriván Gergely, Ph.D., habilitált egyetemi docens

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Reusz György, az MTA doktora, egyetemi tanár

Tagok: Dr. Radovits Tamás Ph.D., egyetemi tanár

Dr. Jobbágy Ákos, az MTA doktora, professor emeritus

Budapest
2023

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke

1.	Bevezetés	8
1.1	Bradikinin mediálta angioödémák	9
1.2	Plazmaenzimrendszerek	11
1.2.1	Komplementrendszer	11
1.2.2	Kontaktrendszer	12
1.2.3	Véralvadási és fibrinolitikus rendszer	14
1.3	C1-inhibitor hiányában kialakuló szerzett angioödéma	15
1.3.1	Tünetek, kiváltó okok és alapbetegségek	15
1.3.2	Patomechanizmus	17
1.3.3	Diagnosztika	18
1.3.4	Kezelés.....	19
2.	Célkitűzések	22
3.	Módszerek	24
3.1	Betegek	24
3.2	Komplementvizsgálatok	24
3.3	C1-INH/C1-INH-Ab komplexek (CAC) mérése.....	25
3.4	Statisztikai módszerek	25
4.	Eredmények	27
4.1	Demográfia	27
4.2	Angioödémás rohamokat kiváltó tényezők	28
4.3	Angioödémás rohamok a diagnózist megelőzően	29
4.4	Út a diagnózisig	30
4.5	C1-INH-AAE diagnózisa	31
4.6	CAC módszerfejlesztés és mérés	31
4.6.1	A mérés felépítése	31
4.6.2	Számítások kivitelezése	32
4.6.3	Fagyasztás hatása	33
4.6.4	Ismételhetőség	33
4.6.5	CAC mérési eredmények	34
4.7	Alapbetegség diagnózisa	36

4.8	Angioödémás rohamok a nyomon követési idő alatt	37
4.9	Nemek közötti eltérések	38
4.9.1	Klinikai tünetek.....	38
4.9.2	Komplement paraméterek.....	39
4.10	Komplement paraméterek és klinikai tünetek közötti összefüggések	39
4.10.1	Komplement paraméterek és az első angioödémás roham óta eltelt idő.....	39
4.10.2	Komplement paraméterek és az angioödémás rohamok száma az adott vérvételt megelőző és az azt követő 12 hónap alatt	40
4.10.3	C1-INH elleni antitestek és a klinikai tünetek közötti összefüggések	41
4.11	Angioödémás rohamok kezelése és ezek összefüggése a klinikai tünetekkel és a komplement paraméterekkel.....	42
4.11.1	Elsődleges profilaxis.....	42
4.11.2	Akut kezelés.....	42
4.11.3	Rövid távú profilaxis.....	42
4.11.4	Hosszú távú profilaxis.....	42
4.11.4.1	Komplement paraméterek változása danazol szedése mellett	43
4.11.4.2	Komplement paraméterek változása tranexámsav szedése mellett	44
4.12	Alapbetegség kezelése	44
4.13	Rituximab kezelés, klinikai tünetek és a komplement paraméterek összefüggése	45
4.13.1	Kezelést nem igénylő alapbetegséggel rendelkező betegek klinikai tünetei.....	45
4.13.2	Rituximab kezelést kapott betegek klinikai tünetei	45
4.13.3	Komplement paraméterek változása rituximab kezelés hatására..	46
4.14	Hosszú távú nyomon követés betegenként és a komplement paraméterek változása	49
4.14.1	P1	50
4.14.2	P2	51

4.14.3 P3	52
4.14.4 P4	53
4.14.5 P5	53
4.14.6 P6	54
4.14.7 P7	55
4.14.8 P8	56
4.14.9 P9	57
4.14.10 P10	58
4.14.11 P11	59
4.14.12 P12	60
4.14.12.1 Komplement paraméterek változása autológ őssejt transzplantációt közvetlenül követő 28 napon keresztül..	61
4.14.12.2 Komplement paraméterek változása az alapbetegség kezelésig hátralévő idő függvényében	64
4.14.13 P13	67
4.14.14 P14	68
4.14.15 P15	69
4.14.16 P16	70
4.14.17 P17	71
4.14.18 P18	71
4.14.19 P19	72
5. Megbeszélés.....	73
5.1 Demográfia	73
5.2 Angioödémás rohamokat kiváltó tényezők	73
5.3 Angioödémás rohamok a diagnózist megelőzően	74
5.4 Út a diagnózisig	74
5.5 C1-INH-AAE diagnózisa	75
5.6 CAC módszerfejlesztés és mérés	75
5.7 Nyomon követés	78
5.8 Alapbetegség diagnózisa	78
5.9 Angioödémás rohamok a nyomon követési idő alatt	79

5.10 Komplement paraméterek és klinikai tünetek közötti összefüggések	79
5.10.1 A klasszikus útvonal elemei és a klinikai tünetek közötti összefüggések.....	79
5.10.2 C1-INH elleni antitestek és a klinikai tünetek közötti összefüggések	80
5.11 Angioödémás rohamok kezelése	80
5.11.1 Elsődleges profilaxis.....	80
5.11.2 Akut kezelés.....	80
5.11.3 Rövid távú profilaxis	81
5.11.4 Hosszú távú profilaxis.....	81
5.12 Alapbetegség kezelése	82
5.13 Rituximab kezelés, klinikai tünetek és a komplement paraméterek összefüggése	82
5.13.1 Kezelést nem igénylő alapbetegséggel rendelkező betegek klinikai tünetei	82
5.13.2 Rituximab kezelést kapott betegek klinikai tünetei	83
5.13.3 Komplement paraméterek változása rituximab kezelés hatására	83
5.14 Hosszú távú nyomon követés betegenként	84
5.14.1 Komplement paraméterek változása autológ őssejt transzplantációt közvetlenül követő 28 napon keresztül	84
5.14.2 Komplement paraméterek változása az alapbetegség kezeléséig hátralévő idő függvényében	84
6. Következtetések.....	86
7. Összefoglalás	88
8. Summary	89
9. Irodalomjegyzék	90
10. Saját publikációk jegyzéke (disszertációhoz kapcsolódó)	99
11. Saját publikációk jegyzéke (disszertációtól független)	100
12. Köszönetnyilvánítás	101

Rövidítések jegyzéke

AAE: szerzett angioödéma

ACEI – angiotenzin-konvertáló enzim inhibitor

ACEI-AAE: angiotenzin-konvertáló enzim inhibitorhoz kötött szerzett angioödéma

ANGPT1-HAE: angiopoietin-1 génmutációjának következtében kialakuló hereditár angioödéma

BCA: bazális sejtes adenóma

BSA-PBS – marha szérum albumin – foszfáttal pufferelt sóoldat

C1-INH – C1-inhibitor

C1-INH-AAE – C1-inhibitor hiányában kialakuló szerzett angioödéma

C1-INH-Ab – C1-inhibitor elleni antitestek

C1-INH-HAE – C1-inhibitor hiányában kialakuló hereditár angioödéma

CAC - C1-inhibitor – C1-inhibitor elleni antitest komplexek

CH50 – hemolitikus öszskomplement

CLL: krónikus limfocitás leukémia

ELISA - enzim-kötött immunszorbens vizsgálati eljárás

FXII-HAE: XII-es faktor génmutációjának következtében kialakuló hereditár angioödéma

HAE: hereditár angioödéma

HRP – torma-peroxidáz

HS3ST6-HAE: heparán szulfát glükózamin 3-O-szulfotranszferáz 6 génmutációjának következtében kialakuló hereditár angioödéma

InH-AAE: idiopátiás nem-hisztamin mediálta szerzett angioödéma

KNG1-HAE: kininogén-1 génmutációjának következtében kialakuló hereditár angioödéma

MAC – membránkárosító komplex

MASP - mannóz-kötő lektin-asszociált szerin proteáz

MBL - mannóz-kötő lektin

MGUS - nem meghatározott jelentőségű monoklonális gammopátia

MM: mielóma multiplex

MYOF-HAE: myoferlin génmutációjának következtében kialakuló hereditár angioödéma

MZL: marginális zóna limfóma

NHL: non-Hodgkin limfóma

pdC1-INH - emberi vérplazmából előállított C1-inhibitor

PLG-HAE: plazminogén génmutációjának következtében kialakuló hereditér angioödéma

rhC1-INH - rekombináns úton előállított C1-inhibitor

TMB - 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin

TR: autológ őssejt transzplantáció

U-HAE: ismeretlen eredetű hereditér angioödéma

VAD - vinkrisztin, doxorubicin, dexametazon

1. Bevezetés

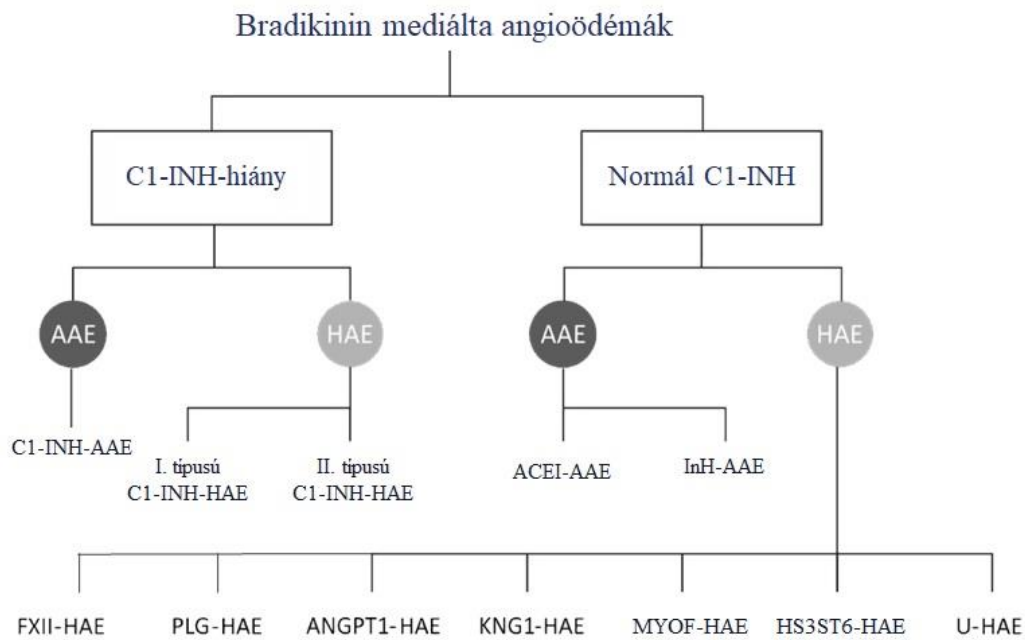
Magyarországon egyedülálló módon az Országos Angioödéma Referencia és Kiválósági Központ 1999 óta látja el a C1-inhibitor (C1-INH) hiányos betegeket. A C1-INH hiány jellemzően angioödémás rohamokkal jár együtt, melynek haladéktalan diagnosztizálása és kezelése elengedhetetlen a betegek életminőségének és életének védelme érdekében. A betegségcsoport diagnosztizálásához szükséges rutin vizsgálatok elvégzésében a Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Hematológiai Klinikájának Kutatólaboratóriuma, valamint az Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikájának Központi Laboratóriuma van a Központ segítségére. Egyéb feladatai mellett a Kutatólaboratórium modern felszereltsége lehetőséget biztosít a Központban kezelt és nyomon követett betegségek patomechanizmusának részletesebb vizsgálatára, a kórfolyamatok pontosabb megismerésére, valamint nemzetközi szintű kutatás folytatására.

A C1-INH hiánnyal diagnosztizált betegek jelentős része ennek a betegségnek a hereditár formáját hordozza, míg a betegek egy kisebb csoportja szerzett formában mutatja a C1-INH hiányt. Utóbbi betegcsoport kis létszáma ellenére egy rendkívül változatos kórképet képvisel, különböző társuló alapbetegségekkel. Ezen betegek esetében nem csak a diagnosztika, de a kezelési stratégia kialakítása is nagy körültekintést és szakértelmet igényel, elengedhetetlen a különböző orvosi tudományterületek együttműködése a betegek ellátása során. Számos kihívást rejt magában a kórkép, melynek patomechanizmusa sem egységes és az egyes betegeket sok esetben egyedi esetekként szükséges kezelni a különböző egészségügyi háttér okán.

Doktori értekezésemben ezt a sokoldalú és változatos kórképet igyekszem összefoglalni, kiemelve az egyedi eseteket, illetve kutatási eredményeimmel segíteni ezen betegek ellátását és betegségük nyomon követését.

1.1 Bradikinin mediálta angioödémák

Az angioödémás roham a szubkután és szubmukózus szövet ödémájaként definiálható, mely a megnövekedett érpermeabilitás következménye, amit vazoaktív mediátorok váltanak ki. Bradikinin mediálta angioödémáról akkor beszélhetünk, ha a szóban forgó vazoaktív mediátor a bradikinin. Ez a kórkép megjelenhet C1-INH hiányos állapot kíséretében, vagy normál C1-INH titer mellett. (1. ábra) (1)



1. ábra. Bradikinin mediálta angioödémák osztályozása, C1-INH: C1-inhibitor, AAE: szerzett angioödéma, HAE: herediter angioödéma, C1-INH-AAE: C1-inhibitor hiányában kialakuló szerzett angioödéma, C1-INH-HAE: C1-inhibitor hiányában kialakuló herediter angioödéma, ACEI-AAE: angiotenzin-konvertáló enzim inhibitorhoz kötött szerzett angioödéma, InH-AAE: idiopátiás nem-hisztamin mediálta szerzett angioödéma, FXII-HAE: XII-es faktor génmutációjának következtében kialakuló herediter angioödéma, PLG-HAE: plazminogén génmutációjának következtében kialakuló herediter angioödéma, ANGPT1-HAE: angiopoietin-1 génmutációjának következtében kialakuló herediter angioödéma, KNG1-HAE: kininogén-1 génmutációjának következtében kialakuló herediter angioödéma, U-HAE: ismeretlen eredetű herediter angioödéma, MYOF-HAE: myoferlin génmutációjának következtében kialakuló herediter angioödéma, HS3ST6-HAE: heparán szulfát glükózamin 3-O-szulfotranszferáz 6 génmutációjának következtében kialakuló herediter angioödéma ((2)alapján)

C1-INH hiányában kialakuló angioödéma megjelenhet öröklött, azaz herediter (C1-INH-HAE) – a *SERPING1* gén mutációjából adódó autoszomális domináns betegség – vagy szerzett formában (C1-INH-AAE). Ezen típusok patomechanizmusában a C1-INH játssza a legfőbb szerepet. Ez a fehérje nemcsak a komplementrendszer működésében vitathatatlan jelentőségű, hanem más plazmaenzimrendszerekben is inhibitor funkciót tölt

be, ennek következtében a C1-INH hiányos angioödémák tünetei és kezelési módjai is szorosan összefonódnak ezekkel az enzimrendszerekkel.

1.2 Plazmaenzimrendszerek

Szervezetünk védelmében a vérplazmában proteolitikus enzimrendszerek találhatóak. Nyugalmi állapotban inaktív proenzimek keringenek, melyek enzimatikus hasítás során biokémiai reakciók kaszkádját hozzák létre, aminek eredményeként bioaktív molekulák képződnek. A rendszerek aktiválódása néhány másodpercet vesz igénybe, így rendkívül gyors választ tudnak biztosítani opszonizáció, kemotaxis, agglutináció vagy a membránkárosító komplex (MAC) létrehozása révén.

1.2.1 Komplementrendszer

A komplementrendszer (2. ábra) a veleszületett immunrendszer fő elemeként több mint 50 membránkötött-, vagy szolubilis membránfehérje, receptor, szabályozó fehérje és ezek funkciói révén biztosítja a mikrobák elleni védelmet, a keringő immunkomplexek eltávolítását és a szövetek regenerációját, végső soron a megfelelő homeosztázis fenntartását. (3, 4)

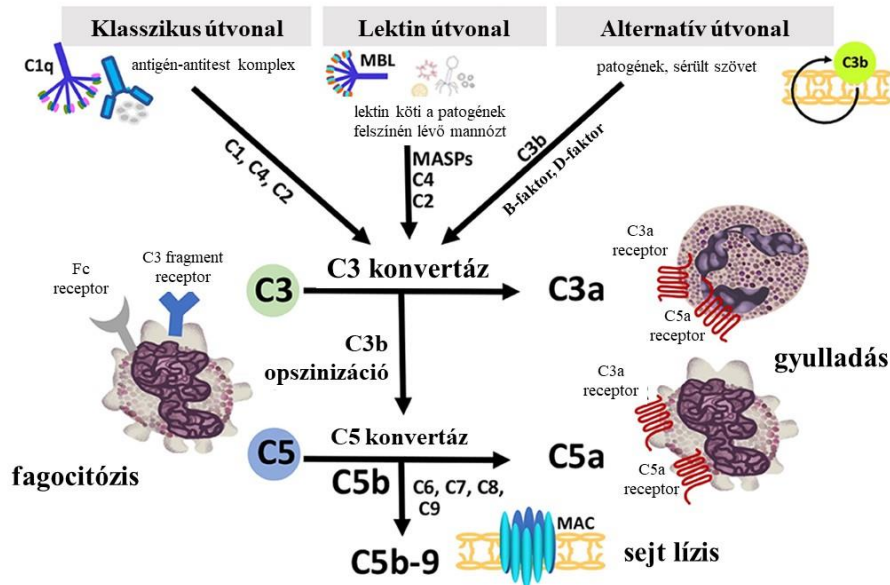
A mintázat felismerő fehérjék alapján a komplementrendszer három aktivációs útvonalát különböztetjük meg: az antitest-függő klasszikus útvonalat, a mannóz-kötő lektin (MBL) vagy fikolinok által aktivált lektin útvonalat és a C3b-szerű molekulák spontán képződése során aktiválódó alternatív útvonalat. (5) A klasszikus útvonalat nem csak antitestek, hanem immunkomplexek is aktiválni képesek. (6)

A folyamat során felismerő fehérjék - mint a C1q, mannóz-kötő lektin és fikolin – kötődnek a célmolekulához, ami szerin proteázok (C1r, C1s, MBL-szerin-proteáz 2 (MASP2)) aktiválódását eredményezi. Ezek aktiválnak további szerin proteázokat (B-faktor, C2), amik a C3-at aktiválják, így képződik az anafilatoxin C3a és az opszonin C3b. Ez utóbbi kötődik a célmolekulához, amit a fagocita sejtek különböző receptorai tudnak felismerni. (4) Az anafilatoxinok gyulladáshoz és kemotaktikus jeleket közvetítenek a megfelelő receptorhoz való kötődés eredményeként. (5)

A C3 konvertázok (C4b2a, B-faktor) aktiválják a C5 konvertázokat, azok pedig a C5-öt, így további gyulladáshoz anafilatoxinok (C5a, C5b) szabadulnak fel, amik beindítják a

MAC képződését, ami a célsejt membránjában egy (a sejt számára) letális kimenetelű porin csatornát hoz létre. (5)

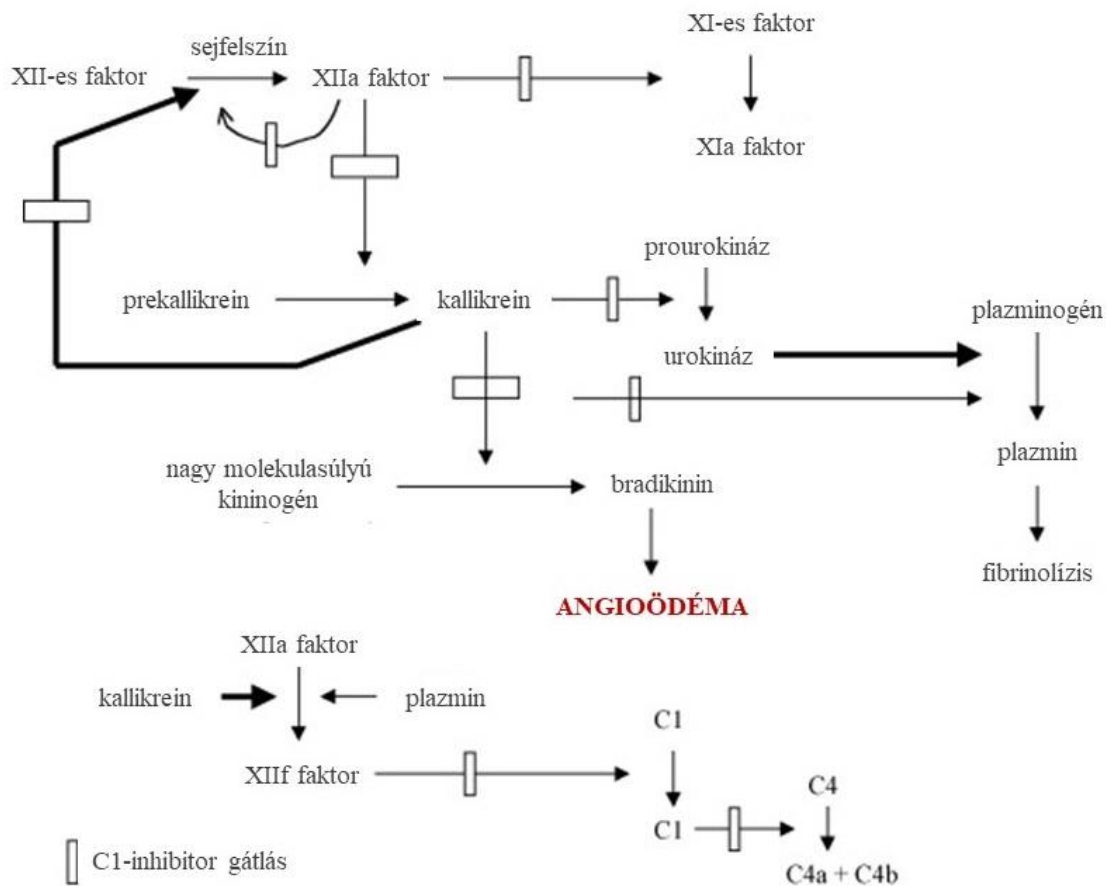
A B-faktornak és a C2-nek nincs természetes inhibitora, csak akkor aktívak, ha proteolitikus hasítást követően instabil komplexet képeznek a C3b-vel vagy C4b-vel. A C1r, C1s és MASP molekulák természetes gátlója a C1-INH. (4)



2. ábra. A komplementrendszer ((7) alapján)

1.2.2. Kontaktrendszer

A kontaktrendszernek számos közös pontja van a komplementrendszerrel, mint például a keresztaktiváció, a közös szabályozó mechanizmus és kötő fehérjék. A C1-INH blokkolja a XII-es faktor autoaktivációját, a prekallikrein és XI-es faktor aktivációját a XIIa faktor gátlása által, a nagy molekulású kininogén aktivációját, és a XII-es faktor pozitív visszacsatoló aktivációját a kallikrein gátlása által. (3. ábra) (8)



3. ábra. A kontakt- és fibrinolitikus rendszer ((8) alapján)

Könnnyen belátható, hogy C1-INH hiányában az egész rendszer szabályozó mechanizmusa számos ponton sérül, így nagy mértékű bradikinin felszabadulással jár egy ilyen deficiencia. Ráadásul főként C1-INH hiány esetén megfigyelhető, hogy a kallikrein vagy plazmin hasítja a XII-es faktort, és a keletkező XIIIf faktor aktiválja a komplementrendszer klasszikus útvonalának kezdeti C1r molekuláját. (8)

A kaskádrendszerben keletkező bradikinin reakcióba lép az érfalak endotélsejtjein található B2 receptorokkal, így növelve az érfal permeabilitását, ami közvetlenül angioödémához vezet. (8)

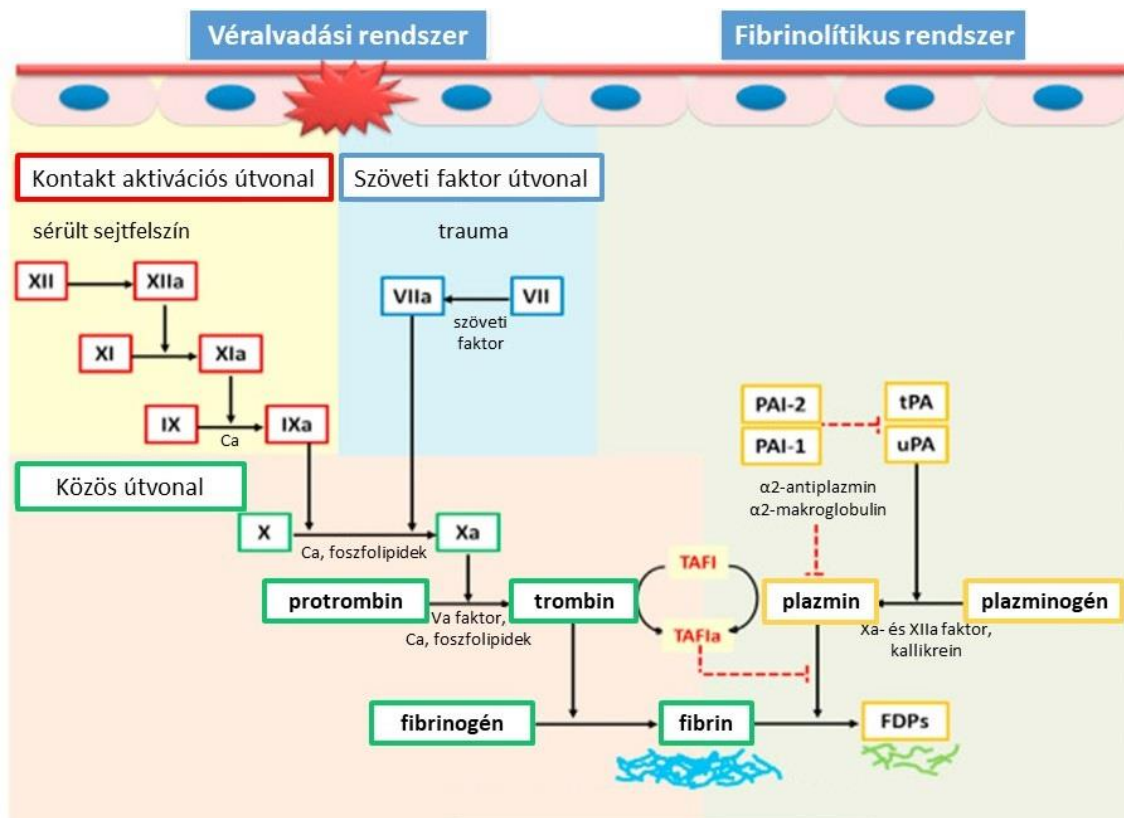
A vérplazmában található karboxipeptidáz N vagy az endotélsejteken található karboxipeptidáz M hasítja a bradikininint, ami így reakcióba tud lépni a B1-receptorokkal is. A B1-receptorok szerepe kiemelt a gyulladásos reakciókban és fenntartja a bradikinin interakcióját az érfallal, ezzel hosszabbítva annak hatását egészen addig, amíg az

angiotenzin-konvertáló enzim, aminopeptidáz P vagy semleges endopeptidázok teljesen le nem bontják a bradikinint. (8)

1.2.3 Véralvadási és fibrinolitikus rendszer

A C1-INH az α_2 -makroglobulin mellett a kallikrein fő inhibitora. A kallikrein a fibrinolitikus rendszerben a plazminogén aktiválásában játszik szerepet, aminek plazmin képződés az eredménye. Ez elősegíti a véralvadási kaszkádban termelődő fibrin lebomlását. (4. ábra) (9)

A C1-INH szerepét a kontaktrendszerben az előző alfejezetben tárgyaltuk. Normál, fiziológias körülmények között a kontaktrendszer aktivációja nem vezet trombin és azon keresztül fibrin képződéshez, extrém körülmények (pl. szepszis) viszont aktiválhatják a véralvadási kaszkád kontakt aktivációs útvonalt is. (10)



4. ábra. Véralvadási és fibrinolitikus rendszer. Ca: kalcium, PAI: plazminogén aktivátor inhibitor, tPA: szöveti plazminogén aktivátor, uPa: urokináz plazminogén aktivátor, TAFI: trombin-aktiválható fibrinolízis inhibitor, FDP: fibrin lebomlási termékek ((9) alapján)

1.3 C1-inhibitor hiányában kialakuló szerzett angioödéma

Elsőként Caldwell írta le a C1-INH-AAE-t 1972-ben, mint önálló kórkép, illetve leírta ennek kapcsolatát limfoproliferatív kórképekkel is. (11) Azóta is kevés irodalmi adat áll rendelkezésünkre a C1-INH-AAE-ről, mivel ritka betegség, gyakorisága 1:100 000 – 1:500 000. (12-17)

1.3.1 Tünetek, kiváltó okok és alapbetegségek

A C1-INH-AAE jellemző klinikai tünetei a visszatérő, szubkután vagy szubmukózus szöveteket érintő angioödémás rohamok, melyek bármely testtáját érinthetnek és 2-4 nap alatt szűnnek meg. (15, 17-20) (5. ábra) Az angioödéma potenciálisan életveszélyes állapotot is kialakíthat, amennyiben a felső légút területén alakul ki, ugyanis megfelelő kezelés hiányában fulladáshoz vezethet. (14, 15, 21, 22) A bélrendszert érintő angioödémás roham éles, görcsös, hasi fájdalomban nyilvánul meg. (18)



5. ábra. Angioödémás kéz (az Országos Angioödéma Referencia és Kiválósági Központ képanyagából)

Az erythema marginatumnak nevezett térképszerű bőrtünetek (6. ábra) alapvetően a C1-INH-HAE kísérői, de nem kizártak C1-INH-AAE esetében sem. (23)



6. ábra. Erythema marginatum (24)

A C1-INH-AAE sajátossága, hogy 40 éves kor felett jelenik meg, és negatív családtörténet jellemzi. (15, 17, 22, 25)

Az angioödémás epizódok kiváltó oka változatos lehet, mint például mechanikai trauma, virális vagy bakteriális fertőzés, terhesség, bizonyos ételek, pszichés stressz vagy egyes gyógyszerek (ösztrogén tartalmú fogamzásgátló szerek, angiotenzin-konvertáló enzim inhibitor (ACEI) tartalmú vérnyomáscsökkentő szerek). (2, 14, 15, 22, 26, 27) Az angiotenzin-konvertáló enzim segíti elő a bradikinin lebomlását, így ennek az enzimnek a gyógyszeres gátlása közvetlenül fokozza az angioödémás rohamok súlyosságát, időtartamát (lásd: 1.1.2 fejezet). Az ACEI típusú vérnyomáscsökkentő gyógyszerek kiváltó oki szerepe valószínűleg azért is kiemelten jelentős a C1-INH-AAE esetében,

mert ez a betegség az idősebb korosztályt érinti, amikor már a populáció jelentős része krónikus magas vérnyomással diagnosztizált és erre gyógyszeres kezelést is kap.

A C1-INH-AAE betegek esetében elengedhetetlen a lehetséges alapbetegségek irányába történő kivizsgálás. Leggyakrabban az alapbetegség hemato-onkológiai jellegű (B-sejtes limfóma, krónikus limfocitás leukémia, mielóma multiplex. nem meghatározott jelentőségű monoklonális gammopátia (MGUS)), de előfordulnak immunológiai eredetű (szisztémás lupus), illetve fertőzésre (*Helicobacter pylori*, Hepatitis C) visszavezethető kórképek is. Az alapbetegség akár évekkal az első C1-INH-AAE tüneteket követően is manifesztálódhat, így nagy hangsúlyt kapnak a rendszeres ellenőrző vizsgálatok. (15, 22)

1.3.2 Patomechanizmus

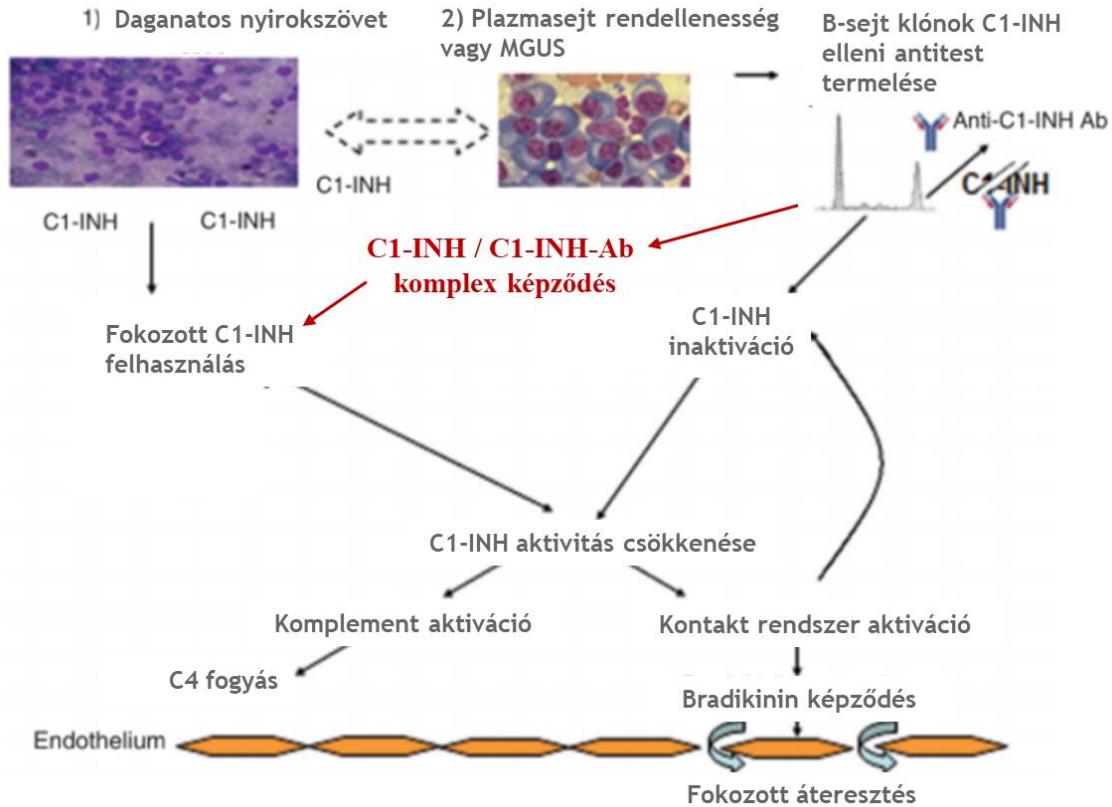
A C1-INH-AAE lehetséges patomechanizmusai a kapcsolódó B-sejtes alapbetegségekre vezethetők vissza. 1) Az egyik lehetséges eset, hogy a limfoproliferatív alapbetegség okán a neoplasztikus limfocitás sejtek a klasszikus komplement útvonal aktiválódását fokozzák (sejtfelszíni immunglobulin receptorok révén), ami a C1-INH fehérje fokozott felhasználását eredményezi, így relatív hiány alakul ki. A folyamat részeként azon rendszerek (kinin-kallikrein-, véralvadási-, és a kontaktrendszer) is aktiválódnak, amelyben a C1-INH szintén szabályozó funkciót tölt be. (13, 28)

2) A másik lehetséges mechanizmus szerint malignus B-sejt klónok C1-INH elleni antitesteket (C1-INH-Ab) vagy más immunkomplexeket termelnek, amik megkötik és gátolják a C1-INH működését. (13-15, 22, 29) (7. ábra)

A csökkent C1-INH aktivitás a kinin-kallikrein rendszer fokozott aktiválódását eredményezi, melynek következtében a bradikinin felszabadulása fokozódik, ami az erekből történő fokozott plazma kiáramlással jár. Az angioödéma a kapillárisok és erek megnövekedett permeabilitásának következtében alakul ki. (14, 22, 28) (7. ábra)

Az idiotípus-antiidiotípus hálózat elmélete alapján az immunrendszer által termelt antitestek variábilis régiója nem csak az arra dedikált idegen antigénekhez tud kötni, hanem a szervezet saját molekuláihoz is, sőt a variábilis régiók akár egymáshoz is kötődhetnek. A természetes autoantitestek alacsony affinitással tudnak keresztreakciót adni, míg a patológiás autoantitesteknek nem csak az affinitása, hanem jellemzően a szérumkoncentrációja is jóval magasabb az előbbieknél. Ez leginkább az IgM típusú antitestekre jellemző. (30) Ezek a kialakuló immunkomplexek alkalmasak arra, hogy a

komplementrendszer klasszikus útvonalát aktiválják, ami az útvonal komponenseinek fogyasztásához vezet. (7. ábra)



7. ábra. A szerzett C1-inhibitor hiány következtében kialakuló angioödéma patomechanizmusa. C1-INH: C1-inhibitor, MGUS: nem meghatározott jelentőségű monoklonális gammopátia ((28) alapján)

1.3.3 Diagnosztika

A C1-INH-AAE a klasszikus komplement útvonal vizsgálatával igazolható. A betegségre jellemző a csökkent hemolitikus összkomplement (CH50), C4, C1-INH antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális aktivitás, valamint általában a C1q titer is alacsony. Diagnosztikus értéke van a C1-INH-Ab jelenlétének is. Kétes esetekben (normál C1q és antitestek hiánya) C1-INH-HAE-re jellemző *SERPING1* génmutáció kizárásával történik a C1-INH-AAE bizonyítása. (14, 23, 31, 32) (1. táblázat)

1. táblázat. A szerzett C1-inhibitor hiányos angioödéma diagnosztikája

C1-INH funkcionális aktivitás	C1-INH antigénikus koncentráció	C4	Hemolitikus öszskomplement (CH50)	C1q	C3	C1-INH elleni antitest
↓	↓/N	↓	↓	↓/N	N/↓	+ / -

A C1-INH-AAE-ben jelentőségük lehet azoknak az antitesteknek, amelyek C1-INH-ral stabil komplexet alkotva keringenek, mivel ezek gátolhatják a C1-INH funkcionális aktivitását, amely így nem tudja ellátni feladatát. Az immunkomplexek az antigének és antitestek oldható komplexei és mennyiségük függ a rendelkezésre álló antigének és antitestek arányától. In vivo körülmények között az immunkomplexek képződését az antitestek szerkezete befolyásolja. (33)

López-Lera és munkatársainak mérése nyomán fény derült arra, hogy vannak betegek, akiknél alacsony (nem kóros) a szabad C1-INH-Ab titer, viszont komplexben nagy mennyiségben kimutathatók, illetve fordítva is előfordult, volt olyan beteg, akinél magas volt a szabad C1-INH-Ab titer, míg komplexben mérve nem találták kórosnak az értéket. (34)

1.3.4 Kezelés

A C1-INH-AAE-ben szenvedő betegek az első tünetek megjelenésekor általában nem kapnak megfelelő gyógyszeres kezelést. A tünetek a sürgősségi ellátás során – komplement laboratóriumi leletek hiányában – könnyen tekinthetők allergiás reakciónak, így az ilyenkor megszokott protokoll alapján a betegek antihisztamin és szteroid tartalmú gyógyszereket kapnak, amik – az angioödéma patomechanizmusára visszavezethető okok miatt - hatástalanok ezen betegek esetében.

A C1-INH-AAE kezelés első lépéseként szükséges az angioödémás rohamokat kiváltó okok feltárása, ugyanis ezek elkerülésével már önmagában megelőzhetők a rohamok. (14, 29)

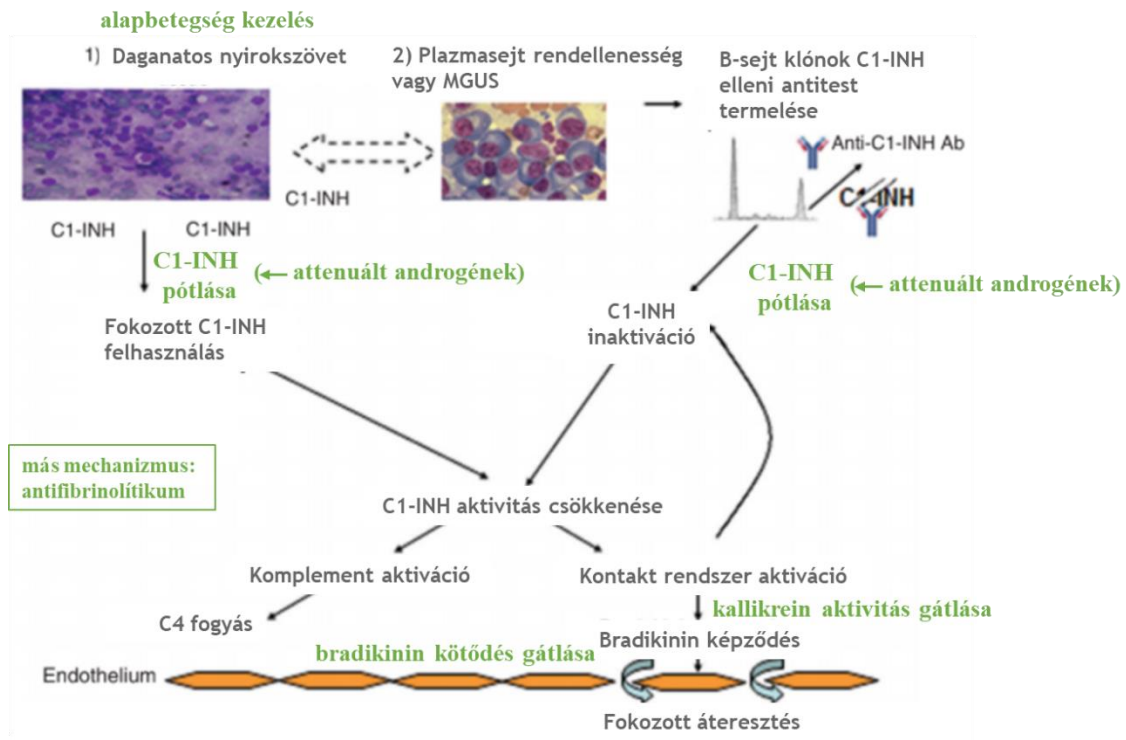
Mivel a C1-INH-AAE bradikinin mediálta ödémás kórkép, így a kezelésében is fontos szerepet kap a bradikinin felszabadulás gátlása (emberi vérplazmából előállított C1-INH (pdC1-INH) vagy rekombináns úton előállított C1-INH (rhC1-INH) készítményekkel) vagy a már felszabadult bradikinin kötődésének gátlása a B2 bradikinin receptorokhoz

(icatibant). További mechanizmus alapján is működhetnek a gyógyszerek, mint például a kallikrein inhibitor ecallantide és lanadelumab, az attenuált androgén típusú danazol vagy az antifibrinolitikus tranexámsav. (14, 35, 36)

A C1-INH készítmények közvetlenül pótolják a fogyó, vagy lekötött (így funkcióját vesztett) C1-INH-t. Az icatibant antagonistá hatás révén a B2 bradikinin receptorokat blokkolja, amik így nem tudják kötni a bradikininint. A kallikrein inhibitorok a C1-INH kontaktrendszerben betöltött gátló szerepét pótolják. Az attenuált androgéneknek három különböző feltételezett hatásmechanizmusa ismert: 1) a májban fokozzák a C4 és C1-INH termelődését; 2) fokozzák a vérben a C1-INH mRNS mennyiségét, ami növeli a C1-INH termelődést; 3) fokozzák az aminopeptidáz aktivitását, ami a bradikinin fokozott lebontásához vezet. (8. ábra) (37, 38) Az antifibrinolitikumok a fibrin képződését gátolják, ami azért válhat szükségessé, mert a C1-INH hiánya közvetetten zavart okoz a fibrin lebontásában, így az felhalmozódik (8. ábra). (10)

A gyógyszeres terápia magába foglalja a kialakult angioödémák akut kezelését vagy azok megelőzését. Előbbire pdC1-INH, rhC1-INH és ecallantide használatos, utóbbira pdC1-INH, tranexámsav vagy danazol. Jelenleg a C1-INH-HAE-re törzskönyvezett gyógyszereket ajánlják C1-INH-AAE esetén is. (14, 23, 39)

Az alapbetegség korai feltárása és annak kezelése számottevő csökkenést eredményezhet az angioödémás rohamok gyakoriságában, vagy akár teljesen meg is szüntetheti azokat. (8. ábra)



8. ábra. Kezelési módszerek patomechanizmusa ((28) alapján)

Az elsősorban B-sejtes limfóma kezelésére használt rituximab (CD20 pozitív B-limfociták elleni monoklonális antitest) sikeresnek bizonyult C1-INH-AAE kezelése esetében is. 2006 óta számos tanulmány bizonyítja, hogy a rituximab hosszú távon visszaszorítja az angioödémás rohamokat, illetve helyreállítja a C1-INH titert. (14, 40) Rosszindulatú limfoproliferatív alapbetegségek kezelésére alkalmazott kemoterápiás gyógyszerek is kapcsolatba hozhatók a C1-INH-AAE visszaszorításával. (14, 41-46)

Ezek alapján egyértelművé válik, hogy a rendszeres nyomon követés elengedhetlen sarokköve a C1-INH-AAE kezelési stratégiájának, ami nem csak az angioödémás rohamok gyakoriságának, súlyosságának és lokalizációjának feljegyzését foglalja magába, hanem a komplement paraméterek ellenőrző vizsgálatát is.

2. Célkitűzések

Azóta, hogy az első beteg esetét leírták, közel 200 C1-INH-AAE betegről publikáltak az irodalomban, többnyire egyedülálló esetek, esettanulmányok és keresztmetszeti retrospektív esetsorozatok formájában, (17, 18, 31, 47, 48) nyomon követéses vizsgálatokat elenyésző számban találunk.

Prospektív, hosszú távú nyomon követésen alapuló vizsgálatainkkal az alábbi kérdésekre, problémákra kerestük a választ, megoldást:

1) Szervezetünk antitestjei nemcsak szabadon, hanem komplexet alkotva is előfordulhatnak, így kizárólag a szabadon előforduló antitestek mérésével felmerül a valós antitest mennyiség alábecsülésének hibája. (34) Célunk volt egy, a diagnosztikát kiegészítő, új, enzim-kötött immunszorbens vizsgálati eljárás (ELISA) fejlesztése, mellyel a betegek vérében esetlegesen előforduló C1-INH/C1-INH-Ab komplexek (CAC) kimutatása válik lehetségessé. Érdemes ezek vizsgálata, nyerhetünk ezzel a további méréssel több információt? Segíti a diagnosztikát, kiegészíti a betegek nyomon követését?

2) C1-INH-HAE esetén eltolódás figyelhető meg a nemek között, magasabb a női betegek száma, míg C1-INH-AAE esetében ilyen különbség nem látható. C1-INH-AAE esetén van különbség a nemek között a rohamok száma, lokalizációja és a komplement paraméterek tekintetében?

3) Kutatólaboratóriumunk korábbi munkája során összefüggést talált a C1-INH hiányos komplementprofil és a betegség súlyossága között C1-INH-HAE esetében. (49) Erre vonatkozó irodalmi adat C1-INH-AAE esetében nem áll rendelkezésre. Van összefüggés a komplement paraméterek és a C1-INH-AAE klinikai tünetei és kezelése között?

4) Míg akut kezelés tekintetében a gyógyszerek rendkívül magas hatásfokúak, hosszú távú profilaktikus kezelés esetén az irodalom a hatékonyság széles skáláját írja le. Betegcsoportunkban mennyire volt hatásos a hosszú távú profilaxis?

5) Irodalmi adatok alapján az alapbetegség – melyhez a C1-INH-AAE társul - kezelése csökkenti az angioödémás rohamok számát, esetenként teljesen meg is szünteti azokat. Betegcsoportunkban a C1-INH-AAE a klinikai tünetek összefüggésben állnak a rituximab kezeléssel?

6) Az irodalomban nem találkozunk olyan esettel, ahol az alapbetegség kezelését követően a teljes komplementprofil vizsgálták volna. Van kapcsolat a komplement paraméterek és a rituximab kezelés között?

7) Az előző kérdések megválaszolása során felmerült a gyanú, hogy a komplement paraméterek nem csak az alapbetegség kezelését követően változnak, hanem esetleg már azt megelőzően is. A komplement paraméterek alakulása előre jelezheti a C1-INH-AAE, illetve az alapbetegség aktivitásának változását?

8) A fenti kérdések vizsgálata és megválaszolása révén célunk volt egy, a betegek érdekében történő hatékonyabb terápiás stratégia kialakítása.

3. Módszerek

3.1 Betegek

Az Országos Angioödéma Referencia és Kiválósági Központban nyomon követett 19 C1-INH-AAE betegséggel kezelt beteg kontrollvizsgálatai során rögzített klinikai és laboratóriumi adatait elemeztük.

Betegcsoportunk az 1999 és 2020 között ismeretlen eredetű angioödémás tünetekkel, vagy C1-INH hiány gyanújával a Központunkba utalt betegekből került ki. A C1-INH-AAE diagnózisának alapja a negatív családtörténet, az első tünetek megjelenési ideje, és a klasszikus komplement útvonal átfogó laboratóriumi vizsgálatából (CH50, C1q, C4, C1-INH antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális aktivitás, C1-INH-Ab) származó eredmények voltak. A diagnóziskor minden beteget elláttunk betegnaplóval, a betegségével kapcsolatos információk vezetésének céljából és a szükséges gyógyszerekkel. Amennyiben a beteg kórtörténete nem tett említést alapbetegségről, úgy további vizsgálatok (laboratóriumi, képalkotó) irányultak ezek felfedésére. A betegek évente legalább egyszer ellenőrző vizsgálaton jelentek meg, amikor Országos Angioödéma Regiszterünkben rögzítettük az angioödémás rohamok kiváltó tényezőit, gyakoriságát, lokalizációját, a további betegségekre vonatkozó információkat és orvosi beavatkozásokat, valamint az angioödémás rohamokra, az egyéb betegségekre alkalmazott akut és megelőző kezeléseket, valamint laboratóriumi vizsgálatok céljából vérvétel történt és minden alkalommal komplementvizsgálatot is végeztünk. Az alapbetegségre vonatkozó éves többszöri ellenőrző kivizsgálás szükségességét a leleteken feltüntettük (akkor is, ha még nem diagnosztizáltak alapbetegséget).

A vizsgálati protokollt a Semmelweis Egyetem Regionális, Intézményi Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta (etikai engedély száma: 19068/2018/EKU), továbbá a Helsinki Nyilatkozatnak megfelelően jártunk el, a résztvevőktől beleegyezést kaptunk.

3.2 Komplementvizsgálatok

A vizsgálatok friss vérmintán, vagy maximum 1 hete +4°C-on hűtött mintán kerültek elvégzésre.

A CH50 (CH50/ml) meghatározása birkavéres hemolitikus módszerrel, a C1-INH antigénikus koncentráció (g/l) detektálása házi radiális immundiffúziós módszerrel történt. A C1-INH funkcionális aktivitását (%) C1-INH ELISA kittel mértük (Quidel, San

Diego, CA, USA), a C1q (mg/l), az IgG-, IgM- és IgA típusú C1-INH-Ab (mU/l) titereket pedig házi ELISA módszerrel. (50, 51) A C3 (g/l) és C4 (g/l) méréseket turbidimetriás mérési elvű automatán végeztük (Cobas Integra 400 készülék; Roche, Svájc).

3.3 C1-INH/C1-INH-Ab komplexek (CAC) mérése

A mérések során 2005 és 2020 közötti vérvételekből származó mintákat használtunk, a szérumminták a laboratóriumba érkezéstől -80°C-on voltak tárolva.

Mivel nem voltak egyértelmű irodalmi adatok, a CAC mérésére új, ELISA típusú módszert fejlesztettünk, és vizsgáltuk a komplex titerek változásának időbeli lefutását.

A mérést 96 lyukú Nunc Maxisorp (ThermoFisher, USA) mikroplate-en végeztük. A lemezt egy sarzsból származó affinitás kromatográfiával tisztított nyúl anti-human C1-INH IgG antitesttel fedtük (1 óra alatt 37°C-on vagy egy éjszaka alatt 4°C-on). Háromszor ismételt mosási lépést (minden esetben PBS-Tweenel) követően a plate-et 2%-os BSA-PBS-sel (bovine serum albumin – phosphate buffered saline) blokkoltuk (37°C-on 2 órán keresztül).

Háromszoros mosást követően kerültek a minták és kontrollok a plate-re 1000-szeres hígításban és 1 órán keresztül 37°C-on inkubáltuk. Vakmintaként 1% BSA-PBS-Tween-t használtunk, valamint a minták és kontrollok hígításához is.

Konjugátumként torma peroxidázzal jelölt nyúl anti-human IgG (1000-szeres hígítás), IgM (1000-szeres hígítás) és IgA (500-szeres hígítás) elleni antitesteket használtunk. A konjugátumot háromszori mosást követően adagoltuk a plate-re majd 1 órát inkubáltuk szobahőmérsékleten. Háromszoros mosást követően TMB-vel (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin) hívtuk elő a plate-et és 0,4 M kénsavval állítottuk le az előhívást néhány perc elteltével. Abszorbanciát mértünk 450 nm-en, a referencia mérés pedig 620 nm-en történt Tecan automatával (Tecan M1000pro, Group Ltd).

3.4 Statisztikai módszerek

A következő paraméterekkel végeztük a vizsgálatokat: nem (férfi, nő), első roham óta eltelt idő (nap), angioödémás rohamok száma a vizsgálatot megelőző 12 hónap alatt, angioödémás rohamok száma a vizsgálatot követő 12 hónapban, CH50, C1q, C3, C4, C1-

INH antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális aktivitás, IgG-, IgM- és IgA típusú C1-INH-Ab, CAC IgG, -IgM, -IgA.

A komplement paraméterek nemek közti különbségét Mann-Whitney próbával vizsgáltuk. A kezelések hatásának kizárására csak a kezeléseket megelőző adatokat használtuk az analízis során, betegenként átlagot képezve az eredményekből.

Spearman korrelációval vizsgáltuk a klinikai tünetek és a komplement paraméterek közötti összefüggést. A kezelések hatásának kizárása végett, csak a bármilyen kezelést megelőző időszak eredményeit vettük figyelembe, betegenként átlagot képezve. A szignifikáns különbséget mutató paraméterek eredményeit koordináta-rendszerben ábrázoltuk.

Az egyes komplement paramétereket Mann-Whitney teszttel hasonlítottuk össze a hosszú távú profilaxis szedése alatt és azon az időszakon kívül. A szignifikánsnak mutatkozó paraméterek eredményeit scatter-plot grafikonon ábrázoltuk.

A rituximab kezelés hatásának elemzésére a betegek eredményeit külön-külön átlagoltuk a kezelést megelőző és az azt követő időszakban, és ezt ábrázoltuk az összetartozó értékeket jelölve.

A statisztikai számításokat és grafikonokat Prism 7.00 (GraphPad) és Statistica (Tibco) szoftverrel végeztük. 5%-os szignifikancia szintekkel dolgoztunk.

4. Eredmények

4.1 Demográfia

Megfigyelési időszakunk alatt 3938 beteget utaltak Központunkba ismeretlen eredetű angioödémás tünetekkel, vagy más klinikán a laboratóriumi vizsgálatok során felfedezett C1-INH hiánnyal, akik közül 216 beteget diagnosztizáltunk C1-INH hiánnyal. Közülük 197 betegnél a herediter és 19-nél (P1-P19) a szerzett forma igazolódott. A herediter és szerzett C1-INH hiány aránya betegcsoportunkban 11:1. A C1-INH-AAE előfordulása a magyar populációban körülbelül 1:500 000.

A betegek nem-eloszlása egyenletes volt, 9 férfi és 10 nő beteg alkotta betegcsoportunkat. A megfigyelési idő alatt 4 beteg (P1, P9, P10, P14) hunyt el, haláluk nem köthető a C1-INH-AAE-hez. Egy beteg (P15) a két éves nyomon követési időszakot követően többé nem jelent meg az ellenőrző vizsgálatokon.

Betegeink legfontosabb adatait az 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat. Betegeink főbb adatai. MZL: marginális zóna limfóma; MGUS: nem meghatározott jelentőségű monoklonális gammopátia; NHL: non-Hodgkin limfóma; CLL: krónikus limfocitás leukémia; BCA: bazális sejtes adenóma; MM: mielóma multiplex; TR: autológ őssejt transzplantáció; VAD: vinkrisztin, doxorubicin, dexametazon kemoterápia

Azonosító	Nem	Életkor az első tünetkor	Életkor jelenleg	Alapbetegség	Alapbetegség kezelése
P1	férfi	60	elhunyt 65 évesen	-	-
P2	nő	40	74	MZL	nincs
P3	nő	83	86	MGUS	nincs
P4	nő	nem volt angioödémás roham	52	-	-
P5	nő	nem volt angioödémás roham	59	NHL	rituximab, TR
P6	nő	56	60	MZL	rituximab
P7	nő	61	71	CLL	nincs
P8	férfi	49	64	MGUS	nincs
P9	nő	65	elhunyt 81 évesen	BCA	nincs
P10	férfi	70	elhunyt 83 évesen	MGUS	rituximab
P11	nő	49	60	MGUS	nincs
P12	férfi	59	76	MM	VAD, TR, rituximab
P13	férfi	46	61	MZL	rituximab
P14	nő	62	elhunyt 69 évesen	MZL	rituximab
P15	férfi	60	nem jelent meg 68 éves kora után	-	-
P16	férfi	42	48	MGUS	nincs
P17	férfi	76	80	MGUS	nincs
P18	nő	71	73	MZL	rituximab
P19	férfi	43	45	-	-

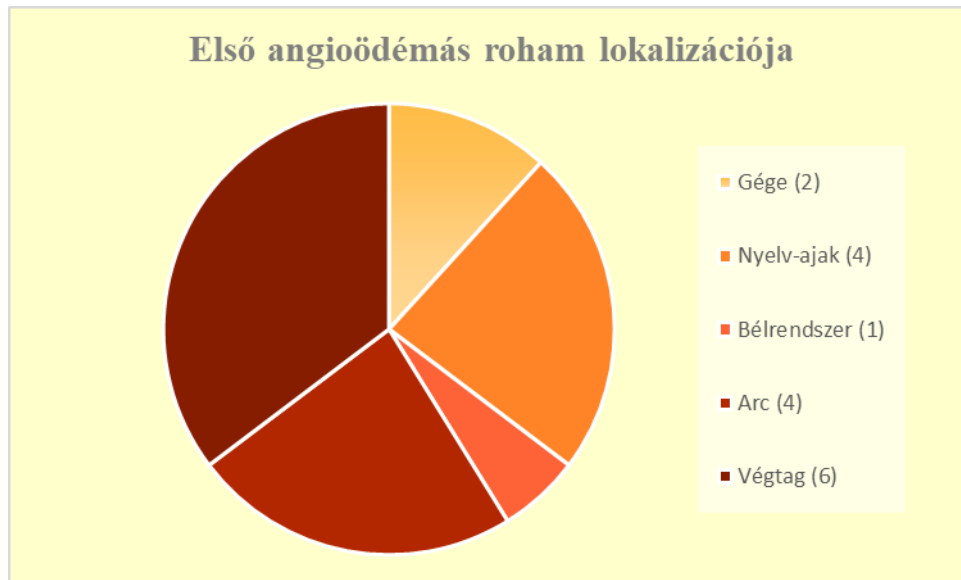
4.2 Angioödémás rohamokat kiváltó tényezők

Az angioödémás rohamok kiváltó oka leggyakrabban (6 beteg) ACEI típusú gyógyszer szedése volt, amely elhagyásra került és más hatásmechanizmusú vérnyomáscsökkentő szert vezettünk be. Mechanikai traumát 5 beteg jelölt meg, mint kiváltó okot, egy betegnél pszichés stressz, egynél felső légúti fertőzés, egynél pedig különböző ételek okozták az angioödémás roham kialakulását.

4.3 Angioödémás rohamok a diagnózist megelőzően

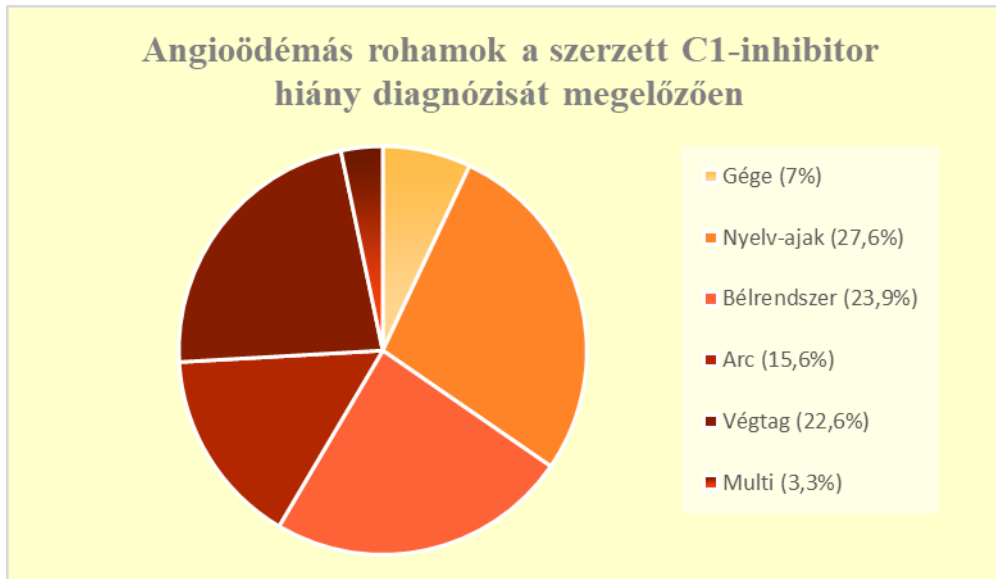
A szerzett C1-INH hiány diagnózist megelőzően 17/19 betegnek voltak angioödémás tünetei. Az átlagéletkor az első angioödémás tünet jelentkezésekor 58 év volt (min.: 40, max.: 83).

A 17 tünetes beteg első angioödémás rohamának lokalizációját a 9. ábra mutatja.



9. ábra. Első angioödémás roham kialakulásának helye

A betegek elmondása, illetve orvosi leleteik alapján a diagnózist megelőzően összesen 243 angioödémás roham fordult elő a 17 betegnél, aminek lokalizáció szerinti eloszlása a 10. ábrán látható.



10. ábra. Angioödémás rohamok lokalizációjának eloszlása a C1-inhibitor hiány diagnózisát megelőzően

A diagnózis megelőzően egyik beteg sem tapasztalt erythema marginatumot.

4.4 Út a diagnózisig

Legtöbb betegünket (8 beteg) többszöri, ismeretlen eredetű ödémás rohamot követően, - amit több esetben sikertelen kezelés is kísért - irányították Országos Angioödéma Referencia és Kiválósági Központunkba, a C1-INH hiány kizárására. További 7 beteg esetében a többszöri, ismeretlen eredetű ödémás roham részletes kivizsgálása során a körzeti klinikán végzett immunológiai tesztek eredményeként merült fel a C1-INH hiány gyanúja, aminek megerősítése érdekében továbbították a betegeket a Központunkba.

15/19 beteg részesült konvencionális terápiában (antihisztamin, szteroid, epinefrin) az angioödémás rohamok alatt, az angioödéma lassan vonult vissza a kezelést követően, és a betegek nem észleltek különbséget a gyógyszerrel kezelt, illetve a spontán visszavonuló epizódok időtartama tekintetében (3-5 nap).

A diagnózist megelőzően több beteg is átesett olyan beavatkozáson, ami a C1-INH-AAE ismeretében és megfelelő kezelés mellett elkerülhető lett volna. Ezek a beavatkozások (intubálás, légcsőmetszés) a legsúlyosabb ödémás rohamhoz, gége ödémához köthetők, ami potenciálisan fulladáshoz vezethet, és amely betegcsoportunkban 2 beteget fenyegetett.

Két beteg esetében az alapbetegség (benignus reaktív nyirokcsomó, limfóma) részletes kivizsgálása, 1 betegnél az ekcémás tünetek miatt felmerült autoimmun betegség diagnosztizálása, 1 beteg esetében pedig a többszöri ismeretlen eredetű mélyvénás trombózis kivizsgálása vezetett a C1-INH hiány feltáráshoz. Tizenhét beteg esetében C1-INH-AAE igazolódott, további 2 beteg esetében az angioödémás rohamok hiányában szerzett C1-INH hiányt állapítottunk meg.

Az átlagos késés a diagnózissal átlagosan 4 év volt (min.: 0, max.: 31).

4.5 C1-INH-AAE diagnózisa

Az átlagéletkor a diagnóziskor 60 év volt (min.: 41, max.: 83).

Betegeink a diagnóziskor szerzett C1-INH-AAE-re jellemző komplement mintázatot mutattak. Minden beteg esetében csökkent volt a CH50, C4, C1-INH antigénikus koncentráció és a funkcionális aktivitás. A betegek többségében (12/19 beteg) a C1q csökkent volt, és 9/19 beteg esetében C1-INH-Ab volt kimutatható (2 betegnél IgG, 6 betegnél IgA, 2 betegnél IgM típusú C1-INH-Ab).

4.6 CAC módszerfejlesztés és mérés

A diagnosztika kiegészítésére egy további paraméter, a CAC mérését is bevezettük a betegeink körében.

4.6.1 A mérés felépítése

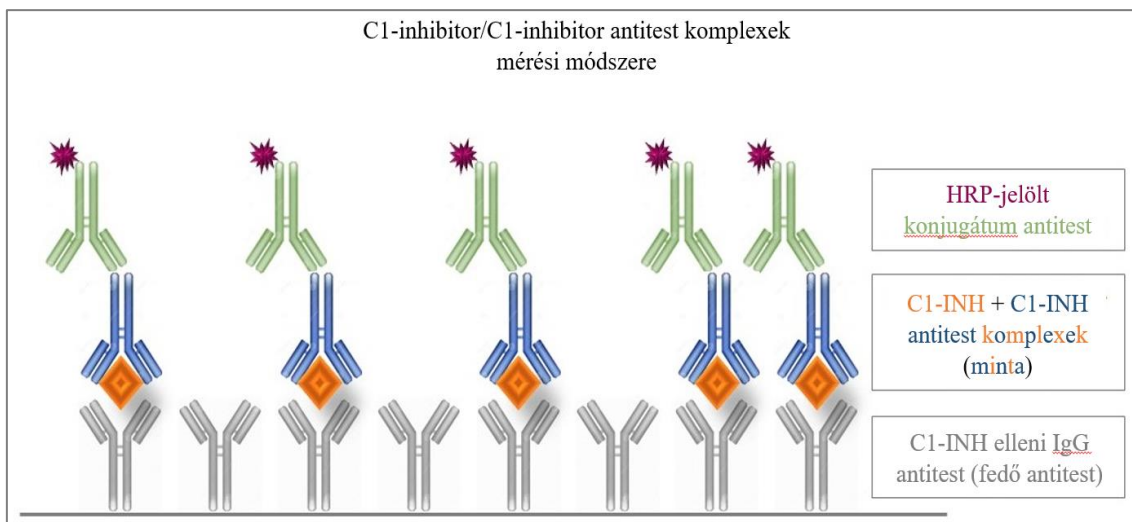
A lemez fedését három különböző sarzból származó, affinitás kromatográfiával házilag tisztított nyúl anti-human C1-INH IgG antitesttel is elvégeztük, melyek mind elég specifikusnak bizonyultak a keresztreakciók elkerülésére, azaz a vakminta negatív eredményt adott a használatukkor. A mérés ismételhetőségének biztosítása érdekében a mérésekhez egy sarzból származó fedő antitestet használtunk. A blokkolási lépés annak érdekében volt szükséges, hogy a később adagolt konjugátum ne tudjon majd a lemez aljához kötődni.

A minták és kontrollok két párhuzamos mérésben kerültek a plate-re, amit 1 órán keresztül 37°C-on inkubáltunk, hogy a körülmények minél jobban megfeleljenek az *in vivo* körülményeknek. A beállítások során szükségessé vált a minták és kontrollok hígítása, mivel túl magas jelet adtak és az egyes minták eredményei nehezen voltak

egymástól elkülöníthetők. Elvégeztük a mérést a minták 100-, 200-, 500-, 750-, 1000 és 1500-szoros hígításával, amiből az 1000-szoros hígítás bizonyult a legalkalmasabbnak, ennél már az egyes minták eredményei jól elkülönültek. Nagyobb hígítás során az alacsony abszorbancia értékek miatt megbízhatatlanná vált a mérés.

A konjugátumként használt torma peroxidázzal jelölt nyúl anti-human IgG, IgM és IgA elleni antitestek hígítása is szükséges volt. Mindhárom antitestet kipróbáltuk 250-, 500-, 1000-, 1200-szoros hígításban, melyek közül az IgG és IgM esetében az 1000-szoros, az IgA esetében az 500-szoros hígítás vált be. Ennél kisebb hígítások esetén az enzimszubsztrát reakció túl gyorsan ment végbe, és az eredmények ismételtősége nagyban függött a reakció leállításának gyorsaságától. Nagyobb hígítás esetén túl lassan ment végbe a reakció és kétségesse vált a módszer megbízhatósága, hiszen ha nincs elegendő konjugátum antitest a rendszerben, akkor kérdéses marad, hogy minden mintából kikötött komplexhez kötődött-e konjugátum antitest.

A mérési elrendezést a 11. ábra mutatja.



11. ábra. *C1-inhibitor/C1-inhibitor antitest komplexek mérési módszere.* HRP: torma-peroxidáz, C1-INH: C1-inhibitor

4.6.2 Számítások kivitelezése

A vakminta által adott abszorbancia értékeket vettük háttérnek, amit levontunk a mintákból és kontrollokból kapott eredmények értékéből. Negatív kontrollként kevert humán szérumot használtunk, minden méréshez újat bontva, így ezek mindig különböző egészséges donoroktól származtak. Negatív kontrollként használtuk továbbá egy

egészséges donor szérum mintáját, mely az egész méréssorozat során ugyanazon mintavételből származott (ezek a továbbiakban együttesen donor minták). Ezekkel, mint belső kontrollokkal biztosítottuk a plate-ek eredményeinek összehasonlíthatóságát, valamint ezek alapján normalizáltuk a betegekben mért eredményeket, azaz a betegek mintáiból kapott abszorbancia értéket osztottuk az ugyanazon plate-en mért donor eredmények átlag abszorbancia értékével. Ennek értelmében a donor eredmények átlag értékét vettük 1-nek.

A méréseket 12 héten keresztül végeztük, minden plate-en 2-2 donor mintát mértünk 2-2 párhuzamosban, így összesen 48 donor mérés született, amiknek összesített szórása CAC IgG-re nézve 0,216; CAC IgM-nél 0,154; CAC IgA esetében 0,110 volt (a minták normált átlagértéke minden immunglobulin altípus esetén 1).

Kolmogorov-Smirnov teszttel vizsgáltuk a donor eredmények normál eloszlását. CAC IgG-re $p=0,765$, CAC IgM-re $p=0,605$, CAC IgA-ra $p=0,192$ adódott, tehát egyik adathalmaz sem tért el szignifikánsan a normál eloszlástól.

4.6.3 Fagyasztás hatása

Annak érdekében, hogy a hosszú távú nyomon követést is ki lehessen egészíteni ezekkel az adatokkal, a mérést visszamenőlegesen elvégeztük a betegek korábbi mintáin is. Mivel a minták akár 15 éve -80°C -on voltak tárolva, ezért felmerült a kérdés, hogy befolyásolja-e a mérést a fagyasztás, illetve annak hossza.

A méréseket 12 héten keresztül végeztük, heti egy alkalommal, és egy betegmintát (amelyből nagyobb mennyiség állt rendelkezésre) minden plate-en lemértünk (két párhuzamosban), a mérések között újra fagyasztva azt. Ennek eredményeit elemeztük: CAC IgG esetén a mérések átlaga 1,213, szórása 0,277; CAC IgM-nél az átlag 1,156, a szórás 0,127; CAC IgA esetében az átlag 1,296, a szórás 0,098 volt. Kiugró értéket, valamint csökkenő vagy növekvő tendenciát a méréssorozat során nem tapasztaltunk, amit úgy értékeltünk, hogy a fagyasztás hossza és a kiolvasztások száma nem befolyásolja a mérést.

4.6.4 Ismételhetőség

Az eredmények ismételhetőségének bizonyítására is egyrészt a fagyasztás hatásának vizsgálata szolgált. A módszer időigénye miatt nem lehetett kivitelezni a minták

újrámérést különböző plate-eken úgy, hogy a mérések között a minták ne legyenek hűtve vagy fagyasztva, mivel a hűtés hiánya feltételezhetően nagyobb mértékben befolyásolta volna az ismételhetséget, mint a módszer valós teljesítményjelzői.

Másrészt minden mintát két párhuzamosban mértük. A donor minták elemzése során az átlagos szórás CAC IgG esetén 0,030-nak, CAC IgM esetén 0,049-nek, CAC IgA esetén 0,083-nak adódott (a minták normált átlagértéke minden immunglobulin altípus esetén 1).

4.6.5 CAC mérési eredmények

Mivel a donor eredmények normál eloszlást mutattak, az ezek alapján kapott átlag + 2 SD értékét vettük a normál tartomány felső határának, tehát CAC IgG esetén 1,432-t, CAC IgM esetén 1,308-at, CAC IgA esetén 1,220-at. Negatív lett az az érték, ami a normál tartományon belül esett, + értékelést kapott a határérték feletti 1 SD-n belüli érték, ++-t a határérték felett 1-2 SD közötti érték, és az afeletti +++ értékelést kapott.

A 3. táblázat mutatja az egyes betegek diagnóziskori CAC eredményeit.

3. Táblázat. Szabadon és komplexben keringő C1-inhibitor elleni antitestek a diagnóziskor. C1-INH-Ab: C1-inhibitor elleni antitest, CAC: C1-inhibitor / C1-inhibitor komplexek, -: nem lépi túl a normál tartomány felső határértékét, +: a normál tartomány felső határértéke feletti 1 SD-n belüli érték, ++: a normál tartomány felső határértékét 1-2 SD mértékben lépi túl, +++: a normál tartomány felső határértékét több mint 2 SD mértékben lépi túl. Félkövérrrel kiemelve ahol a CAC mérésel derült csak ki az antitestek jelenléte (nincs C1-INH-Ab)

	IgG C1-INH-Ab	CAC IgG	IgM C1-INH-Ab	CAC IgM	IgA C1-INH-Ab	CAC IgA
P1	-	-	-	-	-	+++
P2	-	-	-	+++	-	+++
P3	-	-	-	++	-	+++
P4	-	-	-	-	+++	+
P5	-	-	+++	-	-	-
P6	-	-	-	+++	-	+
P7	-	-	+++	+++	++	+++
P8	-	-	-	++	-	-
P9	-	-	-	-	-	+
P10	-	+++	-	-	+++	+++
P11	-	+	-	-	-	+++
P12	+++	-	-	++	-	++
P13	-	-	-	++	-	++
P14	-	-	-	+++	-	-
P15	-	-	-	+++	+++	-
P16	+++	-	-	++	-	-
P17	-	-	-	+++	+++	-
P18	-	-	-	-	-	-
P19	-	-	-	+	+	-

A 4. táblázat -/+ /++ /+++ értékelései az alapján kerültek megállapításra, hogy az adott beteg adott értékére mi volt jellemző hosszú távon (a nyomon követési idő alatt az eredményeket általánosan ez jellemzi).

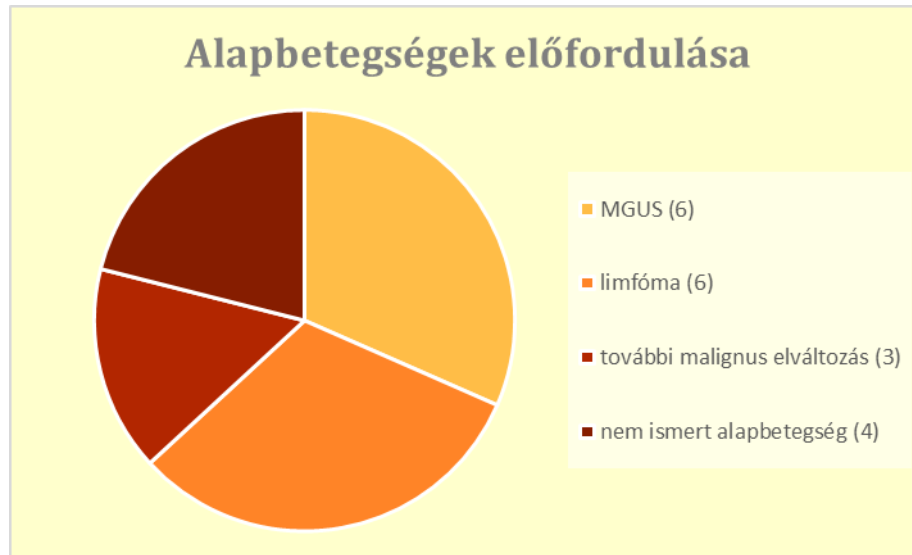
4. Táblázat. Szabadon és komplexben keringő C1-inhibitor elleni antitestek a nyomon követés során. C1-INH-Ab: C1-inhibitor elleni antitest, CAC: C1-inhibitor / C1-inhibitor komplexek, -: nem lépi túl a normál tartomány felső határértékét, +: a normál tartomány felső határértéke feletti 1 SD-n belüli érték, ++: a normál tartomány felső határértékét 1-2 SD mértékben lépi túl, +++: a normál tartomány felső határértékét több mint 2 SD mértékben lépi túl

	IgG C1-INH-Ab	CAC IgG	IgM C1-INH-Ab	CAC IgM	IgA C1-INH-Ab	CAC IgA
P1	-	-	-	+	-	+++
P2	-	+	-	+++	-	+++
P3	-	+	-	++	-	+++
P6	-	-	-	+++	-	-
P7	-	++	-	+++	-	++
P8	-	-	-	+	-	+
P10	-	+++	-	++	++	+++
P11	+++	-	-	-	-	+++
P12	+++	-	++	-	-	-
P13	-	-	-	++	-	++
P14	-	-	-	+++	-	-
P15	+++	-	-	+++	-	-
P16	++	++	-	++	-	-
P17	-	-	-	+++	+++	++
P18	-	-	-	-	-	-
P19	-	-	-	+	-	-

4.7 Az alapbetegség diagnózisa

Alapbetegségként 6 betegnél (P2, P5, P6, P13, P14, P18) diagnosztizáltak limfómát, 6 betegnél (P3, P8, P10, P11, P16, P17) MGUS-t, 1 betegnél krónikus limfocitás leukémiát (P7), 1-nél basal sejtes adenómát (P9), 1-nél pedig mielóma multiplexet (P12) találtunk. (12. ábra) Négy MGUS-os betegünkél alakult ki a nyomon követés során évek múlva limfóma.

A C1-INH-AAE vagy szerzett C1-INH hiány 13/15 betegnél hamarabb került diagnosztizálásra, mint az alapbetegség. 4/6 beteg esetében a C1-INH-Ab titer már legalább 3 hónappal a limfóma diagnózisát megelőzően kórosan magas volt.



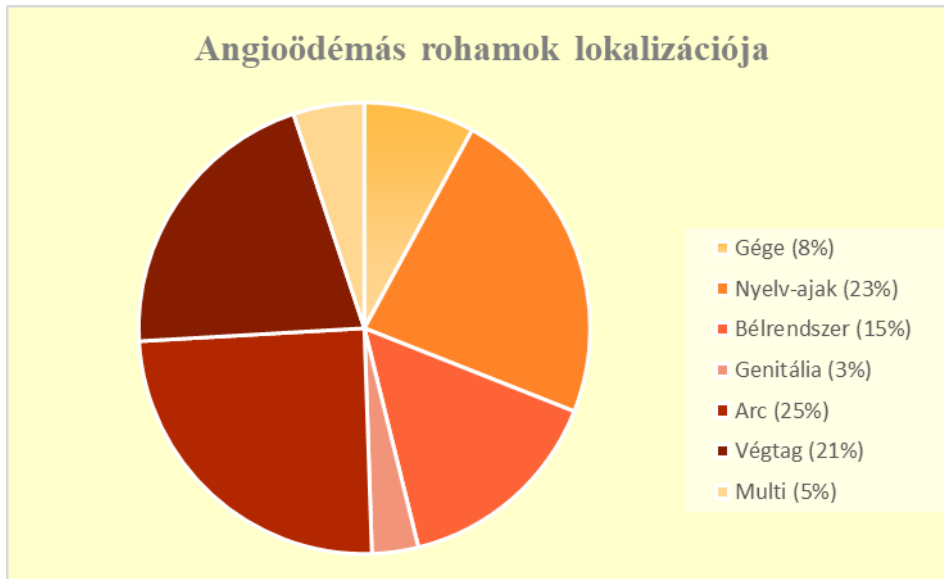
12. ábra. Alapbetegségek előfordulása betegcsoportunkban. MGUS: nem meghatározott jelentőségű monoklonális gammopátia

4.8 Angioödémás rohamok a nyomon követési idő alatt

A 17 tünetes betegnek összesen 845 rohamra volt a nyomon követési idő alatt. A rohamok lokalizációjának eloszlását a 13. ábra mutatja.

Két beteg (P4, P7) tapasztalt erythema marginatumot a rohamokat megelőzően vagy az alatt.

Két C1-INH hiányos beteg (P4, P5) a diagnózisig és a nyomon követési időszak alatt sem tapasztalt angioödémás rohamokat. A szó szoros értelmében őket nem nevezhetjük C1-INH-AAE betegeknek, mégis együtt tárgyaljuk őket a C1-INH-AAE betegekkel, mivel a komplementprofiljuk és klinikai hátterük alapján esetükben is bármikor számítani lehet (az első) angioödémás rohamra. Emiatt a C1-INH-AAE betegekkel egyező ellátásban részesülnek, el vannak látva angioödémás roham akut kezelésére alkalmas gyógyszerrel, komplement értékeiket nyomon követjük, és rendszeresen megjelennek az ellenőrző vizsgálatokon.



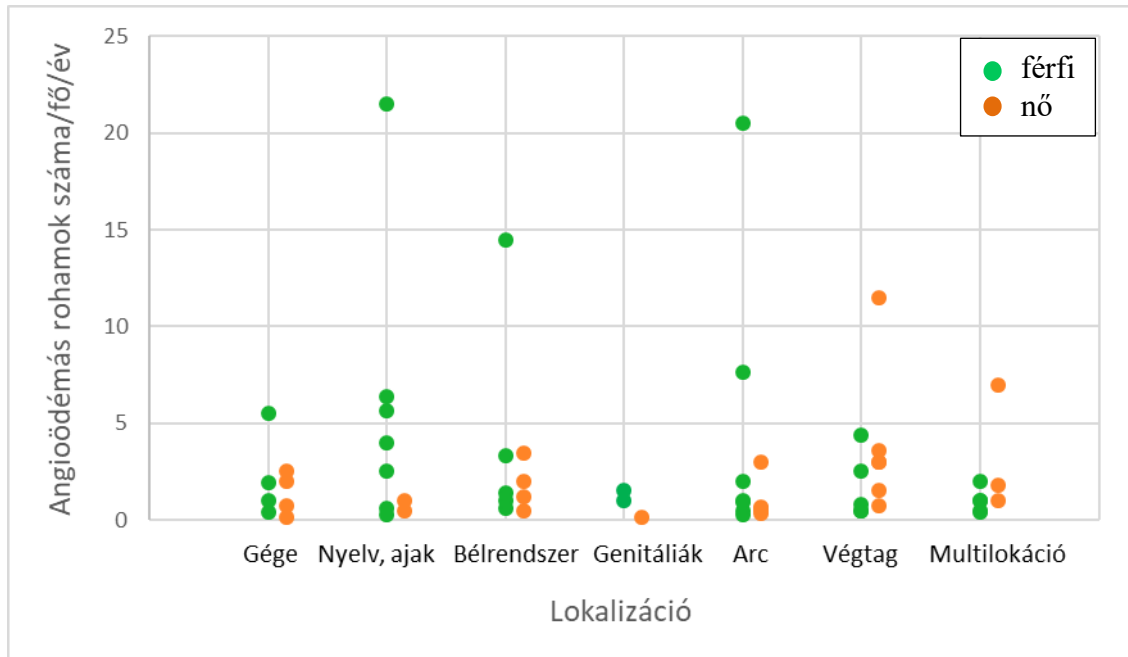
13. ábra. Angioödémás rohamok lokalizációja a nyomon követési időszak alatt

4.9 Nemek közötti eltérés

4.9.1 Klinikai tünetek

Alapvető különbség adódott az angioödémás rohamok számában a nemek között, ugyanis a férfiak az összes roham 64%-át tapasztalták, míg a nőknél alakult ki a maradék 36%. Erythema marginatum két nőbetegnél jelentkezett, de náluk is csak fél éves időszakra kiterjedően.

Eltérés adódott a nemek között a nyelv-ajak ödéma körében, a férfiaknál átlagosan 5,8 roham/év/fő alakult ki, míg a nőknél 0,7 roham/fő/év, valamint a genitáliákra kiterjedő angioödémás rohamok tekintetében, a férfiak esetében 1,3 roham/fő/év volt az átlag, a nők körében 0,1 roham/fő/év volt jellemző. A többi lokalizáció esetében kiegyenlítettek voltak az arányok. (14. ábra)



14. ábra: Egy főre vetített évenkénti angioödémás rohamszám eloszlása a nemek között.

4.9.2 Komplement paraméterek

Mann-Whitney teszttel vizsgáltuk az egyes paraméterek (CH50, C1q, C4, C1-INH antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális aktivitás, C1-INH-Ab, CAC) különbségeit a nemek között. A vizsgált komplement paraméterek nem mutattak szignifikáns eltérést a nők és férfiak között.

4.10 Komplement paraméterek és klinikai tünetek közötti összefüggések

4.10.1 Komplement paraméterek és az első angioödémás roham óta eltelt idő

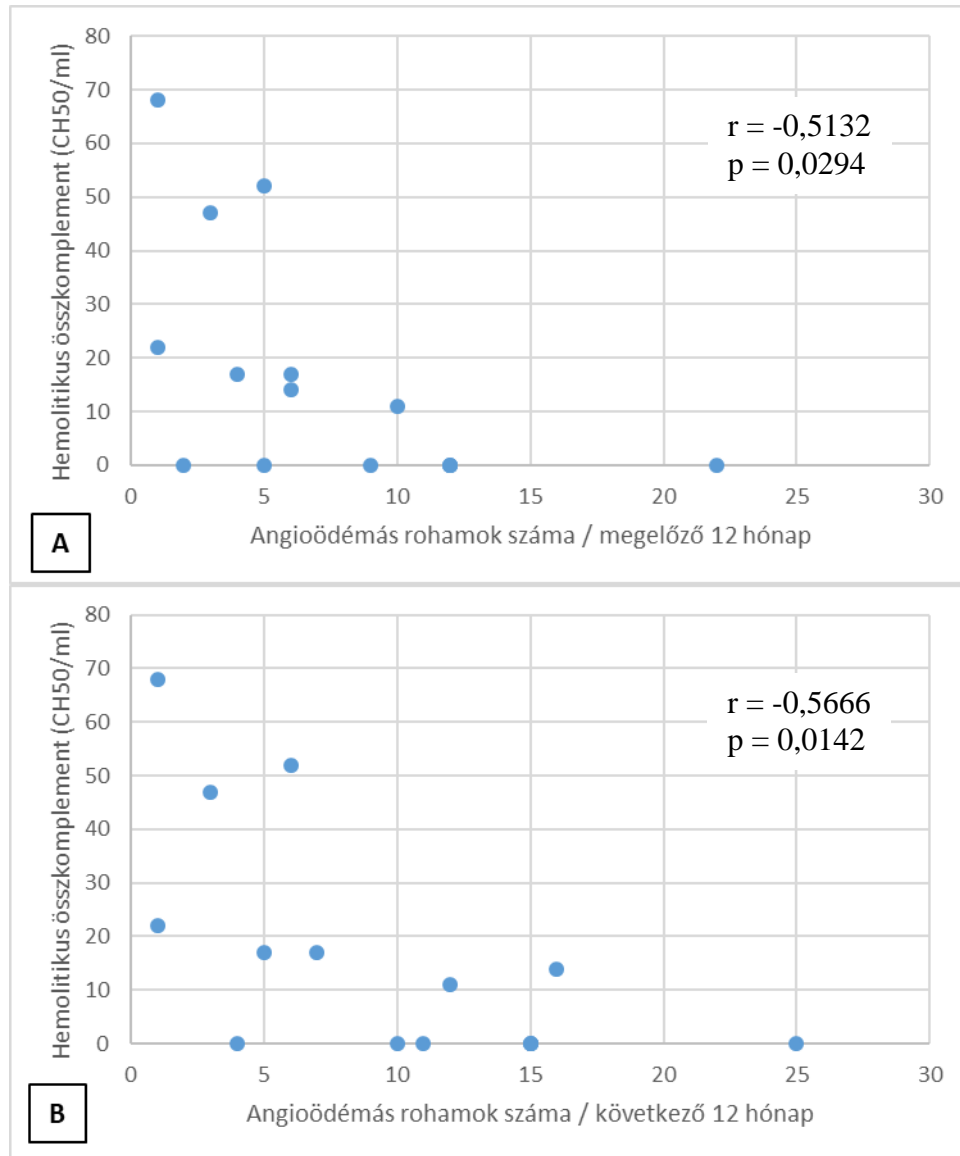
Felmerült a kérdés, hogy az első angioödémás rohamot követően fokozatosan romlanak-e a komplement értékek, vagy az első roham akkor jelenik meg, mikor a komplement értékek már lecsökkentek. Klinikai tünetként a legelső angioödémás roham óta eltelt idő (nap) függvényében vizsgáltuk a komplement paraméterek változását.

Spearman korrelációval vizsgáltuk a klinikai tünetek és a CH50, C1q, C4, C1-INH antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális aktivitás közötti összefüggést a kezeléseket megelőző időszakra vonatkozóan (azok hatásának kizárása érdekében), betegenként átlagértékeket képezve.

Nem mutatkozott korreláció az első angioödémás roham óta eltelt idő és a komplement paraméterek között.

4.10.2 Komplement paraméterek és az angioödémás rohamok száma az adott vérvételt megelőző és az azt követő 12 hónap alatt

Felmerült a kérdés, hogy a komplement paraméterek előrevetítik-e a rohamok mennyiségét, ezért vizsgáltuk az angioödémás rohamok számát az adott vérvételt megelőző és az azt követő 12 hónap alatt. Mindkét vizsgálat korrelációt mutatott a CH50 titerrel, a többi paraméterrel nem. (15. ábra) Az ábra A és B részén a CH50 értékek megegyezők, mivel ugyanazon vérvétel előtti és utáni rohamszámokat ábrázolják. Minden beteg esetében a C1-INH-AAE diagnózisát követő első év rohamszámát vettük figyelembe és az ezt közvetlenül követő második év adatait. A rohamszámot az esetleges alapbetegség kezelést megelőző időszakra vonatkozóan elemeztük, így ezen kezelések hatása nem befolyásolta a feltüntetett eredményt.



15. ábra. Hemolitikus összkomplement és rohamszám az adott vérvételt megelőző 12 hónap alatt (A) és az azt követő 12 hónap alatt (B)

4.10.3 C1-INH elleni antitestek és a klinikai tünetek közötti összefüggések

Fisher-exakt teszttel vizsgáltuk azt, hogy a magasabb antitest értékek (C1-INH-Ab és CAC) magasabb éves angioödémás roham számmal járnak-e együtt. Egyik immunglobulin típus sem adott szignifikáns eredményt.

4.11 Angioödémás rohamok kezelése és ezek összefüggése a klinikai tünetekkel és a komplement paraméterekkel

4.11.1 Elsődleges profilaxis

Elsődleges profilaxisként hatékony lehet az angioödémás rohamokat kiváltó faktorok kerülése. Hat beteg esetén az ACEI típusú vérnyomáscsökkentő szer a lehető leghamarabb elhagyásra került. Ez az első angioödémás roham megjelenését röviddel követte, így nincs adatunk arra vonatkozóan, hogy hosszú távú ACEI szedés mennyi angioödémás rohamot eredményez.

Egy betegünk különböző ételeket (köztük glutén tartalmúakat is) jelölt meg kiváltó tényezőként. Két éves nyomon követés után gluténérzékenység igazolódott, ezt követően gluténmentes diétát tartott a beteg, és így az angioödémás rohamainak éves száma negyedére csökkent (16-ról 4 angioödémás rohamra).

4.11.2 Akut kezelés

Tizenkét beteg alkalmazott akut kezelést angioödémás rohamban. Mind a pdC1-INH (10/12), rhC1INH (3/12) illetve icatibant (6/12) kezelések hatékonyan szüntették meg az angioödémás rohamokat. PdC1-INH kezelés esetén egy betegnél (P10) fordult elő rendszeresen, hogy az előírt mennyiség (20 IU/ttkg) (52) nem volt elegendő az angioödémás roham visszaszorítására, de 55 IU/ttkg emelt mennyiségű gyógyszer már elérte a kívánt hatást.

4.11.3 Rövid távú profilaxis

Rövid távú profilaxisként pdC1-INH-t kapott 2 beteg fogászati beavatkozás előtt, 1 beteg icatibantot kapott fogászati beavatkozás előtt, 1 beteg rhC1-INH-t hasfali sérvműtét előtt. A beavatkozások zavartalanul zajlottak és angioödémás epizód nem alakult ki.

Hat beteg esetében fordultak elő olyan kisebb beavatkozások, amelyeket megelőzően a betegek nem kaptak rövid távú profilaxist. A hat közül egy beteg számolt be angioödémás rohamról a légcsőmetszés sebének zárását, illetve csontvelő biopsziát követően.

4.11.4 Hosszú távú profilaxis

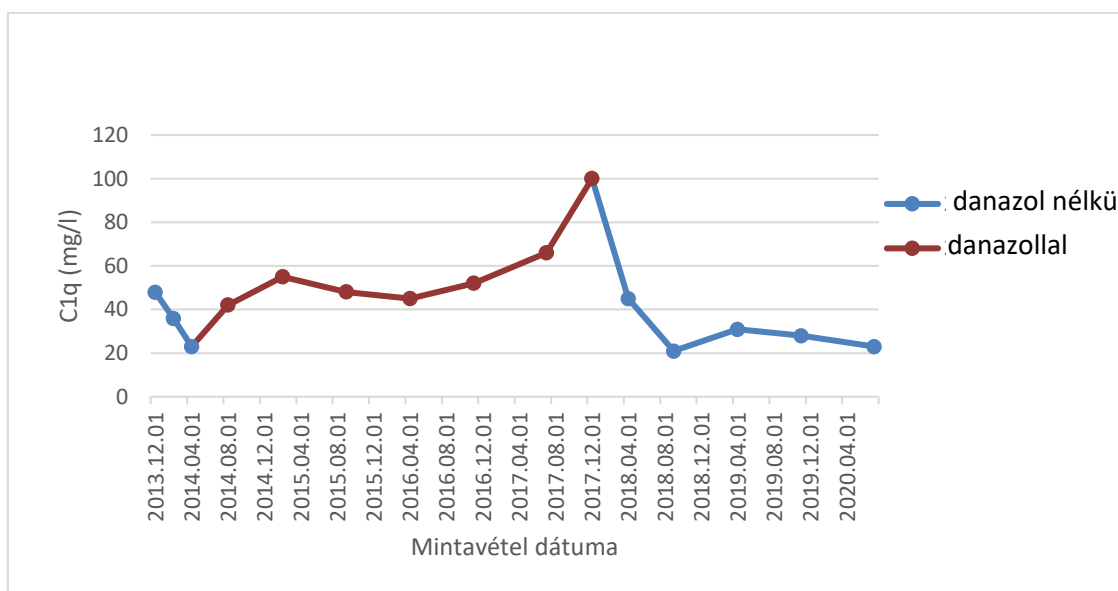
Hosszú távú profilaxisként danazol szedett 1 beteg (P7) és tranexámsavat 2 beteg (P10, P12). A hosszú távú profilaxis mellett is kialakultak angioödémás rohamok mind a három

betegnél. P7 ritkábbnak érezte az angioödémás rohamok megjelenését danazol szedése mellett, ennek ellenére esetében az éves átlagos rohamszám danazol szedés mellett és anélkül is 7 volt. P10 esetében az éves átlagos rohamszám tranexámsav szedése mellett és anélkül is 9 volt. P12 esetében a tranexámsavas kezelés eredménye nem különíthető el az alapbetegség kezelésének hatásától, így ezeket az adatokat nem elemeztük.

Két beteg (P10, P12) a visszatérő gyakori angioödémás rohamok kezelése érdekében, nem az angioödémás rohamok megelőzésére szolgáló szokásos terápiában részesült, hanem rituximab terápiát is kapott. Ezt a továbbiakban az alapbetegség kezeléseként tárgyaljuk, mivel ez elsősorban limfóma kezelésére szolgál, de hatékonyságát C1-INH-AAE-ben is vizsgálják.

4.11.4.1 Komplement paraméterek változása danazol szedése mellett

P7 betegünkénél Mann-Whitney tesztel hasonlítottuk össze az egyes komplement paramétereket (CH50, C1q, C3, C4, C1-INH antigénikus titer és funkcionális aktivitás, C1-INH-Ab, CAC) danazol szedése alatt és azon az időszakon kívül. A C1q ($p=0,0212$) titerében adódott növekedés a profilaxis ideje alatt, a többi komplement paraméter nem mutatott változást. (16. ábra)



16. ábra. C1q szint változása danazol szedés esetén és anélkül

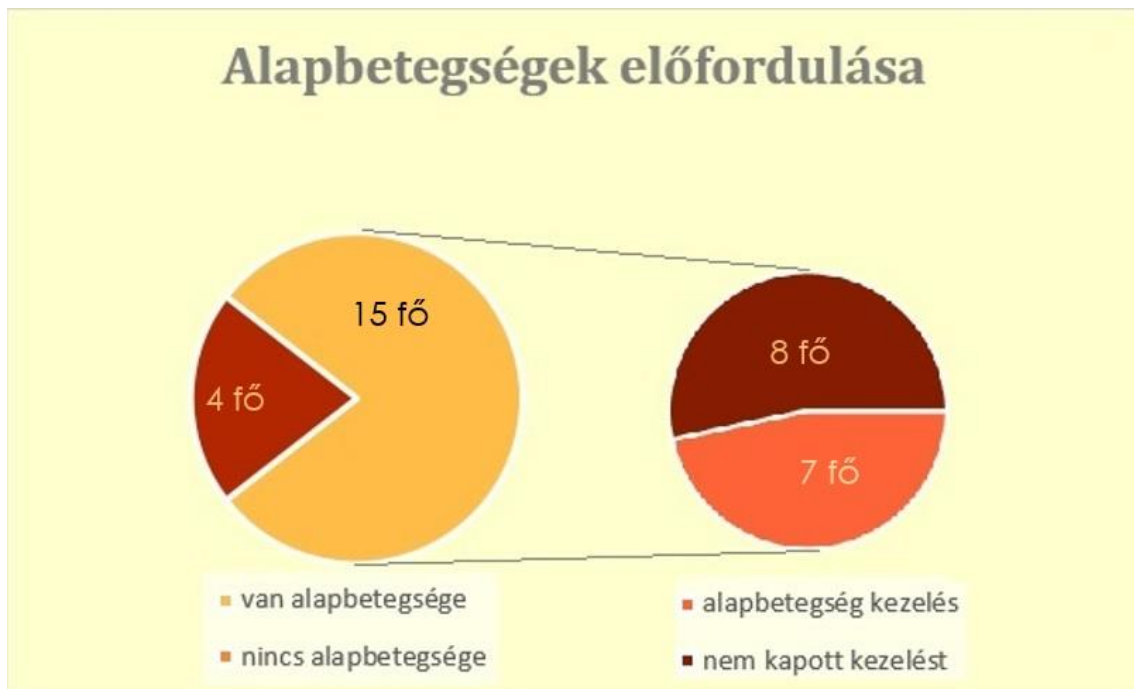
4.11.4.2 Komplement paraméterek változása tranexámsav szedése mellett

P10 betegünkénél Mann-Whitney teszttel hasonlítottuk össze az egyes komplement paramétereket (CH50, C1q, C3, C4, C1-INH antigénikus titer és -funkcionális aktivitás, C1-INH-Ab, CAC) tranexámsav szedése alatt és azon az időszakon kívül. Nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni a két időszak komplement értékei között.

4.12 Alapbetegség kezelése

15/19 betegnél igazolódott alapbetegség. 8/15 betegnél (P2, P3, P7, P8, P9, P11, P16, P17) az alapbetegség nem igényelt kezelést, rituximab kezelést 5 beteg kapott (P6, P10, P13, P14, P18), egy beteg (P5) rituximab kezelést kapott és autológ őssejt transzplantáción esett át, egy beteg (P12) pedig VAD (vinkrisztin, doxorubicin, dexametazon) kemoterápiás kezelésben részesült, autológ őssejt transzplantáción esett át az alapbetegsége miatt, valamint rituximab kezelést kapott a visszatérő angioödémás rohamok okán. A kezelések előtt és azt követően a komplement paramétereket a soron következő C1-INH-AAE ellenőrző kivizsgálás során mértük.

Betegcsoportunkban az alapbetegségek előfordulása, és annak kezelési aránya a 17. ábrán látható.

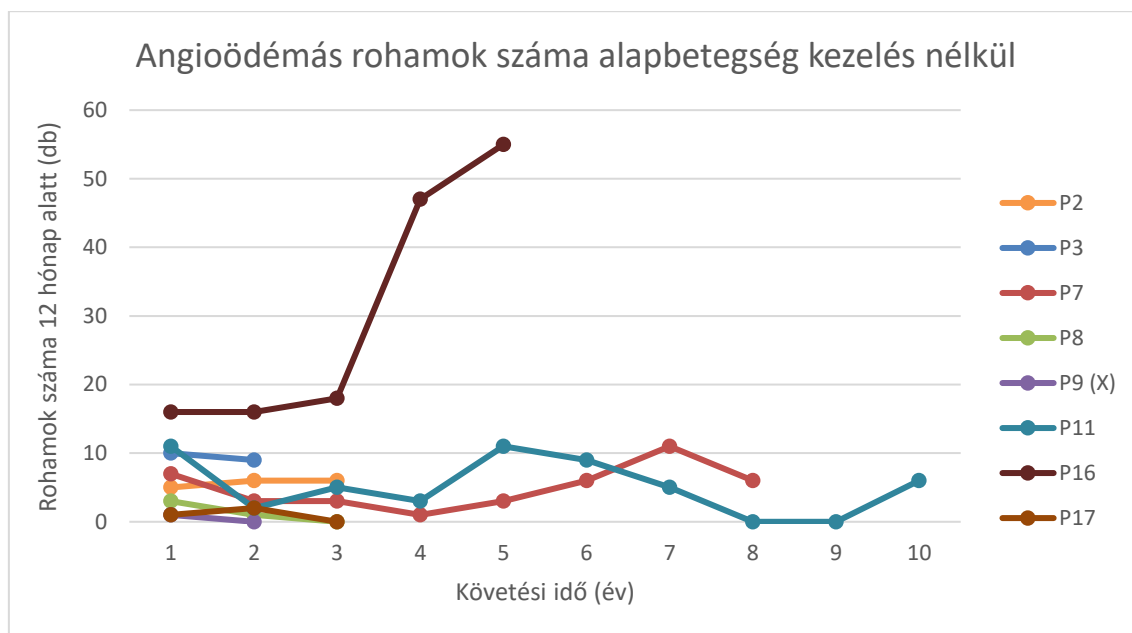


17. ábra. Alapbetegségek előfordulása és azok kezelése betegcsoportunkban

4.13 Rituximab kezelés, klinikai tünetek és a komplement paraméterek összefüggése

4.13.1 Kezelést nem igénylő alapbetegséggel rendelkező betegek klinikai tünetei

Nyolc alapbetegséggel rendelkező beteg (P2, P3, P7, P8, P9, P11, P16, P17) esetében az alapbetegség aktivitása nem indokolta annak kezelését. Angioödémás rohamaik számát a 18. ábra mutatja.



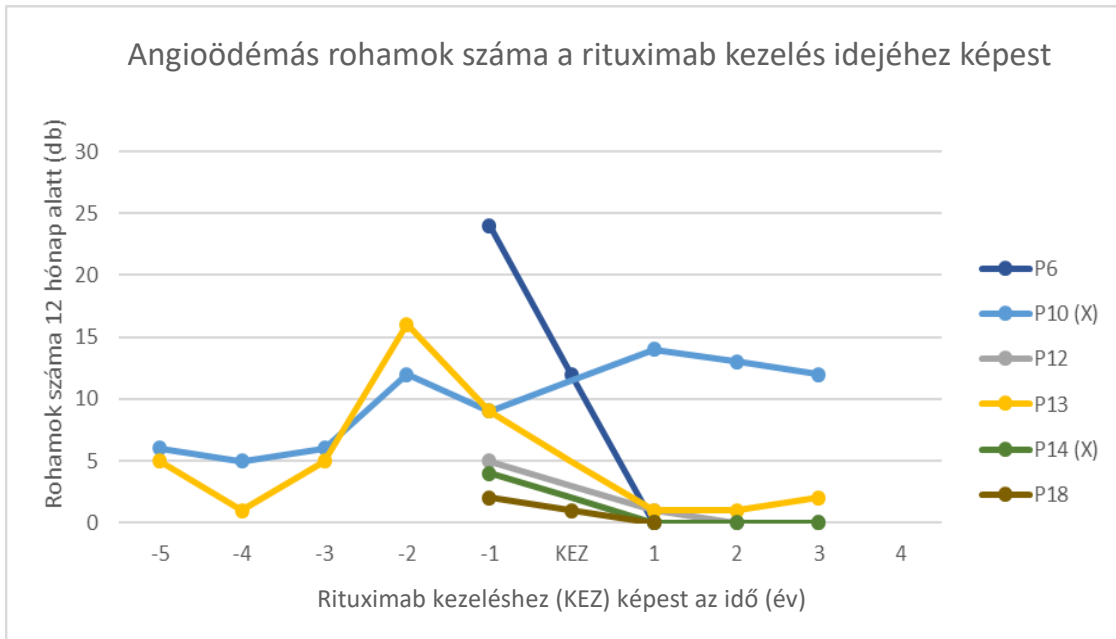
18. ábra. Angioödémás rohamok száma alapbetegség kezelés nélkül

4.13.2 Rituximab kezelést kapott betegek klinikai tünetei

Hét betegünk részesült rituximab kezelésben. Egy betegnek nincsenek adatai a kezelést követő időszakból, mivel csak nemrég kapta ezt, azóta nem volt ellenőrző vizsgálaton.

Hat alapbetegséggel rendelkező beteg esetében (P6, P10, P12, P13, P14, P18) összehasonlítottuk az angioödémás epizódok számát a rituximab kezelés előtti és utáni periódusban, 12 hónapos periódusokra bontva. (19. ábra) Egy betegnek (P5) nem voltak rohamai sem az alapbetegség kezelést megelőzően, sem azt követően (az ő adatai nem szerepelnek az ábrán).

Egy beteg (P10) kivételével a betegek rohamainak száma csökkent az alapbetegség kezelését követően, 3/5 esetben tünetmentessé vált a beteg. P10 az alapbetegség kezelést követő 3. évben elhunyt az alapbetegség okán.

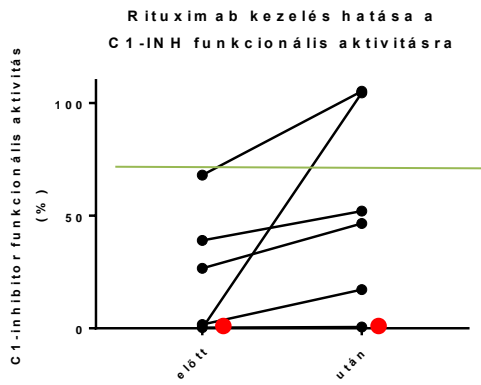
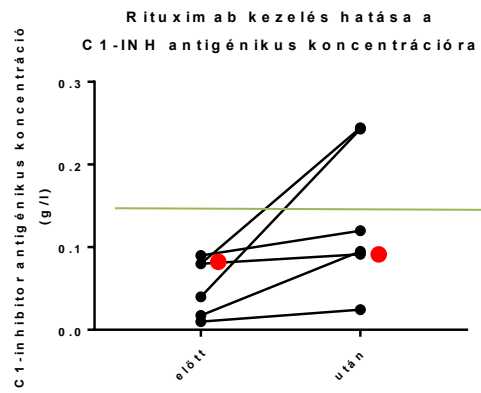
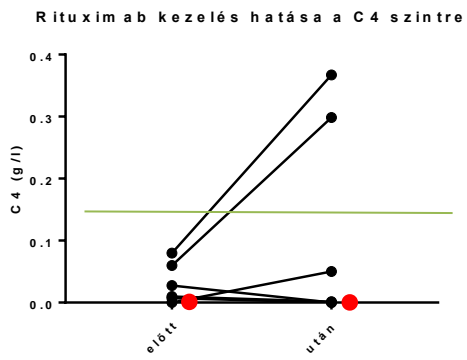
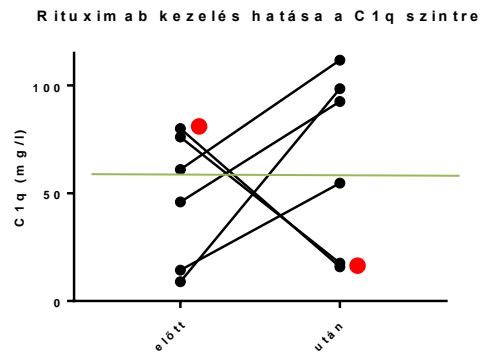
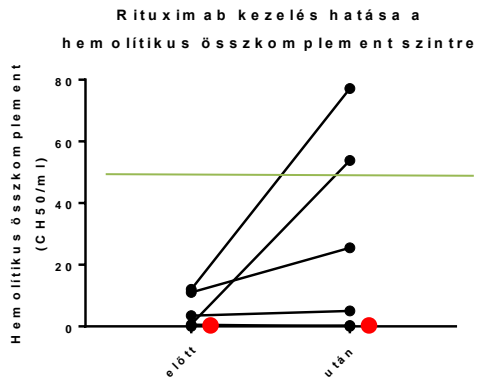


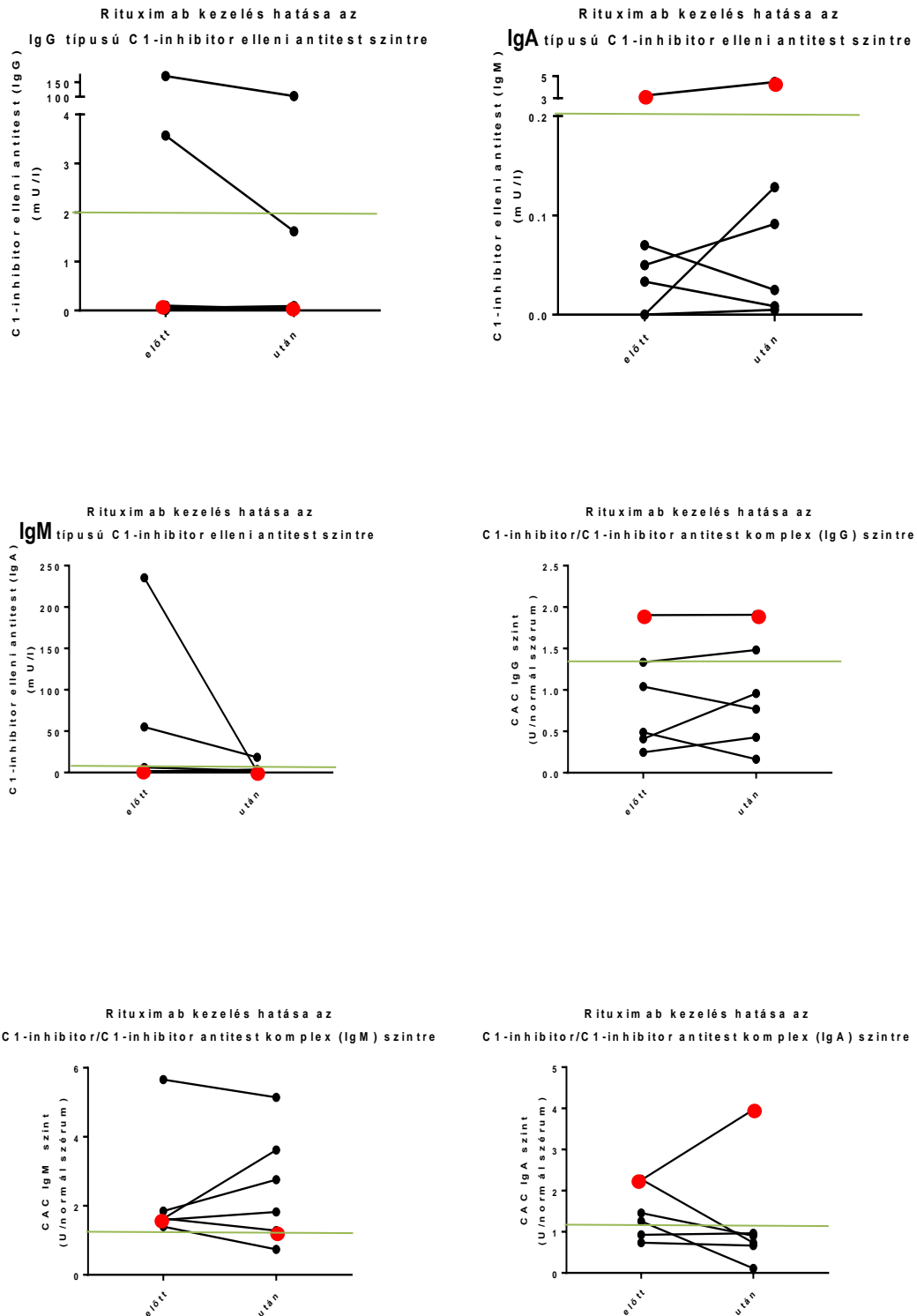
19. ábra. Éves angioödémás rohamok száma rituximab kezelés (KEZ) előtt és után. X: elhunyt

Spearman korrelációval vizsgáltuk ezen 6 beteg esetében az összefüggést az alapbetegség kezeléséhez képest eltelt idő és a rohamok száma között, és az eredmény erősen szignifikánsnak adódott ($r = -0,8722$, $p < 0,0001$).

4.13.3 Komplement paraméterek változása rituximab kezelés hatására

Ugyanezen 6 betegnél vizsgáltuk a komplement paramétereket (CH50, C1q, C3, C4, C1-INH antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális aktivitás, C1-INH-Ab, CAC) rituximab kezelés előtt és után. Az elemzéshez az alapbetegség kezelés előtti időszak értékeinek átlagát vettük figyelembe (betegenként), amit a kezelést követő három év eredményeinek átlagával hasonlítottunk össze. (20. ábra)





20. ábra. Komplement értékek változása rituximab kezelés előtt és után. Zöld vízszintes vonal: normál tartomány határa. Piros jelölő: P10 eredményei, akinek az alapkezelést követően sem csökkent az éves rohamszáma

4.14 Hosszú távú nyomon követés betegenként és a komplement paraméterek változása

Az átlagos követési idő 1-1 beteg esetén 6 év volt (min.: 1, max.: 16), és a betegek évente minimum egy alkalommal részt vettek kontrollvizsgálaton.

A hosszú távú nyomon követés kiemelkedő előnye, hogy a klinikai tünetek, komplement paraméterek, kezelések hatása egy teljes egészésként átlátható, és vizsgálható. A betegek kórtörténetének könnyű és látványos áttekintésére idővonalakat készítettünk. (21-30. ábra és 35-39. ábra)

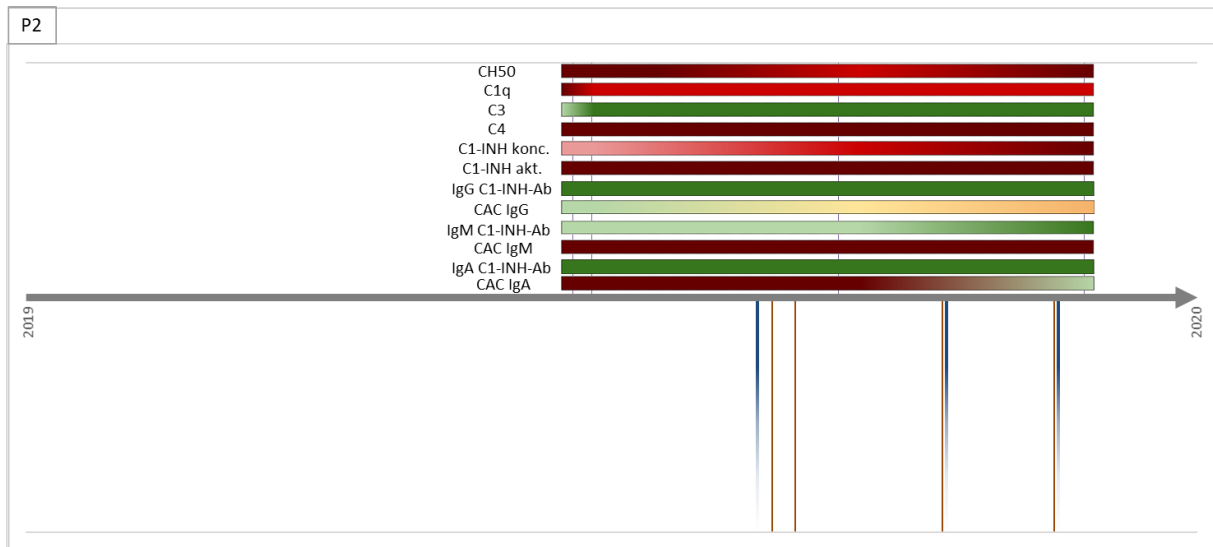
P4 és P5-nek nem voltak rohamaik, P9-nek csak 7 rohama volt és komplement eredményei csak későbbi évekből vannak, P18 és P19 a tavalyi év során került Központunkba diagnosztizálásra és nyomon követésre, így a kevés adat miatt őket kihagytuk ezen ábrázolásból.

Ábra magyarázat a 21-30. ábrára és a 35-39. ábrára vonatkozóan:

Az idővonalakon a zöld színek jelentik, hogy az adott paraméter a normál tartományon belül esett, sárgától vörösig az értékek egyre távolabbiak a normál tartománytól. Az időtengelyek feletti részen láthatóak az egyes komplement paraméterek alakulása a több éves nyomon követés során. Az időtengelyek alatti részen láthatók barna vonalakkal jelölve a rohamok, valamint kék félvonalakkal jelölve a C1-INH-AAE akut kezelések. Vízszintes kék vonal mutatja a hosszú távú profilaxist, alatta megjelölve a szedett hatóanyaggal. Fekete háromszögek jelzik az alapbetegség kezelésének időpontjait, annak jellegével kiegészítve.

Px: a beteg sorszám, CH50: hemolitikus összkomplement, C1-INH konc.: C1-inhibitor antigénikus koncentráció, C1-INH akt.: C1-inhibitor funkcionális aktivitás, C1-INH-Ab: C1-inhibitor elleni antitestek, CAC: C1-inhibitor – C1-inhibitor elleni antitest komplex

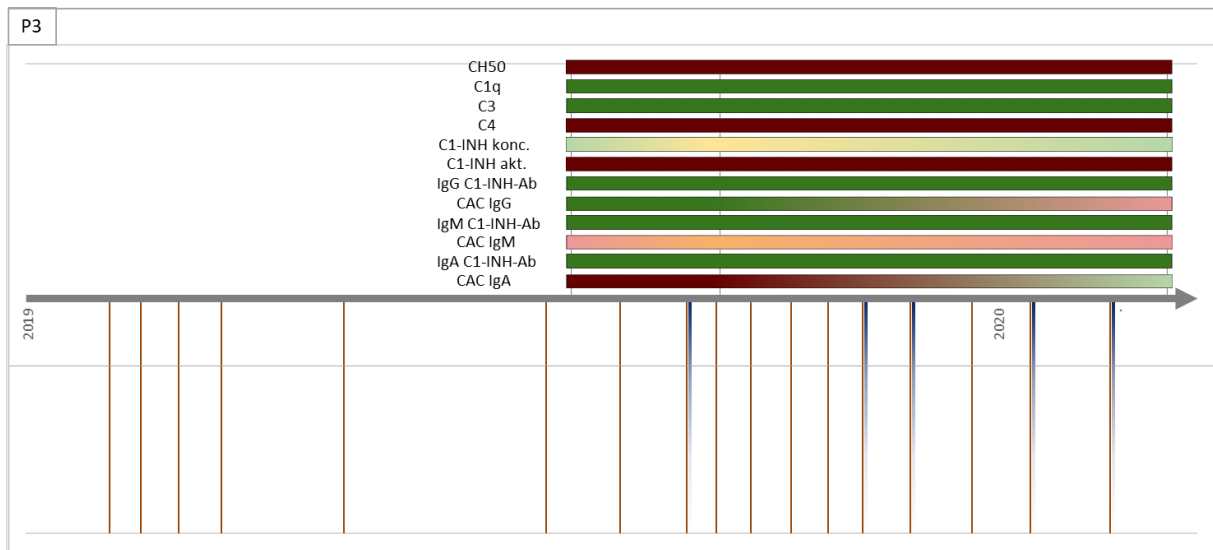
4.14.2 P2



23. ábra. P2 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel

Nőbetegünknel az első angioödémás rohamok megjelenése 40 éves korra tehető, amit metamizol-nátrium típusú gyógyszerallergiának vélték. 45 éves korában mélyvénás trombózis volt. 69 éves korától többszöri bakteriális fertőzés miatt többször kórházban volt, ultrahang vizsgálat során szabad hasúri folyadékot észleltek, többféle gyógyszer bevétele után is allergiának tűnő ödémás reakciót mutatott. 71 éves korában az ismétlődő angioödémás rohamok kivizsgálása okán került Központunkba. A C1-INH-AAE diagnózisa után fél évvel marginális zóna limfómát igazoltak nála, aminek súlyossága eddig nem indokolt kezelést. Komplement értékei nem változtak a 2 éves nyomon követési idő alatt. (23. ábra)

4.14.3 P3



24. ábra. P3 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel

Nőbetegünknel krónikus magasvérnyomást diagnosztizáltak 23 évvel az első angioödémás tünetek megjelenése előtt. ACEI típusú vérnyomás csökkentő gyógyszer bevezetését követően 83 éves korában jelentkeztek először a tünetek, és még ebben az évben Központunkba került a C1-INH-AAE igazolása okán. Ezt követően a részletes kivizsgálások során MGUS is igazolódott, ami eddig még nem indokolt kezelést. A beteg C1q értéke mindig a normál tartományban volt, C1-INH-Ab-t nem termel, komplement értékei nem változtak a 2 éves nyomon követési idő során. (24. ábra)

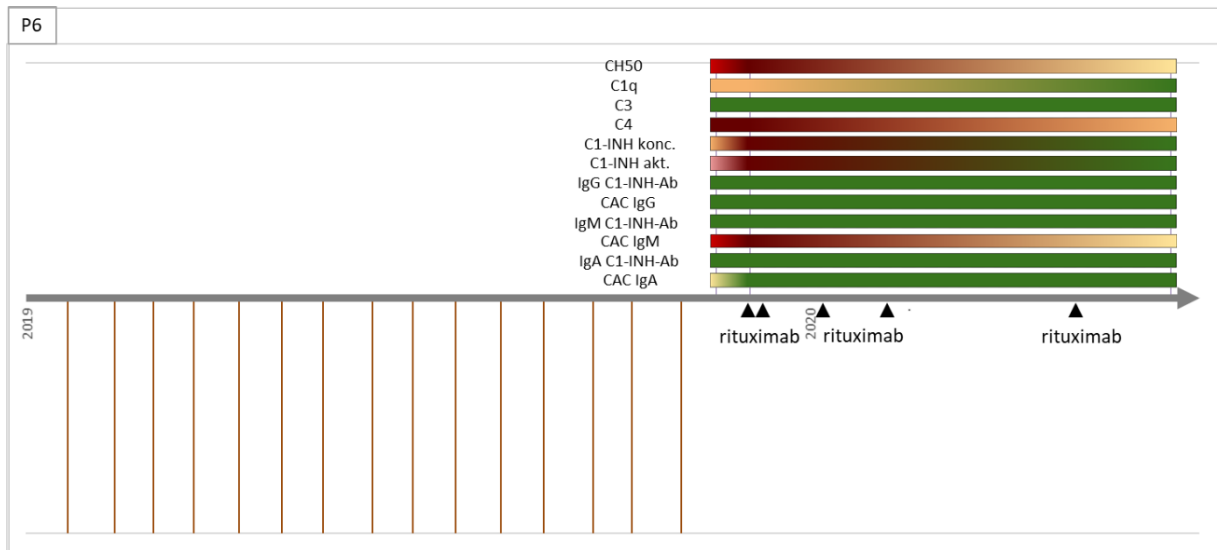
4.14.4 P4

Nőbetegünknel angioödémás rohamok nem jelentkeztek sem a diagnózist megelőzően, sem azóta. Papuláris elváltozások, ekcéma okozta érfal gyulladás miatt autoimmun betegség gyanújával indult részletes kivizsgálás, mely során fény derült a szerzett C1-INH hiányra a beteg 49 éves korában. Komplement értékei nem változtak a 2 éves nyomon követési időszak során.

4.14.5 P5

Nőbetegünknel angioödémás rohamok nem jelentkeztek sem a diagnózist megelőzően, sem azóta. Testtömeg csökkenés és alhasi problémák miatt indult kivizsgálás a betegnél, melynek eredményeként B-sejtes limfómát diagnosztizáltak. Ennek során C1-INH-Ab-t detektáltak, ami miatt az akkor 41 éves beteget Központunkba irányították. Rituximab és autológ őssejt transzplantációt követően a limfóma visszavonult és a 15 éves nyomon követésünk során nem újult ki, angioödémás tünetek nem jelentkeztek és a kezelés után a normál tartományba visszatérő komplement paraméterek sem romlottak.

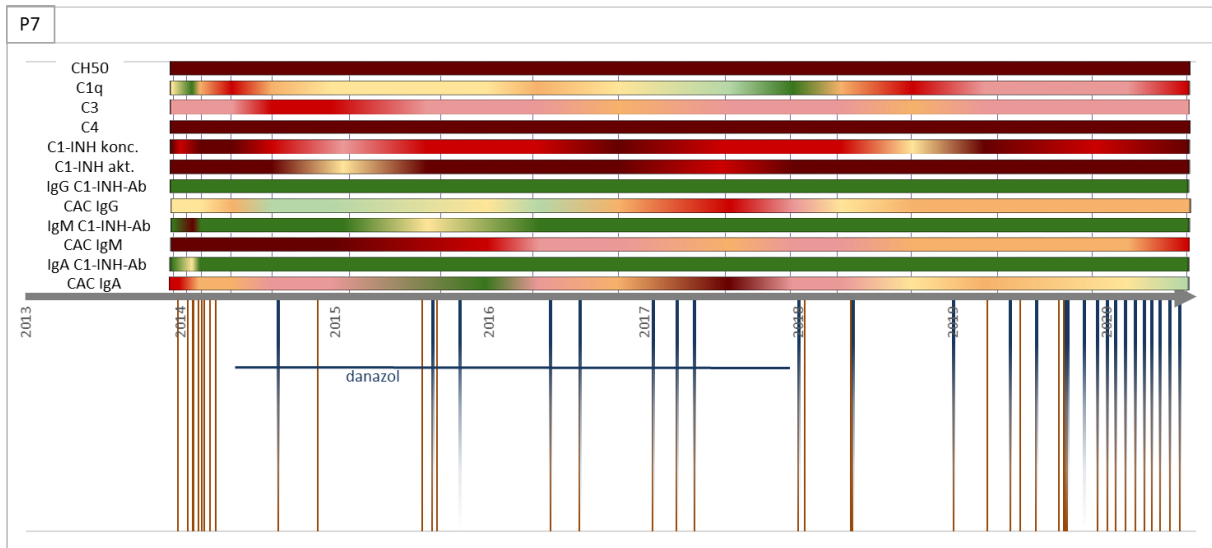
4.14.6 P6



25. ábra. P6 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel

Nőbetegünket 55 éves korában lépmegnagyobbodással diagnosztizálták, majd csontvelő biopsziát követően marginális zóna limfóma igazolódott, ami ekkor nem igényelt kezelést. 56 évesen tapasztalta az első angioödémás tüneteket, az immunológiai kivizsgálás során felmerült a C1-INH-AAE gyanúja és a limfóma előre haladása miatt rituximab kezelésben részesült. 57 éves korában igazoltuk a C1-INH-AAE-t. A rituximab kezelés óta eltelt 1 évben angioödémás rohamok nem jelentkeztek, komplement értékei közül a CH50 és a C4 közelítik a normál tartományt, a C1q, C1-INH antigénikus koncentráció és –funkcionális aktivitás normalizálódott, C1-INH-Ab-t sosem termelt. (25. ábra)

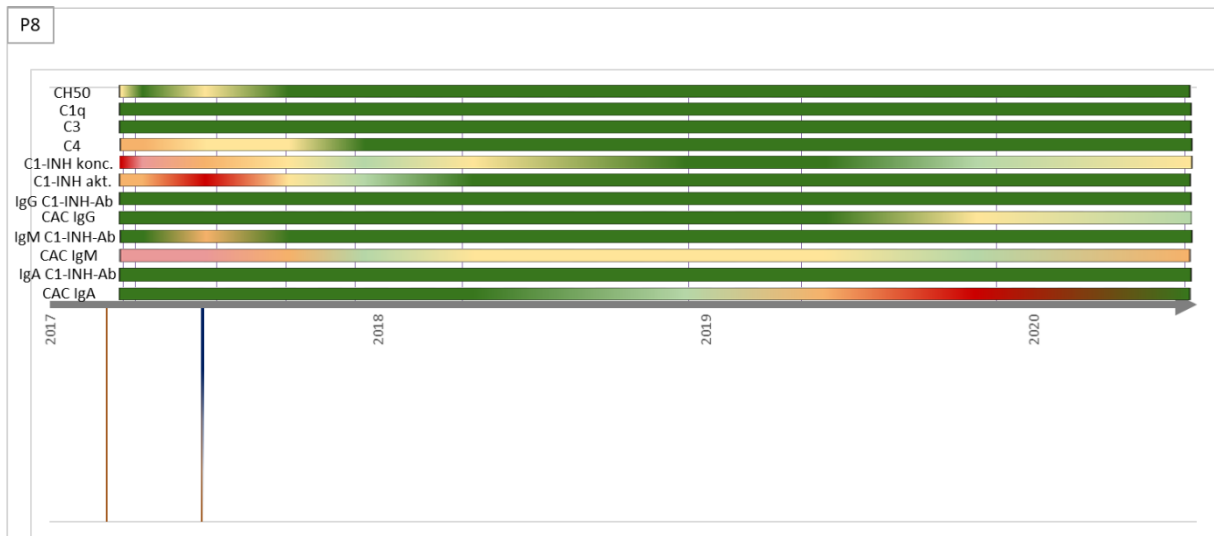
4.14.7 P7



26. ábra. P7 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel

Nőbetegünk 50 éves korában a vérvizsgálatok többszöri kétes *Hepatitis C* eredményt adtak, ami valószínűsíthetően egy korábbi transfúzió eredménye volt. 59 éves korában 3 alkalommal igazolt *Herpes zoster* fertőzése volt. 61 évesen jelentkeztek az első angioödémás tünetek, az első rohamot egy rovarcsípésnek tudták be, majd a beteg különböző ételeket (citrusfélék, fahéj, csokoládé) jelölt meg a rohamok kiváltó okaként. Ekkor az Egyesült Államokban élt a beteg, ahol a kivizsgálások során felmerült a C1-INH-AAE. 63 éves korában, mikor visszaköltözött Magyarországra igazoltuk a C1-INH-AAE-t. 3 évig kapott danazol terápiát, ami megítélése szerint enyhítette rohamait, de ezt nem tudtuk igazolni. 64 éves korában gluténérzékenység igazolódott, a gluténmentes diétát követően rohamainak éves száma negyedére csökkent a gluténmentes diétát megelőző időszakhoz képest, komplement értékei nem változtak. 2 éve, a beteg 68 éves korában krónikus limfoid leukémia igazolódott, ami eddig még nem indokolta az alapbetegség kezelését, viszont angioödémás rohamai gyakrabban fordulnak elő. A C1q kivételével komplement értékei változatlanok voltak a 8 éves követési idő alatt. (26. ábra)

4.14.8 P8



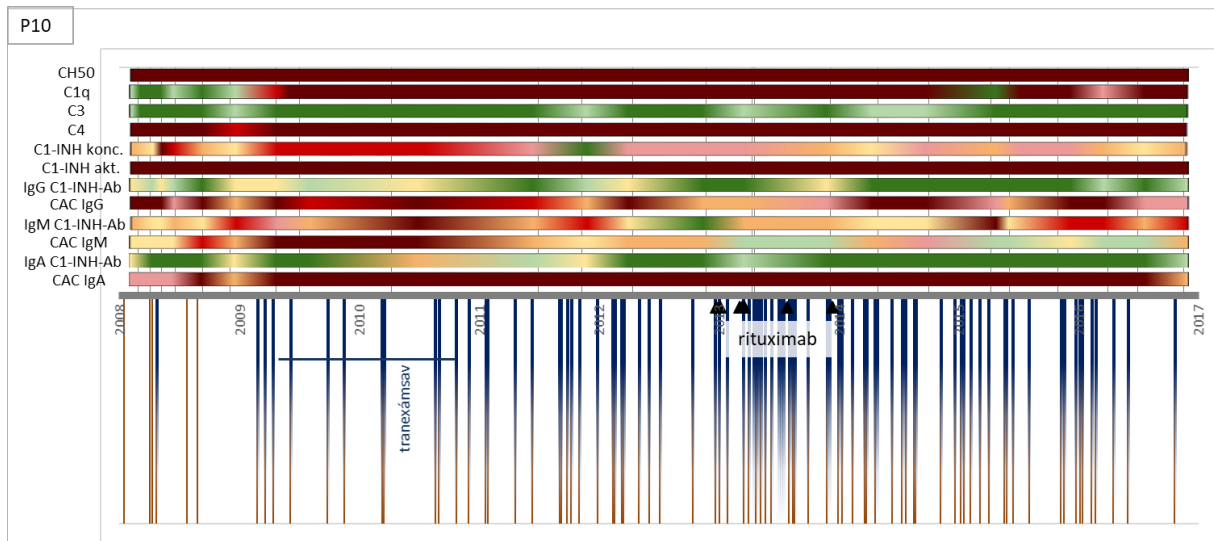
27. ábra. P8 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel

Férfi betegünk első angioödémás tüneteinek megjelenése 49 éves korra tehető. 59 éves korában súlyos, semmire nem reagáló gégeödéma miatt intubáltak, majd Központunkba irányították, ahol diagnosztizáltuk a C1-INH-AAE-t. Szintén ebben az évben fóbiás szorongást és prosztatata megnagyobbodást diagnosztizáltak nála. A pszichés stresszt, mint angioödémás rohamot kiváltó tényező is azonosította. Egyszeri pdC1-INH kezelést követően többet nem jelentek meg angioödémás rohamok (az elmúlt 4 évben), komplement értékei fél éven belül normalizálódtak, bár 3 éve elteltével a C1-INH antigénikus koncentrációja újra csökkent értéket mutatott, párhuzamosan a CAC IgA emelkedésével. (27. ábra)

4.14.9 P9

Nőbetegünknel 65 éves korban többszöri mélyvénás trombózis alakult ki, ezt követően észlelte az első angioödémás tüneteket. Részletes kivizsgálás során nem találták okát fertőzésnek vagy allergiának, így Központunkba irányították, ahol ugyanebben az évben diagnosztizáltuk a C1-INH-AAE-t. A trombózisok okán kumarin-típusú véralvadásgátló gyógyszert kezdett szedni, ezt követően 1 évvel az angioödémás rohamok megszűntek és nem tértek vissza, komplement értékei az IgA típusú C1-INH-Ab kivételével normalizálódtak. A beteg 80 éves korában basal sejtes adenómát diagnosztizáltak, ami miatt 1 évvel később elhunyt.

4.14.10 P10



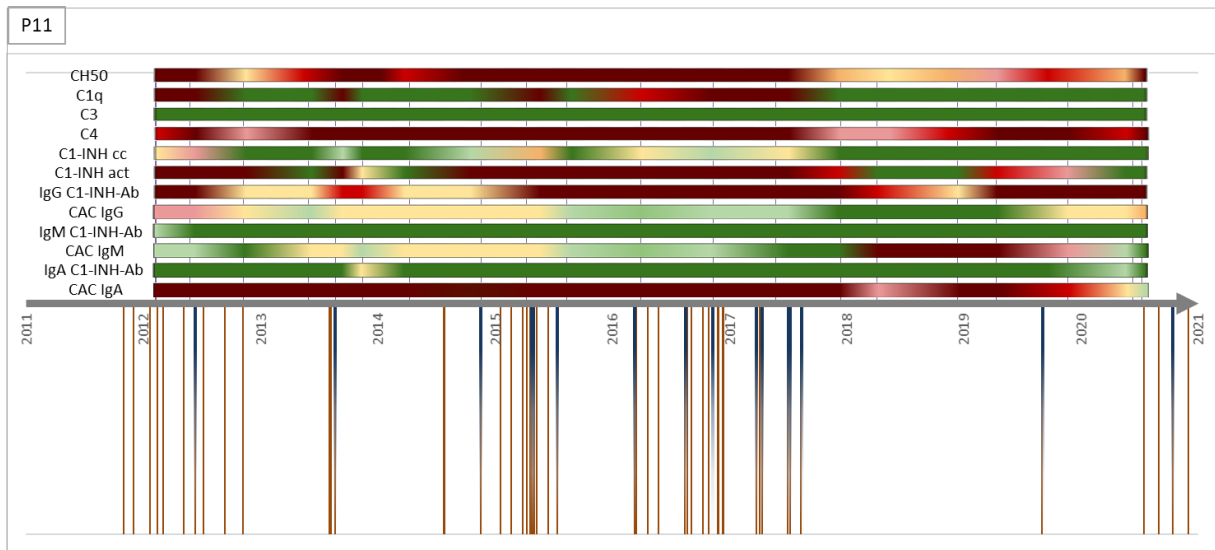
28. ábra. P10 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel

Férfi betegünk 70 éves korában tapasztalta az első angioödémás tüneteket. 71 éves korában krónikus magas vérnyomással diagnosztizálták, amire 74 éves korában ACEI tartalmú vérnyomáscsökkentő szert kezdett szedni, ezt követően angioödémás rohamai súlyosabbá és gyakoribbá váltak. Ennek kivizsgálása során irányították Központunkba, ahol diagnosztizáltuk C1-INH-AAE-vel. A C1-INH-AAE diagnózisát követő szokásos részletes kivizsgálás során MGUS-ra derült fény.

A beteg 75 éves korától kezdve napi 2000 mg tranexámsavat kapott hosszú távú profilaxisként 20 hónapon keresztül, majd egy mélyvénás trombózist követően abbahagyta ennek szedését.

79 éves korától rituximab kezelést kezdett kapni, de ezt követően sem csökkent az angioödémás epizódok gyakorisága, az előírtnál nagyobb mennyiségű (55 IU/ttkg) pdC1-INH-ra volt szükség a tünetek enyhítésére, amit idővel rhC1-INH-ra cseréltünk. Rituximab kezelést követően a komplement értékei közül a C1-INH antigénikus koncentrációja emelkedett, a többi értéke nem változott. A rituximab kezelés az alapbetegséget sem enyhítette, 82 évesen a beteg elhunyt. (28. ábra)

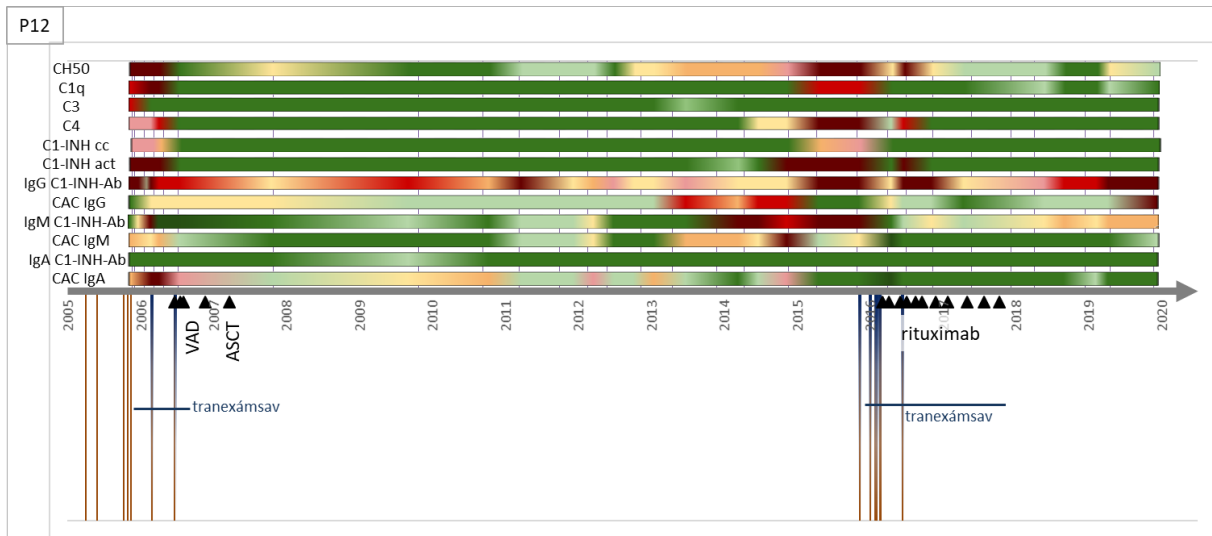
4.14.11 P11



29. ábra. P11 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel

Nőbetegünket 49 éves korában krónikus magas vérnyomással diagnosztizálták, amire ACEI tartalmú vérnyomáscsökkentőt kezdett szedni és ezt követően jelentkeztek az első angioödémás tünetei. 50 éves korában ennek kivizsgálása során fedezték fel a komplementprofil kóros eltérését, és irányították Központunkba, ahol megerősítettük a C1-INH-AAE-t. 51 éves korában, köszönhetően a C1-INH-AAE okán végzett széleskörű kivizsgálásnak, MGUS-ra derült fény. 6 éves nyomon követési időt követően, a beteg 55 éves korában az angioödémás rohamok megszűntek, komplement értékei javultak, ami egybe esett a szertralin típusú szorongáscsökkentő gyógyszer szedésének kezdetével. Alapbetegsége a 9 éves nyomon követési idő alatt nem indokolt kezelést. (29. ábra)

4.14.12 P12



30. ábra. P12 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkel. VAD: vinkrisztin, doxorubicin, dexametazon kemoterápia, ASCT: autológ őssejt transzplantáció

Férfi betegünket 55 éves korában diagnosztizálták krónikus magas vérnyomással, és 56 éves korától kezdve szedett ACEI típusú vérnyomáscsökkentő szert. 59 korban jelentek meg először angioödémás tünetei a végtagokon, melynek háttérében a kezelő orvos allergiás reakciót feltételezett, és ennek megfelelően kezelt. A roham néhány nap alatt enyhült, majd 2 nap tünetmentes időszakot követően arcödéma jelentkezett. Ekkor vetődött fel, hogy a rohamok háttérében az ACEI típusú gyógyszer állhat, ezért ezt béta-blokkoló hatásmechanizmusú gyógyszerre cserélték. 7 hónappal ezután kéz- és felső légúti ödéma alakult ki, ami életveszélyes állapotot idézett elő a konvencionális kezelés ellenére is, melynek következményeként gégemetszést kellett végezni a betegen, amit később légsömetszéssé alakítottak. A seb zárására többször is kísérletet tett a kezelő orvos, de minden alkalommal újabb angioödémás roham lépett fel, így a 60 éves beteget Központunkba irányították. A C1-INH-AAE diagnózisának felállítását követően a légsömetszés sebét a megfelelő kezelés (pdC1-INH) mellett sikeresen zárni lehetett.

Szintén 60 éves korában, a C1-INH-AAE diagnózisát követő alapbetegség kivizsgálás során M-komponens gyanúja merült fel, ami miatt csontvelő biopsziát hajtottak végre a betegen, ami mielóma multiplexet igazolt. Ennek okán VAD kemoterápiában és 4 alkalommal autológ őssejt transzplantációban részesült. Hosszú távú profilaxisként napi

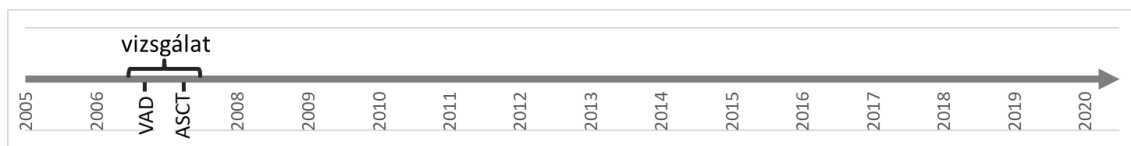
1000 mg tranexámsavat kapott a beteg, de mivel ez a kezelés nem választható külön az alapteregség kezeléstől, ezért ezen eredményeket nem elemeztük.

A beteg C1-INH-AAE tekintetében 9 évig tünetmentes volt az alapteregség kezeléseket követően. Ezután visszatértek az angioödémás rohamok, amire hosszú távú profilaxisként napi 3000 mg tranexámsavat kapott, de ennek hatástalansága miatt, hematológiai konzíliumot követően 11 alkalommal rituximab kezeléssel esett át annak ellenére, hogy alapteregsége továbbra is lappangó fázisban volt. Azóta (4 éve) a beteg tünetmentes mind a C1-INH-AAE, mind az alapteregsége tekintetében. (30. ábra)

Minden alfelejezet elején egy egyszerűsített idővonal jelöli, hogy az egyes vizsgálatok a beteg kórtörténetében mikorra tehetők.

4.14.12.1 Komplement paraméterek változása autológ őssejt transzplantációt közvetlenül követő 28 napon keresztül

Vizsgáltuk a komplement paraméterek változását az autológ őssejt transzplantációt követően. Az elemzésbe bevont időszakot a 31. ábrán tüntettük fel.

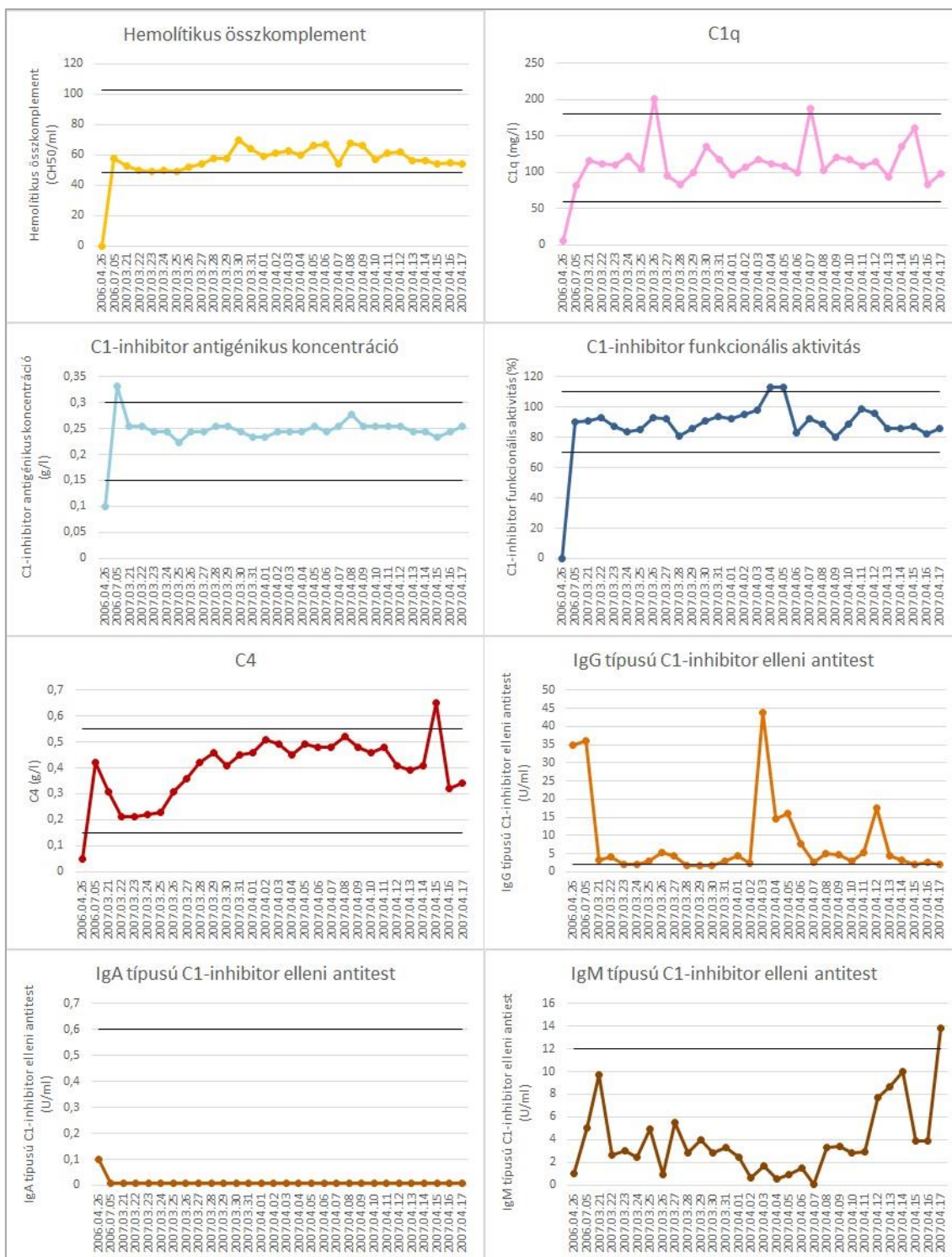


31. ábra: Autológ őssejt transzplantációt közvetlenül követő 28 napon keresztül végzett komplementvizsgálatba bevont időszak a beteg kórtörténetében (összehasonlításként az autológ őssejt transzplantációt közvetlenül megelőző mérési eredmények is bevonásra kerültek). VAD: vinkrisztin, doxorubicin, dexametazon kemoterápia, ASCT: autológ őssejt transzplantáció

Betegünk a mielóma multiplex diagnosztizálását követően VAD kemoterápián majd autológ őssejt transzplantáción esett át. Közvetlenül ezután 28 napon keresztül minden nap komplementvizsgálatot (CH50, C1q, C4, C3, C1-INH antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális aktivitás) végeztünk a beteg véréből.

Az összehasonlítás érdekében az ábrát kiegészítettük az alapteregség kezelését megelőző időszak utolsó komplement laboratóriumi vizsgálatának eredményével (1. mérési pont),

valamint egy komplement eredménnyel a VAD kemoterápiát követően, még az autológ őssejt transzplantáció előtti időszakból (2. mérési pont) (32. ábra)



32. ábra: Komplement paraméterek változása autológ őssejt transzplantációt követően.
 1. pont: alapbetegség kezelést megelőzően, 2. pont: kemoterápia után, autológ őssejt transzplantáció előtt, 3. ponttól: autológ őssejt transzplantációt közvetlenül követő 28 nap mérési pontja, vízszintes vonalak: referencia tartomány

4.14.12.2 Komplement paraméterek változása az alapbetegség kezeléséig hátralévő idő függvényében

Vizsgáltuk a komplement paraméterek változását a rituximab kezelést közvetlenül megelőző időszakban. Egyedül ennél a betegnél volt nagy időkülönbség két alapbetegség kezelés között úgy, hogy az első kezelést követően gyógyultnak volt tekinthető, ezért csak ennél a betegnél végeztük el ezt a vizsgálatot. Az elemzésbe bevont időszakokat a 33. ábrán tüntettük fel.



33. ábra: *A komplement paraméterek és az alapbetegség kezeléséig hátralévő idő összefüggésének vizsgálatába bevont időszakok a beteg kórtörténetében. VAD: vinkrisztin, doxorubicin, dexametazon kemoterápia, ASCT: autológ őssejt transzplantáció*

Feltételeztük, hogy az alapbetegség kezeléséhez közeledve a betegség súlyosbodásával lehet számolni (addigra lesz annyira súlyos, hogy kezelést igényeljen).

Vizsgáltuk a rituximab kezelést megelőző 9 évben az alapbetegség kezeléséig hátralévő idő korrelációját (Spearman) az egyes komplement paraméterekkel (CH50, C1q, C3, C4, C1-INH antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális aktivitás, C1-INH-Ab, CAC), tehát hogy az adott vérvételi eredményt mennyivel az alapbetegség kezelést megelőzően kaptuk. Korrelációt mutatott a CH50, C1q, C4, C1-INH antigénikus koncentráció és C1-INH funkcionális aktivitás szintje. (5. táblázat, 34. ábra)

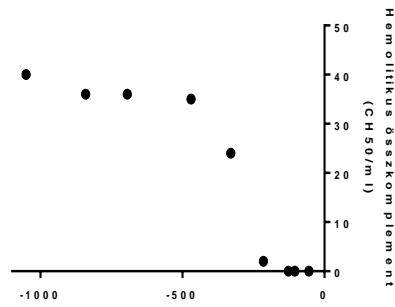
5 évvel a kemoterápiát és autológ őssejt transzplantációt követően elsőként a CH50 titer csökkent le, majd ezt követte fokozatosan 4 év alatt a C4, C1-INH funkcionális aktivitás, C1-INH antigénikus titer és a C1q csökkenő titere.

Rituximab kezelést követően a beteg komplement értékei normalizálódtak.

5. táblázat Korreláció a komplement értékek és az alapbetegség kezeléséig hátralévő idő között. CH50: hemolitikus összkomplement, C1-INH antigénikus konc.: C1-inhibitor antigénikus koncentráció, C1-INH funkcionális akt.: C1-inhibitor funkcionális aktivitás

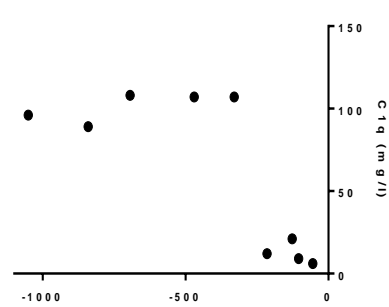
Komplement paraméterek és az alapbetegség kezeléséig hátralévő idő összefüggése		
	r-érték	p-érték
alapbetegség kezeléséig hátralévő idő vs CH50	-0,9789	<0,0001
alapbetegség kezeléséig hátralévő idő vs C1q	-0,728	0,0320
alapbetegség kezeléséig hátralévő idő vs C4	-0,9076	0,0015
alapbetegség kezeléséig hátralévő idő vs C1-INH antigénikus konc.	-0,7227	0,0336
alapbetegség kezeléséig hátralévő idő vs C1-INH funkcionális akt.	-0,7694	0,0225

Hemolitikus összkomplement szint változása az alapbetegség kezelésig hátralévő idő alapján (P 12)



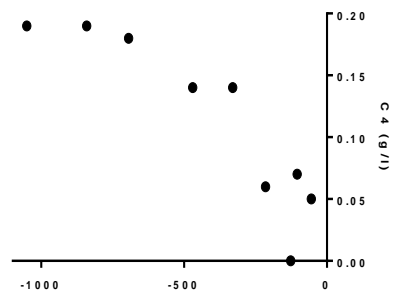
alapbetegség kezelésig hátralévő idő (nap)

C1q szint változása az alapbetegség kezelésig hátralévő idő alapján (P 12)



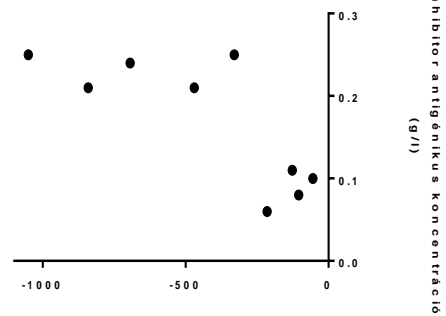
alapbetegség kezelésig hátralévő idő (nap)

C4 szint változása az alapbetegség kezelésig hátralévő idő alapján (P 12)



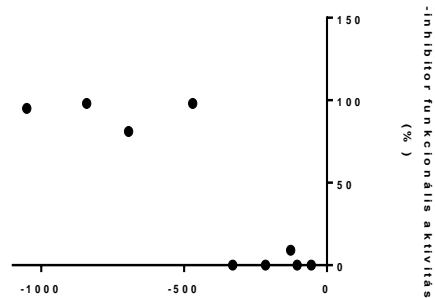
alapbetegség kezelésig hátralévő idő (nap)

C1-inhibitor antigénikus koncentráció változása az alapbetegség kezelésig hátralévő idő alapján (P 12)



alapbetegség kezelésig hátralévő idő (nap)

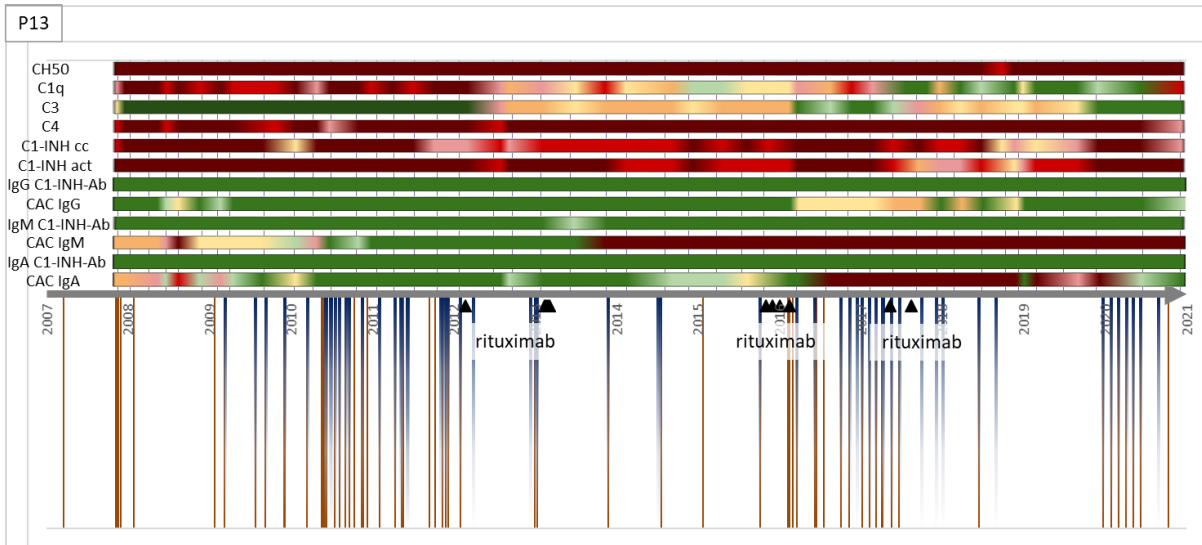
C1-inhibitor funkcionális aktivitás változása az alapbetegség kezelésig hátralévő idő alapján (P 12)



alapbetegség kezelésig hátralévő idő (nap)

34. ábra: Komplement paraméterek változása az alapbetegség kezelésig hátralévő idő alapján

4.14.13 P13

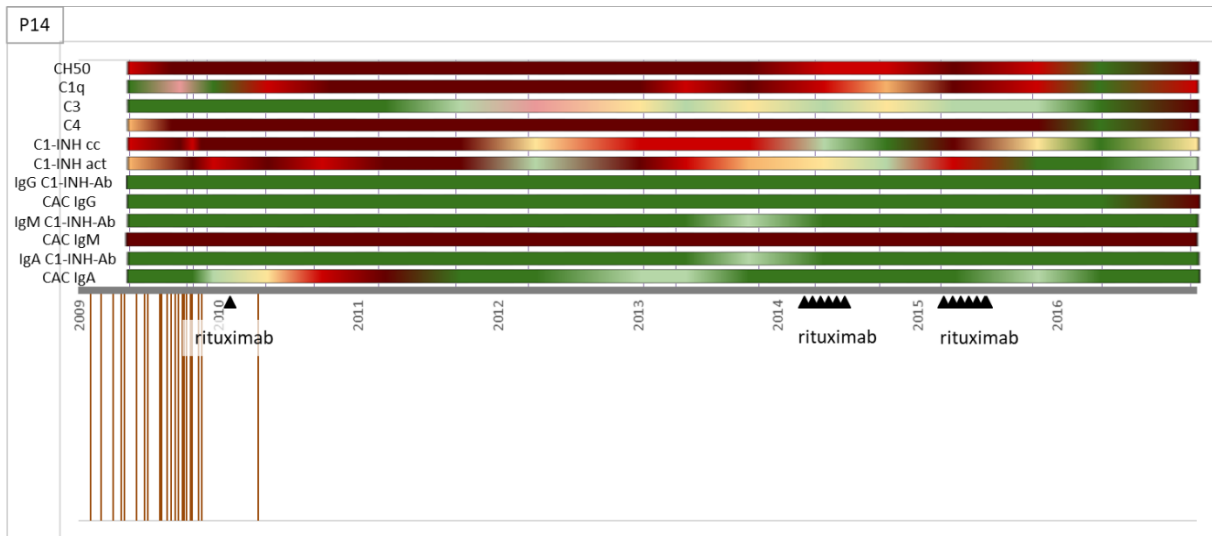


35. ábra. P13 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel.

Férfi betegünknel 41 éves korában diagnosztizáltak cukorbetegséget és krónikus magas vérnyomást. 46 éves korában limfómára utaló elváltozást találtak nála és első angioödémás rohamai is ekkor jelentek meg. Utóbbinak okát nem találták, a beteg 47 éves korában egy gégeödémát követően irányították Központunkba, ahol igazoltuk a C1-INH-AAE-t.

51 éves korában vált szükségessé az alapbetegség kezelése rituximabbal. Ezt követően a rohamok száma jelentősen lecsökkent, komplement értékei javultak. 54 éves korában újbóli rituximab kezeléssorozatot kapott 56 éves koráig. Ez alatt a 2 éves időszak alatt rohamai gyakrabban jelentkeztek, majd a kezeléssorozat befejezése után újra lecsökkentek. Ezt követően prosztatata megnagyobbodást diagnosztizáltak nála, azóta (4 éve) a limfóma lappangó fázisban van. Jelenleg, 13 éves nyomon követési idő után komplement értékei romló tendenciát mutatnak, ezért szoros megfigyelés alatt tartjuk a beteget. (35. ábra)

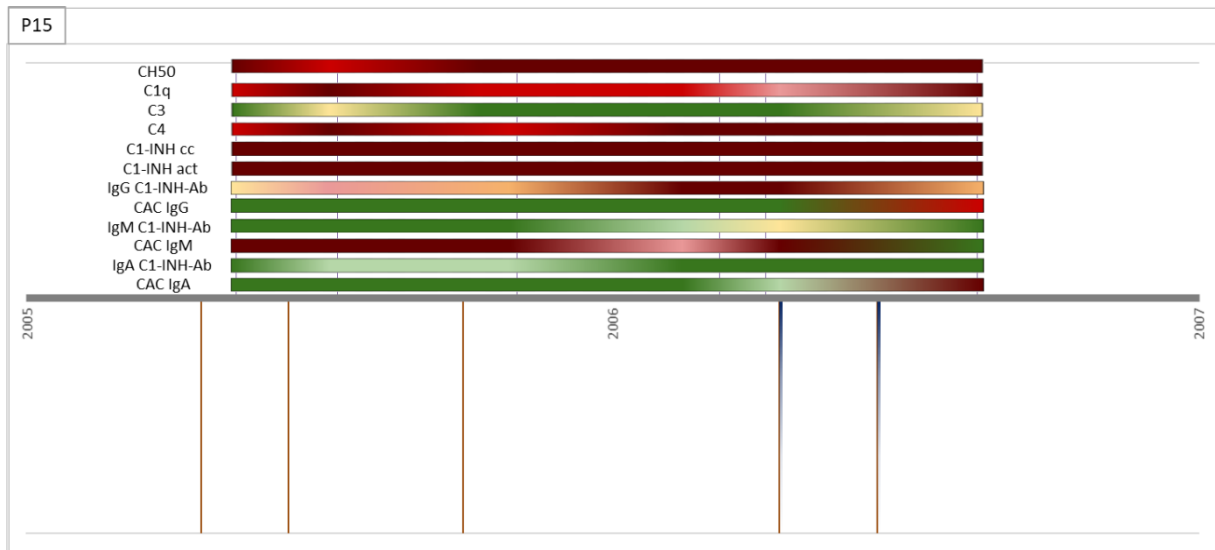
4.14.14 P14



36. ábra. P14 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel.

Nőbetegünk esetében 47 éves korban diagnosztizáltak krónikus magas vérnyomást. 62 éves korában tapasztalta az első angioödémás tüneteket görcsös hasi fájdalom formájában, miután elkezdett ACEI típusú vérnyomáscsökkentő szert szedni. Ennek kapcsán indult kivizsgálás, és hasi ultrahang vizsgálat szabad hasúri folyadékot mutatott. Ugyanebben az évben központunkba irányították, ahol igazoltuk a C1-INH-AAE-t. Az ezt követő részletes kivizsgálás vezetett a marginális zóna limfóma felfedezéséhez a beteg 63 éves korában, ekkor egy alkalommal kapott rituximab kezelést. Angioödémás rohama ezt követően csak egyszer fordult elő, néhány hónappal a kezelés után, komplement értékei jelentős változást nem mutattak. 67 évesen újra indokoltá vált az alapbetegség kezelése rituximabbal. Az első fél éves kezeléssorozatot követően komplement értékei közül a C1-INH antigénikus koncentráció és –funkcionális aktivitás normalizálódott, C1q értéke javult, de fél év után újra leromlottak. Újabb fél éves terápiát követően komplement értékek normalizálódtak, de további 1 év elteltével a beteg elhunyt az alapbetegsége miatt. (36. ábra)

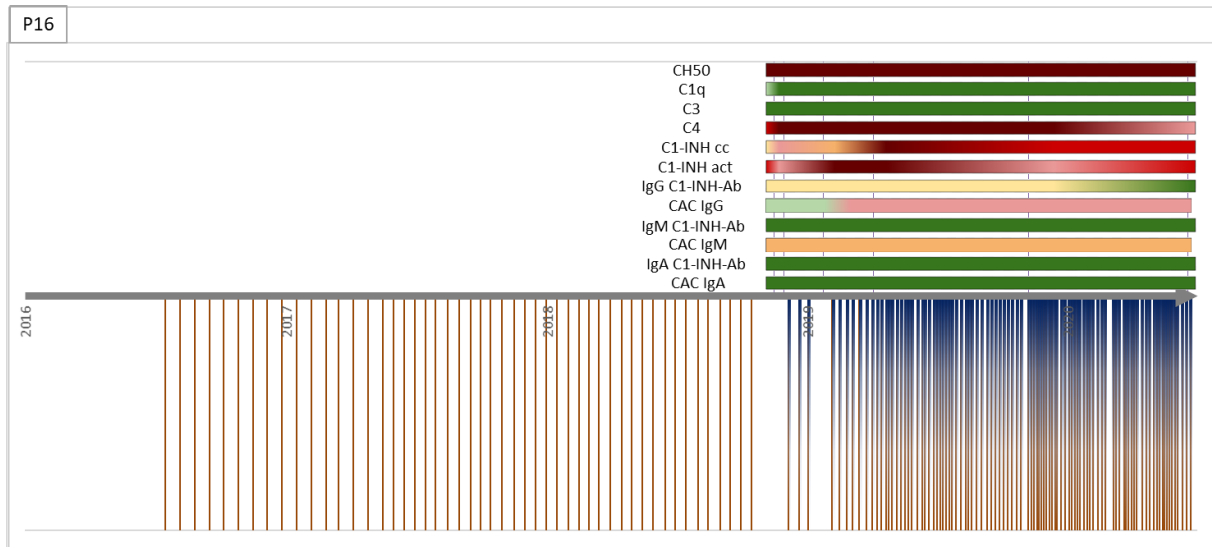
4.14.15 P15



37. ábra. P15 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel.

Férfi betegünk 47 éves korától krónikus hangszalaggyulladással küzdött, ami miatt 56 éves korában a hangszalagok eltávolítása mellett döntöttek. A krónikus magas vérnyomás diagnózisát követően ACEI szedését kezdte meg, majd 60 éves korától kezdve többszöri embólián és trombózison esett át, valamint angioödémás rohamai is ekkor jelentek meg. 67 éves korában az angioödémás rohamok sikertelen kezelése kapcsán indult kivizsgálás, melynek során a C1-INH-AAE kizárása okán irányították Központunkba. 1 éves nyomon követési időszakot követően a beteg többé nem jelent meg ellenőrző vizsgálaton, az addig eltelt idő alatt komplement értékei jelentős változást nem mutattak. (37. ábra)

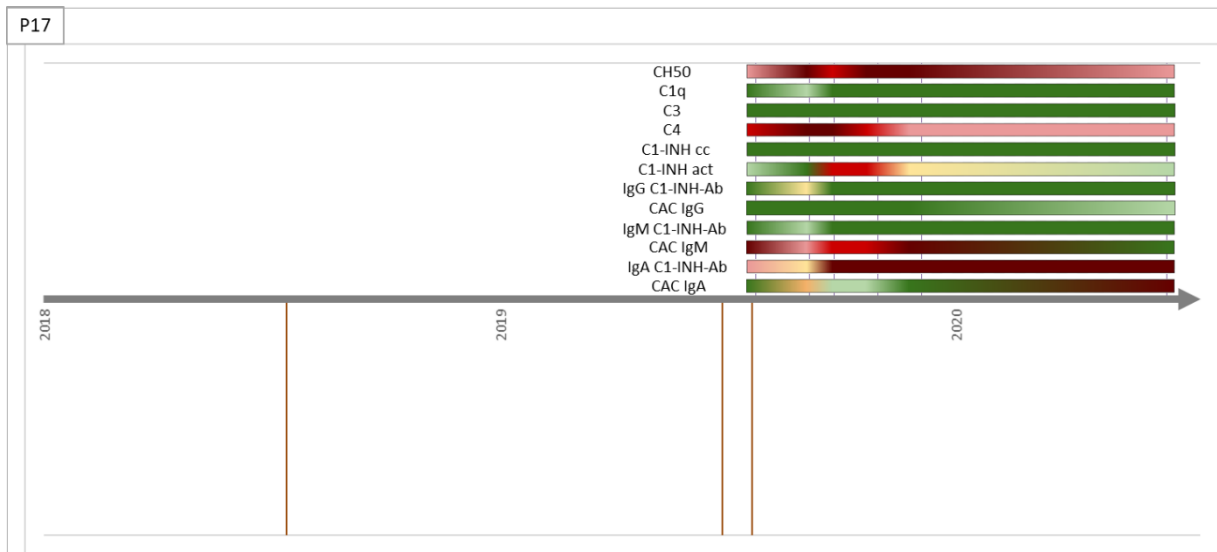
4.14.16 P16



38. ábra. P16 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel.

Férfi betegünk ismeretlen eredetű angioödémás rohamai 42 éves korában kezdődtek. Ennek hosszas kivizsgálását követően 44 éves korában diagnosztizáltuk a C1-INH-AAE-t, majd ugyanebben az évben az MGUS-t is. Rendkívül sok angioödémás rohama volt, komplement értékei változatlanok az eddigi 2 éves nyomon követési idő alatt. (38. ábra)

4.14.17 P17



39. ábra. P17 beteg idővonala a komplement paraméterek változásával, angioödémás rohamokkal és kezelésekkkel.

Férfi betegünknel 76 éves korban jelentkezett az első angioödémás tünet. 77 évesen gégeödémát követően indult kivizsgálás az ismeretlen eredetű, semmire nem reagáló ödémás epizódok okának felderítésére, így került Központunkba. A C1-INH-AAE diagnózisa kapcsán történt részletes vizsgálatok során derült fény az MGUS-ra. Az eddigi másfél éves követési idő alatt rohamai nem jelentkeztek, komplement értékei a C1-INH-Ab kivételével javuló tendenciát mutatnak. (39. ábra)

4.14.18 P18

Nőbetegünk 45 éves kora óta ismert és kezelt krónikus magas vérnyomás áll fenn, 50 éves kora óta cukorbeteg. ACEI típusú vérnyomáscsökkentő szedését követően 71 éves korban jelentek meg az első angioödémás tünetek. Ugyanebben az évben, a sikertelenül kezelt rohamok kivizsgálása vezetett a C1-INH-AAE diagnózisához, majd marginális zóna limfómát is diagnosztizáltak a betegnél. Utóbbi okán rituximab kezelésben részesült, ezt követően rohamai megszűntek. Komplementvizsgálaton a kezelés óta nem volt, így komplement értékeinek változása nem ismert. Nyomon követési ideje jelenleg 1 év.

4.14.19 P19

Férfi betegünk 43 éves korában tapasztalta az első angioödémás rohamot. Szintén ebben az évben autoimmun hemolitikus anémia gyanúja merült fel, ami miatt transzfúziót kapott, valamint májmegnagyobbodásra derült fény. Ugyanebben az évben az anémia okának részletes kivizsgálása során a komplementrendszer hiányos működése igazolódott, ami miatt Központunkba irányították és megerősítettük a C1-INH-AAE diagnózisát. Az 1 éves nyomon követési idő alatt komplement értékei nem változtak.

5. Megbeszélés

5.1 Demográfia

Központunk gondolja az összes magyarországi C1-INH-AAE és C1-INH hiányos beteget. A betegpopuláció mérete arányaiban nagyobb más országokéhoz képest, ahogy azt az 6. táblázat is mutatja:

6. táblázat Szerzett C1-inhibitor hiányos (C1-INH-AAE) betegek száma néhány további európai országban

Ország	C1-INH-AAE betegek száma (év) (publikáció)	Ország populációja
Magyarország	19 (1999-2020)	10 millió
Franciaország	92 (2013-2015) (31)	68 millió
Egyesült Királyság	26 (2010-2012) (54)	67 millió
Olaszország	77 (1976-2015) (17)	60 millió
Spanyolország	50 (2021) (55)	47 millió
Csehország	14 (2021) (22)	10 millió
Dánia	8 (2013) (47)	6 millió

Betegcsoportunkban a C1-INH-HAE:–AAE és szerzett C1-INH hiány arány 11:1, ami megfelel az irodalmi 10:1 aránynak. A C1-INH-AAE és szerzett C1-INH hiány gyakorisága a magyar populációban 1:500 000, ami más országok adataival – 1:100 000 – 1:500 000 - is párhuzamban van. (12-17, 56)

C1-INH-AAE-s és C1-INH hiányos betegeink között a nemek eloszlása egyenletes volt, ami más tanulmányokban is hasonlóan alakult. (23)

5.2 Angioödémás rohamokat kiváltó tényezők

A kiváltó tényezők között nálunk és más országokban is kiemelt szerep jut az ACEI típusú vérnyomáscsökkentőknek, valószínűleg a betegek magasabb életkora miatt jóval gyakrabban fordul elő vérnyomáscsökkentő gyógyszer (és így ACEI) szedése, mint fiatalabb korosztályokban. (15)

A mi betegsoportunkban előforduló mechanikai trauma, pszichés stressz, felső légúti fertőzés és étel okozta angioödémás rohamok mellett más kutatócsoportok leírták még a terhesség és ösztrogén tartalmú fogamzásgátló szerek kiváltó tényezői szerepét is. (14, 15, 22, 26)

5.3 Angioödémás rohamok a diagnózist megelőzően

C1-INH-AAE és szerzett C1-INH hiány legkorábban 40 éves korban jelent meg betegsoportunkban, ami egyezik az irodalomban található adatokkal (a betegek 94%-a az első angioödémás rohamot 40 éves kora után tapasztalja). (15, 17, 22, 23, 25, 47)

Betegeink körében a diagnózist megelőző időszakban (leszámítva az első angioödémás rohamot) a rohamok 7%-a volt gége ödéma, ami potenciálisan életveszélyes állapot kialakulásához vezet. Ugyan az első roham kialakulása nem kiszámítható, de minél korábbi diagnózissal az ezt követő rohamok is megfelelően elláthatók, így akár életmentő jelentősége is lehet a betegség korai felismerésének. A gége ödémán túl a nyelv és ajak ödémák (betegeink körében a rohamok 27,6%-a) is potenciálisan kiemelt veszélyt jelenthetnek, hiszen a nyelv ödéma a gégeödémához hasonlóan elzárhatja a légutakat, valamint az ajak, a nyelv és még az arc ödéma (betegeink körében a rohamok 15,6%-a) is könnyedén átterjedhet a gégére. (57)

A nemzetközi irodalomban nem tüntetik fel külön választva a diagnózist megelőző és az azt követő tüneteket.

5.4 Út a diagnózisig

15/19 beteg kapott konvencionális terápiát, mely minden esetben hatástalan volt az angioödémás rohamok kezelésében. A mindennapi gyakorlatban gyakori, hogy a C1-INH-AAE tüneteket allergiás reakcióként diagnosztizálják (mivel ez utóbbi sokkal gyakoribb) és ennek megfelelően kezelik, ami nem hoz eredményt. (47)

Az ACEI típusú gyógyszer által kiváltott AAE gyakori téves diagnózis C1-INH-AAE esetén, ami miatt a valós betegség diagnosztizálása későbbre tolódhat. A jelenleg érvényben lévő nemzetközi protokollok (58) szerint komplementvizsgálat csak akkor indokolt, ha az angioödémás rohamok még 6 hónappal az ACEI elhagyását követően is jelentkeznek. Életveszélyes állapot ez alatt a 6 hónap alatt is kialakulhat egy angioödémás roham következtében, így kutatócsoportunk ajánlása szerint a komplementvizsgálatot az

ACEI elhagyásával egyidőben kell elvégezni, ezt a módosított protokollt követjük a gyakorlatban is. (2)

Az átlagos késés a diagnózissal 4 év volt, míg nemzetközi szinten az első angioödémás rohamot követően átlagosan 10-12 hónap telik el a diagnózis felállításáig. (31, 35)

5.5 C1-INH-AAE diagnózisa

Minden betegünknek csökkent volt a CH50, C4, C1-INH antigénikus titer és – funkcionális aktivitás, amit az irodalom is alátámaszt. A diagnózis során vizsgált komplement paraméterek közül betegcsoportunkban a C1q titere az esetek 63%-ában volt csökkent, ami közelíti az irodalom által leírt 70%-os arányt. (56) Betegeinknél 47%, míg Bork betegeinek körében 44%-os (23), Gobert betegek között 50%-os volt a C1-INH-Ab előfordulása. (59)

Vizsgálatainkban a C1q is a többi paraméterhez hasonló jelentőséget mutatott. C1-INH-HAE-ban a C1q normál értéken van, így ennél a betegségnél a C1q változását nem követik, jellemzően nincs róla diagnosztikus adat az irodalomban azon túl, hogy normál tartományba esik. (60, 61)

Cicardi szerint a diagnosztikának határt szab a C1-INH funkcionális teszt szabványosításának hiánya, valamint az, hogy antitest vizsgálatokat csak erre specializált kutató laboratóriumok végeznek (mint például a miénk). (56)

5.6 CAC módszerfejlesztés és mérés

A mérés sikeres beállítását követően igazolható volt, hogy a fagyasztásnak nincs hatása a mért eredményekre. Ezt követően a 19 beteg összesen 193 mintáját mértük 15 évre visszamenőleg.

Ugyanúgy, ahogy a már említett spanyol tanulmányban (34), betegcsoportunkban sem mutat összefüggést a szabadon és komplexben keringő antitestek jelenléte: vannak olyan betegek, akiknél C1-INH-Ab van, és CAC nincs, van, akiknél C1-INH-Ab nincs és CAC van, illetve olyanok is vannak, akiknél mindkettő van, vagy egyik sincs. Az említett cikkben a szerzők csak van/nincs eredményt adnak az antitestek jelenlétére vonatkozóan, illetve negatív kontrollt nem használtak a mérések során. Mi a méréseket visszamenőlegesen is elvégeztük fagyasztott mintákon, így nyomon követésre is

alkalmasak az eredmények, míg a spanyol kutatócsoport keresztmetszeti vizsgálatot végzett.

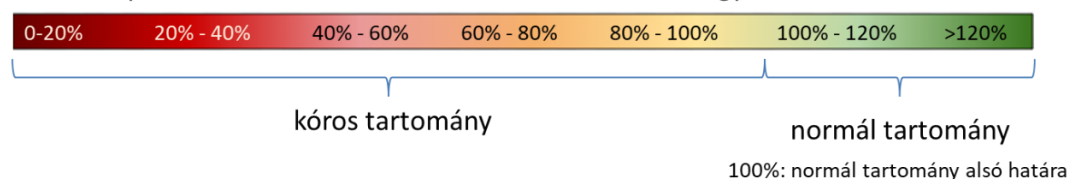
A diagnóziskori antitest vizsgálatok is már mutatják, hogy 9 olyan beteg van, akiknél a C1-INH-Ab mérések negatívak voltak, viszont az utólagos CAC mérés kimutatta antitestek jelenlétét. Ennek ismerete a diagnóziskor különböző terápiás stratégia kialakítását jelentheti.

Érdekes megfigyelés, hogy akinél vagy a C1-INH-Ab, vagy a CAC titere magas (+++), annál a másik formában jelenlévő antitest mennyisége nem lépi túl a normál tartományt (-). Ennek részletesebb vizsgálata, az egyedi idővonalak tanulmányozása elvezet minket ahhoz az észrevételhez, hogy azoknál a betegeknél, akiknél adott immunglobulin típusból a követési időszak alatt előfordul C1-INH-Ab és CAC forma is, ezek a paraméterek együtt változnak, ha az egyik csökken, a másik növekszik és fordítva. (29. ábra) Ebből arra következtetünk, hogy a szabadon és komplexben keringő antitestek egy dinamikus változó egyensúlyi állapotot hoznak létre, és az antitestek abszolút mennyisége közelítően állandó lehet.

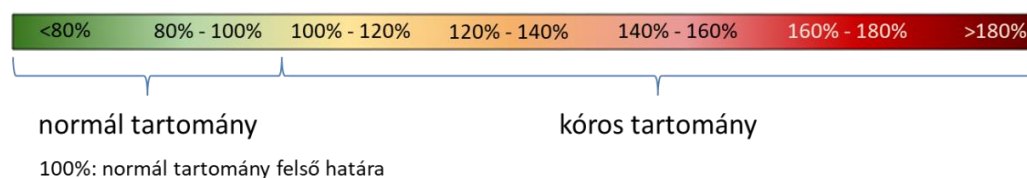
A CAC több betegnél fordul elő, mint a C1-INH-Ab, ami megerősíti azt az elképzelést, hogy a C1-INH-Ab kizárólagos mérése nem elegendő.

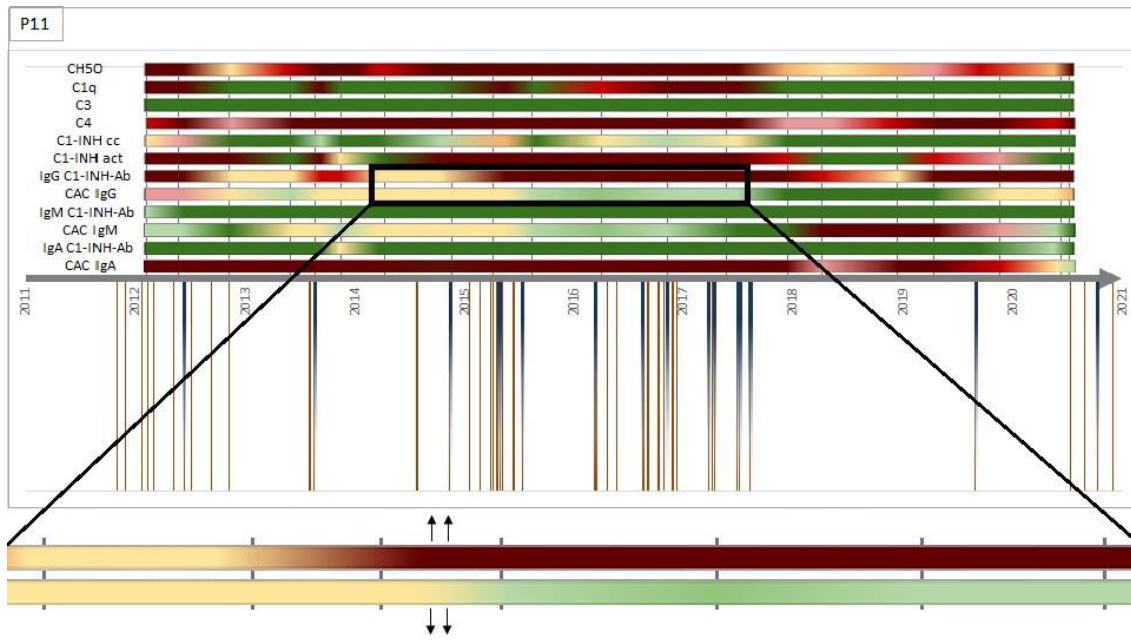
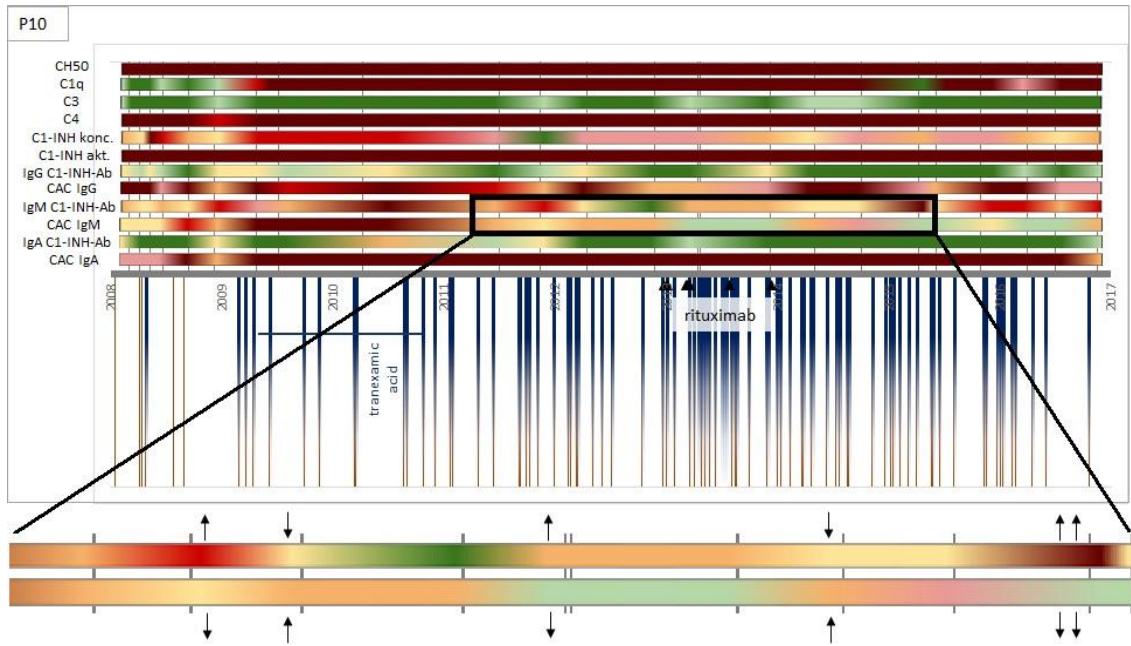
Diagnosztikai jelentőség rejlik abban is, hogy de novo C1-INH-HAE a CAC kimutatásával akár szekvenálása nélkül, gazdaságosabb módszerrel is kizárható még akkor is, ha C1-INH-Ab nem mutatható ki.

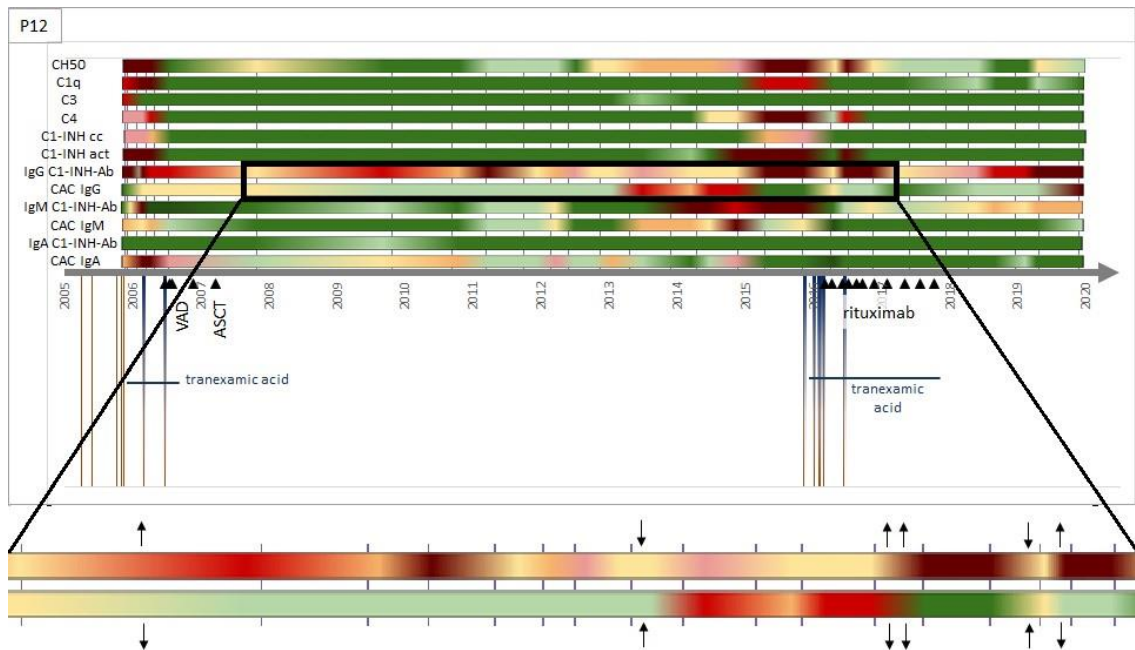
CH50, C1q, C3, C4, C1-INH konc és C1-INH akt. színskála magyarázat



C1-INH-Ab és CAC színskála magyarázat







40. ábra. C1-inhibitor antitestek és C1-inhibitor/C1-inhibitor antitest komplexek dinamikus együtt változása. CH50: hemolitikus öszskomplement, C1-INH konc.: C1-inhibitor antigénikus koncentráció, C1-INH akt.: C1-inhibitor funkcionális aktivitás, C1-INH-Ab: C1-inhibitor elleni antitestek, CAC: C1-inhibitor / C1-inhibitor elleni antitest komplex, VAD: vincristin, doxorubicin, dexamethasone kemoterápia, ASCT: autológ őssejt transzplantáció

5.8 Alapbetegség diagnózisa

C1-INH-AAE és szerzett C1-INH hiány gyakran társul alapbetegségekkel, főként hemato-onkológiai típusúakkal. Betegcsoportunkban 15/19 betegnél diagnosztizáltak alapbetegséget, közülük 13 beteg esetében erre a C1-INH-AAE diagnózisát követően került sor. Az alapbetegsége leggyakrabban a C1-INH-AAE diagnózisát követően derül fény. (15, 62)

Magyarországon a NHL-k előfordulása 1:1000 (Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő 2019-es adata alapján), míg betegcsoportunkban 1:3,17 ez az arány. Leggyakoribb NHL típus a MZL volt. Cugno elemzése szerint a NHL-k nagyobb gyakorisággal fordulnak elő a C1-INH-AAE és C1-INH hiányosok körében, mint a normál populációban (63, 64), ami Magyarországra is igaz. A leggyakrabban előforduló NHL típusok a MZL és a Waldenström-szindróma. (63)

Betegcsoportunkban 63%-os volt a limfóma és MGUS összes előfordulása, míg az irodalom 70%-nál is magasabb gyakoriságot ad meg a limfoproliferatív alapbetegségek előfordulásaként. (65, 66) MGUS (akár önállóan, akár a limfómát megelőzően) a betegeink 32%-ánál fordult elő, ami szintén közelít az irodalomban jegyzett 30-35%-os gyakorisághoz. (31. 63) Ezzel szemben az MGUS-ra is igaz, hogy a normál populációban sokkal kisebb az előfordulás gyakorisága, a 70 év alatti népességben 3%. (63)

5.9 Angioödémás rohamok a nyomon követési idő alatt

Betegcsoportunkban az arc ödéma fordult elő a leggyakrabban, amit a nyelv-ajak-, végtag-, bélrendszeri-, gége-, multi-, és végül a genitália lokalizációjában kialakuló ödémák követtek. Az irodalom szerint az arcödéma a leggyakoribb ödéma típus C1-INH-AAE betegek körében, majd ezt követi a bélrendszeri-, végtag-, felső légúti-, nyelv-ajak- és genitális ödémák előfordulásának gyakorisága. (31)

Betegeink körében a rohamok 7%-a érintette a gégét. A magyar C1-INH-HAE betegek körében ez az arány 4%-os (67), míg korábbi nemzetközi tanulmányok 1%-ról számolnak be (68).

C1-INH-HAE esetében a nők körében gyakoribbak az angioödémás rohamok, amik hormonális okokra (ösztrógen, fogamzásgátlók) vezethetők vissza. C1-INH-AAE-nél a magasabb életkor, és a genetikai háttér hiánya miatt ezek a faktorok kisebb mértékben befolyásolják a rohamszámot. (13)

Erythema marginatumot a betegeink 10%-a tapasztalt átmenetileg, míg Bork szerint ez a betegek 4,5%-ánál fordul elő. (23)

5.10 Komplement paraméterek és klinikai tünetek közötti összefüggések

5.10.1 A klasszikus útvonal elemei és a klinikai tünetek közötti összefüggések

A klasszikus útvonal elemei közül a CH50 mutat összefüggést az angioödémás rohamokkal nem csak a vérvételt megelőző időszakra vonatkozóan, hanem prediktív módon a vérvételt követő időszakra vonatkozóan is.

5.10.2. C1-INH elleni antitestek és a klinikai tünetek közötti összefüggések

Az irodalom szerint C1-INH-Ab jelenléte magasabb rohamszámmal jár együtt. (17, 23, 69) Betegcsoportunkban vizsgálva a magasabb antitest titer (C1-INH-Ab és CAC) nem

járt együtt magasabb rohamszámmal, tehát nem tudtuk alátámasztani az előbbi feltételezést.

5.11 Angioödémás rohamok kezelése

5.11.1 Elsődleges profilaxis

Azon betegek, akiknél ACEI típusú vérnyomáscsökkentő gyógyszer szedése előzte meg az angioödémás rohamok megjelenését a lehető leghamarabb elhagyták ezt a gyógyszert, így nem volt lehetőség annak vizsgálatára, hogy ilyen gyógyszer szedése mellett hogyan alakulnak az angioödémás rohamok. Az irodalomban számos példa bizonyítja az ACEI típusú vérnyomáscsökkentők angioödémát kiváltó hatását. (2, 20, 59, 61)

Az irodalomban nem találtunk kapcsolatot a gluténérzékenység és a C1-INH-AAE között, viszont amennyiben az angioödémás rohamok kiváltó okaként tekintünk a glutén fogyasztásra, elsődleges profilaxisként a gluténmentes diéta csökkentheti a rohamok gyakoriságát.

Az irodalom nem tesz utalást arra sem, hogy szorongás csökkentő gyógyszerek enyhítenék az angioödémás tünetek, viszont amennyiben a rohamok kiváltó oka a pszichés stressz, úgy könnyen elképzelhető, hogy elsődleges profilaxisként hat ennek a kiváltó oknak az oldása.

5.11.2 Akut kezelés

Az akut rohamok kezelése mindegyik alkalmazott gyógyszerrel (pdC1-INH, rhC1-INH, icatibant) sikeres volt, ugyanúgy, ahogy az irodalmi adatok is állítják. (23, 59, 69)

A pdC1-INH javasolt mennyisége 20 IU/ttkg rohamonként. (52) Egy betegünkönél (P10) tapasztaltuk, hogy ez a mennyiség nem elegendő az angioödémás rohamok megszüntetésére. Az irodalom szerint ritka esetben, jellemzően C1-INH-Ab kóros titerrel mellett az ajánlottnál magasabb dózisu pdC1-INH adása szükséges. (17, 23, 59, 69-71) Tekintettel arra, hogy 11 betegünkönél mutattunk ki C1-INH-Ab-t és közülük csupán egy volt az, aki a javasoltnál nagyobb mennyiségű pdC1-INH-t igényelt az angioödémás rohamok kezelésére, valószínűsíthető, hogy más mechanizmus is közrejátszik a terápiás válasz különbözőségében. Ez utóbbi megfigyelésünket alátámasztja Agostoni vizsgálata is, aki szerint a C1-INH-Ab jelenléte nem indokolja a C1 túlzott aktiválódását. (70, 71)

A P10 azonosítójú beteg esetében magas volt az IgM típusú C1-INH-Ab, viszont ami még szembe tűnőbb, hogy ennél a betegnél volt a legmagasabb a CAC-ok mennyisége (IgG: +++, IgM: ++, IgA: +++). Agostoni szerint az alapbetegségen kívül C1-INH-Ab immunkomplexek is szerepet játszhatnak a magasabb pdC1-INH szükségességének összetett folyamatában. (70, 71)

Egy betegnél (P8) tapasztaltuk, hogy egy alkalommal alkalmazott pdC1-INH kezelés hosszú távon megszüntette az angioödémás rohamokat, amihez hasonlókat nem találtunk az irodalomban.

5.11.3 Rövid távú profilaxis

Betegeink körében rövid távú profilaxis alkalmazása esetén minden esetben elkerülhetők voltak a potenciálisan kialakuló angioödémás rohamok. Leggyakrabban fogászati beavatkozásokkor merült fel az igény a rövid távú profilaxis alkalmazására, csak úgy, mint ahogy azt az irodalomban is megtalálhatjuk. (72)

5.11.4 Hosszú távú profilaxis

Hosszú távú profilaxis bevezetése előtt számos szempontot figyelembe kell venni és mérlegelni, mint például a beteg életkorát, alap- és egyéb társuló betegségeit, a többi gyógyszert, amit szed az esetleges gyógyszer interakciók okán, a tranexámsav (trombózis kialakulásának veszélye) és danazol mellékhatásait (testtömeg gyarapodás, férfias jellegű erősödése, magas vérnyomás (53)) és a beteg preferenciáit.

Betegeink 16%-a kapott hosszú távú profilaktikus kezelést, amely egyik esetben sem hozta meg a várt hatást az angioödémás rohamok csökkentése tekintetében, és a komplement paraméterek sem javultak számottevő mértékben a kezelés mellett.

Három hosszú távú profilaxist szedő beteg közül egynél találtunk enyhén szignifikáns változást egy (a két beteg esetében különböző) komplement paraméterben a profilaxis alkalmazása alatt. Ez alátámasztja azt a megfigyelést is, hogy a klinikai tünetek nem enyhültek ebben az időszakban sem.

Más betegcsoportokban jóval magasabb arányú a profilaktikus kezelés aránya: Gobert: 83% (31); Bork: 45% (23); Bygum: 88% (47); Zanichelli: 58% (17). Gobert tanulmányában 6/45 betegnél fordult elő tromboembólia tranexámsav szedése mellett, akik közül 3 betegnek volt genetikai vagy egyéb trombózisra való hajlama

(antifoszfolipid szindróma, anti-trombin II hiány, kiterjedt B-sejtes limfóma). (31, 59) Zanichelli-nél a 34 beteget magába foglaló csoportban 4-en szenvedtek tromboembóliás mellékhatás miatt, de közülük 3-an ezt követően újrakezdték a tranexámsav szedését a megfelelő mennyiségű antikoaguláns szer szedése mellett. (23)

A danazol és tranexámsav hosszú távú profilaxisként történő alkalmazását több kutatócsoport is hatékonynak találta, 71-85%-os mértékben. (29, 47, 65, 73-75)

Megemlítendő, hogy P7-nél C1-INH-Ab nem volt kimutatható, viszont a danazol szedés időszakában magas volt a CAC IgM és CAC IgA szintje. Korábbi kutatások szerint a danazol terápia hatástalan azon betegek körében, akiknél emelkedett a C1-INH-Ab szint (71, 76), ez akkor is fennállhat, ha az antitest komplexben (CAC) van.

5.12 Alapbetegség kezelés

A C1-INH hiányos betegek esetében az alapbetegség kezelése kiemelt jelentőségű, mivel az angioödémás rohamok gyakoriságát is csökkenteni tudja, vagy akár teljesen meg is szünteti azokat.

A kemoterápiás szerek, melyeket a malignus limfoproliferatív alapbetegségek kezelésére használnak hatékonynak bizonyultak a C1-INH-AAE-re nézve is. (14, 41-46, 76)Egyik betegünk esetében a kemoterápiát közvetlenül követte az autológ őssejt transzplantációs kezelés, amit követően a C1-INH-AAE (és az alapbetegség is) évekig tünetmentes volt. Egy betegünk kapott rituximab kezelést a gyakori angioödémás rohamok okán, és ezt követően tünetmentessé vált (jelenleg 4 éve). Több kutatócsoport is leírta, hogy rituximab kezelés alkalmazható gyakori angioödémás rohamok fennállásakor, olyan esetekben is, amikor alapbetegség még nem került diagnosztizálásra. (59, 63, 76, 77) Habár felmerült a kérdés, hogy biztonságos-e egy immunszuppresszív kezelés az ilyen betegek esetében (78), Kaegi leírja, hogy a rituximab kezelés biztonságosan alkalmazható többek között C1-INH-AAE-ben is. (79)

5.13 Rituximab kezelés, klinikai tünetek és a komplement paraméterek összefüggése

5.13.1 Kezelést nem igénylő alapbetegséggel rendelkező betegek klinikai tünetei

Azoknál a betegeknél, akik nem kaptak alapbetegség kezelést, nem tapasztaltunk javulást az angioödémás rohamok számában. Megfontolandó az alapbetegség kezelés

alkalmazása az angioödémás rohamok számának csökkentése céljából olyan esetekben is, amikor az alapbetegség önmagában ezt még nem indokolná.

5.13.2 Rituximab kezelést kapott betegek klinikai tünetei

Betegeink 5/7 esetben tünetmentessé váltak az alapbetegség kezelését követően és egy további esetben csökkent a rohamok száma.

Az irodalom is alátámasztja, hogy az alapbetegség kezelése pozitívan hat az angioödémás rohamokra, valamint feltételezhetően csökkenti a limfoproliferatív és autoimmun alapbetegségek kialakulásának kockázatát. (14, 40)

5.13.3 Komplement paraméterek változása rituximab kezelés hatására

A rituximab gyakori kezelési módja az alapbetegségnek (limfóma), de emellett a gyakori angioödémás rohamok kezelése okán is egyre nagyobb figyelmet kap. (31, 80)

Elemzéseink alapján a CH50 titer jelentősen emelkedett vagy nem változott, a C1q titer többnyire emelkedett, a C4 titer emelkedett vagy nem változott, a C1-INH antigénikus titer és –funkcionális aktivitás minden beteg esetében emelkedett. Antitestek (C1-INH-Ab és CAC) esetében a normál tartományon belül változó eredményeket nem vettük változásnak, mivel ezek feltételezhetően a mérés bizonytalanságából adódó eltérések. Az IgG típusú C1-INH-Ab 2 betegnél csökkent, az IgA típusú C1-INH-Ab 1 betegnél minimálisan növekedett, az IgM típusú C1-INH-Ab 2 betegnél csökkent. A CAC IgG 1 betegnél növekedett, 1 esetben nem változott, a CAC IgM változó tendenciát mutatott, a CAC IgA 3 betegnél csökkent, 1-nél nőtt.

Az a beteg (P10), akinek az angioödémás rohamai nem csökkentek le az alapbetegség kezelését követően, a komplement eredményei sem mutattak javulást, az ő eredményei azok az előző felsorolásból, amik még romlottak is.

A vizsgált eredmények nem mutattak szignifikáns eltérést, egyrészt valószínűleg a P10-es beteg eredményei miatt, másrészt a betegek alacsony száma miatt, így a jövőben további betegek esetén az elemzés kiegészítését tervezzük.

A rituximab kezelés hatása az antitestek csökkenésére nem meglepő, hiszen a rituximab a B-sejtek halálát idézi elő, így nagy valószínűséggel azok a B-sejt klónok is elpusztulnak, amelyek a C1-INH elleni antitesteket (szabad és komplex) termelik.

5.14 Hosszú távú nyomon követés betegenként

A betegek átlagos követési ideje 6 év volt. Az irodalom többnyire keresztmetszeti vizsgálatokat ír le, követéses tanulmányok ritkán fordulnak elő, csak jellemzően egy-egy kezelési módra fókuszálva. (40, 62)

Az irodalomban nem találtunk példát a komplement paraméterek hosszú távú, részletes nyomon követésére C1-INH-AAE-ben, így kutatásunk ilyen szempontból egyedülálló. A továbbiakban kiemeljük azokat a megfigyeléseinket, amiket a követési időszakban tapasztalt társuló betegségek kapcsán nyertünk, a kezelés alapján különlegesség, vagy olyan betegség, amire nem gondolnánk, hogy kapcsolatban lehet a C1-INH-AAE-vel.

5.14.1 Komplement paraméterek változása autológ őssejt transzplantációt közvetlenül követő 28 napon keresztül

A grafikonok első pontja mutatja a kezeléseket megelőző eredményeket, második pontja pedig a kemoterápiát követő, autológ őssejt transzplantációt megelőző állapotot. Már a második pont jelentős javulást mutat, az értékek a normál tartományba, vagy annak közelébe esnek. Ez alól kivételt képez az IgG típusú C1-INH-Ab értéke, ami az autológ őssejt transzplantációt követően csökkent le. Megfigyelhetők kiugró értéket az ábrán (IgG C1-INH-Ab), ami a beteg lázas állapotára vezethető vissza, amit antibiotikummal kezeltek (imipenem, cilastatin).

Az autológ őssejt transzplantáció után az értékek stabilizálódtak, a normál tartományban maradtak (további 5 évig) (1-1 kiugró értéktől eltekintve).

Mivel a két kezelés időben egymáshoz nagyon közel esett, így hatásuk nem szétválasztható, de az eredmények így is egyértelműen mutatják az alapbetegség kezelésének pozitív hatását.

5.14.2 Komplement paraméterek változása az alapbetegség kezeléséig hátralévő idő függvényében

Vizsgálatunk alapfelvetése az volt, hogy az alapbetegség diagnózisához illetve kezeléséhez közeledve az alapbetegség egyre súlyosabbá válik (annyira, hogy az kezelést igényeljen), és ezzel párhuzamosan a komplement paraméterek értékei is egyre romlanak.

Ennél a betegünknel ez beigazolódott, a hosszú távú nyomon követést a jövőben is folytatjuk a többi betegnél is az eredmény megerősítése érdekében.

6. Következtetések

1) Érdemes a CAC vizsgálata, nyerhetünk további információt ezzel a méréssel?

A CAC titerek változása alkalmas a C1-INH-AAE monitorozására. B-sejtes limfómában szenvedő betegek esetében kiemelt fontosságú a CAC vizsgálata a C1-INH-Ab titerek mellett, mert van olyan beteg, akinél C1-INH-Ab nem mutatható ki, de CAC igen, így fontos információt tévesztünk szem elől a diagnosztika során, ha csak az egyik paramétert vizsgáljuk.

Danzol, mint hosszú távú profilaxis bevezetése előtt fontos információ, hogy a betegnek vannak-e C1-INH elleni antitestjei (ilyen esetben a terápia hatástalan). Kizárólag a szabadon keringő antitestek vizsgálata téves információt adhat a kezelő orvosnak és felesleges terhet ró a betegre, ami a CAC vizsgálatával kiküszöbölhető, segítségével hatékonyabb kezelés tervezhető a betegnek.

A CAC vizsgálatával kizárható a de novo C1-INH-HAE abban az esetben is, ha C1-INH-Ab nem mutatható ki.

2) Van különbség a nemek között a rohamok száma, lokalizációja és a komplement paraméterek tekintetében?

Eredményeink alapján az angioödémás rohamok lokalizációjában eltérés adódik a nemek között, viszont a komplement paraméterek tekintetében nincs különbség.

3) Van összefüggés a komplement paraméterek és a C1-INH-AAE klinikai tünetei és kezelése között?

A komplement paraméterek közül a CH50 mutatott összefüggést a rohamok gyakoriságával nem csak visszamenőleg, hanem a jövőre vonatkozóan is, így predikciós biomarkernek is tekinthető C1-INH-AAE esetében (szemben a C1-INH-HAE-vel, ahol összefüggés nem tárható fel).

4) Mennyire volt hatásos a hosszú távú profilaxis betegcsoportunkban?

A hosszú távú profilaxis mellékhatásai miatt széles körben nem alkalmazható. A kis betegszám miatt messzemenő következtetések levonására elemzésünk nem alkalmas, de 3 betegünk közül ez a kezelési módszer egyikük számára sem hozott számottevő javulást.

5) A klinikai tünetek összefüggésben állnak a rituximab kezeléssel?

Erősen lecsökkent a rohamok éves száma azoknál a betegeknél, akik kaptak rituximab kezelést, több esetben a rohamok teljesen megszűntek. A rohamok magas száma önmagában is indokolja a rituximab kezelést (elegendő kisebb dózisban, mint alapbetegség kezelésként)

6) Van kapcsolat a komplement paraméterek és a rituximab kezelés között?

Az alapbetegség kezelését követően javultak a komplement értékek. Azon betegek körében, akik végül elhunytak az alapbetegség következtében, a komplement paraméterek is súlyosan alacsony szinten voltak.

7) A komplement paraméterek alakulása előre jelezheti a C1-INH-AAE, illetve az alapbetegség aktivitásának változását?

Alacsonyabb CH50 érték több rohamot prediktál.

Egy betegünk esetén a hosszú követési idő és a többszöri alapbetegség kezelés lehetővé tette a célkitűzés elemzését. Az ő esetében a komplement paraméterek romlása évekkal előre jelezte az alapbetegség kiújulását.

8) Kialakítható egy hatékonyabb terápiás stratégia?

A komplement paraméterek szoros nyomon követése és az adatok elemzése nagyban elősegíti a C1-INH-AAE kórfolyamatának tanulmányozását, valamint a C1-INH-AAE és az alapbetegség jövőbeni alakulásának megítélését. Vizsgálatainkat a jövőben is hasonló részletességgel végezzük, mivel bizonyítást nyert, hogy a betegek ellátásában nagy segítséget jelent nem csak az aktuális komplement értékek figyelembe vétele, hanem az értékek összehasonlítása a korábbi évek adataival. Az ilyen jellegű áttekintés növeli a terápia hatékonyságát, segíti a predikciót, ez pedig objektív kezelési stratégia kialakítását teszi lehetővé. Újonnan bevezetett paraméterünk a CAC további szükséges információval tudja ellátni a kezelő orvost, ami befolyással lehet a további terápiára.

Rituximab kezelés alkalmazása indokolt lehet gyakori angioödémás rohamok esetén is, nem csak olyankor, amikor ezt az alapbetegség szükségessé teszi.

7. Összefoglalás

A C1-INH-AAE annak ellenére, hogy rendkívül ritka betegség, jelentősége vitathatatlan, hiszen a betegség potenciálisan életveszélyes állapot kialakulásához vezethet, hosszú távon pedig súlyos kórfolyamatok előre jelzője lehet, mivel gyakran társul limfoproliferatív alapbetegségekkel.

A CAC mérés fejlesztésével olyan új módszert dolgoztunk ki, mely nem csak az eddigi eredményekhez tett hozzá fontos megfigyeléseket, de a jövőben is fontos kiegészítője lehet nem csak a C1-INH-AAE és szerzett C1-INH hiány diagnosztikájának, ezen betegségek rendszeres nyomon követésének, de a hosszú távú profilaxis bevezetésének döntésében is jelentős információval szolgál, valamint a C1-INH-HAE diagnosztikájához is hozzájárulhat.

Vizsgálataink megerősítik, hogy az alapbetegség feltárása alapvető fontosságú, mivel ennek kezelése csökkenti vagy megszünteti az angioödémás epizódok kialakulását. A rituximab hatékony kezelés lehet olyan esetekben is, amikor alapbetegség nem tárható fel, vagy nyugalomban van, de az angioödémás rohamok gyakran jelentkeznek.

Tanulmányunk egyedülálló olyan szempontból, hogy ugyan vizsgáltak már más kutatócsoportok is egy-egy komplement paramétert bizonyos alapbetegség kezeléseket (rituximab) követően, de ilyen átfogó munkát a részletes komplementprofilváltozásról a C1-INH-AAE és alapbetegség kezelésekkkel és klinikai tünetekkel összefüggésben, és ilyen hosszú távú követést korábban még nem írtak le.

Mivel a C1-INH-AAE gyakran alapbetegségekhez társul, ezért kiemelten fontos a különböző területtel foglalkozó szakemberek együttműködése. A hosszú távú kezelési stratégia kialakításához elengedhetetlen segítséget nyújt a komplement paraméterek monitorozása. Az alapbetegség kezelés nem csak ideiglenesen, hanem hosszú távon is javulást jelenthet az angioödémás rohamok tekintetében, a komplementvizsgálatok részletes elemzése pedig előre jelezheti az angioödémás rohamok mellett az alapbetegség jövőbeli esetleges aktiválódását is. Az alapbetegség minél korábbi diagnózisa jobb túlélési esélyeket biztosít a betegek számára, és kisebb terhet ró az egészségügyi ellátó rendszerre is.

8. Summary

Despite being an extremely rare disease, the significance of C1-INH-AAE is indisputable, since the disease may lead to a life-threatening state, and may be the sign of severe disorders on the long run, due to the lymphoproliferative underlying diseases which it often accompanies.

By improving the CAC measurement, we developed a new method which not only added important observations to the previous data but may be an important accessory of the diagnostics and regular follow-up of C1-INH-AAE and acquired C1-INH deficiency in the future, and it also provides considerable information for the decision about long term prophylaxis and may contribute to the diagnosis of C1-INH-HAE.

Our tests confirm that the exploration of the underlying disease is critical since its treatment decreases or ceases the development of angioedematous episodes. Rituximab can be an effective treatment option in cases where the underlying disease cannot be explored, or it is in remission, but angioedema episodes occur frequently.

Our research is unique because even though other research groups also investigated complement parameters after the treatment of certain underlying diseases (rituximab), but no such extensive study was published regarding the complement profile change in C1-INH-AAE and the underlying disease treatment and clinical symptoms earlier.

Since C1-INH-AAE often accompanies underlying diseases, it is especially important for professionals from different areas of expertise to collaborate. Monitoring the complement parameters is indispensable to develop a long-term treatment strategy. Treating the underlying disease may not only improve angioedematous attacks temporarily, but also on the long run, and the thorough analysis of complement testing may predict angioedematous attacks and the potential activation of the underlying disease in the future as well. The sooner the diagnosis of the underlying disease is established, the better survival chance it provides to the patient and puts a smaller burden to the healthcare system.

9. Irodalomjegyzék

1. Marcelino-Rodriguez I, Callero A, Mendoza-Alvarez A, Perez-Rodriguez E, Barrios-Recio J, Garcia-Robaina JC, Flores C. (2020) Corrigendum: Bradykinin-Mediated Angioedema: An Update of the Genetic Causes and the Impact of Genomics. *Front Genet.* 11:690. doi: 10.3389/fgene.2020.00690
2. Balla Z, Zsilinszky Z, Pólai Z, Andrási N, Kóhalmi KV, Csuka D, Varga L, Farkas H. (2021) The Importance of Complement Testing in Acquired Angioedema Related to Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 9:947-955. doi: 10.1016/j.jaip.2020.08.052
3. Gadjeva M. (2014) The complement system. Overview. *Methods Mol Biol.* 1100:1-9. doi: 10.1007/978-1-62703-724-2_1
4. Sim RB, Tsiftoglou SA. (2004) Proteases of the complement system. *Biochem Soc Trans.* 32:21-27. doi: 10.1042/bst0320021
5. Gialeli C, Gungor B, Blom AM. (2018) Novel potential inhibitors of complement system and their roles in complement regulation and beyond. *Mol Immunol.* 102:73-83. doi: 10.1016/j.molimm.2018.05.023
6. Erdei A, Sármay G, Prechl J. *Immunológia. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2012*
7. Girardi G, Lingo JJ, Fleming SD, Regal JF (2020) Essential Role of Complement in Pregnancy: From Implantation to Parturition and Beyond. *Front Immunol.* 11:1681. doi: 10.3389/fimmu.2020.01681
8. Kaplan AP, Ghebrehiwet B. (2010) The plasma bradykinin-forming pathways and its interrelationships with complement. *Mol Immunol.* 47:2161-2169. doi: 10.1016/j.molimm.2010.05.010
9. Fawzy MS, Toraih EA. (2015) Data supporting the structural and functional characterization of Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor in breast cancer. *Data Brief.* 5:981-989. doi: 10.1016/j.dib.2015.10.043
10. Levi M, Cohn DM, Zeerleder S. (2019) Hereditary angioedema: Linking complement regulation to the coagulation system. *Res Pract Thromb Haemost.* 3:38-43. doi: 10.1002/rth2.12175
11. Caldwell JR, Ruddy S, Schur PH, Austen KF. (1972) Acquired C1-inhibitor deficiency in Lymphosarcoma. *Clin Immunol Immunopathol.* 1:39-52.

12. Cugno M, Nussberger J, Cicardi M, Agostoni A. (2003) Bradykinin and the pathophysiology of angioedema. *Int Immunopharmacol.* 3:311-317. doi: 10.1016/S1567-5769(02)00162-5
13. Wu MA, Perego F, Zanichelli A, Cicardi M. (2016) Angioedema Phenotypes: Disease Expression and Classification. *Clin Rev Allergy Immunol.* 51:162-169. doi: 10.1007/s12016-016-8541-z
14. Otani IM, Banerji A. (2017) Acquired C1 Inhibitor Deficiency. *Immunol Allergy Clin North Am.* 37:497-511. doi: 10.1016/j.iac.2017.03.002
15. Kazandjieva J, Christoff G. (2019) Angioedema as a systemic disease. *Clin Dermatol.* 37:636-643. doi: 10.1016/j.clindermatol.2019.07.035
16. Busse PJ, Christiansen SC. (2020) Hereditary Angioedema. *N Engl J Med.* 382:1136-1148. doi: 10.1056/NEJMra1808012
17. Zanichelli A, Azin GM, Wu MA, Suffritti C, Maggioni L, Caccia S, Perego F, Vacchini R, Cicardi M. (2017) Diagnosis, Course, and Management of Angioedema in Patients With Acquired C1-Inhibitor Deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 5:1307-1313. doi: 10.1016/j.jaip.2016.12.032
18. Bork K, Meng G, Staubach P, Hardt J. (2006) Hereditary angioedema: new findings concerning symptoms, affected organs, and course. *Am J Med.* 119:267-274. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.09.064
19. Zuraw BL, Christiansen SC. (2016) HAE Pathophysiology and Underlying Mechanisms. *Clin Rev Allergy Immunol.* 51:216-229. doi: 10.1007/s12016-016-8561-8
20. Hedner T, Samuelsson O, Lunde H, Lindholm L, Andren L, Wilholm BE. (1992) Angio-oedema in relation to treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors. *BMJ.* 304:941-946. doi: 10.1136/bmj.304.6832.941
21. MacBeth LS, Volcheck GW, Sprung J, Weingarten TN. (2016) Perioperative course in patients with hereditary or acquired angioedema. *J Clin Anesth.* 34:385-391. doi: 10.1016/j.jclinane.2016.05.010
22. Sobotkova M, Zachova R, Hakl R, Kuklinek P, Kralickova P, Krcmova I, Hanzlikova J, Vachoca M, Bartunkova J. (2021) Acquired Angioedema with C1 Inhibitor Deficiency: Occurrence, Clinical Features, and Management: A Nationwide Retrospective Study in the Czech Republic Patients. *Int Arch Allergy Immunol.* 182:642-649. doi: 10.1159/000512933

23. Bork K, Staubach-Renz P, Hardt J. (2019) Angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency: spectrum and treatment with C1-inhibitor concentrate. *Orphanet J Rare Dis.* 14:65. doi: 10.1186/s13023-019-1043-3
24. Gower RG, Busse PJ, Aygören-Pürsün E, Barakat AJ, Caballero T, Davis-Lorton M, Farkas H, Hurewitz DS, Jacobs JS, Johnston DT, Lumry W, Maurer M. (2011) Hereditary angioedema caused by c1-esterase inhibitor deficiency: a literature-based analysis and clinical commentary on prophylaxis treatment strategies. *The World Allergy Organization journal.* 4. doi: 10.1097/WOX.0b013e31821359a2
25. Shi Y, Wang C. (2021) Where we are with acquired angioedema due to C1 inhibitor deficiency: A systematic literature review. *Clin Immunol.* 230:108819. doi: 10.1016/j.clim.2021.108819
26. Farkas H, Veszeli N, Kajdácsi E, Cervenak L, Varga L. (2016) "Nuts and Bolts" of Laboratory Evaluation of Angioedema. *Clin Rev Allergy Immunol.* 51:140-151. doi: 10.1007/s12016-016-8539-6
27. Zotter Z, Csuka D, Szabó E, Czaller I, Nébenführer Z, Temesszentandrás G, Fust G, Varga L, Farkas H. (2014) The influence of trigger factors on hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 9:44. doi: 10.1186/1750-1172-9-44
28. Wu MA, Castelli R. (2016) The Janus faces of acquired angioedema: C1-inhibitor deficiency, lymphoproliferation and autoimmunity. *Clin Chem Lab Med.* 54:207-214. doi: 10.1515/cclm-2015-0195
29. Cicardi M, Aberer W, Banerji A, Bas M, Bernstein JA, Bork K, Caballero T, Farkas H, Grumach A, Kaplan AP, Riedl MA, Triggiani M, Zanichelli A, Zuraw B. (2014) Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group. *Allergy.* 69:602-616. doi: 10.1111/all.12380
30. Szolnoky M, Pólai Zs. (2020) Autoimmun endocrinopathiák immundiagnosztikája. *Focus Medicinæ.* 22:22-24.
31. Gobert D, Paule R, Ponard D, Levy P, Frémeaux-Bacchi V, Bouillet L, Boccon-Gibod I, Drouet C, Gayet S, Launay D, Martin L, Mekinian A, Leblond V, Fain O. (2016) A nationwide study of acquired C1-inhibitor deficiency in France: Characteristics and treatment responses in 92 patients. *Medicine (Baltimore).* 95:e4363. doi: 10.1097/MD.0000000000004363

32. Pólai Zs, Balla Zs, András N, Kóhalmi KV, Temesszentandrás Gy, Benedek Sz, Varga L, Farkas H. (2021) A follow-up survey of patients with acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *J Intern Med.* 289:547-558. doi: 10.1111/joim.13182
33. Pállinger É, Buzás E, Falus A, Nagy Gy, Holub MCs, Tóth S, Kőhidai L, Pál Zs. Fülöp AK (szerk.) *Immunológiai szemináriumok.* Semmelweis Egyetem, Budapest, 2012.
34. López-Lera A, Garrido S, Nozal P, Skatum L, Bygum A, Caballero T, Trascasa ML. (2019) Serum complexes between C1INH and C1INH autoantibodies for the diagnosis of acquired angioedema. *Clin Exp Immunol.* 198:341-350. doi: 10.1111/cei.13361
35. Longhurst HJ, Zanichelli A, Caballero T, Bouillet L, Aberer W, Maurer M, Fain O, Fabien V, Andresen I, IOS Study Group. (2017) Comparing acquired angioedema with hereditary angioedema (types I/II): findings from the Icatibant Outcome Survey. *Clin Exp Immunol.* 188:148-153. doi: 10.1111/cei.12910
36. Belbézier A, Boccon-Gibod I, Bouillet L. (2021) Efficacy of lanadelumab in acquired angioedema with C1-inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 9:2490-2491. doi: 10.1016/j.jaip.2021.01.040
37. Drouet C, Désormeaux A, Robillard J, Ponard D, Bouillet L, Martin L, Kanny G, Moneret-Vautrin D-A, Bosson J-L, Quesada J-L, López-Trascasa M, Adam A. (2008) Metallopeptidase activities in hereditary angioedema: Effect of androgen prophylaxis on plasma aminopeptidase P. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 121:429-433. doi: 10.1016/j.jaci.2007.10.048
38. Zeerleder S, Levi M. (2016) Hereditary and acquired C1-inhibitor-dependent angioedema: from pathophysiology to treatment. *Ann Med.* 46(4):256-67 doi: 10.3109/07853890.2016.1162909
39. Bork K. (2014) An evidence based therapeutic approach to hereditary and acquired angioedema. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 14(4):354-62 doi: 10.1097/ACI.0000000000000082
40. Levi M, Hack CE, van Oers MH. (2006) Rituximab-induced Elimination of Acquired Angioedema Due to C1-Inhibitor Deficiency. *The American Journal of Medicine.* 119:e3-e5. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.09.018

41. Rossi D, Gaidano G. (2002) Molecular heterogeneity of diffuse large B-cell lymphoma: implications for disease management and prognosis. *Hematology*. 7:239-252. doi: 10.1080/1024533021000024058
42. Healy C, Abuzakouk M, Feighery C, Flint S. (2007) Acquired angioedema in non-Hodgkin's lymphoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 103:e29-32. doi: 10.1016/j.tripleo.2006.11.015
43. Guilarte M, Luengo O, Nogueiras C, Labrador-Horrillo M, Muñoz E, López A, Cardona V. (2008) Acquired angioedema associated with hereditary angioedema due to C1 inhibitor deficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 18:126-130.
44. Jung M, Rice L. (2011) Unusual autoimmune nonhematologic complications in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 11 Suppl 1:S10-13. doi: 10.1016/j.clml.2011.02.005
45. Castelli R, Deliliers DL, Zingale LC, Pogliani EM, Cicardi M. (2007) Lymphoproliferative disease and acquired C1 inhibitor deficiency. *Haematologica*. 92:716-718. doi: 10.3324/haematol.10769
46. Castelli R, Zanichelli A, Cicardi M, Cugno M. (2013) Acquired C1-inhibitor deficiency and lymphoproliferative disorders: a tight relationship. *Crit Rev Oncol Hematol*. 87:323-332. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.02.004
47. Bygum A, Vestergaard H. (2013) Acquired angioedema--occurrence, clinical features and associated disorders in a Danish nationwide patient cohort. *Int Arch Allergy Immunol*. 162:149-155. doi: 10.1159/000351452
48. Zingale LC, Castelli R, Zanichelli A, Cicardi M. (2006) Acquired deficiency of the inhibitor of the first complement component: presentation, diagnosis, course, and conventional management. *Immunol Allergy Clin North Am*. 26:669-690. doi: 10.1016/j.iac.2006.08.002
49. Csuka D, Füst G, Farkas H, Varga L. (2011) Parameters of the classical complement pathway predict disease severity in hereditary angioedema. *Clin Immunol*. 139(1):85-93. doi: 10.1016/j.clim.2011.01.003
50. Mészáros T, Füst G, Farkas H, Jakab L, Temesszentandrás G, Nagy G, Kiss E, Gergely P, Zeher M, Griger Z, Czirják L, Hóbor R, Haris A, Polner K, Varga L. (2010) C1-inhibitor autoantibodies in SLE. *Lupus*. 19:634-638. doi: 10.1177/0961203309357059

51. Delamarche C, Berger F, Pouplard A, Emile J. (1988) An ELISA technique for the measurement of C1q in cerebrospinal fluid. *J Immunol Methods*. 114:101-106. doi: 10.1016/0022-1759(88)90160-3
52. Riedl M. (2015) Recombinant Human C1 Esterase Inhibitor in the Management of Hereditary Angioedema. *Clin Drug Investig*. 35(7):407-417. doi: 10.1007/s40261-015-0300-z
53. Craig TJ. (2008) Appraisal of danazol prophylaxis for hereditary angioedema. *Allergy Asthma Proc*. 29:225-231. doi: 10.2500/aap.2008.29.3107
54. Jolles S, Williams P, Carne E, Mian H, Huissoon A, Wong G, Hackett S, Lortan J, Platts, Longhurst H, Grigoriadou S, Dempster J, Deacock S, Khan S, Darroch J, Simon C, Thomas M, Pavaladurai V, Alachkar H, Herwadkar A, Abinun M, Arkwright P, Tarzi M, Helbert M, Bangs C, Pastacaldi C, Philips C, Bennett H, El-Shanawany T. (2013) A UK national audit of hereditary and acquired angioedema. *Clin Exp Immunol*. 175: 59-67. doi: 10.1111/cei.12159
55. Baeza M L, González-Quevedo T, Caballero T, Guilarte M, Leonart R, Varela S, Castro M, Díaz C, Escudero E, García MG, Laffond E, Muñoz-Bellido FJ, Núñez R, Prior N, Sala-Cunill A, Sáenz de San Pedro B, Prieto-García A. (2022) Angioedema Due to Acquired Deficiency of C1-Inhibitor: A cohort Study in Spain and a Comparison With Other Series. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 10(4):1020-1028. doi: 10.1016/j.jaip.2021.11.018
56. Cicardi M, Zanichelli A (2010) Acquired angioedema. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 6:14. doi: 10.1186/1710-1492-6-14
57. Bork K. (2010) Recurrent Angioedema and the Threat of Asphyxiation. *Dtsch Arztebl Int*. 107(23):408-414. doi: 10.3238/arztebl.2010.0408
58. Bowen T, Cicardi M, Farkas H, Bork K, Longhurst HJ, Zuraw B, Aygoeren-Pürsün E, Craig T, Binkley K, Hebert J, Ritchie B, Bouillet L, Betschel S, Cogar D, Dean J, Devaraj R, Hamed A, Kamra P, Keith PK, Lacuesta G, Leith E, Lyons H, Mace S, Mako B, Neurath D, Poon M-C, Rivard G-E, Schellenberg R, Rowan D, Rowe A, Stark D, Sur S, Tsai E, Warrington R, Wasserman S, Ameratunga R, Bernstein J, Björkander J, Brosz K, Brosz J, Bygum A, Caballero T, Frank M, Fust G, Harmat G, Kanani A, Kreuz W, Levi M, Li H, Martinez-Saguer I, Moldovan D, Nagy I, Nielsen EW, Nordenfelt P, Reshef A, Rusicke E, Smith-Foltz S, Späth P, Varga L, Xiang ZY. (2010) 2010

International consensus algorithm for the diagnosis, therapy and management of hereditary angioedema. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 6:24. doi: 10.1186/1710-1492-6-24.

59. Gobert D, Bouillet L, Armengol G, Coppo P, Defendi F, Du-Thanh A, Hardy G, Javaud N, Jeandel P-Y, Launay D, Panayotopoulos V, Pelletier F, Boccon-Gibod I, Fain O. (2020) Angioedèmes par déficit acquis en C1-inhibiteur : recommandations du CREAK pour le diagnostic et la prise en charge. *Rev Med Interne.* 41(12):838-842. doi: 10.1016/j.revmed.2020.06.010

60. Obtulowicz K. (2016) Bradykinin-mediated angioedema. *Pol Arch Med Wewn.* 126(1-2):76-85. doi: 10.20452/pamw.3273

61. Grumach AS, Veronez CL, Csuka D, Farkas H. (2021) Angioedema Without Wheals: Challenges in Laboratorial Diagnosis. *Front Immunol.* 12:785736. doi: 10.3389/fimmu.2021.785736

62. Levi M, Cohn D, Zeerleder S, Dziadzio M, Longhurst H. (2019) Long-term effects upon rituximab treatment of acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Allergy.* 74:834-840. doi: 10.1111/all.13686

63. Cugno M, Castelli R, Cicardi M. (2008) Angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency: a bridging condition between autoimmunity and lymphoproliferation. *Autoimmun Rev.* 8(2):156-9. doi: 10.1016/j.autrev.2008.05.003

64. Sbatella M, Zanichelli A, Ghia P, Gattei V, Suffritti C, Teatini T, Cicardi M, Castelli R. (2018) Splenic marginal zone lymphomas in acquired C1-inhibitor deficiency: clinical and molecular characterization. *Med Oncol.* 35(9):118. doi: 10.1007/s12032-018-1183-7

65. Cicardi M, Zanichelli A. (2010) Angioedema due to C1 inhibitor deficiency in 2010. *Intern Emerg Med.* 5:481-486. doi: 10.1007/s11739-010-0408-3

65. Bouillet-Claveyrolas L, Ponard D, Drouet C, Massot C. (2003) Clinical and biological distinctions between type I and type II acquired angioedema. *Am J Med.* 115:420-421. doi: 10.1016/s0002-9343(03)00396-6

66. Bara N-A, Nadasan V. (2021) Resolution of Laryngeal Oedema in a Patient with Acquired C1-Inhibitor Deficiency. a Case Report. *J Crit Care Med (Targu Mures).* 7(2):136-140. doi: 10.2478/jccm-2021-0003

67. Balla Z, András N, Pólai Z, Visy B, Czaller I, Temesszentandrás G, Csuka D, Varga L, Farkas H. (2021) The characteristics of upper airway edema in hereditary and acquired angioedema with C1-inhibitor deficiency. *Clinical and Translational Allergy*. 11(10):e12083
68. Bork K, Hardt J, Schicketanz KH, Ressel N. (2003) Clinical studies of sudden upper airway obstruction in patients with hereditary angioedema due to C1 esterase inhibitor deficiency. *Arch Intern Med*.163(10):1229-1235. doi:10.1001/archinte.163.10.1229
69. Agostoni A, Cicardi M. (1992) Hereditary and acquired C1-inhibitor deficiency: biological and clinical characteristics in 235 patients. *Medicine (Baltimore)*. 71:206-215. doi: 10.1097/00005792-199207000-00003
70. Carugati A, Pappalardo E, Zingale LC, Cicardi M. (2001) C1-inhibitor deficiency and angioedema. *Mol Immunol*. 38(2-3):161-73. doi: 10.1016/s0161-5890(01)00040-2
71. Zanichelli A, Ghezzi M, Santicchia I, Vacchini R, Cicardo M, Sparaco A, Donati G, Rania V, Busa A. (2020) Short-term prophylaxis in patients with angioedema due to C1-inhibitor deficiency undergoing dental procedures: An observational study. *PLoS One*. 15(3): e0230128. doi: 10.1371/journal.pone.0230128
72. Cugno M, Cicardi M, Agostoni A. (1994) Activation of the contact system and fibrinolysis in autoimmune acquired angioedema: a rationale for prophylactic use of tranexamic acid. *J Allergy Clin Immunol*. 93:870-876. doi: 10.1016/0091-6749(94)90380-8
73. Cicardi M, Bergamaschini L, Zingale LC, Gioffré D, Agostoni A (1999) Idiopathic nonhistaminergic angioedema. *Am J Med*. 106:650-654. doi: 10.1016/s0002-9343(99)00123-0
74. Du-Thanh A, Raison-Peyron N, Drouet C, Guillot B. (2010) Efficacy of tranexamic acid in sporadic idiopathic bradykinin angioedema. *Allergy*. 65:793-795. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02234.x
75. Chevailler A, Arlaud G, Ponard D, Pernollet M, Carrère F, Renier G, Drouet M, Hurez D, Gardais J. (1996) C-1-inhibitor binding monoclonal immunoglobins in three patients with acquired angioneurotic edema. *J Aller Clin Immunol*. 97:998-1008. doi: 10.1016/s0091-6749(96)80076-5

76. Levi M, Hack CE, van Oers MH (2006) Rituximab-induced elimination of acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Am J Med.* 119:e3-e5. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.09.018
77. Ziakas PD, Giannouli S, Psimenou E, Evangelia K, Tzioufas AG, Voulgarelis M. (2004) Acquired angioedema: a new target for rituximab? *Haematologica.* 89:e104-e105.
78. Ordi-Ros J, Paredes J, Detarsio G, Vilardell M. (1997) Autoantibodies to C1 inhibitor in patients with lupus disease. *J Rheumatol.* 24(9):1856-8.
79. Kaegi C, Wuest B, Schreiner J, Steiner UC, Vultaggio A, Matucci A, Crowley C, Boyman O. (2019) Systematic Review of Safety and Efficacy of Rituximab in Treating Immune-Mediated Disorders. *Front Immunol.* 10:1990. doi: 10.3389/fimmu.2019.01990
80. Hauptmann G, Petitjean F, Lang JM, Oberling F. (1979) Acquired C1 inhibitor deficiency in a case of lymphosarcoma of the spleen. Reversal of complement abnormalities after splenectomy. *Clin Exp Immunol.* 37:523-531.

10. Saját publikációk jegyzéke (disszertációhoz kapcsolódó)

Polai Zs, Balla Zs, Andrasi N., Kohalmi KV, Temesszentandrasi Gy, Benedek S, Varga L, Farkas H. (2021). A follow-up survey of patients with acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *J Intern Med*, 289(4), 547–558. doi: 10.1111/joim.13182

Polai Zs, Balla Zs, Varga L, Benedek Sz, Farkas H. (2022). Long term follow-up of complement parameters to improve the management of acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Heliyon* 5;8(11):e11292, doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e11292

Polai Zs, Balla Zs, Benedek Sz, Kajdacs E, Farkas H. (2022) Laryngeal angioedema caused by a rare disease—A case report. *Curr Probl Cancer Case Rep*. 8:e100201. doi: 10.1016/j.cpcr.2022.100201

Polai Zs, Kajdacs E, Cervenak L, Balla Zs, Benedek Sz, Varga L, Farkas H. (2023) C1-inhibitor/C1-inhibitor antibody complexes in acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Orphanet J Rare Dis*. 18(1):24. doi: 10.1186/s13023-023-02625-5

11. Saját publikációk jegyzéke (disszertációtól független)

Pólai Zs, Farkas H, Karabélyos Cs, Szolnoky M. (2020) Immunglobulin-diagnosztika: immunglobulin osztályok, -alosztályok és könnyűlánc-típusok. *Immunológiai Szemle*, 12(4)

Szolnoky M, Pólai Zs. (2020) Autoimmun endocrinopathiák immundiagnosztikája. *Focus Medicinae*, 22(2)

Balla Z, Zsilinszky Z, Pólai Z, Andrásiné N, Kőhalmi KV, Csuka D, Varga L, Farkas H. (2021) The Importance of Complement Testing in Acquired Angioedema Related to Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 9(2), 947–955. doi: 10.1016/j.jaip.2020.08.052

Balla Z, Andrásiné N, Pólai Z, Visy B, Czaller I, Temesszentandrásiné G, Csuka D, Varga L, Farkas H. (2021) The characteristics of upper airway edema in hereditary and acquired angioedema with C1-inhibitor deficiency. *Clin Transl Allergy*. 11(10):e12083. doi: 10.1002/ctt2.12083

Grover S, Kawano T, Wan J, Tanratana P, Polai Zs, Jun Shim Y, Snir O, Braekkan S, Dhrolia S, Kasthuri R, Bendapudi T, McCrae K, Wolberg A, Hansen J, Farkas H, Mackman N. (2023) C1 inhibitor deficiency enhances contact pathway mediated activation of coagulation and venous thrombosis. *Blood*. doi: 10.1182/blood.2022018849

12. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Farkas Henriette-nek – az Országos Angioödéma Referencia és Kiválósági Központ vezetőjének - fáradhatatlan munkájáért, határokat nem ismerő szakmai és emberi támogatásáért valamint motiválásáért.

Hálás vagyok Prof. Dr. Prohászka Zoltánnak – a Kutatólaboratórium vezetőjének – a lehetőségért, hogy PhD tanulmányaimat a Kutatólaboratóriumban folytathattam.

Köszönöm Dr. Kajdácsi Erikának, Dr. Cervenak Lászlónak és Dr. Varga Liliannak, - a Kutatólaboratórium munkatársainak - hogy szakértelmükkel, magyarázataikkal, türelmükkel segítettek és irányították laboratóriumi munkámat.

Köszönettel tartozom dr. Balla Zsuzsannának és dr. Andrási Noéminek – PhD hallgatónak – az évek során nyújtott segítségükért, valamint az együtt töltött időért.


Ezúton szeretném kifejezni tiszteletemet Prof. Dr. Masszi Tamásnak – a Belgyógyászati és Hematológiai Klinika vezetőjének – amiért munkámat egy ilyen magas szintű, jól felszerelt és korszerű intézetben végezhettem.

Szeretnék köszönetet mondani a Kutatólabor további munkatársainak, asszisztenseinek, név szerint Holeczky Rudolfnének, Bali Juditnak, Kertész Lászlónének, Dóczi Andrásnének és Szendrei Éva Zsuzsannának a rengeteg segítségért, amivel munkámat könnyebbé tették.

Mélységes hálámat szeretném kifejezni a Biotest Hungaria Kft munkatársainak, főként Dr. Szolnoky Miklósnak és Dr. Karabélyos Csabának a szakmai és emberi támogatásért, valamint azért a nagylelkűségért és segítőkészségért, amit tőlük kaptam.

Végül, de nem utolsó sorban hálám szavakkal nem kifejezhető párom, Matej Godnič iránt, aki végtelen támogatással, biztatással és türelemmel állt mellettem ezekben az években is.

A follow-up survey of patients with acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency

■ Zs. Póljai¹, Zs. Balla¹, N. András^{1,2}, K. V. Kóhalmi^{1,3}, Gy. Temesszentandrás⁴, Sz. Benedek⁴, L. Varga¹ & H. Farkas¹ 

From the ¹Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence, Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Budapest; ²2nd Department of Pediatrics, Semmelweis University, Budapest; ³Buda Hospital of the Hospitaller Order of Saint John of God, Rheumatology Center, Budapest; and ⁴Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Budapest, Hungary

Abstract. Póljai Z, Balla Z, András N, Kóhalmi KV, Temesszentandrás G, Benedek S, Varga L, Farkas H (Semmelweis University, Budapest, Hungary; Buda Hospital of the Hospitaller Order of Saint John of God, Rheumatology Center, Budapest, Hungary). A follow-up survey of patients with acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *J Intern Med* 2021; **289**: 547–558. <https://doi.org/10.1111/joim.13182>

Background. Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency (C1-INH-AAE) is a rare form of bradykinin-mediated angioedema. It is diagnosed by complement testing; its treatment consists of the management of angioedema (AE) attacks and of underlying disease.

Objective. Evaluate the results of the clinical follow-up of patients with C1-INH-AAE.

Methods. Between 1999 and 2020, 3938 patients with angioedema were evaluated, and 17 diagnosed with acquired C1-INH deficiency were followed-up.

Results. Mean age of the 17 patients was 61 years at diagnosis. In 33%, ACE inhibitors provoked AE attacks. Autoantibodies against C1-INH were detected in 10 patients at diagnosis and in a further patient during follow-up. The AE attacks involved the skin in 70.6%, the upper airways in 41.2% and the tongue/lip in 52.9% of patients. Twelve of the 17 patients had an underlying condition, mainly ($n = 11$) lymphoproliferative disease. In 10 patients diagnosed with a haematological disorder, AAE symptoms pre-

ceded the onset of the latter. One patient has not experienced an AE attack since diagnosis. Twelve patients were treated for angioedema attacks, and 32% of the attacks required acute treatment. pdC1-INH was used to relieve AE attacks, and rituximab for the treatment of underlying disease (in six patients). Six patients had multiple AE attacks before any treatment. The symptom-free period increased in five patients after the on-demand administration of pdC1-INH concentrate and following treatment of the underlying disease in two patients.

Conclusion. Early diagnosis of C1-INH-AAE and underlying disease is indispensable to reduce disease burden by introducing appropriate, individualized treatment and regular follow-up.

Keywords: acquired angioedema, angiotensin-converting enzyme inhibitors, C1 inhibitor deficiency, lymphoproliferative disease, rituximab.

Abbreviations: AAE, acquired angioedema; AE, angioedema; C1-INHab, antibodies against C1 inhibitor; C1-INH, C1 inhibitor; C1-INH-AAE, acquired angioedema with C1 inhibitor deficiency; C1-INH-HAE, hereditary angioedema with C1 inhibitor deficiency; C1q, C3, C4, complement components; CH50, 50% haemolytic complement activity; CLL, chronic lymphoid leukaemia; HAE, hereditary angioedema; MGUS, monoclonal gammopathy of undetermined significance; MM, myeloma multiplex; MZL, marginal zone lymphoma; NHL, non-Hodgkin lymphoma; pdC1-INH concentrate, plasma-derived C1 inhibitor concentrate; rhC1-INH concentrate, recombinant human C1 inhibitor concentrate.

Introduction

Bradykinin-mediated angioedema is a consequence of an increase in the permeability of

subcutaneous and/or submucosal capillaries and postcapillary venules, causing plasma extravasation in response to bradykinin, which is released during the activation of the contact-kinin system

[1]. Angioedema with C1-inhibitor (C1-INH) deficiency can be hereditary (C1-INH-HAE) – an autosomal dominant disorder with mutation in the *SERPING1* gene – or acquired (C1-INH-AAE). Both are rare disorders: the incidence of C1-INH-HAE is estimated at 1:10 000 to 1:50 000, whereas the prevalence of C1-INH-AAE is ten times lower [2].

C1-INH-AAE is characterized by a negative family history, recurrent, unpredictable angioedema (AE) attacks with onset after 40 years of age [3]. Subcutaneous AE resolves spontaneously in 2 to 4 days. When AE involves the upper airway mucosa, it can lead to suffocation, without appropriate treatment. Angioedema confined to the gastrointestinal mucosa may mimic an acute ‘abdominal catastrophe’ [4]. AE attacks may be preceded by erythema marginatum as a prodromal symptom [5]. Various triggering factors, such as mechanical trauma, emotional stress and medicinal products, can be identified in C1-INH deficient patients [6]. In C1-INH-AAE, the decline in the function of C1-INH may be consequent to the excessive activation of the classical complement pathway, which leads to the depletion of C1-INH. Alternatively, the loss of C1-INH function may result from the formation of autoantibodies against C1-INH (C1-INHab) [7, 8].

C1-INH-AAE can be diagnosed by complement testing. Formerly, two main types of C1-INH-AAE have been distinguished based on the presence of underlying disorder, or antibodies against C1-INH (C1-INHab) [3,5,9–19]. Recent findings show that these two types of C1-INH-AAE overlap [2, 20–28].

In C1-INH-AAE, the cornerstone of management is the recognition and the prompt, effective and safe elimination of the AE episode. Targeted agents intended for the contemporary management of AE attacks prevent the release of bradykinin by replacing the missing protein, with plasma-derived or recombinant C1-INH (pd/rhC1-INH), by inhibiting kallikrein (ecallantide, lanadelumab) or blocking bradykinin B2-receptor (icatibant). Both targeted agents and the nontargeted ones (such as antifibrinolytics and attenuated androgens) can also be used for prophylaxis [29].

The screening, identification and management of an underlying disorder is essential, as the latter may be responsible for the occurrence of AE symptoms, as well as its exacerbation or remission might influence the frequency of AE episodes.

Appropriate management of the underlying disorder is important, as it may reduce the number of AE attacks [3, 5, 13, 14, 17, 23, 24, 30].

Since C1-INH-AAE was first described, approximately 200 patients with this condition have been reported in the literature, mostly as solitary occurrences, case series and cases from cross-sectional retrospective studies; the data on follow-up studies are limited [3, 5, 22, 28, 31].

In this prospective, observational study, our aim was to characterize patients with C1-INH-AAE and study the relationship between the therapy and the clinical course of the disease during regular follow-up.

Patients

We analysed data on the C1-INH deficient patient population followed-up at the Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence, such as the diagnosis, the medical history, the course of the disease the management of AE attacks, as well as the presence and the impact of an underlying disorder (if any). We studied the locations of AE episodes, the length of the symptom-free periods between attacks and compared them with the therapy administered for AE and underlying disorder.

Methods

Patients with angioedema were referred to our Center between 1999 and 2020. We established the diagnosis of C1-INH-AAE based on the negative family history, the time of the onset of clinical symptoms, the findings of complement testing (total complement, C1q, C4, C1-INH antigenic level, C1-INH functional activity and the presence of IgG/M/A C1-INHab). All patients received a Medical Card, a Patients’ Diary for recording disease-related information and medicinal product. If the medical history did not contain any underlying disorder possibly linked to C1-INH-AAE, we performed laboratory and imaging tests in search of a yet undiagnosed one. The patients returned to follow-up visits at least once a year, when we recorded the frequency and location of AE attacks, information of other diseases and medical interventions, the therapy administered to control or prevent AE attacks.

Complement testing

To quantify antigenic C1-inhibitor levels, in-house radial immunodiffusion was performed. The

concentration of the functional C1-inhibitor was measured with a C1-inhibitor enzyme immunoassay kit (Quidel, San Diego, CA). The concentration of C1q and autoantibodies against C1-INH were determined by in-house sandwich ELISA methods [32,33]. CH50 (total haemolytic activity) of the classical pathway was determined with a haemolytic assay. C3 and C4 concentrations were measured by turbidimetry (Cobas Integra 400 analyzer; Roche, Switzerland).

The study protocol was approved by the institutional review board of Semmelweis University (Budapest, Hungary), and informed consent was obtained from the participants under the Declaration of Helsinki.

Results

The diagnosis of acquired C1-INH deficiency

Of the 3938 patients evaluated for angioedema during the observation period, 214 were diagnosed with C1-INH deficiency: 197 patients had the hereditary and 17 the acquired form (eight males and nine females, mean age: 61 years [min. 41, max. 83 years]). The ratio of patients with acquired or with hereditary C1-INH deficiency was 1 to 11.

The diagnosis of C1-INH-AAE was established based on the complement results. All patients had lower than normal C4, as well as C1-INH antigenic level and activity – except for one. Although C1-INH activity was lower than normal in the latter patient (N° 17), the concentration of antigenic C1-INH was within the normal range, and the titre of IgA type C1-INHAb was elevated. In 65% of these patients, C1q level was reduced at the time of diagnosis. CH50 was reduced in all patients, and C3 level was below the threshold in 11%. At the time of diagnosis, C1-INHAb was detected in 10 patients with a sex distribution of 50–50% (Table 1). Anti-C1q antibody levels were within the reference range (0 to 52 U mL⁻¹) in all patients. Genetic testing undertaken to confirm the diagnosis by detecting a mutation in the *SERPING1* gene was done in three patients (N° 3, 8, and 16) but was negative.

Angioedema manifestation before the diagnosis

The period from the onset of angioedema to diagnosis was 5 years (min.: 2 months, max.: 31 years) on average.

Fifteen of the 17 patients experienced AE symptoms with an initial onset at 59 years of age (min.:

40, max.: 83 years) on average. 40% of the patients had limb, 20% tongue-lip, 20% facial, 13.3% laryngeal, and 6.7% abdominal oedema as an initial AE attack. None of these patients reported erythema marginatum. Their symptoms did not respond satisfactorily to conventional therapy (with antihistamines, corticosteroids or epinephrine) and persisted for 3 to 5 days. One patient underwent tracheotomy and another one endotracheal intubation for progressive laryngeal oedema. The factors provoking angioedema included treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) (in 6/17 patients), mechanical trauma (in 5/17 patients), mental stress (in 1/17 patient) and airway infection (in 1/17 patient) (Table 1).

Before diagnosis, the 15 symptomatic patients experienced altogether 243 AE attacks, 27.6% of which were tongue-lip, 23.9% abdominal, 22.6% limb, 15.6% facial, 7.0% laryngeal, and 3.3% involved multiple sites. Two patients had only abdominal symptoms (colicky pain, vomiting, diarrhoea), and they did not experience AE attacks in other locations before the diagnosis of C1-INH-AAE.

Two female patients (N° 4 and N°5) – diagnosed with acquired C1-INH deficiency, but without AE attacks in their history – underwent diagnostic evaluation, one for papular lesions and the other one for weight loss and abdominal distension. As complement testing revealed decreased C4 and C1-INH levels, C1-INH deficiency was diagnosed. Patient N° 4 is still being evaluated, whereas diffuse large B-cell lymphoma has been detected in Patient N° 5. (Table 1) The lymphoma went into remission after therapy with rituximab and autologous stem cell transplantation. During follow-up for 15 years, AE attacks have not occurred and complement parameters have always been in the reference range.

Angioedema manifestation during follow-up

During follow-up with a mean duration of 6 years (min.: 0.5 – max.: 16 years). In case of two recently diagnosed patients, the follow-up period was less than 1 year. The patients attended control visits on average of 12 occasions (min.: 2 – max.: 43).

Concerning the AE attacks recorded during follow-up, the majority of patients (80%) reported at least a single occurrence of subcutaneous (facial and limb) attacks, 60% of the patients recalled

Table 1. The demographical and follow-up data of C1-INH deficient patients

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
Gender	M	F	F	F	F	F	F	M
Age at the time of the initial AE attack	60	40	83	–	–	56	61	49
Time to the diagnosis of AAE (years)	3	31	0	–	–	1	2	10
C1-INHAb (at the time of the diagnosis of C1-INH-AAE)	–	–	–	IgA	IgM	–	IgM	–
Underlying disorders	–	MZL	MGUS	–	NHL, SS	MZL	CLL	–
Treatment for haematological disorders	–	–	–	–	RIX (R-CHOP), ASCT	R-Benda	–	–
Time between the initial AE attack and the diagnosis of an underlying disorder (months)	–	16	–	–	–	3	85	–
Total number of AE attacks during the follow-up period	27	9	12	–	–	24	73	4
Trigger factors	–	–	ACEI	–	–	–	food	–
Acute therapy for AE attacks	pdC1-INH	icatibant	pdC1-INH, icatibant	–	–	–	pdC1-INH, icatibant	pdC1-INH
Short-term prophylaxis	pdC1-INH	rhC1-INH	–	–	–	–	–	–
Long-term prophylaxis	–	–	–	–	–	–	danazol	–
Follow-up (years)	2 ^a	1	1	0.5	16	0.5	6	3
Number of follow-up visits	4	4	3	2	8	2	14	9

ACEI, angiotensin-converting enzyme inhibitor; APS, primary antiphospholipid syndrome; ASCT, autologous stem cell transplantation; ATIII deficiency, antithrombin III deficiency; BCA, basal cell adenoma; CLL, chronic lymphocytic leukaemia; F, female; M, male; MGUS, monoclonal gammopathy of undetermined significance; MM, myeloma multiplex; MZL, marginal zone lymphoma; NHL, non-Hodgkin lymphoma; pdC1-INH, plasma-derived C1-inhibitor; R-Benda, rituximab and bendamustine; R-CHOP, rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone; rhC1-INH, recombinant human C1-inhibitor; RIX, rituximab; SS, Sjogren's syndrome; TXA, tranexamic acid; VAD, vincristine, doxorubicin, and dexamethasone.

^aPatient has died (from causes unrelated to C1-INH deficiency).

abdominal and 60% had tongue-lip oedema. Upper airway oedema occurred in 47% and genital oedema in 20%.

During follow-up, the fifteen patients had a total of 403 AE attacks – each patient experienced on average 5 attacks over one year. Calculating with a standardized follow-up duration weighted by the

gender ratio, these attacks were shared between male and female patients in proportions of 64% and 36%. Erythema marginatum occurred in 2 female patients on 7 (5 and 2) occasions during a six-month long follow-up. Figure 1 shows the relative proportions (per patient per year of follow-up) of attack locations between the sexes. Amongst male patients, tongue-lip attacks dominated (96%),

P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17
F	M	F	M	M	F	M	M	M
65	70	49	59	46	62	60	42	76
0	4	1	1	1	0	7	2	1
IgA	IgG, IgA, IgM	IgG	IgG, IgM	–	–	IgA, IgG	IgG	IgA
BCA	MGUS	MGUS	MM	MZL	MZL	APS, ATIII deficiency,	MGUS	–
–	RIX	–	VAD, ASCT, RIX	R-Benda	RIX	–	–	–
–	48	27	12	36	12	–	–	–
1	158	65	10	86	22	47	97	5
mechanical trauma	–	ACEI	ACEI, stress, mechanical trauma	mechanical trauma	mechanical trauma, infection, ACEI	ACEI	ACEI	mechanical trauma
–	pdC1-INH	pdC1-INH, icatibant	pdC1-INH	pdC1-INH, icatibant	rhC1-INH	pdC1-INH	icatibant	–
–	–	–	–	pdC1-INH	–	–	–	–
–	TXA	–	TXA	–	–	–	–	–
16 ^a	8 ^a	8	14	12	6 ^a	1	1.5	1
5	25	20	29	43	21	6	5	5

followed by genital (95%), facial (67%) and laryngeal oedema (65%), whereas multi-located (84%) and limb oedema (63%) were more common amongst females. Abdominal AE attacks were roughly evenly distributed between the two sexes (45% vs. 55%). Whilst the difference between the genders is remarkable, it is not suitable for drawing

far-reaching conclusions owing to the small sample size and the individual differences amongst the patients.

During the follow-up period, IgM type of C1-INH appeared in an additional male patient (P8) half a year after diagnosis. In four patients, antibodies

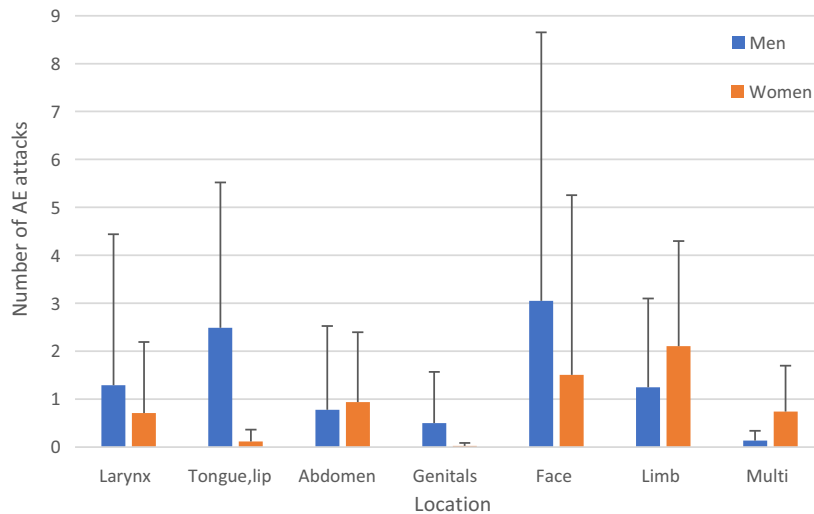


Fig. 1 The locations and sex distribution (per year per patient) of angioedema (AE) attacks. (Multi: multi-located attacks involving more than one body regions).

had been detectable more than 3 months before their underlying disease was identified.

Trigger factors and therapy

The causes triggering AE attacks were variegated; a specific provoking factor could be found in 67% of the patients. In cases, when ACEI-containing drugs induced the attacks and therefore, these were replaced by blood pressure-lowering agents with a different mode of action. Five patients identified mechanical trauma, and a further one blamed food (gluten, citrus fruits) as the provoking factor (Table 1). Primary prophylaxis (avoidance of the trigger factor) had a positive influence on the occurrence of AE attacks.

Acute therapy of angioedema attack

Fifteen of the 17 patients experienced AE attacks, but three of them did not receive targeted therapy. Eight patients received pdC1-INH (in a dose of 20 U kg⁻¹ body weight per attack at least once but on 37 occasions at maximum) as acute treatment, after which the AE resolved in all instances. In a patient with IgG/M/A C1-INH_{ab}, pdC1-INH administered in a dose calculated by bodyweight failed to relieve the symptoms. After the administration of larger doses (60 U kg⁻¹ body weight), AE symptoms did not resolve, and therefore, rhC1-INH (55 U kg⁻¹ body weight) was administered in addition and with success.

Six patients received icatibant at least once but on 44 occasions at maximum; an individual dose of

30 mg was always sufficient to achieve the resolution of angioedema (Table 1).

Short-term (preprocedural) prophylaxis

Considering short-term prophylaxis before medical procedures was recommended to all patients. Four patients got short-term prophylaxis before medical procedures, which prevented occurrence of AE attack, six patients did not use prophylaxis before minor procedures. One of these 6 patients experienced AE attack after the closure of tracheostomy and bone marrow biopsy. In all cases without short-term prophylaxis, acute treatment was available during the procedure (Table 2).

Long-term prophylaxis

Two patients received tranexamic acid (TXA) as long-term prophylaxis (at a daily dose of 2000 mg in one and 1000–3000 mg in the other patient), and one patient took danazol (50–100 mg day⁻¹) regularly (Table 1).

P10 had 17 AE attacks/year in facial, abdominal and subcutaneous locations before taking TXA and 4.6 AE attacks/year in facial and subcutaneous locations whilst taking TXA. The patient needed another C1-INH-AAE medication (pdC1-INH) very often to treat AE attacks; therefore, the effect of TXA cannot be evaluated separately from that of pdC1-INH. Furthermore, P10 stopped taking TXA after an episode of severe deep venous thrombosis. Considering the risks/benefits of TXA treatment and the recommendation by the haematologist, long-term

Table 2. Summary of short-term prophylaxes and outcomes

	Procedure	Prophylaxis	Outcome
P1	Dental procedure	pdC1-INH	no AE attack
P2	Dental procedure	rhC1-INH	no AE attack
P5	Arthroscopy	None	no AE attack
P7	Minor dental procedure	None	no AE attack
P9	Core needle biopsy of breast	None	no AE attack
P10	Cataracta surgery	rhC1-INH	no AE attack
P11	Minor dental procedure	None	no AE attack
P12	Closing the wound of tracheostomy	None	AE attack occurred, acute pdC1-INH treatment, AE resolved
	Bone marrow biopsy	None	AE attack occurred, acute pdC1-INH treatment, AE resolved
P13	Dental procedure	pdC1-INH	no AE attack
	Vascular procedure ^a	pdC1-INH	no AE attack
	Colonoscopy	pdC1-INH	no AE attack
P14	Splenectomy	refused ^b	no AE attack

^aSuperficial femoral artery treatment with drug-eluting balloon.

^bRefused pdC1-INH because of religious reason, rhC1-INH was not available that time.

prophylaxis with TXA was not restarted. P12 began taking TXA immediately after C1-INH-AAE had been diagnosed based on life-threatening laryngeal attacks and tracheostomy identified in his medical history. The number of AE attacks/year did not change during long-term prophylaxis (there were 5 attacks/year before TXA treatment in facial, subcutaneous and multiple locations vs. 5 abdominal or facial attacks/year during the post-treatment period). His underlying disease (myeloma multiplex) worsened, and therefore, chemotherapy was introduced and autologous stem cell transplantation was performed. The patient has been symptom-free for 9 years. Subsequently, AAE symptoms recurred at a frequency of 3 attacks/year in facial and multiple locations, although the underlying disease was still in remission. TXA was introduced, and because AE attacks had preceded the activation of the underlying disease previously, we decided – in agreement with the haematologist – to add rituximab to the regimen after the initiation of treatment with TXA. After a 2-year symptom-free period on TXA, the treatment strategy was reconsidered and TXA was discontinued. The patient has been symptom-free since then.

The danazol-treated patient reported the reduction of the severity of symptoms.

Underlying diseases and their treatment

An underlying disorder possibly linked to C1-INH deficiency has not been confirmed in seven

patients. In eight out of the other ten patients, C1-INH was diagnosed before the detection of an underlying disorder, whereas the opposite occurred in the remaining two patients (N° 5 and N° 6). One of these ten patients did not experience any AE attack, but in the remaining nine patients, the initial AE attack had occurred before the underlying disorder was diagnosed.

The underlying disorder diagnosed were lymphoma (in five patients), monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) (in four patients), chronic lymphoid leukaemia (CLL) and multiple myeloma (in one patient each). Furthermore, primary antiphospholipid syndrome with antithrombin III deficiency was diagnosed in a further patient [27]. In three patients diagnosed with lymphoma, as well as in the patient with CLL, MGUS preceded the manifestation of the underlying disorder. The remaining two lymphoma patients had been known to have lymphoma before C1-INH-AAE was diagnosed.

In four out of the ten patients with acquired C1-INH deficiency and an underlying disorder, the latter did not require treatment during the follow-up period. Four of the 10 patients received rituximab. A further patient (N° 5) received rituximab initially, followed by R-CHOP (rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone) chemotherapy and finally, by autologous stem cell transplantation. Another patient (N° 12)

was treated with the VAD protocol (vincristine, doxorubicin and dexamethasone) and then with autologous stem cell transplantation. Later on, he received rituximab owing to the reappearance of AE attacks (Table 1). Table 3 shows the change in the number of AE attacks per year before and after the treatment of the underlying disease (Table 3).

The relationship between therapy and the symptoms

The majority of the patients had experienced many AE attacks before they were diagnosed with C1-INH-AAE, and this continued during follow-up. Two out of our 17 patients have not experienced AE attacks at all, four patients did not administer acute therapy to relieve their attacks, and one patient received treatment for the first time just before the latest visit. The interval between attacks was highly variable within the patient group (min.: 17 days, max.: 522 days). Symptom-free period was the longest in the two patients (N° 1 and N° 8) without an underlying disorder. In case of P8, AE attacks disappeared completely after the initial treatment with pdC1-INH.

As patients N° 7, 10, 12, 13 and 14 underwent long-term follow-up (for min.: 6 years, max.: 14 years) and because the distribution of the attacks over such a long period is rather uneven and highly dependent on therapy, we plotted the time of diagnosis, the occurrences of AE attacks,

treatments for AE and underlying disorder (if any) on timelines (Fig. 2).

Discussion

C1-INH-AAE is a rare disorder, and relevant information on it is scarce owing to the limited number of patients. According to the information on the patients registered at our Center, the ratio of patients with C1-INH-AAE or with C1-INH-HAE is 1 to 11 within the Hungarian patient population. This corresponds to data in the literature [2, 30].

In all of our patients, the initial symptoms first occurred over 40 years of age – in accordance with observations by other authors, namely that 94% of C1-INH-AAE patients sustain their first AE attack after the age of 40 years [5, 14, 28]. Considering our 15 patients who had AE attacks, 13 had received conventional therapy – of unsatisfactory efficacy – before C1-INH-AAE was diagnosed. In daily practice, C1-INH-AAE is commonly misdiagnosed as allergy, and due to this initial diagnosis, patients are treated subsequently with anti-allergic medication that proves ineffective [28]. It is essential to identify the factors that trigger AE attacks because the latter can be prevented or their frequency reduced by primary prophylaxis. In 33% of our C1-INH-AAE patients, treatment with ACEIs influenced the frequency or the time of the initial onset of AE symptoms. The inhibition of degradation of bradykinin by ACEIs results in an elevated plasma level of bradykinin [1]. The population of ACEI-treated patients with angioedema (ACEI-AAE) may also include patients with C1-INH-AAE causing symptoms identical to those of ACEI-AAE. In our practice, we undertake a complete complement profile – concomitantly the discontinuation of the ACEI – in every patient who has experienced AE symptoms whilst taking ACEIs.

After the initial onset of the symptoms of C1-INH-AAE, it usually takes 10 to 12 months to establish the diagnosis [22, 24]. In our patient population, this delay in diagnosis was 5 years on average. Angioedema had been attributed to an allergic aetiology, and one-third of these patients were treated with ACEIs – thus, they were initially classified as ACEI-AAE patients before referring to our Center.

The diagnosis of C1-INH-AAE is based on the determination of complement parameters. In our patient population, 65% of the patients had lower

Table 3. Effect of the underlying disease treatment on the number of AE attacks/year

Patient ID	Treatment	Number of attack/year	
		Before treatment	After treatment
P10	RIX	17	21
P14	RIX	5	0 (for 6 years)
P6	RIX (R-Benda)	16	0 (for 0.5 year)
P13	RIX (R-Benda)	9.5	4.5
P5	1. RIX (R-CHOP)	0	0
	2. ASCT	0	0
P12	1. VAD, ASCT	11	0 (for 9 years)
	2. RIX	5	0 (for 4 years)

ASCT, autologous stem cell transplantation; R-Benda, rituximab and bendamustine; R-CHOP, rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone; RIX, rituximab; VAD, vincristine, doxorubicin and dexamethasone.

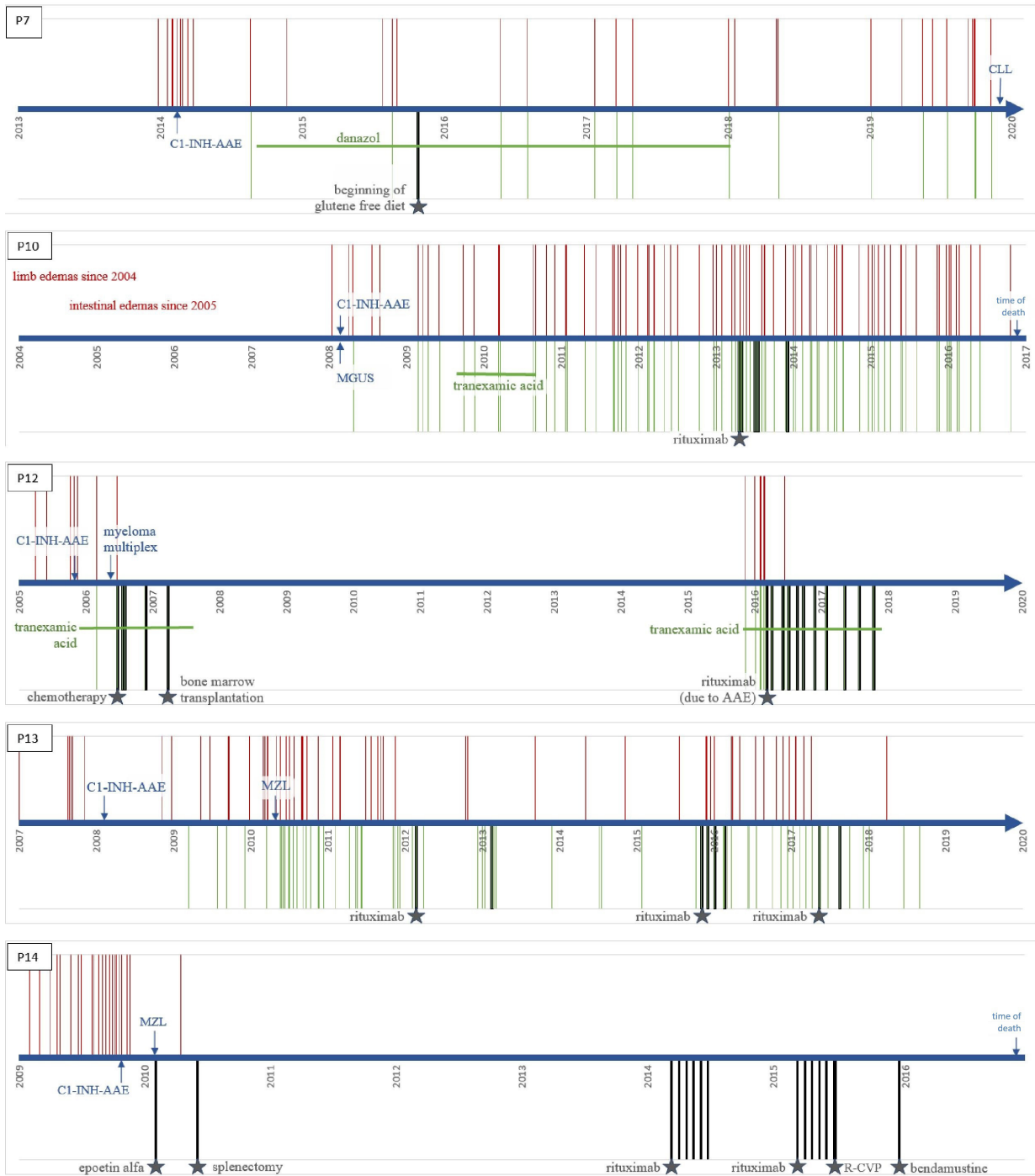


Fig. 2 Timelines of patients undergoing long-term follow-up. Red lines: AE attacks. Blue arrow: diagnosis of a disorder. Green perpendicular lines: treatment for AE attack. Green horizontal line: long-term prophylaxis for AE with the name of the active substance. Black lines: therapy for underlying disease (the star denotes the start of treatment, and its nature is indicated in a text box).

than normal C1q levels, and in the literature, this has been reported to occur in 70% of patients with C1-INH-AAE. Alternatively, C1-INH concentration may be within the reference range – reduced C4 level and C1-INH activity are of diagnostic value in such a situation [2].

Considering the gender ratio, the proportion of females was higher than that of males also in our patient population. Half of the patients with C1-INHAb were women, similar to those reported by Bork (5 out of 10 vs. 3 out of 8) [5].

Our findings about the location of the attacks are similar to those reported by Gobert [22]. The majority of patients (ours: 80%, Gobert's: 75%) reported facial oedema formation, followed by abdominal attacks in 60%. Upper airway oedema was experienced by 47% of our (and 43% of Gobert's) patients, and genital oedema occurred in 20% (Gobert's 18%). Limb oedema and tongue-lip attacks occurred more frequently amongst our patients (80% and 60%) than amongst Gobert's (48% and 32%).

In our patient population, there were differences between the sexes: in males, oedema formation (instances per 1 patient and 1 year of follow-up) occurred more frequently in the tongue and lips (96%), the genitals (85%), the face (67%) and the larynx (65%). Multi-location (84%) and limb oedema (63%) was more common in females. Reviewing the literature, we could not find any publication discussing this difference.

According to Bork, erythema marginatum appears in 4.5% of C1-INH-AAE patients [5]. In our study, 13% of the patients reported this sign, which, occurred in several instances only.

Angioedema attacks respond to targeted therapy with the on-demand administration of pdC1-INH, rhC1-INH or icatibant [22]. We supplied these medicinal products to all of our patients with C1-INH-AAE. During the follow-up period, 15 patients had AE attacks. Eight patients received pdC1-INH and 6 icatibant to relieve AE. These patients responded well to these treatments, and only one of the patients required larger doses of pdC1-INH in combination with rhC1-INH. The results of Bork *et al.* show that the majority (93.8%) of attacks in patients with C1-INHAb responded well to pdC1-INH and the response rate was similar to patients without autoantibodies (99.4% of attacks) [5].

In our patient population, pdC1-INH and rhC1-INH both were effective as short-term prophylaxis.

Before introducing long-term prophylaxis, we took into account the patient's age, the underlying and other concomitant diseases, the medicinal products taken regularly along with possible drug interactions, the adverse effects of danazol and TXA, and the patient's preferences. With this done, long-term prophylaxis could be introduced in a smaller proportion (18%) of the patients, than that reported by other authors (Gobert 83%, Bork 45%, Bygum 88% and Zanichelli 58%) [3, 5, 22, 28]. Although other authors found TXA effective in reducing the number of AE attacks (in 71 to 85% of the treated patients according to Zanichelli, Gobert and Bygum), we could not confirm this in our patients. However, the small number of our study population precluded drawing a meaningful conclusion in this respect. There are only a few side effects during TXA treatment, which means that the risks/benefits ratio is good, in particular, the possibility of developing thrombosis should be considered. In Gobert's study, thromboembolism is mentioned in 6/45 patients, 3 of whom had a significant genetic/other thrombophilic tendency (i.e. APL syndrome, antithrombin II deficiency and disseminated B-cell lymphoma) [22]. In Zanichelli's study, 4 thromboembolic events occurred in 34 patients. However, the author also mentions that in 3 of 4 patients, treatment with TXA needed to be restarted (with anticoagulation) because of poor symptom control with other agents [3]. Undesirable effects can be avoided by taking into account the factors described earlier and by establishing the indications for the use of drugs for long-term prophylaxis carefully.

Long-term prophylaxis with danazol was effective in case of one of our patients (according to her report).

Most of the limited data available from the literature have been accumulated in cross-sectional studies conducted in C1-INH-AAE [5, 14, 22, 24, 28], and only three of these discuss the impact of underlying disorders and their therapy on AE attacks [5, 22, 28].

When an underlying disorder is identified in the background of C1-INH-AAE, its early recognition and management have a great influence on the symptoms of C1-INH-AAE. Considering our patients, an underlying disease was diagnosed in

71% – a lymphoid malignancy in 50%, and MGUS in 33%. These proportions largely match those reported in Gobert's study, and 79% of 92 C1-INH-AAE patients had an underlying disorder: a lymphoid malignancy in 60% and MGUS in 38% [22]. Bork *et al.* found an underlying disorder in 90% of their 44 patients, lymphoid malignancy in 30% and MGUS in 53% [5].

Six of our patients received rituximab as a treatment for an underlying disorder. Remarkably, rituximab was the agent most widely administered for underlying disorder, including MGUS and lymphoma in Gobert's study. A patient of ours (N° 12) diagnosed with MGUS received rituximab for severe, recurring AE attacks – based on the experience of French researchers [22], who reported a 79% success rate with rituximab administered for frequently recurring AE episodes. The duration of symptom-free periods also increased after treatment [22]. The strengths of our study are the regular follow-up, and the detailed investigation of many factors; these make it possible to develop an individualized strategy for management and follow-up. However, the low number of patients (due to the rarity of the disease) limits the robustness of our study.

Our findings support that regular follow-up is suitable for demonstrating that an underlying disorder may develop also in type C1-INH-AAE with C1-INHab [2]. Furthermore, the occurrence of MGUS should be regarded a warning laboratory sign, which may precede the onset of an underlying disorder [5]. Once acquired C1-INH deficiency has been diagnosed and monoclonal antibodies appear, it is indispensable to undertake a further diagnostic evaluation to identify an underlying disorder and to continue close follow-up [5, 22, 28].

Conclusion

C1-INH-AAE is a rare but potentially life-threatening disorder. It is often a differential diagnostic challenge, particularly in patients taking ACEIs, which can elicit the symptoms of the disease. Through early diagnosis by undertaking complement tests, the identification of underlying disorders, and by introducing appropriate therapy, severe AE episodes can be avoided, or at least their frequency can be reduced. Treatment with pdC1-INH may prolong the symptom-free interval between AE attacks. The most effective long-term therapy is that of the underlying disorders, as this

may eliminate the symptoms for several years. Regular follow-up of patients is essential to develop – and adjust as necessary – an individualized treatment strategy.

Conflict of interest

K.V. Kóhalmi has received honoraria and travel grants from CSL Behring and Shire and has participated in clinical trials of BioCryst, CSL Behring, Pharming and Shire. L. Varga has received travel grants from CSL Behring and Shire Human Genetic Therapies Inc. H. Farkas has received honoraria and travel grants from CSL Behring, Shire/Takeda, Swedish Orphan Biovitrum, Octapharma, Kalvista and Pharming; and/or served as a consultant for these companies and has participated in clinical trials/registries for BioCryst, CSL Behring, Pharming and Shire. The other authors have declared that no conflict of interest exists.

Funding

This study was supported by the Hungarian Scientific Research Fund – K124557.

References

- Cugno M, Nussberger J, Cicardi M, Agostoni A. Bradykinin and the pathophysiology of angioedema. *Int Immunopharmacol* 2003; **3**: 311–7.
- Cicardi M, Zanichelli A. Acquired angioedema. *Allergy, Asthma Clin Immunol* 2010; **6**: 14.
- Zanichelli A, Azin GM, Wu MA *et al.* Diagnosis, course, and management of angioedema in patients with acquired C1-inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; **5**: 1307–13.
- Bork K, Meng G, Staubach P, Hardt J. Hereditary angioedema: New findings concerning symptoms, affected organs, and course. *Am J Med* 2006; **119**: 267–74.
- Bork K, Staubach-Renz P, Hardt J. Angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency: Spectrum and treatment with C1-inhibitor concentrate. *Orphanet J Rare Dis* 2019; **14**: 65.
- Zotter Z, Csuka D, Szabó E *et al.* The influence of trigger factors on hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Orphanet J Rare Dis* 2014; **9**: 44.
- 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**: 4680–5.
- Davis AE, Lu F, Mejia P. C1 inhibitor, a multi-functional serine protease inhibitor. *Thrombosis Haemostasis* 2010; **104**: 886–93.
- 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.

- 10 Castelli R, Wu MA, Arquati M *et al.* High prevalence of splenic marginal zone lymphoma among patients with acquired C1 inhibitor deficiency. *Br J Haematol* 2016; **172**: 902–8.
- 11 Zanichelli A, Bova M, Coerezza A, Petraroli A, Triggiani M, Cicardi M. Icatibant treatment for acquired C1-inhibitor deficiency: A real-world observational study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2012; **67**: 1074–7.
- 12 Levi M, Cohn D, Zeerleder S, Dziadzio M, Longhurst H. Long-term effects upon rituximab treatment of acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2019; **74**: 834–40.
- 13 Castelli R, Deliliers DL, Zingale LC, Pogliani EM, Cicardi M. Lymphoproliferative disease and acquired C1 inhibitor deficiency. *Haematologica* 2007; **92**: 716–8.
- 14 Greve J, Hahn J, Nordmann M *et al.* Nanofiltrated C1-esterase-inhibitor in the prophylactic treatment of bradykinin-mediated angioedema. *Transfusion* 2016; **56**: 1022–9.
- 15 Bossi F, Fischetti F, Regoli D *et al.* Novel pathogenic mechanism and therapeutic approaches to angioedema associated with C1 inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2009; **124**: 1303–10.e4.
- 16 Mansi M, Zanichelli A, Coerezza A *et al.* Presentation, diagnosis and treatment of angioedema without wheals: A retrospective analysis of a cohort of 1058 patients. *J Intern Med* 2015; **277**: 585–93.
- 17 Sbattella M, Zanichelli A, Ghia P *et al.* Splenic marginal zone lymphomas in acquired C1-inhibitor deficiency: clinical and molecular characterization. *Med Oncol* 2018; **35**: 118.
- 18 Craig TJ, Bernstein JA, Farkas H, Bouillet L, Boccon-Gibod I. Diagnosis and treatment of bradykinin-mediated angioedema: Outcomes from an angioedema expert consensus meeting. *Int Arch Allergy Immunol* 2014; **165**: 119–27.
- 19 Széplaki G, Varga L, Osváth L, Karádi I, Füst G, Farkas H. Deep venous thrombosis associated with acquired angioedema type II in a patient heterozygous for the mutation of factor V Leiden: Effective treatment and follow-up for four years. *Thromb Haemost* 2006; **95**: 898–9.
- 20 Ziakas PD, Giannouli S, Psimenou E, Evangelia K, Tzioufas AG, Voulgarelis M. Acquired angioedema: a new target for rituximab? *Haematologica* 2004; **89**: ELT13.
- 21 Cugno M, Castelli R, Cicardi M. Angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency: A bridging condition between autoimmunity and lymphoproliferation. *Autoimmun Rev* 2008; **8**: 156–159.
- 22 Gobert D, Paule R, Ponard D *et al.* A nationwide study of acquired C1-inhibitor deficiency in France. *Medicine (Baltimore)* 2016; **95**: e4363.
- 23 Branellec A, Bouillet L, Javaud N *et al.* Acquired C1-inhibitor deficiency: 7 patients treated with rituximab. *J Clin Immunol* 2012; **32**: 936–41.
- 24 Longhurst HJ, Zanichelli A, Caballero T *et al.* Comparing acquired angioedema with hereditary angioedema (Types I/II): Findings from the icatibant outcome survey. *Clin Exp Immunol* 2017; **188**: 148–53.
- 25 He S, Sim RB, Whaley K. Mechanism of action of anti-C1-inhibitor autoantibodies: Prevention of the formation of stable C1s-C1-inh complexes. *Mol Med* 1998; **4**: 119–128.
- 26 Cugno M, Zanichelli A, Bellatorre AG, Griffini S, Cicardi M. Plasma biomarkers of acute attacks in patients with angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2009; **64**: 254–7.
- 27 Széplaki G, Varga L, Szépvölgyi A *et al.* Acquired angioedema associated with primary antiphospholipid syndrome in a patient with antithrombin III deficiency. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; **146**: 164–8.
- 28 Bygum A, Vestergaard H. Acquired angioedema - Occurrence, clinical features and associated disorders in a Danish nationwide patient cohort. *Int Arch Allergy Immunol* 2013; **162**: 149–155.
- 29 Busse PJ, Christiansen SC. Hereditary angioedema. *N Engl J Med* 2020; **382**: 1136–48.
- 30 Otani IM, Banerji A. Acquired C1 inhibitor deficiency. *Immunol Allergy Clin North Am* 2017; **37**: 497–511.
- 31 Zingale LC, Castelli R, Zanichelli A, Cicardi M. Acquired deficiency of the inhibitor of the first complement component: presentation, diagnosis, course, and conventional management. *Immunol Allergy Clin North Am* 2006; **26**: 669–90.
- 32 Delamarche C, Berger F, Pouplard A, Emile J. An ELISA technique for the measurement of C1q in cerebrospinal fluid. *J Immunol Methods*. 1988
- 33 Mészáros T, Füst G, Farkas H *et al.* C1-inhibitor autoantibodies in SLE. *Lupus*. 2010

Correspondence: Henriette Farkas, Hungarian Angioedema Reference Center, Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Szentkirályi street 46, Budapest H-1088, Hungary.
(fax: +36-1 225-3899; e-mail: farkas.henriette@med.semmelweis-univ.hu). ■



Research article

Long term follow-up of complement parameters to improve the management of acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency

Zsafia Polai^a, Zsuzsanna Balla^a, Lilian Varga^a, Szabolcs Benedek^b, Henriette Farkas^{a,*}^a Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence, Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Budapest, Hungary^b Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Budapest, Hungary

HIGHLIGHTS

- Angioedema attacks predict the onset of the underlying disease.
- After the treatment of the underlying disease, angioedema attacks improve or disappear.
- After the treatment of the underlying disease, complement parameters are normalized.
- Decreasing complement parameters predict the recurrence of the angioedema.
- Decreasing complement parameters predict the recurrence of the underlying disease.

ARTICLE INFO

Keywords:

Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency
C1-inhibitor
Classical complement pathway
Lymphoproliferative diseases
Rituximab

ABSTRACT

Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency (C1-INH-AAE) is a rare disease that can be diagnosed via complement testing. It often accompanies lymphoproliferative underlying diseases. Our study aimed to examine if there is a connection between complement parameters and the clinical symptoms of C1-INH-AAE, and, in case of a known underlying disease, its activity. The other question is how a connection, if proven, could help in the development of the therapeutic strategy of C1-INH-AAE patients.

In the past 30 years, out of the 3938 patients sent to the Angioedema Center with angioedema symptoms, we have diagnosed C1-INH-AAE in 19 cases. An underlying disease was diagnosed in 15 patients. Most often lymphoma (6/19 patients) and monoclonal gammopathy of undetermined significance (6/19 patients) were found.

Angioedema specific long-term prophylaxis did not result in an improvement in neither the frequency of the attacks nor in the complement parameters.

A connection has been found between the presence and activity of any underlying disease, the frequency of the angioedema attacks and the decreased level of proteins of the complement system. Decreasing complement parameters warn about the appearance or the worsening of the underlying disease. The treatment of the underlying disease brings improvement in the complement parameters.

Rituximab treatment reduced the number of attacks or completely made them disappear, and we experienced positive changes in complement parameters. Complement parameters supported the long-term efficacy of rituximab treatment for C1-INH-AAE.

The change in complement parameters predict the relapse of the underlying disease, and it is a good indicator for the prediction of angioedematous attacks. In C1-INH-AAE, it is essential to examine the patients for underlying diseases, and to regularly follow up the patient's complement parameters.

1. Introduction

Two types of bradykinin-mediated angioedemas can be distinguished: hereditary angioedema (HAE) and acquired angioedema (AAE). Both are

characterized by recurrent subcutaneous and/or submucosal angioedema attacks. Both the hereditary and the acquired form can occur due to C1-inhibitor (C1-INH) deficiency (C1-INH-HAE, C1-INH-AAE) [1, 2, 3, 4, 5]. C1-INH-AAE is a rare disorder, with an approximate incidence rate

* Corresponding author.

E-mail address: farkas.henriette@med.semmelweis-univ.hu (H. Farkas).<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11292>

Received 25 July 2022; Received in revised form 13 October 2022; Accepted 25 October 2022

2405-8440/© 2022 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

of 1:500,000, the family history is negative, and the angioedema symptoms occur over the age of 40 years [2, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

Angioedema can occur in all body regions and can lead to a life-threatening state; if the edema occurs in the larynx, it can lead to life-threatening laryngeal edema with suffocation [1, 4, 6, 9, 12, 13, 14, 15].

Several factors can have a role in the development of the symptoms; widely used angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEIs) antihypertensives must be highlighted [9, 12, 16], but estrogen containing oral contraceptives [4, 9, 17], mechanical trauma, psychological stress, and bacterial or viral infections may also contribute to the edematous attacks [1, 4, 8].

The laboratory parameters of C1-INH-AAE are characterized by reduced total hemolytic complement (CH50), C1-INH concentration and activity and C4 level, and in 75% of the cases by decreased C1q level as well. Antibodies against C1-INH (C1-INH-Ab) can be detected in a number of patients [4, 6, 7, 8, 9, 10, 13, 16, 19].

C1-INH-AAE occurs with co-morbid lymphoma, monoclonal gammopathy of unknown significance, and other lymphoproliferative disorders or autoimmune diseases. These diseases associated with C1-INH-AAE are characterized by an increased consumption and a relative deficiency of the C1-INH protein. Depending on the disease, the consumption is due to the activation of the classic complement, coagulation, or kallikrein-kininogen pathway. All of these pathways share regulation by C1-INH. Ultimately the unregulated production of bradykinin triggers endothelial cell activation which is responsible for the increased capillary permeability and the development of angioedema. Another potential mechanism to deplete C1-INH is autoantibodies specific for C1-INH produced by malignant or dysregulated B lymphocytes [2, 6, 8, 9, 13, 16, 18, 19, 20].

The goals of C1-INH-AAE treatment strategy are targets therapies of both angioedema attacks and the underlying disease. Angioedema attacks can be prevented by the avoidance of trigger factors [1, 4] and can be treated with the following: plasma-derived C1-INH (pdC1-INH), recombinant human C1-INH (rhC1-INH), bradykinin B2 antagonist (icatibant) and kallikrein inhibitor (ecallantide). For the prophylaxis of angioedema attacks, attenuated androgens and tranexamic acid can be used [4, 6, 8, 13, 16, 19, 21, 22]. Recent studies have proven that rituximab (anti-CD20 antibodies) can also be effective in case of serious C1-INH-AAE.

If the underlying disease is known, its treatment can reduce the number of angioedema attacks or even completely stop them [21].

While in C1-INH-HAE, there is no connection found between the quantity of specific complement components (CH50, C4, C1-INH concentration and activity) and the severity of the disease, there is no data regarding this in C1-INH-AAE in the literature.

The purpose of our prospective study was to examine if there is a connection between complement parameters and the clinical symptoms of C1-INH-AAE, and in case of a known underlying disease, its activity. The other question was that if a connection can be proven, how can it help in the development of the therapeutic strategy of C1-INH-AAE patients.

2. Materials and methods

We analyzed the clinical and laboratory data of 19 C1-INH-AAE patients recorded during follow-up visits at the Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence.

Our patient group consisted of patients sent to our Center between 1999–2020 with angioedema symptoms of unknown origin. The basis of the diagnosis of C1-INH-AAE is the negative family history, the time of the first appearance of the symptoms, and the results from the laboratory examination of the classical complement pathway (CH50, C1q, C4, C1-INH concentration, C1-INH functional activity, and C1-INH-Ab).

At our Center 19 patients have been diagnosed with C1-INH-AAE since 1999, and all of them were included in this study.

At the time of the diagnosis, all patients received a patient diary for keeping a record of the information about their disease and the necessary medication. If the medical history of the patient mentioned no underlying disease, further examinations (laboratory, imaging) were completed. Patients made a follow-up visit at least once a year, during which the following were recorded in the National Angioedema Registry: the trigger factors, the frequency and localization of the angioedema attacks, information about further diseases and medical interventions, plus other diseases and acute and prophylactic treatments used for angioedema attacks. During these visits, phlebotomy was performed (into serum tubes, without additives) for laboratory examinations and complement assays at every follow-up visit. After sampling, the tubes were centrifuged and blood serum was used for the laboratory examinations which were performed in maximum 2 weeks. In the meantime, the samples were stored on -20 °C.

2.1. Complement testing

To quantify antigenic C1-inhibitor levels, in-house radial immunodiffusion was performed.

The concentration of the functional C1-inhibitor was measured with a C1-inhibitor enzyme immunoassay kit (Quidel, San Diego, CA). The concentration of C1q and C1-INH-Ab were determined by in-house sandwich ELISA methods [23, 24]. CH50 (total hemolytic activity) of the classical pathway was determined with a hemolytic assay. C3 and C4 concentrations were measured by turbidimetry (Cobas Integra 400 analyzer; Roche, Switzerland).

2.2. Statistical methods

The differences between the complement parameters of the two sexes were compared with Mann-Whitney tests. The change in complement parameters in time was assessed with Pearson-correlation.

Statistical calculation was done with GraphPad Prism 7.00 software.

2.3. Ethics approval and consent to participate

The study protocol was approved by the institutional review board of Semmelweis University of Budapest, Informed consent was obtained from the participants in accordance with the Declaration of Helsinki.

3. Results

3.1. Demographics

During the examined time period, 3938 patients were sent to our Center with angioedema symptoms of undetermined origin; out of these patients, 214 were diagnosed with C1-INH deficiency. Ninety-two percent (197) were diagnosed with C1-INH-HAE, and 8% (19) with C1-INH-AAE. The ratio of hereditary and acquired C1-INH deficiency in our patient group is 11:1.

The sex ratio of the patients was even, 9 male and 10 female. The average age at the first angioedema symptom was 58 years (min.: 40, max.: 83); at the time of diagnosis the average age was 60 years (min.: 41, max.: 83) and the average delay in diagnosing was 4 years (min.: 0, max.: 31). The average follow-up time was 6 years (min.: 1, max.: 16) and the patients had a follow-up visit at least once a year. The clinical manifestation of C1-INH-AAE was presented in a previous article [25].

At the time of diagnosis, our patients showed a complement pattern that is a characteristic of acquired C1-INH-AAE. CH50, C4, C1-INH concentration and activity were decreased in all patients. Most patients (12/19) had a decreased C1q and 11/19 patients had C1-INH-Ab (5 patients had IgG, 6 patients had IgA, 5 patients had IgM type C1-INH-Ab).

Four patient (P1, P9, P10, P14) died during follow-up, but their death was not related to C1-INH-AAE. After two years of examinations, one patient (P15) was lost to follow-up.

3.2. Treatment of angioedema attacks

The most common cause (6 patients) of angioedema attacks was the use of ACEI medications, which were stopped and an antihypertensive with an alternative mechanism of action was selected. Mechanical trauma as a trigger factor was reported by 5 patients, one patient marked specific foods as the trigger of the angioedema attacks.

Twelve subjects used acute treatment for attacks. PdC1-INH (10/12), rhC1-INH (3/12) and icatibant (6/12) treatment were effective in the cessation of the angioedema attacks. A dosage of 55UI/kg of PDC1-INH, greater than the approved dose of 20UI/kg [8], of pdC1-INH was used for patient 10 (P10) due to lack of efficacy of lower dosage. As preprocedural prophylaxis, pdC1-INH was given to 2 patients before a dental procedure, 1 patient received icatibant before a dental procedure, 1 patient received rhC1-INH before an abdominal hernia operation. The procedures were successful, and angioedema did not occur.

As long-term prophylaxis, 1 patient (P7) received attenuated androgen (danazol), and 2 patients received tranexamic acid (P10, P12). Despite long-term prophylaxis, all three patients experienced angioedema attacks. The Mann-Whitney test was used to compare each complement parameter during and without long-term prophylaxis. P7, the patient taking danazol, showed a marginally significant increase in the level of C1q (p = 0.0212) during prophylaxis; the patients taking tranexamic acid (P10, P12) showed no significant change in any complement parameter (CH50, C1q, C4, C3, C1-INH antigenic level and functional activity, or C1-INH-Ab).

3.3. Underlying diseases and treatment

Six patients (P2, P5, P6, P13, P14, P18) were diagnosed with lymphoma; 6 patients (P3, P8, P10, P11, P16, P17) had MGUS, 3 patients (P7, P9, P12) had other malignant diseases (myeloma multiplex, chronic lymphocytic leukemia, or basal cell adenoma) as an underlying disease. In case of 8 patients (P2, P3, P7, P8, P9, P11, P16, P17) the underlying disease did not require treatment, 5 patients received rituximab treatment (P6, P10, P13, P14, P18); one patient (P5) received rituximab treatment and autologous stem cell transplantation; one patient (P12) received VAD (vincristin, doxorubicin, dexamethasone) chemotherapeutic treatment, autologous stem cell transplantation due to the underlying disease and received rituximab treatment for the recurrent angioedema attacks.

In case of 4 patients with underlying diseases (P10, P12, P13, P14) the long-term follow-up made it possible to compare the number of angioedema attacks prior to and after the treatment of the underlying disease. In addition, the number of angioedema attacks/year can be compared between patients who got treatment for their underlying disease and those

who were not treated this way (Figure 1). Patients who did not have an underlying disease were excluded from this evaluation.

Complement parameters were investigated to see if they are reliable factors to predict the change of the severity of C1-INH-AAE and the underlying disease. Complement parameters changed over time during the multiannual follow-up which is shown on Figure 2. Out of the nineteen patients, four are not shown, since P4 and P5 did not have attacks, and P18 and P19 were evaluated in the last 12 months, therefore they were excluded from the investigation due to the small amount of data available.

3.4. Underlying disease appearance and complement parameters

The significant decrease we found in the complement parameters predicted the development of the underlying disease. Figure 3 shows this connection in the case of P12.

3.5. Rituximab treatment and complement parameters

Following rituximab treatment, the attacks of 3 patients (P6, P12, P14) completely ceased; for P10, the frequency of the attacks did not change; for P13, the number of attacks decreased. P5 did not have attacks even prior to the treatment; thus the change in attack frequency could not be assessed.

In case of the patients, who got rituximab treatment (P5, P6, P10, P12, P13, P14) the value of CH50, C1q, C4, C1-INH concentration, C1-INH activity significantly increased and IgM type C1-INH-Ab level significantly decreased (p < 0,05) after treatment with rituximab (Figure 4.).

4. Discussion

There are limited data in the medical literature related to the long-term follow-up of C1-INH-AAE patients; most of these data primarily focus on the clinical symptoms and the treatment. With larger patient number and longer follow-up period, this report provides evidence that the clinical symptoms of C1-INH-AAE patients, the frequency of the angioedema attacks, the appearance and activity of the underlying disease, and the treatment of these diseases show a connection with the complement parameters.

Regarding demographic data, the ratio of men and women was equal and sex did not influence the clinical picture or the complement parameters, as it was predictable from existing literature data [26].

While in C1-INH-HAE, mechanical trauma is the most common trigger factor, in C1-INH-AAE, the administration of ACEI medication is the most common provoking factor. This difference may be the result of the fact that C1-INH-AAE starts in older age, when using antihypertensive medication is more common. Following our previously published national protocol, we concomitantly stop the ACEI medication and perform complement testing in case of every angioedema patient [27].

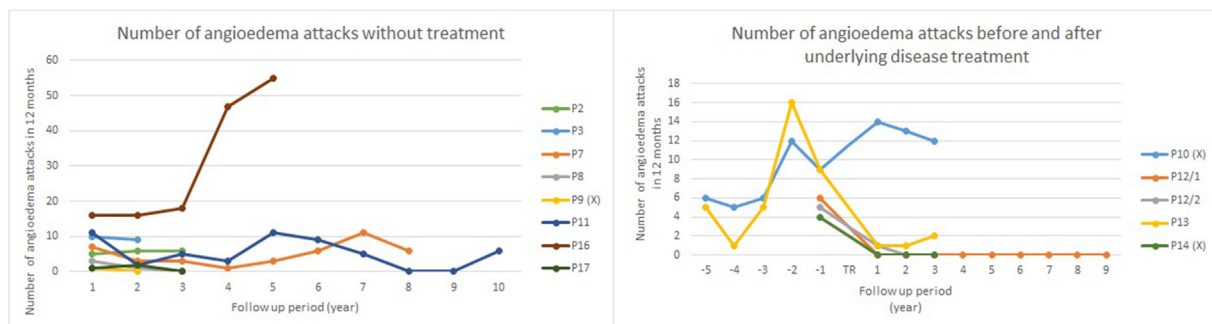


Figure 1. Yearly number of angioedema attacks before and after underlying disease treatment (TR).

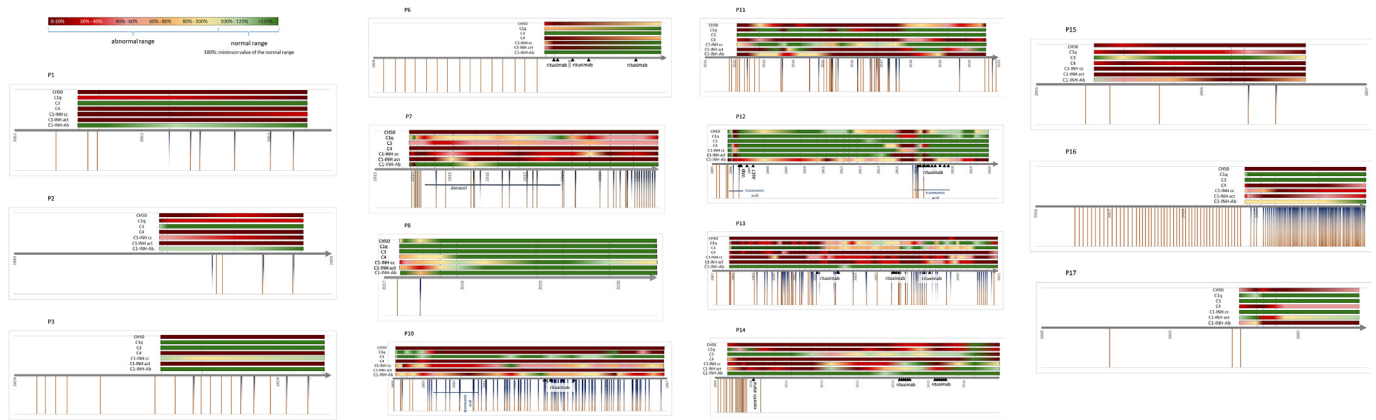


Figure 2. Changes of complement parameters, angioedema attacks and treatments during long term follow-up. Colour scale: green colors mean that the given parameter was in the normal range; from yellow to red, the values are further away from the normal range. Under the time axis, brown lines mean the attacks, and blue half-lines mean the treatments. Horizontal blue lines show a long-term prophylaxis, with the medication named under. Black star: diagnosis of the underlying disease. Black triangles show the type of the underlying disease and its time points. The deceased patient's timelines end without an arrow. CH50: total hemolytical complement; C1-INH cc: C1-inhibitor antigenic concentration; C1-INH act: C1-inhibitor activity; MZL: marginal zone lymphoma; MGUS: monoclonal gammopathy of undetermined significance; CLL: chronic lymphoid leukemia; MM: myeloma multiplex; VAD: chemotherapy of vincristine, doxorubicin, dexamethasone; ASCT: autologous stem cell therapy.

This rationale supported by the fact that 6 of our patients had been taking ACEI medication prior to the diagnosis.

All three on demand treatments (pdC1-INH, rhC1-INH, icatibant) successfully ceased the edematous attacks, similarly to what Bork and Bouillet has experienced [26, 28].

One of our patients needed an increased dose of pdC1-INH (max 55 UI/kg) for the cessation of the attacks. This patient had C1-INH-Ab. In a previous study, similar observations were made that patients with C1-INH-Ab need a larger dose (even 9 times larger) of pdC1-INH. The reason for this may be that antibodies inactivate the administered C1-INH. Since we detected C1-INH-Ab in 11 of our patients, and only one of these patients needed more than the recommended 20 UI/kg pdC1-INH for the treatment of the angioedema attacks, it is possible that other mechanisms may also play a role in the different therapeutic responses [11, 26, 28, 29].

Three of our patients received long-term angioedema prophylaxis; for the indication, concomitant diseases, underlying diseases, the side effects of medications (dyslipidemia, hematological and liver malignancies, hypertension, and thrombosis) [6, 19] and the preferences of the patient were taken into account. We could not prove objectively (regarding the number of attacks or the complement parameters) the positive effects of long-term prophylaxis (danazol, tranexamic acid) in case of our patients. According to the literature, 94.1% of patients taking danazol experience a medical status improvement [6, 25].

Regarding complement parameters, we could assess a slightly significant difference in the level of 1-1 complement parameter in 2 patients, so the advantageous effect of these cannot be unequivocally stated.

58% of our patients were diagnosed with an underlying disease, this data in the literature varies between 70-93% [4, 7, 9, 26]. Regarding the type of the underlying disease, we assessed similar incidence rates to the data found in the literature. 32% of our patients were diagnosed with a lymphoproliferative disorder, while the literature mentions 27-64% [1, 8, 9, 15, 26]. MGUS was found in 53% of our patients, while other studies reported 32-48% [4, 10, 15, 26]. Besides following-up the C1-INH-AAE of our patients, they are regularly monitored for the underlying disease as well. 4 of our MGUS patients developed lymphoma during the follow-up years.

The angioedema attacks did not become less frequent in patients, who did not get treatment for their underlying disease. Apart from one patient

(P10), the number of attacks decreased after the treatment of the underlying disease; in 3 out of 5 cases the subjects were symptom-free. In one patient (P12), angioedema symptoms did not appear until 9 years after the treatment of the underlying disease (autologous stem cell transplantation and VAD chemotherapy) (P12/1 on Figure 1); the symptoms reoccurred while no examination confirmed the return of the underlying disease. After rituximab treatment (P12/2 on Figure 1), the angioedema episodes ceased.

To sum up, following rituximab therapy the underlying disease went into remission, and the frequency of the angioedema attacks decreased as well. It also reduced the number of angioedema attacks, or even ceased them, if the rituximab therapy was only introduced because of the angioedema attacks. In cases, where we could not diagnose any lymphoproliferative underlying disease, it is possible that a lymphoproliferative process was already present in a very early stage and that the rituximab treatment solved the source of the problem.

One of our patients (P12) received rituximab treatment only because of C1-INH-AAE (frequent angioedema attacks). During the 4-year-long follow-up period, he did not experience an angioedema attack. This is in line with the observation that rituximab treatment may be effective in cases where no underlying disease can be diagnosed (just yet) as a root cause of C1-INH-AAE [1, 4].

4.1. Changes of complement parameters

The timelines of the individual patients show that the complement parameters do not change or get worse without the treatment of the underlying disease (P1, P2, P3, P7, P11, P15, P16, P17).

We found only one exception: in case of P8, after one dosage of pdC1-INH the angioedema attacks disappeared and the complement parameters went back to normal.

Patients who got treatment for the angioedema attacks (P6, P10, P12, P13, P14) show improving complement results.

Statistical calculation confirms the significant decrease of complement parameters as the patients get closer to the time of the treatment of the underlying disease (we assume that if the underlying disease needs treatment then it is getting more and more severe with time and it is the most severe just before the treatment). This verifies that the complement parameters, and thus the classical complement pathway have close connection with the underlying disease.

Changes of complement parameters before the treatment of the underlying disease

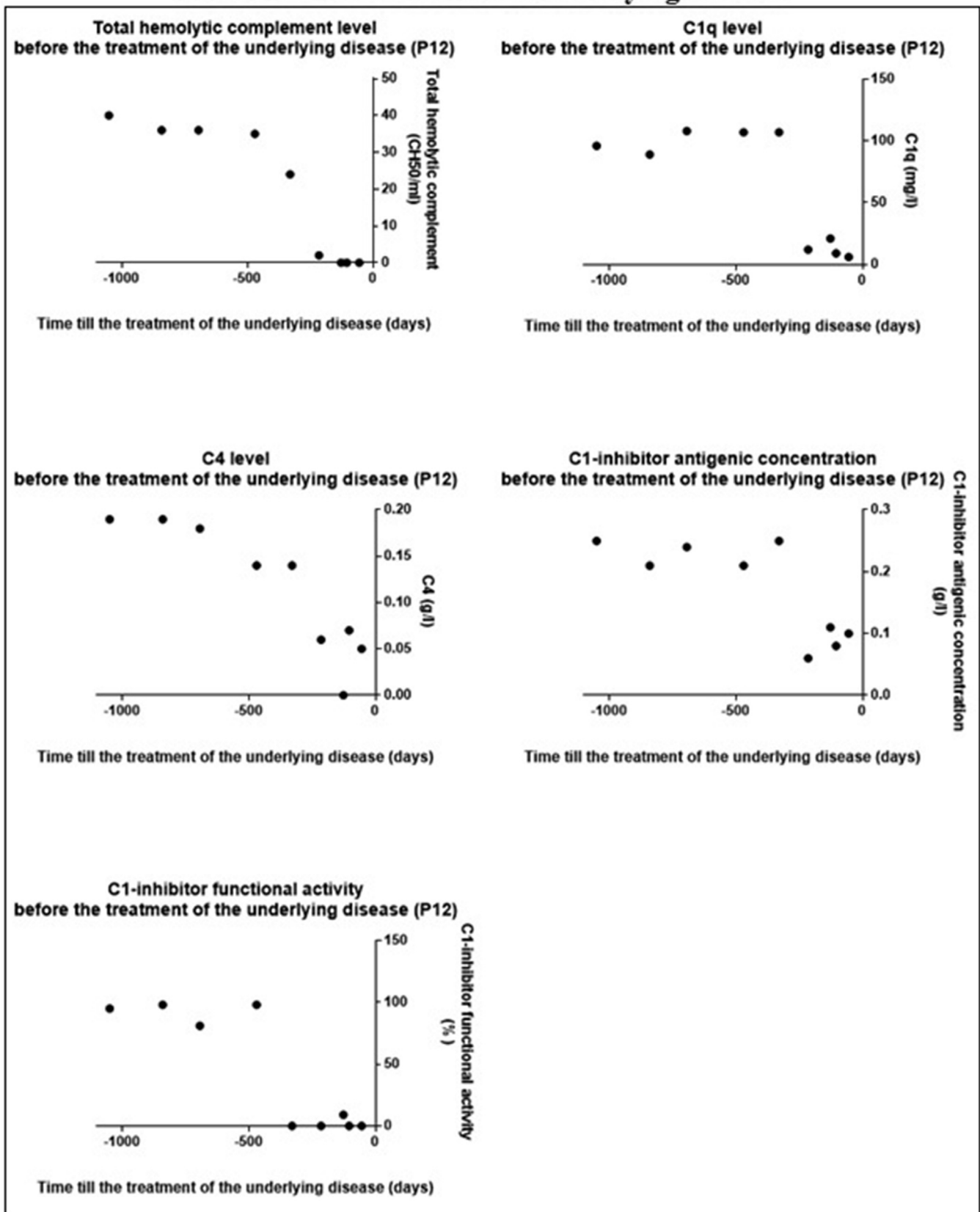


Figure 3. Changes of complement parameters before the treatment of the underlying disease. 0 of X axis: treatment of the underlying disease.

Changes of complement parameters before and after rituximab treatment

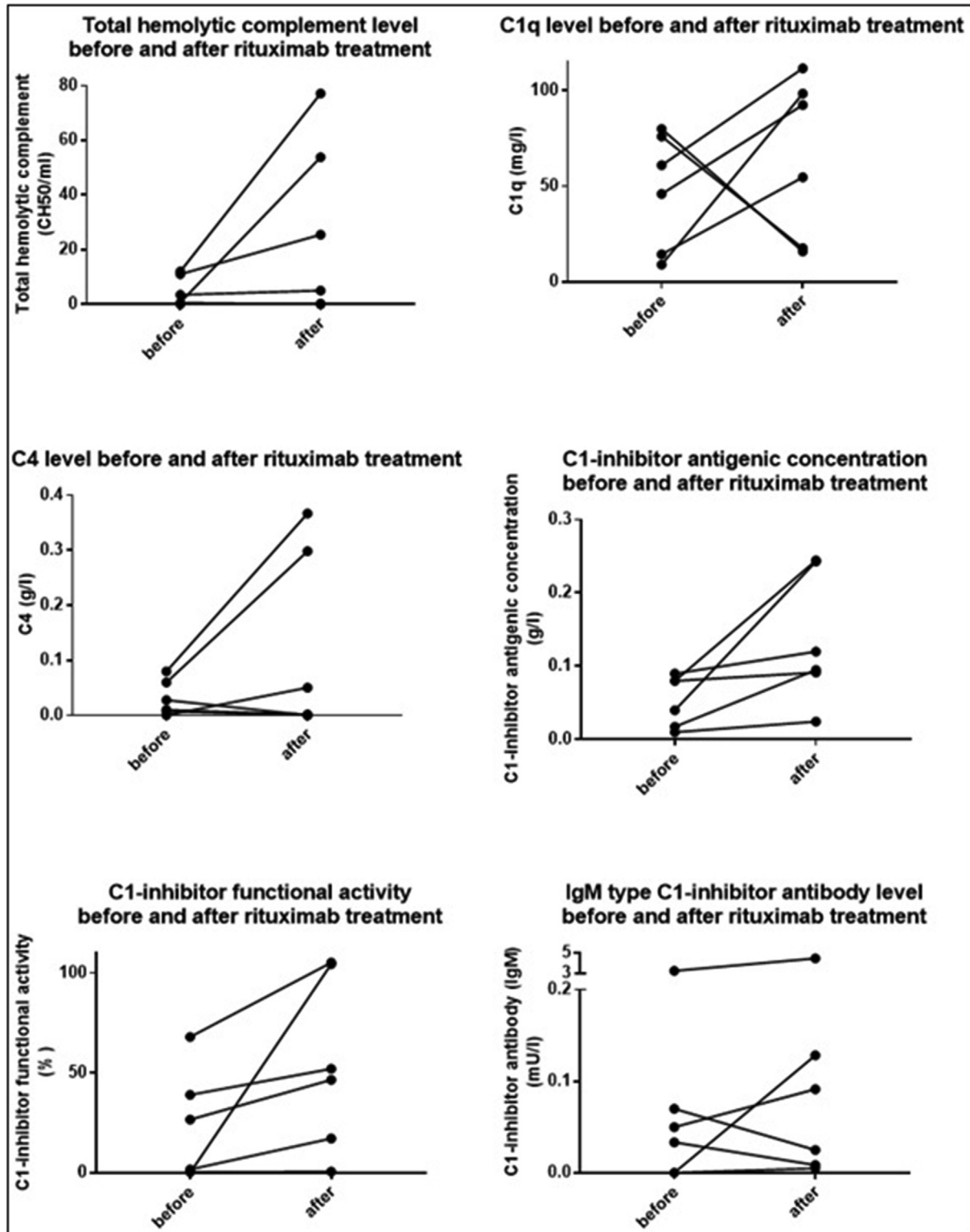


Figure 4. Changes of complement parameters before and after rituximab treatment.

The effect of rituximab on the underlying disease and the angioedema attacks was supported by the results of complement testing. All the analyzed complement parameters changed positively, i.e. CH50, C4, C1q, C1-INH antigenic concentration and activity increased, and we found a negative correlation between the frequency of the attacks and the

complement values. Levi have published a similar observation for 10 patients following rituximab treatment [18].

Our new observation was that complement parameters predicted both the appearance of the angioedema episodes the increase in their frequency and the recurrence of the underlying disease.

5. Conclusions

Based on our examination, we can prove the statement that the thorough exploration of the underlying disease is the key in C1-INH-AAE, since its treatment decreases or ceases the development of angioedema attacks.

The follow-up of the complement parameters is essential in the prediction of the underlying disease. Decreasing complement parameters is a warning sign of the appearance or the worsening of the underlying disease. The treatment of the underlying disease brings improvement in the complement parameters as well. Rituximab can be effective even in cases where the underlying disease was not explored or is in remission, but the angioedema episodes occur frequently.

Previously there was no study about C1-INH-AAE that statistically evaluated the connection between the typical complement profile and the treatment of the related underlying disease in a bigger data set; therefore, our work contains several new observations from many aspects.

The monitoring of complement parameters can help in developing a long-term treatment strategy for physicians treating C1-INH-AAE and the underlying disease. This monitoring could provide further objective data for proving the effectiveness of the therapy and its monitoring, and in case of C1-INH-AAE, complement parameters could be used as a predicting biomarker, in contrast to C1-INH-HAE, where no connection can be made between the severity of the disease and the complement parameters.

Declarations

Author contribution statement

Zsófia Polai: Conceived and designed the experiments; Performed the experiments; Analyzed and interpreted the data; Wrote the paper.

Zsuzsanna Balla; Lilian Varga; Szabolcs Benedek: Contributed reagents, materials, analysis tools or data.

Henriette Farkas: Conceived and designed the experiments; Contributed reagents, materials, analysis tools or data; Wrote the paper.

Funding statement

Henriette Farkas was supported by Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap [124557].

Data availability statement

Data will be made available on request.

Declaration of interest's statement

The authors declare the following conflict of interests:

H. Farkas has received honoraria and travel grants from CSL Behring, Shire/Takeda, Swedish Orphan Biovitrum, Octapharma, Kalvista and Pharming; and/or served as a consultant for these companies and has participated in clinical trials/registries for BioCryst, CSL Behring, Pharming, Pharvaris and Shire.

Zs. Balla has participated in clinical trials of CSL Behring, Pharvaris and Takeda.

The other authors have declared that no conflict of interest exists.

Additional information

No additional information is available for this paper.

Acknowledgements

We would like to thank the medical professionals working in the day-to-day care of these patients, without whose help this study could not

have been possible. Namely Judit Bali, Lászlóné Kertész, Andrásné Dóczi and Éva Zsuzsanna Szendrei.

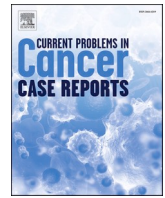
References

- [1] J. Kazandjieva, G. Christoff, Angioedema as a systemic disease, *Clin. Dermatol.* 37 (2019) 636–643.
- [2] Z. Balla, B. Ignác, L. Varga, et al., How angioedema quality of life questionnaire can help physicians in treating C1-inhibitor deficiency patients? *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 61 (2021) 50–59.
- [3] M.A. Wu, F. Perego, A. Zanichelli, et al., Angioedema phenotypes: disease expression and classification, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 51 (2016) 162–169.
- [4] I.M. Otani, A. Banerji, Acquired C1 inhibitor deficiency, *Immunol. Allergy Clin. Pract.* 37 (2017) 497–511.
- [5] P.J. Busse, S.C. Christiansen, Hereditary angioedema, *N. Engl. J. Med.* 382 (2020) 1136–1148.
- [6] P.M. Leru, V.F. Anton, H. Bumbea, Nine year follow-up of a rare case of angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency with late onset and good response to attenuated androgen, *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 14 (2018) 69.
- [7] Y. Shi, C. Wang, Where we are with acquired angioedema due to C1 inhibitor deficiency: a systematic literature review, *Clin. Immunol.* 230 (2021), 108819.
- [8] D. Gobert, L. Bouillet, G. Armengol, et al., Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency: CREAK recommendations for diagnosis and treatment, *Rev. Med. Interne* 41 (2020) 838–842.
- [9] M. Sobotkova, R. Zachova, R. Hakl, et al., Acquired angioedema with C1 inhibitor deficiency: occurrence, clinical features, and management: a nationwide retrospective study in the Czech republic patients, *Int. Arch. Allergy Immunol.* 182 (2021) 642–649.
- [10] S. Roy, V.M. Konala, T. Kyaw, et al., An unusual case of acquired angioedema and monoclonal gammopathy of renal significance in a middle-aged caucasian female, *J. Investig. Med. High Impact Case Rep* 8 (2020), 2324709620912096.
- [11] A. Zanichelli, G.M. Azin, M.A. Wu, et al., Diagnosis, course, and management of angioedema in patients with acquired C1-inhibitor deficiency, *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 5 (2017) 1307–1313.
- [12] H. Farkas, N. Veszeli, E. Kajdác, et al., “Nuts and bolts” of laboratory evaluation of angioedema, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 51 (2016) 140–151.
- [13] A. Belbézier, I. Boccon-Gibod, L. Bouillet, Efficacy of lanadelumab in acquired angioedema with C1-inhibitor deficiency, *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 9 (2021) 2490–2491.
- [14] L.S. MacBeth, G.W. Volcheck, J. Sprung, et al., Perioperative course in patients with hereditary or acquired angioedema, *J. Clin. Anesth.* 34 (2016) 385–391.
- [15] A. Abdulkareem, R.S. D'Souza, J. Mundorff, et al., Refractory abdominal pain in a patient with chronic lymphocytic leukemia: Be wary of acquired angioedema due to C1 esterase inhibitor deficiency, *Case Rep Hematol* (2018), 7809535.
- [16] M. Jesenak, M. Brndiarova, P. Banovcin, et al., Successful use of recombinant human C1-INH in a patient with acquired angioedema due to C1 inhibitor deficiency and an unusually high titer of anti-C1-inhibitor autoantibodies, *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 31 (2021) 255–256.
- [17] E. Marbán Bermejo, T. Caballero, M. López-Trascasa, et al., Acquired angioedema with anti-C1-inhibitor autoantibodies during assisted reproduction techniques, *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 28 (2018) 62–64.
- [18] M. Levi, D. Cohn, S. Zeerleder, et al., Long-term effects upon rituximab treatment of acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency, *Allergy* 74 (2019) 834–840.
- [19] A.J. Bonnin, C. DeBrosse, T. Moncrief, et al., Case report presenting the diagnostic challenges in a patient with recurrent acquired angioedema, antiphospholipid antibodies and undetectable C2 levels, *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 14 (2018) 24.
- [20] M. Sbattella, A. Zanichelli, P. Ghia, et al., Splenic marginal zone lymphomas in acquired C1-inhibitor deficiency: clinical and molecular characterization, *Med. Oncol.* 35 (2018) 118.
- [21] D. Baird, T.J. Craig, J.J. Miller, Atypical presentation of acquired angioedema, *Cutis* 101 (2018) E14–E16.
- [22] H.J. Longhurst, A. Zanichelli, T. Caballero, et al., Comparing acquired angioedema with hereditary angioedema (types I/II): findings from the Icatibant Outcome Survey, *Clin. Exp. Immunol.* 188 (2017) 148–153.
- [23] C. Delamarche, F. Berger, A. Pouplard, et al., An ELISA technique for the measurement of C1q in cerebrospinal fluid, *J. Immunol. Methods* 114 (1988) 101–106.
- [24] T. Mészáros, G. Füst, H. Farkas, et al., C1-inhibitor autoantibodies in SLE, *Lupus* 19 (2010) 634–638.
- [25] Z. Pólai, Z. Balla, N. András, et al., A follow-up survey of patients with acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency, *J. Intern. Med.* 289 (2021) 547–558.
- [26] K. Bork, P. Staubach-Renz, J. Hardt, Angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency: spectrum and treatment with C1-inhibitor concentrate, *Orphanet J. Rare Dis.* 14 (2019) 65.
- [27] Z. Balla, Z. Zsilinszky, Z. Pólai, et al., The importance of complement testing in acquired angioedema related to angiotensin-converting enzyme inhibitors, *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 9 (2021) 947–955.
- [28] L. Bouillet-Claveyrolas, D. Ponard, C. Drouet, et al., Clinical and biological distinctions between type I and type II acquired angioedema, *Am. J. Med. United States.* (2003) 420–421.
- [29] H. Farkas, Current pharmacotherapy of bradykinin-mediated angioedema, *Expert Opin. Pharmacother.* 14 (2013) 571–586.



Current Problems in Cancer: Case Reports

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cpccr



Laryngeal angioedema caused by a rare disease—A case report

Zsafia Polai^a, Zsuzsanna Balla^a, Szabolcs Benedek^{a,b}, Erika Kajdacs^c, Henriette Farkas^{d,*}

^a Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence, Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Budapest, Hungary

^b Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Budapest, Hungary

^c Research Laboratory, Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Budapest, Hungary

^d Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence, Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Üllői út 26., HU-1085 Budapest, Hungary

ARTICLE INFO

Keywords:

Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency
Long term follow up
C1-inhibitor antibodies
Classical complement pathway
Myeloma multiplex
Case report

ABSTRACT

Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency (C1-INH-AAE) is a rare disease, which often appears with hematological underlying diseases. It can be diagnosed by complement testing and its treatment consists of the management of the underlying disease and angioedema attacks.

The patient (59 year-old male) who was taking angiotensin-converting-enzyme inhibitor, was referred to the Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence due to an upper airway edema which did not respond to conventional treatment and required tracheotomy. At our Center, C1-INH-AAE was diagnosed, and myeloma multiplex was found as an underlying disease. He has been followed up for the past 15 years.

After the first treatment series (chemotherapy and stem cell transplantation), his complement parameters returned to normal, but 5 years later they started to deteriorate, and the angioedema attacks recurred. To avoid the recurrence of myeloma multiplex, and due to the frequent and serious angioedema attacks, the patient got another series of rituximab treatment. It resulted in the normalization of complement values, and he had no further angioedema attacks.

Angiotensin-converting-enzyme inhibitors can trigger C1-INH-AAE.

The recurrence of the underlying disease or the angioedema attacks can be predicted by the regular follow up of the complement parameters. Thus, the treatment of the underlying disease can be started in time, before the onset of severe symptoms.

Abbreviations

ACEI	angiotensin-converting-enzyme inhibitor
ACEI-AAE	ACEI-related acquired angioedema
BSA-PBS	bovine serum albumin – phosphate buffered saline
C1-INH	C1-inhibitor
C1-INH-AAE	acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency
C1-INH-Ab	autoantibodies against C1-INH
CaC	C1-INH/C1-INH-Ab complex
CH50	total hemolytic complement
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
pdC1-INH	plasma derived C1-inhibitor
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
VAD	vincristine, doxorubicin, dexamethasone

Background

Acquired angioedema due to C1-inhibitor (C1-INH) deficiency (C1-INH-AAE) is a very rare disease; its incidence is estimated to be between 1:100,000 and 1:500,000 (Cicardi and Zanichelli, 2010a).

The disease is characterized by recurrent angiomatous episodes formed in subcutaneous or submucosal tissue. (Bork et al., 2006; Zuraw and Christiansen, 2016; Hedner et al., 1992; Kazandjieva and Christoff, 2019) Angioedema can potentially be fatal if it occurs in the upper airway (Otani and Banerji, 2017).

The age of onset is usually over 40 years if angioedema is not present in the family history (Kazandjieva and Christoff, 2019).

Edematous episodes may have various triggers, such as mechanical trauma, viral or bacterial infections, cold/hot exposure, pregnancy, certain foods, emotional stress, certain drugs (estrogen, angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEI)), etc (Kazandjieva and Christoff,

* Corresponding author.

E-mail address: farkas.henriette@med.semmelweis-univ.hu (H. Farkas).

2019).

Two mechanisms can lie in the background of the disease: an underlying lymphoproliferative disease (B-cell lymphoma, myeloma multiplex, chronic lymphocytic leukemia) causing the increased consumption of C1-INH; or autoantibodies against C1-INH (C1-INH-Ab) binding to C1-INH and blocking their function (Kazandjieva and Christoff, 2019).

The underlying disease may produce idiotype/anti-idiotype antibodies or other immune complexes that downregulate C1-INH function. Another probable explanation for the development of angioedema is the overconsumption of C1-INH by neoplastic lymphatic tissue (Kazandjieva and Christoff, 2019; Otani and Banerji, 2017; Cicardi et al., 2014).

The decreased function of C1-INH leads to the activation of the kinin-kallikrein system, which results in the release of bradykinin and increases vasodilation and vascular permeability, which is the direct reason for angioedema (Wu and Castelli, 2016).

C1-INH-AAE can be proved by complement testing: measuring C1q, C1-INH antigen level, C1-INH function, C4 (Otani and Banerji, 2017) and total hemolytic complement (CH50) level in plasma. All these parameters are typically low, and C1-INH-Ab can be detected in some cases (varying from 18 to 58% in C1-INH-AAE patients) (Bork et al., 2019; Gobert et al., 2016; Pólai et al., 2021).

In general, antibodies can circulate not only in a free form, but also as complexes. Measuring only the level of freely circulating antibodies and not considering the complexes can cause an underestimation of the real quantity of antibodies (López-Lera et al., 2019).

The first step in the development of a treatment plan is to investigate the trigger factors, as avoiding them prevents angioedema attacks or reduces their frequency (Otani and Banerji, 2017; Cicardi et al., 2014).

Due to the fact that C1-INH-AAE is bradykinin-mediated, its treatment aims to block the production of bradykinin (plasma-derived (pdC1-INH) or recombinant human C1-INH concentrate, ecallantide), or to block the binding of the bradykinin already produced to bradykinin receptor B2 (icatibant).

Pharmacotherapy can target the acute treatment of pre-existing angioedema attacks or the prevention of the attacks. The latter can be managed by pdC1-INH, tranexamic acid, or attenuated androgens.

Currently, only off-label therapy is available for the treatment of C1-INH-AAE; the medications applied in hereditary angioedema can be used (Otani and Banerji, 2017; Cicardi et al., 2014).

The investigation of underlying diseases is essential when C1-INH-AAE is proved. Most often, the underlying disease is hematological (B-cell lymphoma, chronic lymphocytic leukemia, myeloma multiplex), but immunological disorders (systemic lupus, monoclonal gammopathy of undetermined significance) and infections (*Helicobacter pylori*, Hepatitis C) can also accompany C1-INH-AAE. The associated diseases may become evident years after the beginning of angioedema. Patients with C1-INH-AAE should be regularly checked for the development of underlying diseases (Kazandjieva and Christoff, 2019).

The treatment of the underlying disease can drastically decrease the number of angioedema attacks, and can even eliminate the onset of the attacks.

Rituximab (a monoclonal antibody against CD20 B-lymphocytes), a medication primarily used to treat B-cell disorders like non-Hodgkin lymphoma and B-cell leukemia, has been successfully used to treat C1-INH-AAE as well. Since 2006, studies have shown that in many cases rituximab can induce a long-lasting remission of angioedema with the normalization of C1-INH levels (Otani and Banerji, 2017; Levi et al., 2006).

Chemotherapy regimens used to treat underlying malignant lymphoproliferative disease have been associated with C1-INH-AAE remission in some cases (Otani and Banerji, 2017; Rossi and Gaidano, 2002; Healy et al., 2007; Guilarte et al., 2008; Jung and Rice, 2011; Castelli et al., 2007; Castelli et al., 2013).

Based on these, close follow-up is the main cornerstone of state-of-

the-art management. This involves not only the registration of the frequency, severity, and location of clinical symptoms, but also the regular monitoring of the complement parameters.

Case presentation

Clinical manifestation and treatments

Our male (75-year-old) patient was diagnosed with high blood pressure at the age of 55 (in 2001) and was treated with an ACEI (perindopril) beginning in 2002.

His-first angioedema attack occurred at the age of 59 (in 2005) in the hands and feet; the physician considered it an allergic reaction to working with polystyrene foam, and antihistamine treatment was started. Symptoms resolved within a couple of days. After 2 symptom-free days, a face edema appeared. This time, the role of ACEI in the background of the angioedematous symptoms was hypothesized, and the diagnosis of ACEI-related acquired angioedema (ACEI-AAE) was established. Accordingly, ACEI (perindopril) was discontinued and a beta blocker (metoprolol) was introduced.

After a 7-month symptom-free period, hand and upper airway edemas occurred. These did not respond to conventional treatment with antihistamine, steroid, and epinephrine, and progressed to a life-threatening condition, therefore an urgent conicotomy was performed, subsequently converted to tracheotomy. Afterwards, decantulation was attempted several times but was not successful because the upper airway edema recurred a couple of hours after the procedure. The laryngologist decided to replace the tracheostomy tube and referred the patient to our Angioedema Center for consultation. 2 weeks after the diagnosis of the C1-INH-AAE, when the patient was provided with pdC1-INH medication, the tracheostomy was removed.

Complement testing was performed and a typical C1-INH-AAE complement profile was detected: decreased CH50, C1q, C4, C1-INH concentration, C1-INH activity, and increased C1-INH antibody levels (IgG, IgM). After establishing the diagnosis, the patient was registered in the National Angioedema Registry; he was supplied with pdC1-INH and icatibant for the acute treatment of angioedematous attacks and a patient diary; and underlying diseases were investigated.

At that time, only the M-component (IgM kappa type, 1,06 g/L) was detected in his immune electrophoretic image, and hematological consultation was requested. In 2006, at the age of 60, two bone marrow biopsies were performed, and after both interventions a tongue edema occurred (the recommended short-term prophylaxis was not used). Histological investigation confirmed myeloma multiplex which was considered an underlying disease and the patient was treated with VAD (vincristine, doxorubicin, dexamethasone) chemotherapy 4 times, and with autologous haematopoietic stem cell transplantation. After the latter, thrombophlebitis developed, which was treated with a coumarin-type anticoagulant.

At our clinic, the patient was followed up regularly every half year. During the follow-up visits, the clinical symptoms recorded in the patient diary were reviewed, and blood cell count, chemistry, and complement parameters were measured.

Even though the patient was symptom-free for 9 years (2006–2015), the complement parameters started to worsen already during this period (2012).

In 2015, the angioedema attacks recurred. (1 face, 1 tongue, 2 lip, 1 lip-face, and 1 lip-neck edema within 5 months). His-angioedema attacks were treated with pdC1-INH with the minimum dosage of 1000 IU and a maximum of 2000 IU in keeping with his body weight (90 kg).

Long-term prophylaxis was introduced with tranexamic acid at 1000 mg/day, but the frequency of the angioedema attacks did not change, so the patient was treated with rituximab (11 occasions, every 2 months, 500–800 mg/occasion).

Since that time he has been symptom-free.

Complement parameters

Complement parameters have been investigated every six months since the diagnosis of C1-INH-AAE.

We had the opportunity to measure complement parameters after the autologous hematopoietic stem cell transplantation every day for 28 days. After chemotherapy, the CH50, C1q, C4, C1-INH concentration and C1-INH activity levels normalized, and after stem cell therapy the complement parameters remained within the normal range (throughout the 28 days) and the C1-INH-Ab levels decreased as well. During a follow up visit at the end of 2007, we measured increased IgG type C1-INH-Ab levels for the first time after the underlying disease therapy. Afterwards, in 2012, the level of CH50 decreased, which was followed in 2015 by a decrease of C4, C1-INH activity, C1-INH concentration, and C1q (Fig. 1).

In 2015, after 3 years of devolving complement values and 10 years after the first treatment series, the angioedema attacks recurred. A series of rituximab treatments resulted in the normalization of the complement values, and the patient had no further angioedema attacks over the next 4 years (Fig. 1).

C1-INH/C1-INH-Ab complex (CaC) measurement

C1-INH-Ab have a diagnostic value in C1-INH-AAE, though antibodies can circulate in complexes as well. Those antibodies which can actively bind to C1-INH and form a stable complex might have an importance in C1-INH-AAE since they block the C1-INH, which consequently cannot play its natural role. On the other hand, it was found in some cases that the complex measurement showed elevated amounts of analyte, while measurement of C1-INH-Ab did not detect free circulating antibodies, which means that not all C1-INH-Ab can be found by the assays for free antibodies (López-Lera et al., 2019). Our research group developed an in-house ELISA method to measure CaC levels and investigate their changes over time compared to the clinical course of the disease and treatments.

The measurement was performed on a 96-well Nunc Maxisorp (ThermoFisher, USA) plate, coated by rabbit anti-human C1-inhibitor IgG purified with affinity chromatography. After coating, the plate was blocked with 2% BSA-PBS (bovine serum albumin – phosphate buffered saline).

1% BSA-PBS-Tween was used as a blank and for diluting the samples

and controls. Samples and the normal serum control were measured in 1000-fold dilution. The conjugates were horseradish peroxidase labeled rabbit anti-human antibodies against IgG, IgM, and IgA antibodies. TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) was used for detection; the stop solution was 0.4 M sulfuric acid. Absorbance was measured at 450 nm; reference measurement was performed at 620 nm with a Tecan device (Tecan M1000pro, Group Ltd).

The CaC measurements are in line with the treatment history for the underlying disease. After the patient received chemotherapy in the middle of 2006, the IgM and IgA CaC levels decreased. The CH50 level started to decrease in the beginning of 2013, but CaC levels had already begun to increase one year earlier. During rituximab treatment (from the beginning of 2016 till the end of 2017), CaC levels reached their lowest point ever (Fig. 2).

We analyzed the correlation between the C1-INH-Ab and CaC pairs (IgG C1-INH-Ab vs IgG CaC; IgM C1-INH-Ab vs IgM CaC; IgA C1-INH-Ab vs IgA CaC), which showed significance only in the case of IgM type pairs, but that also gave a weak correlation coefficient. (Table 1) Spearman correlation was performed in Graphpad Prism 7 software.

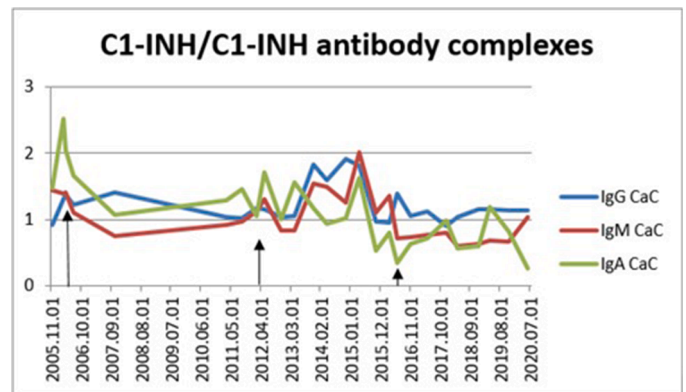


Fig. 2. C1-inhibitor/C1-inhibitor antibody complexes of our patient. CAC: C1-inhibitor/C1-inhibitor antibody complex.

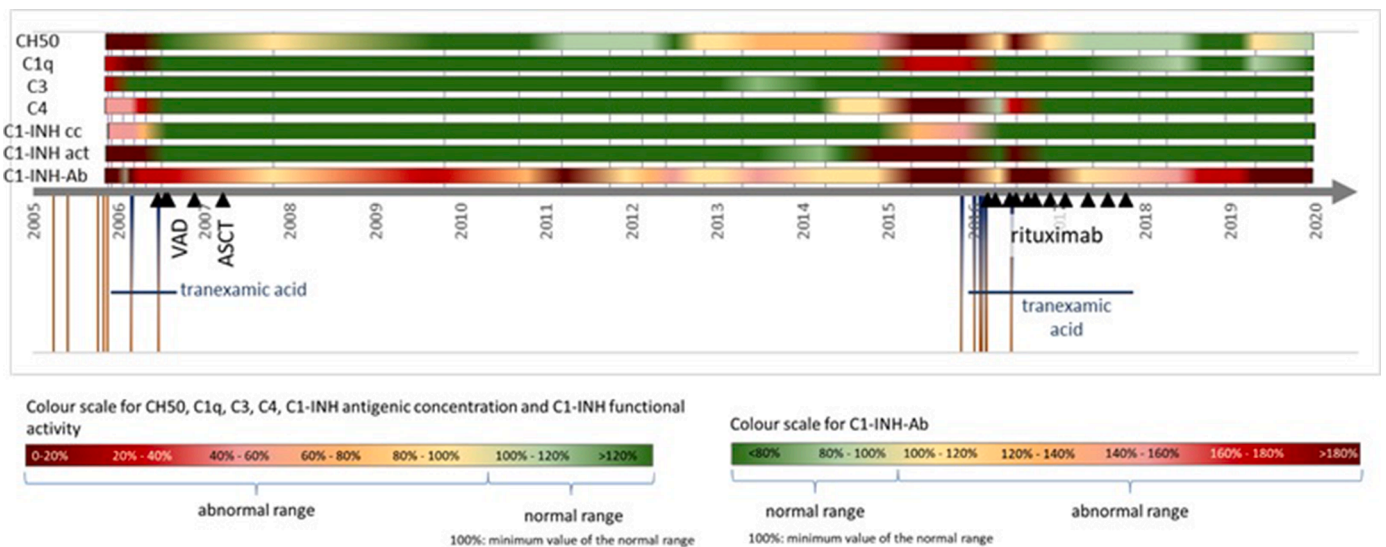


Fig. 1. Changes of complement results of the patient over 15 years. CH50: total hemolytic complement; C1-INH cc: C1-inhibitor antigenic concentration; C1-INH act: C1-inhibitor activity; C1-INH-Ab: antibodies against C1-inhibitor; colourful strips: complement parameter results; brown vertical lines below time axis: untreated angioedema attacks; half blue, half brown vertical lines: treated angioedema attacks; blue horizontal line: long term prophylaxis with the active agent; black triangles: underlying disease treatment; VAD: chemotherapy of vincristine, doxorubicin, dexamethasone; ASCT: autologous stem cell transplantation.

Table 1

Correlation between free circulating C1-inhibitor antibodies and C1-inhibitor/C1-inhibitor antibody complexes.

	p-value	r-value
IgG C1-INH-Ab vs IgG CaC	0.055	-0.381
IgM C1-INH-Ab vs IgM CaC	0.012	0.483
IgA C1-INH-Ab vs IgA CaC	0.116	-0.316

Discussion

In our Center, we have had 19 patients with this disease in the past 30 years, yielding an incidence of around 1:500,000.

Our patient's first angioedema attack occurred at the age of 59.

ACEI can be a triggering factor for angioedema attacks of C1-INH deficiency, (Kazandjieva and Christoff, 2019) just as we saw in the case of our patient. ACEI-AAE is a frequent misdiagnosis in similar cases, and by current international protocols complement testing is recommended only if angioedema attacks occur more than 6 months after stopping ACEI therapy. Life-threatening conditions can develop even within this 6 month period, hence our research team recommends complement testing as soon as possible when ACEI therapy is stopped (Bowen et al., 2010; Balla et al., 2021). Our patient's medication was changed to a beta-blocker type antihypertensive treatment after the diagnosis of C1-INH-AAE.

Our patient could identify bone marrow biopsy as the trigger factor for 2 tongue edemas, when the short-term prophylaxis was not used despite the recommendation.

Face edema is the most commonly occurring type of edema in case of C1-INH-AAE patients, followed by abdominal, limb, upper airway, tongue-lip and genital edema. (Gobert et al., 2016), though individual differences can be found. Our patient had 16 angioedema attacks altogether over 15 years, but these showed an uneven distribution, mainly in the location of the face, followed by the upper airway, tongue, limbs, neck and abdomen (Fig. 3).

Around 50% of patients with C1-INH-AAE experience upper airway edema (Bouillet-Claveyrolas et al., 2003; Dobson et al., 2003). Our patient had upper airway edema as one of the first angioedema attacks, and this led to the diagnosis of C1-INH-AAE. It did not respond to conventional therapy, as is the general case with the angioedema attacks of patients with C1-INH-AAE (Otani and Banerji, 2017).

In C1-INH-AAE patients, angioedema recurs more frequently in the face than in the limbs, and a rather frequent involvement of the tongue and uvula can be noticed (Cicardi and Zanichelli, 2010b). Our patient had face edemas in the highest number, followed by upper airway, tongue, and limb edemas.

Tranexamic acid and attenuated androgens (danatrol) can successfully be used for long term prophylaxis (Cicardi et al., 2014; Cicardi and

Zanichelli, 2010b; Bygum and Vestergaard, 2013; Cugno et al., 1994; Cicardi et al., 1999; Du-Thanh et al., 2010). In the case of our patient, tranexamic acid was not a successful treatment.

The recommended dose of C1-INH is 20 U/kg body weight per attack. In the case of our patient, this dosage was effective to resolve the angioedema attacks.

In rare cases when C1-INH-Abs are also presented, larger doses of pfC1-INH are needed (Pólai et al., 2021).

Treatment of the underlying disease has a high importance because it can lead to the decrease of frequency and severity – or even to the cessation – of the angioedema attacks.

C1-INH-AAE often appears with an underlying disease, especially with hemato-oncological ones. The prevalence of lymphoproliferative diseases in C1-INH-AAE has been reported to be higher than 70% (Cicardi and Zanichelli, 2010b). Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) can anticipate the more serious disorders; it appears in 33% of patients (Pólai et al., 2021).

The associated diseases may become evident years after the beginning of angioedema, (Kazandjieva and Christoff, 2019) which was also true in our case.

Chemotherapy regimens that are used to treat underlying malignant lymphoproliferative diseases have been associated with C1-INH-AAE remission (Otani and Banerji, 2017; Rossi and Gaidano, 2002; Healy et al., 2007; Guilarte et al., 2008; Jung and Rice, 2011; Castelli et al., 2007; Castelli et al., 2013). The chemotherapy combined with autologous stem cell transplantation had the same effect in the case of our patient.

Rituximab therapy for C1-INH-AAE without any known underlying conditions may help prevent the future development of lymphoproliferative and autoimmune diseases (Otani and Banerji, 2017). Due to this theory, our patient received rituximab when his angioedema attacks recurred, and myeloma multiplex did not develop again.

We did not find any study in the literature which investigated the changes in the complement parameters in detail over several years of follow-up. We have the opportunity to analyze a group of 20 patients for long-term follow-up of the complement parameters. The current study is a preliminary result of a larger study.

A Spanish research team found that the level of freely circulating C1-INH-Abs shows no connection with the presence of CaC (López-Lera et al., 2019). Our study found that (in the case of this patient) there is a correlation between only IgM C1-INH-Ab and IgM CaC.

The effect of rituximab on the CaC levels is not surprising, because rituximab causes B-cell death, though it is interesting that the increase in CaC levels preceded the onset of the angioedema attacks. Our subsequent studies will focus on the connection between CaC levels and underlying diseases in our patient group.

Conclusion

The novelty of our study is that we performed the long-term follow-up of a patient with C1-INH-AAE, including his complement parameters. Follow-up of CaC levels can provide similar information even earlier; this measurement is therefore suitable for monitoring the diseases. In patients with C1-INH-AAE and B-cell lymphoma, it is highly recommended that the complement parameters and CaC levels be measured frequently.

Angioedema triggered by ACEI can occur even later than 6 months after stopping the medication, but in these cases it is not accurate to categorize this disease as ACEI-AAE, and complement testing is indispensable.

Close collaboration between physicians treating C1-INH-AAE and those treating the underlying disease is essential. Finding and treating an underlying disease can decrease the number of angioedema attacks, and the follow-up of the complement parameters is helpful for predicting the recurrence of angioedema attacks and the underlying disease.

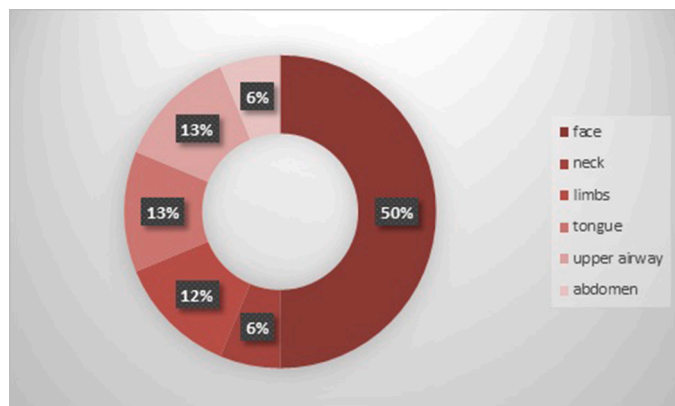


Fig. 3. Location of angioedema attacks during the 15 years of follow-up period.

Author contributions

Zsófia Polai performed the measurements of C1-inhibitor/C1-inhibitor antibody complexes, analyzed and interpreted the measurement data, reviewed the literature and contributed to manuscript drafting; Zsuzsanna Balla was the physicians treating the patient for acquired angioedema; Erika Kajdácsi analyzed and interpreted the measurement data; Szabolcs Benedek was the physicians treating the patient for myeloma multiplex; Henriette Farkas was the physicians treating the patient for acquired angioedema, reviewed the literature, contributed to manuscript drafting and reviewed the manuscript for important intellectual content; all authors issued final approval for the version to be submitted.

Funding

This study was supported by the National Research, Development and Innovation Office grant No K124557.

Patient consent form

The authors declare that they have obtained consent from the patient.

Ethics approval and consent to participate

The study protocol was approved by the institutional review board of Semmelweis University of Budapest, Informed consent was obtained from the participants in accordance with the Declaration of Helsinki.

Consent for publication

Not applicable

Availability of data and material

The data-sets used and/or analysed during the current study available from the corresponding author on reasonable request.

Declaration of Competing Interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests:

Henriette Farkas reports financial support was provided by National Research Development and Innovation Office. Henriette Farkas reports a relationship with CSL Behring LLC that includes: consulting or advisory, speaking and lecture fees, and travel reimbursement. Henriette Farkas reports a relationship with Shire that includes: consulting or advisory, speaking and lecture fees, and travel reimbursement. Henriette Farkas reports a relationship with Swedish Orphan Biovitrum that includes: consulting or advisory, speaking and lecture fees, and travel reimbursement. Henriette Farkas reports a relationship with Octapharma AG that includes: consulting or advisory, speaking and lecture fees, and travel reimbursement. Henriette Farkas reports a relationship with KalVista Pharmaceuticals that includes: consulting or advisory, speaking and lecture fees, and travel reimbursement. Henriette Farkas reports a relationship with Pharming Healthcare Inc that includes: consulting or advisory, speaking and lecture fees, and travel reimbursement. H. Farkas has participated in clinical trials/ registries for BioCryst, CSL Behring, Pharming, Pharvaris and Shire. Zs. Balla has participated in clinical trials of CSL Behring, Pharvaris and Takeda

Acknowledgment

We would like to thank the medical professionals working in the day-

to-day care of these patients, without whose help this study could not have been possible. Namely Judit Bali, Lászlóné Kertész, Andrásné Dóczy and Éva Zsuzsanna Szendrei.

References


- Cicardi, M., Zanichelli, A., 2010a. Acquired angioedema. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 6 (1), 14.
- Bork, K., Meng, G., Staubach, P., Hardt, J., 2006. Hereditary angioedema: new findings concerning symptoms, affected organs, and course. *Am. J. Med.* 119 (3), 267–274.
- Zuraw, B.L., Christiansen, S.C., 2016. HAE pathophysiology and underlying mechanisms. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 51 (2), 216–229.
- Hedner, T., Samuelsson, O., Lunde, H., Lindholm, L., André, L., Wiholm, B.E., 1992. Angio-oedema in relation to treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors. *BMJ* 304 (6832), 941–946.
- Kazandjieva, J., Christoff, G., 2019. Angioedema as a systemic disease. *Clin. Dermatol.* 37 (6), 636–643.
- Otani, I.M., Banerji, A., 2017. Acquired C1 inhibitor deficiency. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 37 (3), 497–511.
- Cicardi, M., Aberer, W., Banerji, A., Bas, M., Bernstein, J.A., Bork, K., et al., 2014. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: consensus report from the hereditary angioedema international working group. *Allergy* 69 (5), 602–616.
- Wu, M.A., Castelli, R., 2016. The Janus faces of acquired angioedema: C1-inhibitor deficiency, lymphoproliferation and autoimmunity. *Clin. Chem. Lab Med.* 54 (2), 207–214.
- Bork, K., Staubach-Renz, P., Hardt, J., 2019. Angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency: spectrum and treatment with C1-inhibitor concentrate. *Orphanet. J. Rare Dis.* 14 (1), 65.
- Gobert, D., Paule, R., Ponard, D., Levy, P., Frémeaux-Bacchi, V., Bouillet, L., et al., 2016. A nationwide study of acquired C1-inhibitor deficiency in France: characteristics and treatment responses in 92 patients. *Medicine (Baltimore)* 95 (33), e4363.
- Pólai, Z., Balla, Z., András, N., Köhalmi, K.V., Temesszentandrás, G., Benedek, S., et al., 2021. A follow-up survey of patients with acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *J. Intern. Med.* 289 (4), 547–558.
- López-Lera, A., Garrido, S., Nozal, P., Skatum, L., Bygum, A., Caballero, T., et al., 2019. Serum complexes between C1INH and C1INH autoantibodies for the diagnosis of acquired angioedema. *Clin. Exp. Immunol.* 198 (3), 341–350.
- Levi, M., Hack, C.E., van Oers, M.H., 2006. Rituximab-induced elimination of acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Am. J. Med.* 119 (8), e3–e5.
- Rossi, D., Gaidano, G., 2002. Molecular heterogeneity of diffuse large B-cell lymphoma: implications for disease management and prognosis. *Hematology* 7 (4), 239–252.
- Healy, C., Abuzakouk, M., Feighery, C., Flint, S., 2007. Acquired angioedema in non-Hodgkin's lymphoma. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 103 (5), e29–e32.
- Guilarte, M., Luengo, O., Nogueiras, C., Labrador-Horrillo, M., Muñoz, E., López, A., et al., 2008. Acquired angioedema associated with hereditary angioedema due to C1 inhibitor deficiency. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 18 (2), 126–130.
- Jung, M., Rice, L., 2011. Unusual autoimmune nonhematologic complications in chronic lymphocytic leukemia. *Clin. Lymphoma Myeloma Leukemia* 11 (Suppl 1), S10–S13.
- Castelli, R., Deliliers, D.L., Zingale, L.C., Pogliani, E.M., Cicardi, M., 2007. Lymphoproliferative disease and acquired C1 inhibitor deficiency. *Hematologica* 92 (5), 716–718.
- Castelli, R., Zanichelli, A., Cicardi, M., Cugno, M., 2013. Acquired C1-inhibitor deficiency and lymphoproliferative disorders: a tight relationship. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 87 (3), 323–332.
- Bowen, T., Cicardi, M., Farkas, H., Bork, K., Longhurst, H.J., Zuraw, B., et al., 2010. 2010 International consensus algorithm for the diagnosis, therapy and management of hereditary angioedema. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 6 (1), 24.
- Balla, Z., Zsilinszky, Z., Pólai, Z., András, N., Köhalmi, K.V., Csuka, D., et al., 2021. The importance of complement testing in acquired angioedema related to angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 9 (2), 947–955.
- Bouillet-Claveyrolas, L., Ponard, D., Drouet, C., Massot, C., 2003. Clinical and biological distinctions between type I and type II acquired angioedema. *Am. J. Med.* 115, 420–421. United States.
- Dobson, G., Edgar, D., Trinder, J., 2003. Angioedema of the tongue due to acquired C1 esterase inhibitor deficiency. *Anaesth. Intensive Care* 31 (1), 99–102.
- Cicardi, M., Zanichelli, A., 2010b. Angioedema due to C1 inhibitor deficiency in 2010. *Intern. Emerg. Med.* 5 (6), 481–486.
- Bygum, A., Vestergaard, H., 2013. Acquired angioedema—occurrence, clinical features and associated disorders in a Danish nationwide patient cohort. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 162 (2), 149–155.
- Cugno, M., Cicardi, M., Agostoni, A., 1994. Activation of the contact system and fibrinolysis in autoimmune acquired angioedema: a rationale for prophylactic use of tranexamic acid. *J. Allergy Clin. Immunol.* 93 (5), 870–876.
- Cicardi, M., Bergamaschini, L., Zingale, L.C., Giffre, D., Agostoni, A., 1999. Idiopathic nonhistaminergic angioedema. *Am. J. Med.* 106 (6), 650–654.
- Du-Thanh, A., Raison-Peyron, N., Drouet, C., Guillot, B., 2010. Efficacy of tranexamic acid in sporadic idiopathic bradykinin angioedema. *Allergy* 65 (6), 793–795.

RESEARCH

Open Access



C1-inhibitor/C1-inhibitor antibody complexes in acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency

Zsolia Polai¹ , Erika Kajdacsi², Laszlo Cervenak², Zsuzsanna Balla¹, Szabolcs Benedek², Lilian Varga¹ and Henriette Farkas^{1*}

Abstract

Background Autoantibodies against C1-inhibitor (C1-INH-Ab) have a diagnostic value in acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency (C1-INH-AAE), even though antibodies can circulate in complexes, which can be undetectable by proven methods. Our aim was to measure C1-INH/C1-INH-Ab complexes (CAC) and investigate their connection to C1-INH-Ab and the changes in their titer over time.

Results 19 patients were diagnosed with C1-INH-AAE in the Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence; 79% of them had an underlying disease. Samples were examined with a newly developed in-house complex ELISA method. Patients with high C1-INH-Ab titer had a CAC titer which did not exceed the normal level and the ones with high CAC titer had a C1-INH-Ab titer which did not exceed the normal level. In case of those patients who had C1-INH-Ab and CAC of the same type of immunoglobulin, the increasing titer of C1-INH-Ab went together with the decreasing level of CAC and vice versa. CAC titer was already increased before the diagnosis of the underlying disease.

Conclusions Free circulating and complex antibodies are in a dynamically changing equilibrium. CAC measurements can help to predict the development of an underlying disease. The efficiency of the treatment for underlying disease can be monitored by the decreasing CAC titers.

Our results show that the CAC can be of important additional information besides the complement panel examination in case of C1-INH-AAE. Measurement of CAC is recommended to be done parallelly with C1-INH-Ab, so as to detect both free and bound antibodies.

Keywords Bradykinin-mediated angioedema, Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency, C1-inhibitor, Antibodies against C1-inhibitor, Complement cascade, Classical pathway, Lymphoproliferative diseases

Background

Angioedema with C1-inhibitor (C1-INH) deficiency can be hereditary (C1-INH-HAE)—an autosomal dominant disorder caused by mutations in the *SERPING1* gene—or acquired (C1-INH-AAE). Both are rare diseases: the incidence of C1-INH-HAE is estimated at 1:10,000 to 1:50,000, whereas the prevalence of C1-INH-AAE is ten times lower [1].

C1-INH is a serpin-type protease inhibitor, which controls the classical and lectin complement pathways,

*Correspondence:

Henriette Farkas

farkas.henriette@med.semmelweis-univ.hu

¹ Department of Internal Medicine and Haematology, Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence, Semmelweis University, Szentkiralyi u. 46, Budapest 1088, Hungary

² Department of Internal Medicine and Haematology, Semmelweis University, Budapest, Hungary



© The Author(s) 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

the coagulation cascade, the fibrinolytic and kinin-kallikrein system [2–4]. C1-INH is one of the most abundant circulating protease inhibitors (0.25 g/L) [5], and its multifaceted significance is undeniable. It is the sole inhibitor of C1r and C1s and the major inhibitor of MASP-1 and MASP-2 in the complement system [6–8]. In the contact-kinin-kallikrein cascade system, it is the major inhibitor of plasma kallikrein [9] and factor XIIa [10]. It is the major inhibitor of coagulation factor XIa as well [11], and also inhibits thrombin [12].

C1-INH-AAE patients usually have a negative family history and in most patients their disease appears over the age of 40 years in the form of recurrent angioedematous episodes, involving the subcutaneous and/or submucosal tissues [13, 14]. Laryngeal angioedema can be fatal if the patient does not receive adequate care in a timely manner [15]. Angioedema attacks can be triggered by mechanical trauma, emotional stress, and medications (especially angiotensin converting enzyme inhibitors) [16, 17].

Decreased concentration of antigenic C1-INH in C1-INH-AAE can be attributed to the increased utilization due to increased activation of the classical complement pathway or due to the production of autoantibodies against C1-INH (C1-INH-Ab) [18]. In the early phase of comprehending C1-INH-AAE, the disease was divided into two types: one based on the association of some (typically hematological) underlying disease and the other type defined by the presence of autoantibodies as an immune disease [13, 14, 19–24]. Subsequent research demonstrates an overlap between the two types: patients with detectable C1-INH-Ab may also develop underlying disease(s) [25–27].

C1-INH-AAE can be associated with several further diseases, mainly lymphoproliferative ones, like monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and non-Hodgkin lymphomas [3, 22, 28, 29].

The diagnosis of C1-INH-AAE is based on the measurement of complement parameters: typically, the total hemolytic complement (CH50), C1-INH functional activity, C4, C1q, C1-INH antigenic concentration are decreased, C3 titer is either in the normal range or decreased. The presence of C1-INH-Ab has a diagnostic value [30–32]. The decrease of C1-INH antigenic concentration may be due to the neoplastic lymphatic tissue enhancing activation of the classical pathway or due to the presence of neutralizing C1-INH-Ab. C1q consumption is attributed to the uncontrolled activation of the complement classical pathway due to high titers of circulating C1-INH/C1-INH antibody complexes (CAC), eventually causing the exhaustion of C1-INH inhibitory activities [3, 30, 33]. C1-INH-Ab can interfere with the function of C1-INH, and C1-INH-Ab can recognize different epitopes within C1-INH [30, 33].

In case of C1-INH-AAE patients, free C1-INH is circulating in a cleaved/inactivated form [3, 26].

According to the theory of the idiotype-antiidiotype network, the antibodies produced by our immune system can connect not only to the antigen dedicated by the variable region of the antibody, but variable regions can connect to each other as well. Natural antibodies can occur in a cross-reaction with low affinity, while pathological antibodies usually have higher affinity and serum concentration. This is most common for IgM-type antibodies [34]. The formed immune complexes are able to activate the classical pathway of the complement system which leads to the elevated consumption of the proteins of the complement system.

Antibodies can be found not only in free circulating form, but also in complexes which means that measuring only the free form can cause an error in underestimating the actual amount of antibodies [34].

Our study aimed to use a new method for the measurement of CAC and aimed to uncover a possible connection between C1-INH-Ab and CAC and a pattern of CAC during long term follow-up connected to C1-INH-AAE and the related underlying disease.

Results

The CAC measurements were performed by our newly developed ELISA method on 20 separate pooled normal serum samples (healthy control), their summarized result was taken as normal level.

In case of 11/19 patients C1-INH-Ab could be detected at least once during the follow-up period (Table 1).

5/19 patients had regularly (at least in 50% of the measuring occasions) C1-INH-Ab (Table 2).

11/19 patients had free C1-INH-Ab, 14 patients CAC, 3 patients neither C1-INH-Ab nor CAC, and 5 patients C1-INH-Ab as well as CAC. One patient had only C1-INH-Ab and no CAC, and 8 patients only CAC and no C1-INH-Ab.

We gave one word description for the C1-INH-Ab and CAC results based on what was characteristic for the patient's value 'in the long run (which generally describes the results during the follow-up) (Table 3). '–' means that the results exceeded the normal level with maximum 20%; '+' means that the results are 20–40% above the normal level; '++' means 40–60% higher results than normal level and '+++ ' means more than 60% more than the normal level.

For a more detailed examination and illustration we chose 3 patients, who had at least 8 years of follow-up and had elevated C1-INH-Ab and CAC titers. (Fig. 1) Over the time axis, the change of certain complement parameters can be seen during the multiannual follow-up

Table 1 Antibodies against C1-inhibitor in our patient group

Antibodies against C1-inhibitor			
Patient ID	IgG	IgM	IgA
P1	-	-	-
P2	-	-	-
P3	-	-	-
P4	-	-	X
P5	-	X	-
P6	-	-	-
P7	-	X	-
P8	-	X	-
P9	-	-	X
P10	X	X	X
P11	X	X	-
P12	X	X	-
P13	-	-	-
P14	-	-	-
P15	X	-	X
P16	X	-	-
P17	-	-	X
P18	-	-	-
P19	-	-	-

-: antibody was not detected, X: antibody was detected at least once during the follow-up

period. The vertical grey lines (behind the colourful lines) mark the sampling points. On the top of the figure, a colour code can be seen: green colors mean that the given parameter was in the normal range; from yellow to red, the values are further away from the normal range. Under the time axis, brown lines mean the attacks, and blue half-lines mean the treatments. Horizontal blue lines show a long-term prophylaxis, with the medication named under. Black triangles show the time of the underlying disease treatment. The deceased patient's timelines end without an arrow.

A closer look on the timelines leads us to the observation that in patients with both C1-INH-Ab and CAC forms of a given immunoglobulin type, these parameters change together: as one decreases, the other increases and vice versa. For easier understanding, a part of the timeline is enlarged and the increase (↑) and decrease (↓) of the titer are marked by arrows. This shows that free circulating and complex antibodies create a dynamically changing equilibrium state and that the absolute amount of antibodies can be approximately constant.

Two of the 19 patients' (P10, P12) results show that the CAC titer is already increased before the diagnoses of the underlying disease.

Table 2 Free circulating and complex C1-inhibitor antibodies

	IgG C1-INH-Ab	CAC IgG	IgM C1-INH-Ab	CAC IgM	IgA C1-INH-Ab	CAC IgA
Free circulating and complex antibodies against C1-inhibitor						
P1	-	-	-	+	-	+++
P2	-	+	-	+++	-	+++
P3	-	+	-	++	-	+++
P4	-	-	-	-	-	-
P5	-	-	-	-	-	-
P6	-	-	-	+++	-	-
P7	-	++	-	+++	-	++
P8	-	-	-	+	-	+
P10	-	+++	++	++	-	+++
P11	+++	-	-	-	-	+++
P12	+++	-	++	-	-	-
P13	-	-	-	++	-	++
P14	-	-	-	+++	-	-
P15	+++	-	-	+++	-	-
P16	++	++	-	++	-	-
P17	-	-	-	+++	+++	++
P18	-	-	-	-	-	-
P19	-	-	-	+	-	-

C1-INH-Ab antibodies against C1-inhibitor, CAC C1-inhibitor/C1-inhibitor antibody complex, -: does not exceed the normal value with more than 20%, +: exceeds the normal value with 20–40%, ++: exceeds the normal value with 40–60%, +++: exceeds the normal value with more than 60%

Table 3 Disease background of our patients

Patient ID	Gender	Age at the first angioedema attack	Underlying disorders	Treatment of underlying disorders
P1	M	60	–	–
P2	F	40	Marginal zone lymphoma	–
P3	F	83	MGUS	–
P4	F	–	–	–
P5	F	–	Non-Hodgkin lymphoma	Rituximab, ASCT
P6	F	56	Marginal zone lymphoma	Rituximab
P7	F	61	Chronic lymphoid leukemia	Rituximab
P8	M	49	MGUS	–
P9	F	65	Basal cell adenoma	–
P10	M	70	MGUS	Rituximab
P11	F	49	MGUS	–
P12	M	59	Myeloma multiplex	Chemotherapy (VAD), ASCT, rituximab
P13	M	46	Marginal zone lymphoma	Rituximab
P14	F	71	Marginal zone lymphoma	Rituximab
P15	M	60	–	–
P16	M	42	MGUS	–
P17	M	76	MGUS	–
P18	F	71	Marginal zone lymphoma	Rituximab
P19	M	43	–	–

M male, F female, AAE acquired angioedema, MGUS monoclonal gammopathy of undetermined significance, ASCT autologous stem cell transplantation, VAD vincristine, doxorubicin, dexamethasone

Discussion

C1-INH-AAE is a rare disorder and relevant information on it is scarce owing to the limited number of patients. In our Center, the ratio of patients with C1-INH-AAE and with C1-INH-HAE is 1 to 11 within the Hungarian patient population. This corresponds to data in the literature [14, 26, 35]. While in case of C1-INH-HAE the follow-up of the complement parameters is not necessary, in C1-INH-AAE, this follow-up gives remarkable help for the physicians to determine and predict the state of the disease.

The appearance of MGUS is already a reason for a detailed hematological examination [14, 36]. Among our patients, the incidence of underlying disease was 79%, in the literature the data ranges from 79 to 90% [14, 37].

In case of 11/19 patients C1-INH-Ab was detected at least once during the follow-up period. In percentage this means 58%, while Bork reported 44% as the incidence of C1-INH-Ab [14]. 5/19 patients (26%) regularly had C1-INH-Ab.

A study targeting CAC has so far occurred in only one Spanish publication in the literature [3].

Similarly to this study, there were patients in our patient group who had C1-INH-Ab and no CAC, some of them did not have C1-INH-Ab but had CAC, some of them had both or neither form of antibodies. An interesting observation is that those who had a high titer of

C1-INH-Ab had a titer of CAC that did not exceed the normal level, and those who had a high titer of CAC, their titer of C1-INH-Ab did not exceed the normal level. Our observations show that free circulating and complex antibodies create a dynamically changing equilibrium state and that the absolute amount of antibodies can be approximately constant. The two patients (P4, P5) with C1-INH deficiency who did not experience angioedema did not have elevated C1-INH-Ab or CAC titers.

Results show that the CAC titer is already increased before the diagnosis of the underlying disease. CAC measurements can help to predict the development of an underlying disease and the efficiency of the treatment for underlying disease can be monitored by the decreasing CAC titer (P12 after rituximab).

In general, complex formation can activate the classical pathway thus serving as a positive feedback and also contributing to the elevated consumption of the elements of the pathway.

Conclusions

Changes in CAC titers are suitable for monitoring C1-INH-AAE and the connecting underlying disease.

Examination of CAC titer has an importance beside testing C1-INH-Ab, because patients with elevated CAC titer, might have normal C1-INH-Ab titer. Measurement

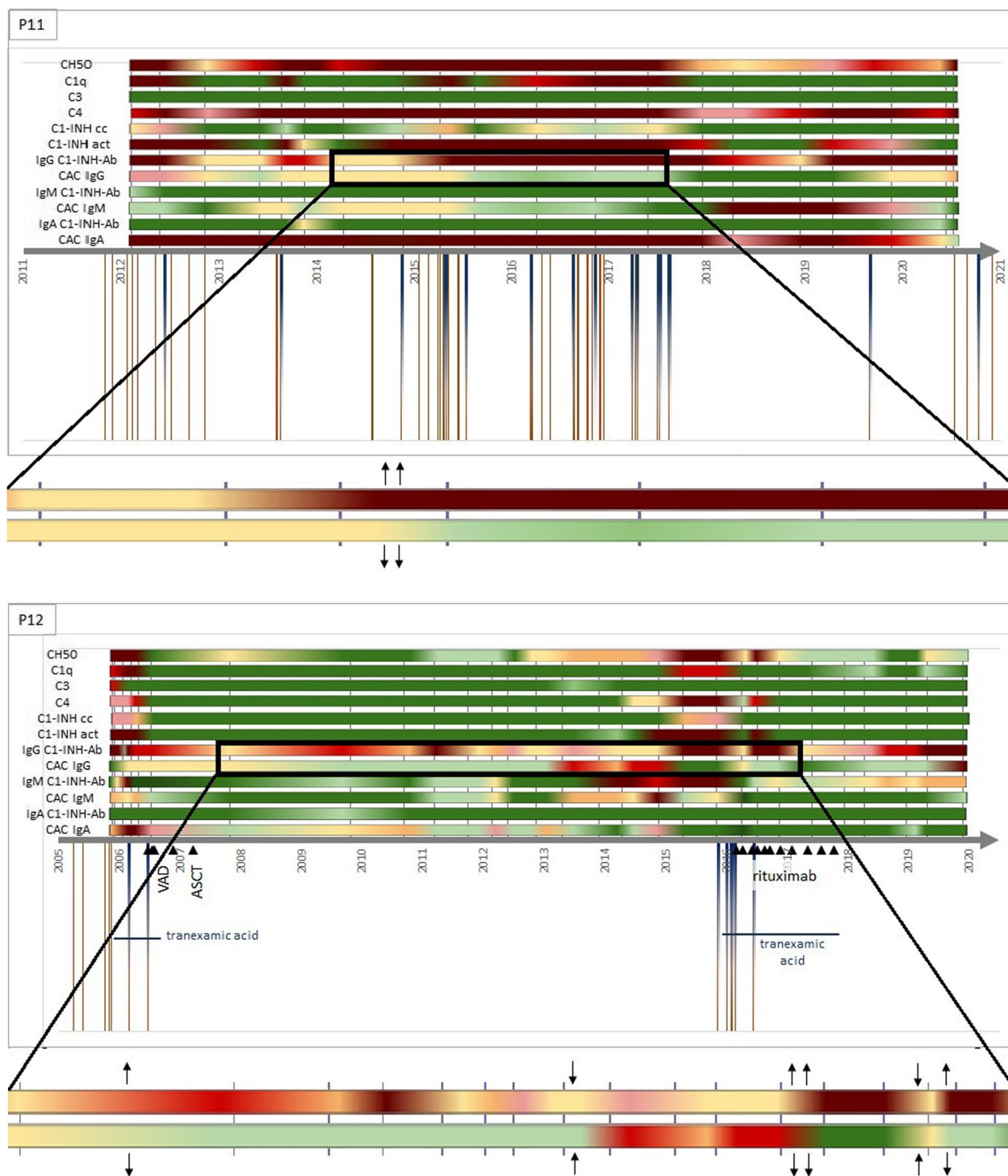


Fig. 1 continued

of CAC complexes is recommended parallelly with C1-INH-Ab, so as to detect both free and bound forms of antibodies. Free circulating and antibodies in complex create a dynamically changing equilibrium.

With the long-term follow-up of complexes, underlying diseases can be monitored from a new aspect, and the efficiency of their treatments could be determined.

CAC testing can give important additional information beside complement panel examination in case of C1-INH-AAE patients.

Our study offers a more efficient treatment for C1-INH-AAE patients, a more accurate, more reliable, and objective follow-up of the disease. With the help of our method, the course of the disease becomes more predictable, which provides safety to the treating physician and the patient, and the early diagnosis of the underlying disease increases the chance of survival, improves the quality of life and decreases the load on the healthcare system.

Methods

Patients

Due to the rarity of C1-INH-AAE, we have diagnosed, treated, and monitored 19 patients with this disease in the Hungarian Angioedema Center of Reference and Excellence in the past 30 years. There was no justification to exclude any patient from this study.

All patients were real time monitored. Follow-up visits took place at least once in 6 months in the first two years after the diagnosis of C1-INH-AAE, and at least once a year afterwards.

79% of the patients had an underlying disease, which are listed in Table 3. Treatments for the underlying disease (if there was any) can be found in Table 3 as well. Two patients (P4, P5) did not experience angioedema attacks neither before the diagnosis of acquired C1-INH deficiency (complement measurement was performed the first time due to their related disease), nor during the follow-up period.

Patient samples were selected from the last 15 years (2005–2020) and they were stored at -80°C until usage.

Healthy control samples (pooled normal serum) were stored on -80°C for less than 1 month.

Complement measurements

The following complement parameters were measured right after sampling. To quantify C1-INH concentration, in-house radial immunodiffusion was performed. The level of C1-inhibitor activity was measured with a C1-inhibitor enzyme immunoassay kit (Quidel, San Diego, CA). The concentration of C1q and autoantibodies against C1-INH were determined by in-house sandwich ELISA methods. [38, 39] CH50 (total hemolytic activity) of the classical pathway was determined with a hemolytic assay. C3 and C4 concentrations were measured by turbidimetry (Cobas Integra 400 analyzer; Roche, Switzerland).

CAC measurements

CAC measurements were performed on samples, which were not thawed before.

The measurement was performed on a 96-well Nunc Maxisorp (ThermoFisher, USA) plate, coated by rabbit anti-human C1-inhibitor IgG antibody purified by affinity chromatography. Coating was performed on 37°C for 2 h or on 4°C overnight. After coating and threefold washing, the plate was blocked by 2% BSA-PBS (bovine serum albumin—phosphate buffered saline) for 2 h.

After a threefold washing step, the blank, the controls and the samples were placed on the plate for 1 h. 1% BSA-PBS-Tween was used as blank and for diluting the samples and controls. Samples and the normal serum control were measured in 1000-fold dilution. After a threefold washing step, the conjugates were horseradish peroxidase labeled rabbit anti-human antibodies against IgG, IgM and IgA antibodies, which were incubated on the plate for 1 h on room temperature. Threefold washing step was followed by TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) detection, and after a few minutes of incubation on room temperature the stop solution (0,4 M sulfuric acid) was added. Absorbance was measured on 450 nm, reference measurement was performed on 620 nm by Tecan device (Tecan M1000pro, Group Ltd).

The method is summarized on Fig. 2.

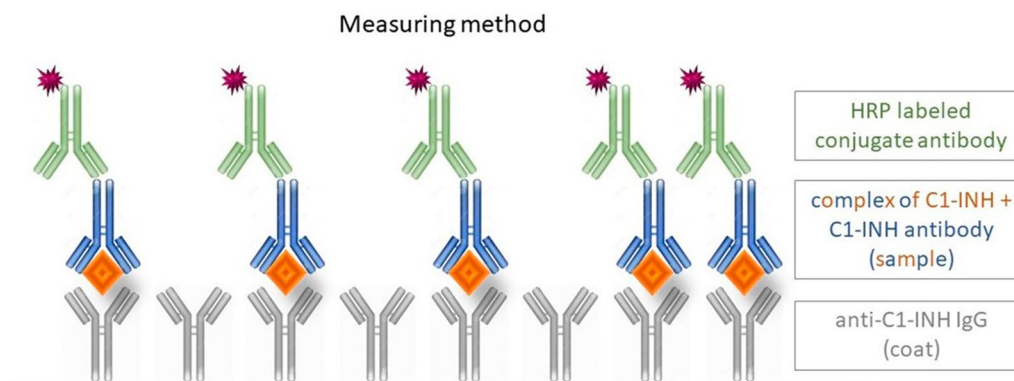


Fig. 2 Measuring method for the C1-INH/C1-INH antibody complexes

Abbreviations

C1-INH	C1-inhibitor
C1-INH-AAE	Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency
C1-INH-Ab	Antibodies against C1-inhibitor
C1-INH-HAE	Hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency
CAC	C1-inhibitor / C1-inhibitor antibody complexes
CH50	Total hemolytical complement
ELISA	Enzyme-linked immuno-sorbent assay
MGUS	Monoclonal gammopathy of undetermined significance

Acknowledgements

We would like to thank the medical professionals working in the day-to-day care of these patients, without whose help this study could not have been possible. Namely Judit Bali, Lászlóné Kertész, Andrásné Dóczy and Éva Zsuzsanna Szendrei.

Author contributions

ZsP have made substantial contributions to the conception, design of the work, the acquisition, analysis, interpretation of data, have drafted the work or substantially revised it. EK have made substantial contributions to the conception, design of the work, interpretation of data, substantively revised the manuscript. LC have made substantial contributions to the conception, interpretation of data, substantively revised the manuscript. ZsB have substantially revised the manuscript. LV have made helped with the acquisition, analysis, interpretation of the data, substantially revised the manuscript. SzB have substantially revised the manuscript. HF have made substantial contributions to the conception, design of the work, substantively revised it. All authors have approved the submitted version of the manuscript and have agreed to be personally accountable for the author's own contributions.

Funding

Open access funding provided by Semmelweis University. This study was supported by the National Research, Development and Innovation Office Grant N° K124557.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The study protocol was approved by the institutional review board of Semmelweis University of Budapest. Informed consent was obtained from the participants in accordance with the Declaration of Helsinki.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

H. Farkas has received honoraria and travel grants from CSL Behring, Shire/Takeda, Swedish Orphan Biovitrum, Octapharma, Kalvista and Pharming; and/or served as a consultant for these companies and has participated in clinical trials/ registries for BioCryst, CSL Behring, Pharming, Pharvaris and Shire. Zs. Balla has participated in clinical trials of CSL Behring, Pharvaris and Takeda. The other authors have declared that no conflict of interest exists.

Received: 26 January 2022 Accepted: 23 January 2023

Published online: 01 February 2023

References

1. Cicardi M, Zanichelli A. Angioedema due to C1 inhibitor deficiency in 2010. *Intern Emerg Med*. 2010;5(6):481–6.
2. Kajdácsi E, Jandrasics Z, Veszeli N, Makó V, Koncz A, Gulyás D, et al. Patterns of C1-inhibitor/plasma serine protease complexes in healthy humans and in hereditary angioedema patients. *Front Immunol*. 2020;11:794.
3. López-Lera A, Garrido S, Nozal P, Skatum L, Bygum A, Caballero T, et al. Serum complexes between C1INH and C1INH autoantibodies for the diagnosis of acquired angioedema. *Clin Exp Immunol*. 2019;198(3):341–50.
4. Nussberger J, Cugno M, Amstutz C, Cicardi M, Pellacani A, Agostoni A. Plasma bradykinin in angio-oedema. *Lancet*. 1998;351(9117):1693–7.
5. Gregorek H, Kokai M, Hidvégi T, Füst G, Sabbouth K, Madalinski K. Concentration of C1 inhibitor in sera of healthy blood donors as studied by immunoenzymatic assay. *Complement Inflamm*. 1991;8(5–6):310–2.
6. Paréj K, Dobó J, Závodszy P, Gál P. The control of the complement lectin pathway activation revisited: both C1-inhibitor and antithrombin are likely physiological inhibitors, while α 2-macroglobulin is not. *Mol Immunol*. 2013;54(3–4):415–22.
7. Pensky J, Levy LR, Lepow IH. Partial purification of a serum inhibitor of C1-esterase. *J Biol Chem*. 1961;236:1674–9.
8. Sim RB, Arlaud GJ, Colomb MG. C1 inhibitor-dependent dissociation of human complement component C1 bound to immune complexes. *Biochem J*. 1979;179(3):449–57.
9. Gigli I, Mason JW, Colman RW, Austen KF. Interaction of plasma kallikrein with the C1 inhibitor. *J Immunol*. 1970;104(3):574–81.
10. Schreiber ZA, Haim S, Gellei B, Tatarsky I. Autoimmune hemolytic anemia in the course of Kaposi's sarcoma—report of a case. *Cancer*. 1973;32(4):922–5.
11. Willemin WA, Minnema M, Meijers JC, Roem D, Eerenberg AJ, Nuijens JH, et al. Inactivation of factor XIa in human plasma assessed by measuring factor XIa-protease inhibitor complexes: major role for C1-inhibitor. *Blood*. 1995;85(6):1517–26.
12. Van Nostrand WE, McKay LD, Baker JB, Cunningham DD. Functional and structural similarities between protease nexin I and C1 inhibitor. *J Biol Chem*. 1988;263(8):3979–83.
13. Zanichelli A, Azin GM, Wu MA, Suffritti C, Maggioni L, Caccia S, et al. Diagnosis, course, and management of angioedema in patients with acquired C1-inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5(5):1307–13.
14. Bork K, Staubach-Renz P, Hardt J. Angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency: spectrum and treatment with C1-inhibitor concentrate. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):65.
15. Bork K, Meng G, Staubach P, Hardt J. Hereditary angioedema: new findings concerning symptoms, affected organs, and course. *Am J Med*. 2006;119(3):267–74.
16. Balla Z, Zsilinszky Z, Pólai Z, Andrási N, Kóhalmi KV, Csuka D, et al. The importance of complement testing in acquired angioedema related to angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9(2):947–55.
17. Zotter Z, Csuka D, Szabó E, Czaller I, Nébenführer Z, Temesszentandrás G, et al. The influence of trigger factors on hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9:44.
18. Mandle R, Baron C, Roux E, Sundel R, Gelfand J, Aulak K, et al. Acquired C1 inhibitor deficiency as a result of an autoantibody to the reactive center region of C1 inhibitor. *J Immunol*. 1994;152(9):4680–5.
19. Cicardi M, Aberer W, Banerji A, Bas M, Bernstein JA, Bork K, et al. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group. *Allergy*. 2014;69(5):602–16.
20. Wu MA, Perego F, Zanichelli A, Cicardi M. Angioedema phenotypes: disease expression and classification. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016;51(2):162–9.
21. Szeplaki G, Varga L, Osvath L, Karadi I, Fust G, Farkas H. Deep venous thrombosis associated with acquired angioedema type II in a patient heterozygous for the mutation of factor V Leiden: effective treatment and follow-up for four years. *Thromb Haemost*. 2006;95(5):898–9.
22. Sbattella M, Zanichelli A, Ghia P, Gattei V, Suffritti C, Teatini T, et al. Splenic marginal zone lymphomas in acquired C1-inhibitor deficiency: clinical and molecular characterization. *Med Oncol*. 2018;35(9):118.
23. Jackson J, Sim RB, Whelan A, Feighery C. An IgG autoantibody which inactivates C1-inhibitor. *Nature*. 1986;323(6090):722–4.
24. Mansi M, Zanichelli A, Coerezza A, Suffritti C, Wu MA, Vacchini R, et al. Presentation, diagnosis and treatment of angioedema without wheals:

- a retrospective analysis of a cohort of 1058 patients. *J Intern Med.* 2015;277(5):585–93.
25. Bygum A, Vestergaard H. Acquired angioedema—occurrence, clinical features and associated disorders in a Danish nationwide patient cohort. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013;162(2):149–55.
 26. Cicardi M, Zanichelli A. Acquired angioedema. *Allergy Asthma. Clin Immunol.* 2010;6(1):14.
 27. Ziakas PD, Giannouli S, Psimenou E, Evangelia K, Tzioufas AG, Voulgarelis M. Acquired angioedema: a new target for rituximab? *Haematologica.* 2004;89(8):ELT13–ELT13.
 28. Castelli R, Deliliers DL, Zingale LC, Pogliani EM, Cicardi M. Lymphoproliferative disease and acquired C1 inhibitor deficiency. *Haematologica.* 2007;92(5):716–8.
 29. Cugno M, Castelli R, Cicardi M. Angioedema due to acquired C1-inhibitor deficiency: a bridging condition between autoimmunity and lymphoproliferation. *Autoimmun Rev.* 2008;8(2):156–9.
 30. Alsenz J, Lambris JD, Bork K, Loos M. Acquired C1 inhibitor (C1-INH) deficiency type II. Replacement therapy with C1-INH and analysis of patients' C1-INH and anti-C1-INH autoantibodies. *J Clin Invest.* 1989;83(6):1794–9.
 31. András N, Veszeli N, Kóhalmi KV, Csuka D, Temesszentandrás G, Varga L, et al. Idiopathic nonhistaminergic acquired angioedema versus hereditary angioedema. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2018;6(4):1205–8.
 32. Oltvai ZN, Wong EC, Atkinson JP, Tung KS. C1 inhibitor deficiency: molecular and immunologic basis of hereditary and acquired angioedema. *Lab Invest.* 1991;65(4):381–8.
 33. Alsenz J, Bork K, Loos M. Autoantibody-mediated acquired deficiency of C1 inhibitor. *N Engl J Med.* 1987;316(22):1360–6.
 34. Szolnoky MP, Zsófia. Autoimmun endocrinopathiák immundiagnosztikája. *Focus Med.* 2020;XXII.(2):22–4.
 35. Otani IM, Banerji A. Acquired C1 inhibitor deficiency. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2017;37(3):497–511.
 36. Pólai Z, Balla Z, András N, Kóhalmi KV, Temesszentandrás G, Benedek S, et al. A follow-up survey of patients with acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *J Intern Med.* 2021;289(4):547–58.
 37. Gobert D, Paule R, Ponard D, Levy P, Frémeaux-Bacchi V, Bouillet L, et al. A nationwide study of acquired C1-inhibitor deficiency in France: characteristics and treatment responses in 92 patients. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(33): e4363.
 38. Delamarche C, Berger F, Pouplard A, Emile J. An ELISA technique for the measurement of C1q in cerebrospinal fluid. *J Immunol Methods.* 1988;114(1–2):101–6.
 39. Mészáros T, Füst G, Farkas H, Jakab L, Temesszentandrás G, Nagy G, et al. C1-inhibitor autoantibodies in SLE. *Lupus.* 2010;19(5):634–8.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions

