



HAL
open science

Étude BIOBRAD : recherche de marqueurs biologiques de la crise d'angioedème

Alban Deroux

► **To cite this version:**

Alban Deroux. Étude BIOBRAD : recherche de marqueurs biologiques de la crise d'angioedème. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01130632

HAL Id: dumas-01130632

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01130632v1>

Submitted on 12 Mar 2015

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

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

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Année : 2015

Etude BIOBRAD : Recherche de marqueurs biologiques de la crise d'angioedeme

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

DIPLÔME D'ETAT PAR

Alban DEROUX

Né le 30 septembre 1985
A Bourg-de-Péage

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Le 03 mars 2015

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury :

Madame le Professeur **Laurence BOUILLET**

Membres

Madame le Professeur **Marie-Thérèse LECCIA**

Madame le Professeur **Carole SCHWEBEL**

Madame le Docteur **Chantal DUMESTRE-PERARD**

Madame le Docteur **Isabelle VILGRAIN**

Doyen de la Faculté : M. le Pr. Jean Paul ROMANET

Année 2014-2015

ENSEIGNANTS A L'UFR DE MEDECINE

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie réanimation
PU-PH	APTEL Florent	Ophthalmologie
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	chirurgie générale
PU-PH	BALOSSO Jacques	Radiothérapie
PU-PH	BARRET Luc	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	BENHAMOU Pierre Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
PU-PH	BETTEGA Georges	Chirurgie maxillo-faciale, stomatologie
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Agents infectieux
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
MCU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne
MCU-PH	BOUZAT Pierre	Réanimation
PU-PH	BRAMBILLA Christian	Pneumologie
PU-PH	BRAMBILLA Elisabeth	Anatomie et cytologie pathologiques
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	CAHN Jean-Yves	Hématologie
MCU-PH	CALLANAN-WILSON Mary	Hématologie, transfusion
PU-PH	CARPENTIER Françoise	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie

PU-PH	CHABRE Olivier	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	CHAFFANJON Philippe	Anatomie
PU-PH	CHAVANON Olivier	Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire
PU-PH	CHIQUET Christophe	Ophthalmologie
PU-PH	CINQUIN Philippe	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	COHEN Olivier	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	COUTURIER Pascal	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	CRACOWSKI Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PU-PH	DE GAUDEMARIS Régis	Médecine et santé au travail
PU-PH	DEBILLON Thierry	Pédiatrie
MCU-PH	DECAENS Thomas	Gastro-entérologie, Hépatologie
PU-PH	DEMATTEIS Maurice	Addictologie
PU-PH	DEMONGEOT Jacques	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
MCU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIETERICH Klaus	Génétique et procréation
MCU-PH	DOUTRELEAU Stéphane	Physiologie
MCU-PH	DUMESTRE-PERARD Chantal	Immunologie
PU-PH	EPAULARD Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
PU-PH	ESTEVE François	Biophysique et médecine nucléaire
MCU-PH	EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	FAGRET Daniel	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	FAUCHERON Jean-Luc	chirurgie générale
MCU-PH	FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	FERRETTI Gilbert	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	FEUERSTEIN Claude	Physiologie
PU-PH	FONTAINE Éric	Nutrition
PU-PH	FRANCOIS Patrice	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	GARBAN Frédéric	Hématologie, transfusion
PU-PH	GAUDIN Philippe	Rhumatologie
PU-PH	GAVAZZI Gaëtan	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	GAY Emmanuel	Neurochirurgie
MCU-PH	GILLOIS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	GODFRAIND Catherine	Anatomie et cytologie pathologiques (type clinique)
MCU-PH	GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	GRIFFET Jacques	Chirurgie infantile
MCU-PH	GUZUN Rita	Endocrinologie, diabétologie, nutrition, éducation thérapeutique
PU-PH	HALIMI Serge	Nutrition
PU-PH	HENNEBICQ Sylviane	Génétique et procréation

PU-PH	HOFFMANN Pascale	Gynécologie obstétrique
PU-PH	HOMMEL Marc	Neurologie
PU-PH	JOUK Pierre-Simon	Génétique
PU-PH	JUVIN Robert	Rhumatologie
PU-PH	KAHANE Philippe	Physiologie
PU-PH	KRACK Paul	Neurologie
PU-PH	KRAINIK Alexandre	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	LABARERE José	Epidémiologie ; Eco. de la Santé
PU-PH	LANTUEJOUL Sylvie	Anatomie et cytologie pathologiques
MCU-PH	LAPORTE François	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LARRAT Sylvie	Bactériologie, virologie
MCU-PH	LAUNOIS-ROLLINAT Sandrine	Physiologie
PU-PH	LECCIA Marie-Thérèse	Dermato-vénérologie
PU-PH	LEROUX Dominique	Génétique
PU-PH	LEROY Vincent	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	LETOUBLON Christian	chirurgie générale
PU-PH	LEVY Patrick	Physiologie
MCU-PH	LONG Jean-Alexandre	Urologie
PU-PH	MACHECOURT Jacques	Cardiologie
PU-PH	MAGNE Jean-Luc	Chirurgie vasculaire
MCU-PH	MAIGNAN Maxime	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	MAITRE Anne	Médecine et santé au travail
MCU-PH	MALLARET Marie-Reine	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-PH	MARLU Raphaël	Hématologie, transfusion
MCU-PH	MAUBON Danièle	Parasitologie et mycologie
PU-PH	MAURIN Max	Bactériologie - virologie
MCU-PH	MCLEER Anne	Cytologie et histologie
PU-PH	MERLOZ Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	MORAND Patrice	Bactériologie - virologie
PU-PH	MOREAU-GAUDRY Alexandre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	MORO Elena	Neurologie
PU-PH	MORO-SIBILOT Denis	Pneumologie
MCU-PH	MOUCHET Patrick	Physiologie
PU-PH	MOUSSEAU Mireille	Cancérologie
PU-PH	MOUTET François	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brûlologie
MCU-PH	PACLET Marie-Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	PALOMBI Olivier	Anatomie
PU-PH	PARK Sophie	Hémato - transfusion
PU-PH	PASSAG-GIA Jean-Guy	Anatomie
PU-PH	PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	Anesthésiologie réanimation
MCU-PH	PAYSANT François	Médecine légale et droit de la santé

MCU-PH	PELLETIER Laurent	Biologie cellulaire
PU-PH	PELLOUX Hervé	Parasitologie et mycologie
PU-PH	PEPIN Jean-Louis	Physiologie
PU-PH	PERENNOU Dominique	Médecine physique et de réadaptation
PU-PH	PERNOD Gilles	Médecine vasculaire
PU-PH	PIOLAT Christian	Chirurgie infantile
PU-PH	PISON Christophe	Pneumologie
PU-PH	PLANTAZ Dominique	Pédiatrie
PU-PH	POLACK Benoît	Hématologie
PU-PH	POLOSAN Mircea	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	PONS Jean-Claude	Gynécologie obstétrique
PU-PH	RAMBEAUD Jacques	Urologie
MCU-PH	RAY Pierre	Génétique
PU-PH	REYT Émile	Oto-rhino-laryngologie
MCU-PH	RIALLE Vincent	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	ROMANET J. Paul	Ophthalmologie
MCU-PH	ROUSTIT Matthieu	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique, addictologie
MCU-PH	ROUX-BUISSON Nathalie	Biochimie, toxicologie et pharmacologie
PU-PH	SARAGAGLIA Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MCU-PH	SATRE Véronique	Génétique
PU-PH	SAUDOU Frédéric	Biologie Cellulaire
PU-PH	SCHMERBER Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	SCHWEBEL-CANALI Carole	Réanimation médicale
PU-PH	SCOLAN Virginie	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	SEIGNEURIN Arnaud	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	STAHL Jean-Paul	Maladies infectieuses, maladies tropicales
PU-PH	STANKE Françoise	Pharmacologie fondamentale
MCU-PH	STASIA Marie-José	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	TAMISIER Renaud	Physiologie
PU-PH	TONETTI Jérôme	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	TOUSSAINT Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	VANZETTO Gérald	Cardiologie
PU-PH	VUILLEZ Jean-Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	WEIL Georges	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	ZAOUÏ Philippe	Néphrologie
PU-PH	ZARSKI Jean-Pierre	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie

REMERCIEMENTS

A mon président de jury et directeur de thèse, Madame le Pr Laurence Bouillet

Laurence, un immense merci pour m'avoir trouvé ce sujet dans un thème qui m'intéresse et de m'avoir permis de développer ce projet en m'assurant de ta présence constante. Merci de m'avoir pris sous ton aile dans mon cursus d'interniste et de savoir m'encadrer et me soutenir dans mon projet de carrière.

Aux membres du jury, pour avoir accepté de travailler avec moi et de relire ce travail de longue haleine...

Madame le Pr Carole Schwebel

Carole, cela a été un grand honneur de partager notre travail sur l'enseignement et les conférences pour les plus jeunes. Merci de ta disponibilité et de ton encadrement dans ce domaine, en espérant que cela continuera...

Madame le Pr Marie-Thérèse Leccia

Pour m'avoir inculqué l'amour de la dermatologie et ses mystères, pour la relecture (itérative) de mon dossier de CCA, pour nos collaborations passées, présentes et futures, c'est un grand plaisir de vous avoir dans mon jury.

Madame le Dr Chantal Dumestre-Pérard

Toujours présente et prompte à répondre à mes mails incessants, tu as su m'aider à m'épanouir dans l'immunologie (clinique !). C'est un véritable plaisir de travailler avec toi, pour la pratique quotidienne et pour la recherche. J'espère que ta disponibilité ne faillira pas dans les années à suivre... Merci encore d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Madame le Dr Isabelle Vilgrain

Pratiquement 4 mois à me supporter quotidiennement dans la pratique de mon M2. Une période d'échange intellectuelle mais aussi amicale qui m'a permis de découvrir la

biologie et la recherche fondamentale avec beaucoup de plaisir, et quelques bourdes (désolé pour le coating!). Merci de ta disponibilité et de ton aide précieuse.

Je n'oublie pas tous les médecins qui ont participé à ma formation de manière plus ou moins formelle et adapté aux recommandations nationales...

Merci aux internistes avec qui je vais avoir l'honneur de travailler (Annick, Barbara, Françoise, Maxime, Fatma, Charles et peut-être d'autres encore...), et ceux qui sont parti (Dorothee et Antoine, j'espère vous revoir !) ainsi qu'à ceux de la Clinique Mutualiste ; mais aussi les infectiologues, les dermatologues qui m'ont supporté pendant 1 an (Julie, Isabelle...), les gériatres qui n'ont jamais vu autant d'auto-anticorps prescrits dans leur service, les neurologues (merci Olivier de m'avoir pris comme FFI), les pneumologues (Denis, Laurent et Marie, le trio de l'onco-thoracique, ont été mes premiers mentors !), les néphrologues et bien d'autres que je n'ai malheureusement pas la place de nommer.

Une pensée toute particulière pour les réanimateurs d'Annecy qui m'ont fait connaître et aimer la réanimation comme je ne l'aurai jamais cru ; ne changez rien les gars vous êtes géniaux (Albrice, Michel M et S, Serge, Renaud, Didier, David, THE PAC, Samuel...).

Un mot pour les urgentistes que j'ai beaucoup fréquenté aussi, toujours agréable et joyeux malgré les conditions de travail difficile. Merci à l'équipe de Françoise Carpentier et de Carole Paquier, Maxime, Stéphane, Foued et tous les autres !!!

Une pensée aussi pour toutes les équipes paramédicales qui m'ont supporté, et en particulier celle du 3^{ème} A qui va continuer à m'avoir sur le dos, que ce soit cadre, IDE, AS, ASH... Idem pour les filles de l'HDJ (Françoise, Marylène, Sandrine, Brigitte, Joséphine et toutes les autres !)... Sans oublier les secrétaires à qui ma vie personnelle me rend tout particulièrement sensible (Suzanne, Ana Maria, Claire, Annie, Isabelle, Brigitte et toutes les autres !)

Un grand merci à tous ceux qui m'ont côtoyé durant ces longues années d'internat, mes co-internes qui ont su évité de m'enfoncer un objet contondant dans la poitrine à force de me supporter...

Mimi et Cha, 2 semestres avec vous ont été un grand bonheur. Vous serez mes référentes en infectiologie et en hygiène hospitalière...

Cam', Challendon, Julia, Laure, Marion... : merci de m'avoir « *presque* » fait aimer la dermatologie à vos côtés ;-)

Dave, merci de m'avoir fait découvrir le triathlon avec le canoé, et j'espère que tu as trouvé ton bonheur à Annecy !

Merci à tous les autres, que je ne peux pas tous citer mais que je n'oublie pas, à la mutualiste (Pascale, Minh, Manu, Juliette, Anne-Laure...), en infectieux (Laure S, Julie, Laura, Miatz) à Annecy (Julia, Thibault *tu m'apprends à poser un cathéter ?*), en gériatrie (Audrey et Claire), en néphro (Laure, Audrey, Dave), en pneumo (Marie)...

Et merci enfin au grand Norbert, à Fanon et à Florent, dont l'aide m'a été précieuse.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à cette étude, et notamment le CREAK, ses membres et ses partenaires. Merci à ceux qui ont permis à cette étude d'être, par le dosage de la VE-cadhérine (Abir, Helena, Lucie et tous les autres !), par la récupération de tubes (Chantal, Giovanna et tous leurs internes...), et tous ceux qui m'ont soutenu.

Un grand merci aux internes qui ont inclus des patients : les fabuleux internes du 3eme A (Xavier, Mathilde, Aldric, Romain), Isabelle C, Aude, Adrien, et les autres ! Pour la suite, on compte sur les suivants, appâté par la boîte de chocolat ou la bouteille de champagne (certains ont déjà commencé : Alexis, Anaïs...) !

Merci encore aux patients qui ont tous accepté l'étude et les prélèvements, sans jamais refuser ou renoncer à l'étude... *Et la plupart des patients étaient heureux d'aider la science !*

Un petit mot pour tous ces médecins de fiction qui ont accompagné mon parcours universitaire et qui ont peut-être (surement ?) contribué à ma vocation ; John Carter, Mark Green, Gregory House, Carson Beckett, Janet Fraiser, Phlox, Dana Scully, et Doctor WHO (le meilleur !).

Enfin et surtout je tenais à remercier l'ensemble des membres de ma famille qui ont toujours été là en cas de besoin. Bien évidemment mes parents, Marjorie et Gilles, sans qui je ne serai pas là, et à qui je n'ose jamais le dire mais j'en profite : *je vous aime !*

Je dédicace en grande partie cette thèse à mes grands-pères, Henri et Maurice, qui sont partis tous les deux au cours de cette année. J'ai une grande pensée pour Mamie Denise et Jojo que j'adore et que j'embrasse de tout mon cœur.

Enfin, je dédie ce travail à mes deux petites femmes, Sylvie et Alexane ; indispensables à ma survie, présentes quand j'en ai besoin, et encore trop loin de moi à mon goût... Les figures et les tableaux ne seraient pas aussi bien conçues et cette thèse aurait beaucoup moins d'attrait sans elles (enfin surtout une, mais on ne peut pas en vouloir à Alex...). Merci d'être là, physiquement ou mentalement, et de ne jamais quitter mon esprit. Vous êtes mes deux petits amours...

SOMMAIRE

1- INTRODUCTION	Page 12
2- REVUE GENERALE DE LA LITTERATURE	Page 13
2.1 Introduction	Page 14
2.2 Marqueurs de l'angioedeme bradykinique	Page 16
2.3 Marqueurs de l'angioedeme histaminique	Page 21
2.4 Conclusion	Page 24
2.5 Références	Page 25
2.6 Tables et figures	Page 28
3- ETUDE BIOBRAD	Page 33
3.1 Résumé	
3.1.1 Français	Page 34
3.1.2 Anglais	Page 36
3.2 Introduction	Page 37
3.3 Matériels et méthodes	Page 39
3.4 Résultats	Page 42
3.5 Discussion	Page 45
3.6 Conclusion	Page 48
3.7 Bibliographie	Page 49
3.8 Tableaux	Page 51
3.9 Figures	Page 52
4- ANNEXES	Page 57
5- CONCLUSION	Page 61
6- SERMENT D'HIPPOCRATE	Page 62

INTRODUCTION

L'angioedème (AE) aux urgences pose un problème diagnostique et thérapeutique important ; le diagnostic étiologique rapide est essentiel pour adopter une conduite à tenir et une prise en charge appropriée. La clinique prime, mais quelque fois peut être prise à défaut par l'absence de signes évocateurs d'une étiologie histaminique ou bradykinique.

La recherche de marqueurs biologiques de soins courants est donc essentielle dans ce contexte, et le projet BIOBRAD a vu le jour. Cette étude prospective monocentrique incluant des patients présentant un AE bradykinique, histaminique et un groupe témoin est le sujet de ma thèse d'exercice de médecine.

La première partie est une revue systématique des marqueurs biologiques proposés dans la littérature, soumis et accepté avec modification dans le journal « *European Journal of Dermatology* » (référence numéro 8 de la deuxième partie de thèse). L'article a été rédigé et soumis en langue anglaise

La deuxième partie détaille en français les résultats de l'étude, et sera soumis dans « *Allergy* » prochainement. Les dosages de D-Dimères, VE-cadhérine et l'exploration du complément ont permis de déterminer des marqueurs biologiques de la crise, en adéquation avec les données de la littérature présentées.

Ce projet se poursuit avec une modification du protocole concernant la fréquence des dosages, permettant d'augmenter le nombre de patient inclus pour confirmer ces résultats ; au vu des dernières données de la littérature, de nouveaux marqueurs seront rajoutés afin d'enrichir la palette d'outils diagnostics à notre disposition dans cette pathologie.

REVUE GENERALE DE LA LITTERATURE :

Towards a specific marker for acute bradykinin-mediated angioedema

attacks: a literature review

Introduction

Bradykinin-mediated angioedemas (AE) are recurrent oedemas which are potentially fatal if they affect the ENT region. The physiopathological mechanism of this disease is linked to the spontaneous activation of the contact phase of coagulation inducing bradykinin release. [1]. C1 inhibitor (C1INH) is the main control protein acting during this contact phase. Indeed, if there is a C1INH deficit (hereditary AE), the protease activation cascade is not regulated, which promotes bradykinin (BK) synthesis. This was confirmed by Nussberger et al. [2] who showed that during a hereditary AE (HAE) attack associated with a C1INH deficit, the level of circulating BK rose and then dropped with the disappearance of the oedema. This rise in BK levels is not found with histamine-induced AE [2]. Unfortunately, it is quite tricky to assay bradykinin because the nonapeptide is inherently unstable, and it is therefore not compatible with applications in everyday healthcare.

In 929 consecutive patients examined for recurrent AE unaccompanied by urticarial, 36% were related to C1INH deficiency or angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) treatment whereas 61% were histaminergic or idiopathic AE [3]. Whether the presence of wheals (90%), the low median duration of attack (often few hours), the AE location (ENT, extremities but rarely abdominal attacks) and long-term efficacy of antihistamines could be helpful to diagnose histamine-induced AE, the clinical picture for these two types of AE could be superimposable [4].

Although histamine-induced AE should be treated with anti-histamines and adrenalin, bradykinin-mediated AE only responds to targeted therapies (C1INH concentrate, antagonists of the B2 receptors for BK and kallikrein inhibitors). The development of a specific biomarker of bradykinin-mediated AE would therefore be very useful, and several candidates have been proposed in the literature (figure 1). We are therefore performing and presenting a

review of the literature on these candidate biomarkers by comparing them to those for mast cell activation (table 1).

Markers of a bradykinin-mediated AE attack

Contact phase proteins:

Activation of the contact phase of coagulation triggers HAE [1] and a specific biomarker could be identified by studying its components. A recent prospective study [5] investigated circulating levels of complement and contact phase proteins in 162 HAE-carrier patients, 31 of which were experiencing an AE attack. These authors found that the spontaneous kallikrein activity was significantly increased ($p=0.01$) in patients experiencing an attack (6.7 mU/mL) compared to patients in remission (2.1 mU/mL), and that plasma inhibition of this activity was strongly decreased (43.1% versus 6.5%, $p=0.01$). This inhibition was correlated with C1INH activity ($r=0.656$, $p>0.001$). In addition, high molecular weight kininogen (HK) cleavage activity was increased during attacks (58.1% versus 42.9%, $p<0.001$). C1INH activity correlated negatively with HK cleavage ($r=0.3$, $p=0.001$). The level of cleaved HK also appeared to correlate with the frequency of attacks ($p=0.002$). Assays for contact phase proteins during the AE attack have not yet been standardised, and the methods presented in the article need to be validated.

Complement proteins:

As stated above, C1INH is the main control protein during the contact phase of coagulation. A deficit in this protein causes most HAE, and its levels have been studied during AE attacks.

Suffiti et al. [5] showed that levels of C1INH (antigen and function) and of all the complement parameters explored (C1q and C4) were significantly lower ($p=0.049$) in patients experiencing an AE attack than in patients in remission.

However, another prospective study (n=18 patients) [6] performed at the same time showed that C1INH levels did not vary significantly in the same patient experiencing an attack and during remission (p=0.19). Similar results were found for C4 (p=0.37). In contrast, functional C1INH activity was found to be increased during attacks (p=0.0176). The absence of variation in the level of complement (C1INH antigen and function, C4) was confirmed by Cugno et al. [7] with 28 patients assayed during an attack and again in remission.

In addition to its role in the contact phase, C1INH plays a role in regulating the lectin pathway for complement activation. In a study of 35 patients with hereditary AE having presented 106 attacks, an increase in the level of MASP-2 and of the ficolin-3/MASP-2 complex was noted during the attack (p<0.0001 and 0.033, respectively) [8], this was related to the absence of C1INH regulation. However, these assays are not commonly performed and the proteins do not appear to be good candidate biomarkers of AE.

Inflammatory markers:

The effect of bradykinin is mediated by its two G-protein coupled receptors, B1R and B2R. B1R is expressed by endothelial cells upon stimulation by tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) and interleukin-1 (IL-1). Through the intermediate of IL-6, these cytokines stimulate production of C-reactive protein (CRP) by the liver.

A German study [9] investigated four markers during a first bradykinin-mediated AE episode induced by ACEI (25 patients) and compared to those measured in a group with angioedema of unknown cause (18 patients). All patients presenting with bradykinin-mediated AE had a high level of ultra-sensitive CRP (4.32+/-0.15 mg/dl, normally <0.5) and of fibrinogen (476+/-31 mg/dl, normally between 180 and 350). These levels were significantly higher than the norm, and than those expressed in the group with AE of unknown origin. The leukocyte numbers were within the normal range. A more recent retrospective study [10] also

showed an increase in ultra-sensitive CRP levels in 30 patients presenting an abdominal attack compared to their basal levels ($p=0.049$), while the CRP level during an AE attack with no abdominal involvement (38 patients) was stable. This marker was also higher in asymptomatic patients habitually presenting abdominal AE than in patients with attacks in extra-abdominal locations ($p=0.034$). However, another prospective study [6], although it did not test ultra-sensitive CRP, does not confirm this variation in CRP between patients experiencing an attack and the same patients in remission ($p=1.00$).

Vascular endothelial stress markers:

Endothelial cells maintain a semi-permeable interface between tissues and blood by regulating the formation of thromboses, fibrinolysis, platelet adhesion, vascular tonus and blood flow [11]. In bradykinin-mediated AE, the high level of bradykinin causes an increase in permeability of vascular endothelial cells.

A Hungarian-German study [12] investigated markers of vascular stress in 49 patients with HAE in their basal state (not during an attack). The markers tested were soluble E-selectin, endothelin-1, von Willebrand factor and its activity. Only E-selectin was found to be increased ($p=0.001$), and its level was stable over an annual period.

Other authors investigated vascular stress during an attack [6]. Samples were taken from 18 patients during an AE attack and during remission. Von Willebrand factor and its activity, E-selectin and endothelin-1 were all assayed by ELISA. These four markers were found to be significantly increased during an AE attack ($p=0.0046$, 0.009 , 0.235 , 0.249 , respectively), indicating a strong activation of endothelial cells. A sub-study on 8 patients indicates that there also exists an endothelial activation phenotype for each patient, which is reproducible with each attack.

VE cadherin is a transmembrane adhesion protein forming part of the adherens junctions between endothelial cells. Serum levels of this protein are a marker of vascular stress and of aggression of endothelial cells [13]. It has been shown that circulating levels of this protein can increase during an attack (ELISA and Western Blot assays) [14]. Assays performed before and after the attack were normal. This study also showed that a monolayer of endothelial cells exposed to bradykinin and kallikrein released soluble VE cadherin, and permeability was increased due to intercellular disjunction.

Coagulation cascade and fibrinolysis:

C1INH is also implicated in controlling the activation of factor XII and thus in the development of coagulation and the resulting fibrinolysis. An Italian team explored the biological markers for this pathway.

Cugno et al. [7] measured the levels of prothrombin fragments (F1+2) - indicators of prothrombin and thrombin activation by activated factor X - and D-dimer (a product of fibrin degradation) in 28 patients during a bradykinin-mediated AE attack. The level of F1+2 fragments was higher during the attack ($p=0.0001$) than during remission and in the healthy control group. Circulating D-dimer was also higher during the attack than in control subjects ($p=0.002$). However, the level did not vary significantly between attacks and remission. Assaying D-dimer could therefore help diagnose bradykinin-mediated AE. However, for the marker to be specific it must be able to distinguish between bradykinin-mediated AE and AE as a result of mast cell activation, and D-dimer has also been shown to increase during an outbreak of hives. [15]

Other markers:

During an abdominal attack of HAE, a significant and transitory increase in Carbohydrate Antigen (CA)-125 has been observed, the kinetics of which are superimposable on the intensity of the abdominal attack [16]. CA-125 is a membrane associated mucin, component of the ocular surface, respiratory tract and female reproductive tract epithelia; it creates a hydrophilic environment acting as a lubricating barrier against foreign particles and infectious agents, and could interact with cytoskeleton. Its expression has been shown to be altered in dry eye, cystic fibrosis and several types of cancers. Monitoring CA-125 blood serum levels is best known for ovarian cancer, but also other cancers, and benign conditions, such as endometriosis, pregnancy, or any inflammatory condition in the abdominal area with serosal involvement [17]. It could be hypothesized that CA-125 screening could be useful for abdominal attack of AE but prospective study is needed.

Mast cell activation markers

Few studies have investigated biological markers during an isolated attack of histamine-induced AE, and most of these involved chronic urticaria. Basophils and mast cells are the two effector cells producing the clinical picture, which involves a series of mediators such as histamine, leukotrienes, prostaglandins, and pro-inflammatory mediators. These molecules are responsible for vasodilation and the increase in vascular permeability [18]. However, we excluded from this review studies about chronic urticaria, whose pathophysiology are different from histamine-induced AE [18].

Mast cell degranulation markers:

Several markers of mast cell degranulation have been identified. The only currently available assay is that for serum tryptase [19]. Histamine can be measured in plasma or urine, but the methods are time-consuming and poorly reproducible (fluorimetric tests, radioenzymatic assays, etc.). In addition, the short half-life and rapid normalisation of histamine levels after the attack decreases the benefit of assaying it in current clinical practice [20]. However, a study of 39 patients with bradykinin-mediated AE, of which 11 were undergoing an attack at the time, show that the level of urinary histamine is similar in patients and in the control group (41 patients) [21]. Thus, this marker is specific for histamine-induced AE.

Markers of the inflammatory reaction:

A Polish study [22] investigated CRP and plasma IL-6 levels during an acute attack of AE or urticaria induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID). IL-6 levels (median: 1.9 pg/mL, $p < 0.001$) and CRP levels (median: 20.5 mg/L, $p < 0.001$) were increased

in patients during an attack (n=17) compared to during remission, one month later. This study confirmed the findings of a previous study [23] showing a concomitant increase in IL-6 and CRP levels, while IL-8 and TNF-alpha levels remained stable during an attack of urticaria (n=16). A recent study showed a statistically significant increase in levels of IL-4 (0.632 pg/mL, p=0.001), IL-6 (1.689 pg/mL, p=NA), and IL-8 (1.478 pg/mL, p=NA), but not IL-10 (0.967 pg/mL, p=0.059) during an outbreak of hives compared to levels after resorption of the symptoms in 51 patients, two weeks later. [24]

Coagulation cascade and fibrinolysis:

Few studies have investigated levels of coagulation markers during the acute phase of this process. One study showed that the severity of the urticaria/AE correlated significantly with the level of D-dimer and circulating fibrin degradation products or FDPs (p<0.01) in 82 patients [25]. In a sub-population of patients with acute urticaria/AE described by Takahagi et al. [25], the levels of these two markers were high. This concurs with a transitory rise in levels of D-dimer and of the thrombin-antithrombin III complex observed in 20 patients with acute urticaria [26], and with the results of Kasperka-Zajac [15].

Other:

An Italian study [27] identified serum neopterin, a marker of innate immune system activation, as a potential biomarker of outbreaks of urticaria. In a sub-group of patients with acute urticaria (13 patients), neopterin levels were higher than in the control group (96 patients). However, this marker has a very low specificity and is not assayed in current practice.

A historic study [28] showed an increase in the level of circulating eotaxin during acute urticaria (median: 126 pg/ml) and its decrease after the episode resolves. Eotaxin is a

chemokine whose main role is to recruit polynuclear eosinophils during hypersensitivity reactions. The small cohort studied here (19 paediatric patients), and the low availability of the assay, means that this marker is not currently used.

Conclusion

Research into biomarker differentially expressed during attacks of bradykinin-mediated AE (table 2) is taking off, in parallel with the development of effective, but expensive, medication. The clinical practitioner needs a readily-assayed marker, which is both reproducible and specific to the bradykinin-mediated origin of the attack.

References

- [1] Kaplan AP, Joseph K. The bradykinin-forming cascade and its role in hereditary angioedema. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;104:193-204.
- [2] Nussberger J, Cugno M, Cicardi M. Bradykinin-mediated angioedema. *N Engl J Med.* 2002; 347:621–2.
- [3] Zingale LC, Beltrami L, Zanichelli A, Maggioni L, Pappalardo E, Cicardi B, Cicardi M. Angioedema without urticaria: a large clinical survey. *CMAJ.* 2006;175(9):1065-70.
- [4] Kaplan AP, Greaves MW. Angioedema. *J Am Acad Dermatol.* 2005;53:373-88.
- [5] Suffitti C, Zanichelli A, Maggioni L, Bonanni E, Cugno M, Cicardi M. High molecular weight kininogen cleavage correlates with disease state in the bradykinin mediated angioedema due to hereditary c1-inhibitor deficiency. *Clin Exp Allergy.* 2014 Dec;44(12):1503-14.
- [6] Kadjacsi E, Jani PK, Csuka D, Varga LA, Prohaszka Z, Farkas H, Cervenak L. Endothelial cell activation during edematous attacks of hereditary angioedema types I and II. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133:1686-91.
- [7] Cugno M, Zanichelli A, Bellatore AG, Griffini S, Cicardi M. Plasma biomarkers of acute attacks in patient with angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Allergy.* 2009;64:254-57.
- [8] Csuka D, Munthe-Fog L, Hein E, Zotter Z, Prohaszka Z, Farkas H, Varga L, Garred P. Activation of the ficolin-lectin pathway during attacks of hereditary angioedema. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Dec;134(6):1388-1393.
- [9] Bas M, Hoffmann TK, Bier H, Kodja G. Increased CRP in ACE inhibitor induced angioedema. *Br J Clin Pharmacol.* 2004;59:233-238.
- [10] Hofman ZL, Relan A, Hack CE. C-reactive protein levels in hereditary angioedema. *Clin Exp Immunol.* 2014;177(1):280-6.

- [11] Sumpio BE, Riley JT, Dardik A. Cells in focus: endothelial cell. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002; 34:1508–12.
- [12] Czucz J, Schaffer G, Csuka D, Walentin S, Kunde J, Prohaszka Z, Farkas H, Cervenak L. Endothelial cell function in patients with hereditary angioedema: elevated soluble E-selectin level during inter-attack periods. *J Clin Immunol.* 2012;32:61-69.
- [13] Bouillet L, Baudet AE, Deroux A, Sidibé A, Dumestre-Perard C, Mannic T, Treillard B, Arboleas MA, Chiqet CA, Gulino-Debrac DG, Vilgrain IY. Autoantibodies to vascular endothelial cadherin in humans: association with autoimmune diseases. *Lab Invest* 2013;93:1194-202.
- [14] Bouillet L, Mannic T, Arboleas M, Subileau M, Massot C, Drouet C, Huber P, Vilgrain I. Hereditary angioedema: key role for kallikrein and bradykinin in vascular endothelial cadherin cleavage and edema formation. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128:232-4.
- [15] Kasperska-Zajac A, Brzoza Z. Increased D-dimer concentration in plasma of patients with severe acute urticaria. *Br J Dermatol.* 2009;161(6):1409-10
- [16] Cimbollek SH, Gonzalez-Quevado T, Fernandez MD. CA125: marker of serosal inflammation in hereditary AE? *Allergy* 2005; 60:835-40.
- [17] Miralles C, Orea M, Espana P et al. Cancer antigen 125 associated with multiple benign and malignant pathologies. *Ann Surg Oncol* 2003;10:150–4.
- [18] Altman K, Chang C. Pathogenic intracellular and autoimmune mechanisms in urticaria and angioedema. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2013;45(1):47-62.
- [19] Payne V, Kam PC. Mast cell tryptase : a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia.* 2004;59(7):695-703
- [20] Hogan AD, Schwartz LB. Markers of mast cell degranulation. *Methods.* 1997;13(1):43-52.

- [21] Brickman CM, Frank MM, Kaliner M. Urine-histamine levels in patients with hereditary angioedema (HAE). *J Allergy Clin Immunol.* 1988;82:403-6.
- [22] Kasperska-Zajac A, Grzanka A, Czecior E, Misiolek M, Rogala B, Machura E. Acute phase inflammatory markers in patients with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)-induced acute urticaria/angioedema and after aspirin challenge. *JEADV.* 2013;27:1048-52.
- [23] Fujii K, Konishi K, Kanno Y, Ohgou N. Acute urticaria with elevated circulating interleukin-6 is resistant to anti-histamine treatment. *J Dermatol.* 2001;28(5):248-50.
- [24] Papadopoulos J, Karpouzis A, Tentis J, Kouskoukis C. Assessment of Interleukins Il-4, Il-6, Il-8 and Il-10 in acute urticaria. *J Clin Med Res.* 2014;6(2):133-7.
- [25] Takahagi S, Mihara S, Iwamoto K, Morioke S, Okabe T, Kameyoshi Y, Hide M. Coagulation/fibrinolysis and inflammation markers are associated with disease activity in patients with chronic urticaria. *Allergy* 2010; 65: 649-56.
- [26] Fujii K, Usuki A, Kan-No Y, Ohgou N. Elevation of circulating thrombin antithrombin III complex and fibrin degradation products in urticaria: a laboratory finding unrelated to intravascular coagulopathy. *J Dermatol* 2008;35:308–10.
- [27] Ciprandi G, De Amici M, Berardi L, Vignini M, Caimmi S, Marseglia A, Marseglia G, Fuchs D. Serum neopterin levels in spontaneous urticaria and atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol.* 2011;36(1):85-7.
- [28] Hossny E, Aboul-Magd M, Bakr S. Increased plasma eotaxin in atopic dermatitis and acute urticaria in infants and children. *Allergy.* 2001;56(10):996-1002.

TABLES AND FIGURES :

Table 1: Baseline characteristics of studies about AE biomarkers

Table 2: Potential biomarker candidate and the mediator involved

X = probable marker

x = possible marker, studies require confirmation

NA = data not available

0 = negative result(s)

Figure 1: Physiopathology of bradykinin-mediated angioedema, mode of action of C1INH and potential biological markers during a bradykinin-mediated AE attack.

Table 1

Studies	Biomarker	Patient populations	Groups of patient	Type of attack	Conclusion
Suffiti et al. [5]	Kallicrein activity Inhibition of kallicrein activity Cleaved HK Complement parameters	HAE-C1-INH	Attacks vs remission and/or normal controls	all	Possible markers for bradykinin mediated-AE
Kadjacs et al. [6]	C1INH, C4	HAE-C1-INH	Attacks vs remission in the same patient	all	No variation of complement
	CRP				No variation of CRP
	Von Willebrand factor and its activity, E-selectin and endothelin-1				Endothelial cell activation during attacks
Cugno et al. [7]	C1INH, C4	HAE-C1-INH and AAE	Attacks vs remission and vs control groups	all	No variation of complement
	Prothrombin fragment F1+2 D-Dimer				Higher F1+2 levels during attacks No significant variation of D-Dimer
Csuka et al. [8]	MASP-2 Ficolin-3/MASP-2 complex	HAE-C1-INH	Attacks vs remission	all	Possible markers for bradykinin mediated-AE
Bas M et al. [9]	US-CRP Leukocyte count Fibrinogen	ACEI-AE	Attacks from ACEI-AE vs AE of unknown cause	all	Increased US-CRP for ACEI-AE
Hofman ZLM et al. [10]	US-CRP levels	HAE-C1-INH	Attacks vs remission	all	Increased US-CRP during abdominal attack
Czucz J et al. [12]	E-selectin, endothelin-1, von Willebrand factor and its activity	HAE-C1-INH	Remission of HAE-C1-INH vs control subjects	No attacks	Elevated soluble E-selectin level
Bouillet L et al. [14]	VE-cadherin	HAE-C1-INH	Attacks vs remission	all	Increased soluble VE-cadherin level
Kasperska-Zajac A et al. [15]	D-dimer	AU	Attacks vs control subjects	AU	Increased D-dimer in severe AU
Cimbollek SH et al. [16]	CA-125	HAE-C1-INH	Attacks vs remission	Abdominal attacks	Increased CA-125 during abdominal attack
Brickman CM et al. [21]	Urinary histamine	HAE-C1-INH	Attacks vs remission and vs control groups	all	Specific for histamine-induced AE
Kasperska-Zajac A et al. [22]	CRP Interleukin-6 (IL-6)	NSAIDs-induced AU/AE	Attacks vs remission and vs healthy controls	all	Increased CRP and IL-6 levels
Fujii K et al. [23]	CRP IL-6 IL-8 TNF-alpha	Severe AU	Attacks vs remission	AU	Increased CRP and IL-6 levels
Papadopoulos J et al. [24]	IL-4, IL-6, IL-8, IL-10	AU	Attacks vs remission and vs controls	AU	Increased level of ILs during attacks
Takahagi et al. [25]	D-dimer Fibrin degradation products CRP	AU/AE (sub-population)	Levels during attacks	All	High level of coagulation and inflammation markers during attacks

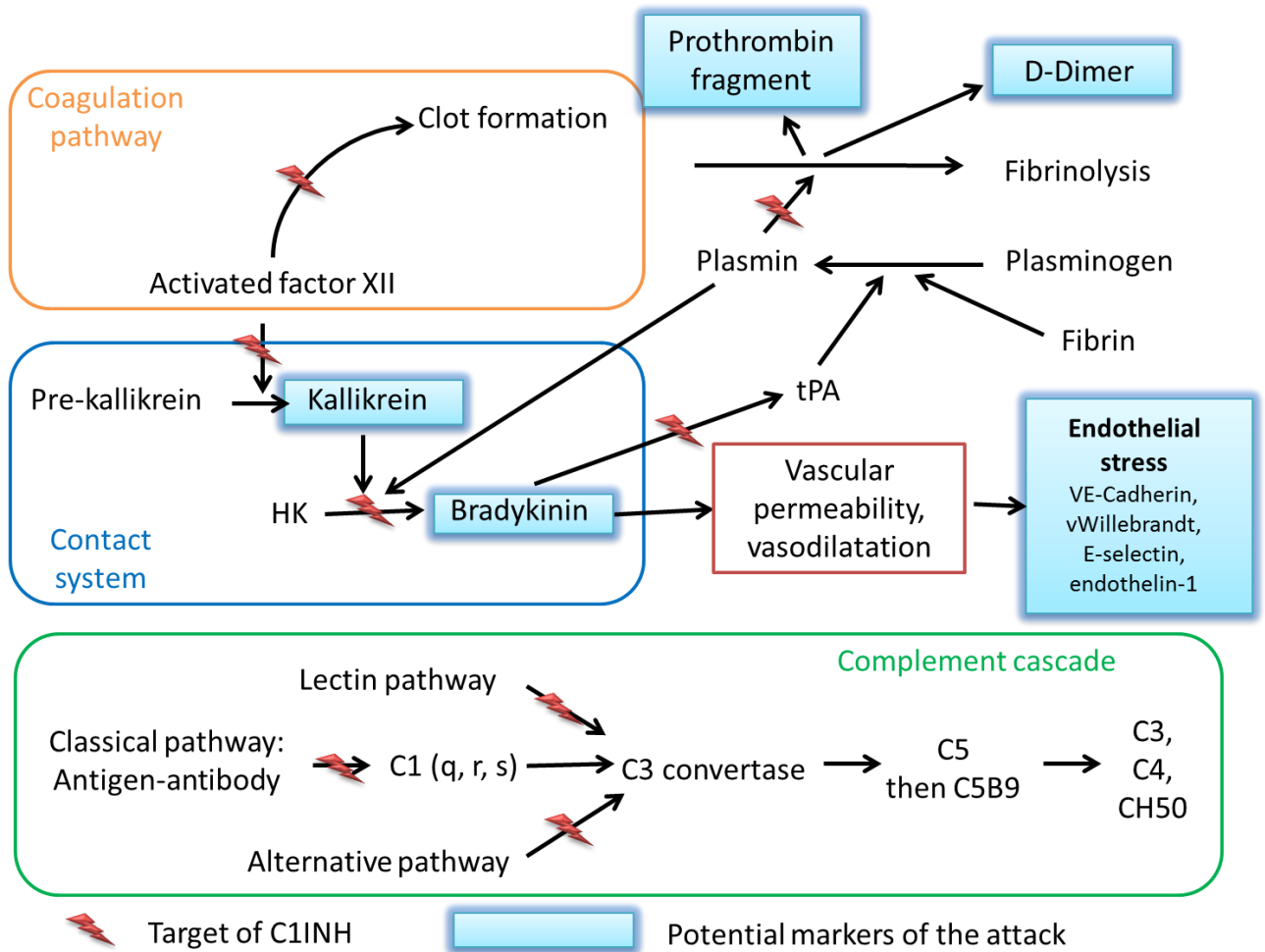
Fujii K et al. [26]	D-dimer Thrombin-antithrombin III complex (TAT)	AU	Attacks vs remission	AU	Increased markers during attacks
Ciprandi G et al. [27]	Serum neopterin levels	AU (sub- population)	Attacks vs control group	AU	Increased neopterin levels
Hossny E et al. [28]	Plasma eotaxin	AU (sub- population)	Attacks vs remission	AU	Increased eotaxin levels

HAE-C1-INH: hereditary angioedema due to C1-INH deficiency; HK: High-molecular-weight kininogen; AAE: acquired angioedema; ACEI-AE: ACE-inhibitor-induced AE; US: ultra-sensitive; AU: acute urticaria

Table 2

	Bradykinin-mediated AE attack	Mast cell activation
Proteins in the contact phase (kallikrein, kininogen, etc.)	X	NA
Bradykinin	X	0
Complement system	x	NA
CRP/IL-6	x	X
Markers of vascular endothelium	X	NA
D-dimer	X	X
F1+2 prothrombin fragment	X	X
CA125	x	NA
Tryptase	NA	X
Histamine	NA	x
Histaminuria	0	X
Neopterin	NA	x
Eotaxin	NA	x

Figure 1



**Etude BIOBRAD :
Recherche de marqueurs biologiques
de la crise d'angioedème.**

RESUME

Le diagnostic étiologique des angioedèmes (AE) est difficile notamment en situation d'urgence. Deux grands cadres doivent être évoqués : les AE histaminiques (allergiques ou non, qui représentent 95% des cas) et les AE bradykiniques (héréditaires ou acquis, avec ou sans déficit en C1Inh) plus rares mais au pronostic plus sévère. La distinction est basée sur la clinique (durée spontanée de la crise, présence d'urticaire concomitante ou à distance, antécédents atopiques...). Parfois, il est difficile de les différencier. A l'heure actuelle il n'existe aucun marqueur biologique de la crise. La recherche de marqueurs biologiques de soins courant pourrait permettre une amélioration de la prise en charge diagnostique et thérapeutique de ces AE. Des travaux précédents ont identifié des marqueurs cibles : les D-dimères, le C4, la VE cadhérine. Nous avons voulu connaître la sensibilité et la spécificité de ces marqueurs.

Nous avons mené une étude prospective évaluant les dosages des D-Dimères, du complément et de la VE-cadhérine au cours d'un épisode d'AE. Trois groupes de patients ont été testés : AE bradykiniques (crises périphériques, ORL et abdominales), AE histaminiques, et douleurs abdominales non bradykiniques, au moment (J0) puis à distance de la crise (J7).

Trente-trois patients ont été inclus, onze dans chaque groupe. Le taux des D-dimères était élevé lors de la crise d'AE bradykinique (médiane de 2.2 à J0 versus 0.52 ng/mL à J7, $p < 10^{-3}$). Ce taux était significativement supérieur par rapport à celui du groupe témoin (2.2 versus 0.69 ng/mL respectivement, $p = 0.01$). La valeur seuil de 0.62 ng/ml permet d'obtenir une valeur prédictive négative de 100% pour l'AE bradykinique. Les protéines du complément avaient un taux stable au cours de la crise et à distance. Le dosage de la VE-cadhérine met en évidence une augmentation du taux circulant lors de la crise (1990 à J0

versus 1566 ng/ml à J7, $p=0.01$) ; les taux sont équivalents entre les AE bradykiniques et histaminiques.

L'exploration des anomalies de la fibrinolyse (et notamment des D-Dimères) constitue un marqueur prometteur de la crise d'AE bradykinique dans les formes abdominales de diagnostic difficile.

Mots-clefs :

Angioedeme; Bradykinine; Histamine; D-dimères; Biomarqueurs; VE-cadhérine; Complément.

ABSTRACT

Diagnosis of angioedema (AE) is difficult especially in emergency room. Two forms should be evoked: histaminic AE (allergic or not, which represent 95% of cases) and bradykinic AE (hereditary or acquired deficiency, with or without C1 inhibitor) rarer but with more severe prognosis. The distinction is based on clinical features (spontaneous crisis duration, presence of concomitant hives, atopic history...). Sometimes it could be difficult to make the difference. Nowadays, there is no biological marker of the crisis. The search for biomarkers could improve the diagnostic and therapeutic management of AE. Previous work had identified targets: D-dimer, C4, and VE-cadherin. We wanted to know the sensitivity and specificity of these markers.

We conducted a prospective study evaluating the D-dimer, complement and VE-cadherin assays during an episode of AE. Three groups of patients were tested: bradykinic AE (peripheral, ENT or abdominal attacks), histaminic AE, and abdominal pain (non-bradykinic and non-histaminic etiology) at the time (day 0) and at distance from the crisis (D7).

Thirty-three patients were included, eleven in each group. The rate of D-dimer was higher during the bradykinic AE crisis (median 2.2 on D0 versus 0.52 ng/mL on D7, $p < 10^{-3}$). This rate was significantly higher compared to the control group (2.2 versus 0.69 ng/ml, respectively, $p = 0.01$). A threshold value of 0.62 ng/ml provides a negative predictive value of 100% for bradykinic AE. Complement proteins rates were stable from D0 to D7. Dosage of VE-cadherin showed an increasing circulating levels during crisis (1990 on D0 versus 1566 ng/ml on day 7, $p = 0.01$); rates are equivalent between bradykinic and histaminic AE.

Exploring abnormality of fibrinolysis (especially D-dimer) is a promising marker for abdominal crisis of bradykinic AE.

INTRODUCTION

L'angioedème (AE) est un syndrome clinique caractérisé par un gonflement sous cutané ou sous muqueux, localisé, transitoire et disparaissant sans séquelle [1]. Il est dû au relargage brutal et localisé de substances vasodilatatrices, qui provoquent ainsi une hyperperméabilité vasculaire. La classification des AE repose en grande partie sur la nature des médiateurs impliqués dans la genèse des AE [2]. Les AE les plus fréquents sont ceux liés à la libération d'histamine par les mastocytes (AE histaminiques). Ils sont souvent associés à de l'urticaire (à distance ou concomitant). Les AE bradykiniques sont plus rares. Ils sont liés à l'activation de la voie kallibréine-kinine et à la libération de bradykinine, par activation excessive de la voie des kinines et/ou une diminution de leur dégradation. Les protéines de la phase contact de la coagulation sont responsables de l'activation de la voie des kinines : le facteur Hageman (ou facteur XII) est au centre de ce phénomène [3]. Il est activé par un stress à la surface des cellules endothéliales vasculaires. Il va activer la plasmine et la voie kallibréine-kinine (dont la bradykinine).

Les AE bradykiniques sont marqués par une morbi-mortalité importante avec une qualité de vie altérée de manière équivalente à celle des asthmatiques [4]. Le décès survient dans 25% des cas sans intervention thérapeutique [5] lors d'un œdème des voies aériennes supérieures qui ne répondent pas aux traitements donnés lors d'AE histaminiques (corticoïdes, antihistaminiques, adrénaline). Des traitements spécifiques efficaces existent à l'heure actuelle ; on évalue le cout du traitement d'une crise aux alentours de 1500 euros. Il est donc primordial de réserver ces traitements aux crises sévères (ORL et digestives) d'AE bradykinique [6].

Les AE histaminiques sont les diagnostics différentiels principaux des AE bradykiniques en termes de fréquence. Certains éléments cliniques permettent habituellement de faire la différence entre les deux ; l'élément le plus discriminant est l'urticaire (pas forcément concomitante) mais qui n'est pas toujours présente en cas d'AE histaminique [7].

Lorsqu'un patient se présente aux urgences avec un AE des voies aériennes supérieures ou une crise abdominale, il est fondamental de diagnostiquer rapidement un AE bradykinique afin d'administrer le plus tôt possible une thérapeutique adaptée. A l'heure actuelle, nous ne disposons d'aucun marqueur de la crise aiguë d'AE bradykinique qui permettrait d'aider à la décision thérapeutique mais de nombreux travaux de recherche sont réalisés afin d'en identifier. Plusieurs candidats existent [8] : des marqueurs du stress endothélial (VE-cadhérine, activité du facteur Willebrand et de son antigène, l'E-sélectine et l'endothéline-1...) qui sont significativement augmentés au cours de la crise. Des anomalies du complément, de la phase contact de la coagulation et de la fibrinolyse, des protéines inflammatoires (CRP, interleukines, fibrinogène...) ont été explorés [8]. Tous ces marqueurs ont besoin d'études prospectives afin de valider leur utilité diagnostic. Nous proposons donc de réaliser une étude prospective évaluant l'intérêt diagnostic de différents marqueurs biologiques disponibles en soins courants au cours de la crise d'AE.

MATERIELS ET METHODES

1- Patients :

Les patients ont été inclus de manière prospective et répartis en 3 groupes par les investigateurs principaux. Les critères d'exclusion comprenaient un âge inférieur à 18 ans, l'absence de consentement écrit (refus ou impossibilité), l'impossibilité de faire des prélèvements et l'absence de diagnostic étiologique. Les trois groupes se répartissaient ainsi : patients ayant présenté une crise d'AE bradykinique confirmé lors d'une consultation au sein du Centre National de Référence français des AE, ou CREAK (*groupe 1*) ; patients ayant présenté une crise d'AE histaminique (*groupe 2*) ; patients présentant des douleurs abdominales d'étiologie connue (*groupe témoin* ou *groupe 3*). Les paramètres cliniques (intensité de la crise évaluée selon une échelle visuelle analogique, traitement en cours, évolution) et paracliniques furent recueillis à l'inclusion, puis à chaque prélèvement. Le traitement administré après l'inclusion était laissé à l'appréciation du clinicien. Un avis du CREAK était donné en cas de besoin pour la prise en charge thérapeutique du patient.

Tous les patients ont signé un consentement éclairé avant leur inclusion dans l'étude. Le protocole a été examiné et approuvé par le Comité de Protection des Personnes SUD EST V (12 septembre 2012) et a reçu l'autorisation de l'ANSM en date du 19/09/2012.

2- Prélèvements :

Chaque patient a bénéficié de 7 prélèvements au cours de l'étude : au moment de la crise (H0), puis respectivement à 3, 6, 12, 24, 48 heures du début de la crise. Un dosage a été réalisé 7 jours après (J7) en dehors de toute symptomatologie. Pour les patients du groupe 1 suivi par le CREAK, les prélèvements ont été aussi réalisés à l'inclusion dans l'étude à distance d'une symptomatologie d'AE.

3- Dosage du complément :

Le dosage du C1 inhibiteur (C1INH) et de la fraction C4 du complément était réalisé dans le sérum par néphélobimétrie utilisant un analyseur automatisé (*BNII ; Siemens, France*) et des antisérums spécifiques (*Siemens*). La détermination de l'activité du C1 inhibiteur a été réalisée par spectrophotométrie selon la méthode décrite par Drouet [9].

L'exploration du complément était réalisée à H0 puis à 7 jours de la crise. Les prélèvements étaient adressés directement au laboratoire et techniqués immédiatement.

Les normes du laboratoire sont les suivantes : dosage pondéral du C1INH : 210-355 mg/l ; fraction C4 : 100-380mg/l ; activité du C1INH : 17.2-27.4 U/mL.

4- Dosage des D-Dimères :

Le dosage était réalisé à H0 puis à 7 jours de la crise. Les prélèvements étaient adressés directement au laboratoire et techniqués immédiatement selon une technique standardisée (*STA-Liatest DDI - Stago, STA-R*). La valeur minimale est inférieure à 0.27 ng/mL et la valeur maximale de 4 ng/mL.

5- Dosage de la VE-cadhérine, marqueur du stress vasculaire :

Le dosage de la VE Cadhérine est réalisé à intervalles de temps définis depuis le début de la crise (H0) puis à 3, 6, 12, 24, 48 heures puis 7 jours, afin d'établir une cinétique d'évolution de sa concentration plasmatique. Le dosage utilise une méthode ELISA décrite lors d'une précédente étude [10]. Après prélèvement, le sérum est centrifugé à température ambiante puis conservé à -80° avant le dosage.

6- Méthodes statistiques :

Du fait de l'effectif faible, des tests non paramétriques ont été utilisés. Le test de Mann et Whitney, pour les variables quantitatives continues et les comparaisons de médianes, a été utilisé et les corrélations ont été établies avec le coefficient de corrélation de Pearson. Une p-value inférieure à 0.05 a été considérée pour conclure à une différence statistiquement significative. Les courbes ROC ont été réalisés avec XLSTAT 2015.1.01.

RESULTATS

a) Patients :

Du premier janvier 2013 au 31 décembre 2014, 33 patients ont été inclus :

- 11 patients présentaient un AE bradykinique (7 patients présentant un AE héréditaire de type 1, 3 patients sous Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion - IEC et 1 sous Antagoniste des Récepteurs à l'Angiotensine 2 - ARA2),
- 11 patients ont été inclus dans le groupe AE histaminique,
- 11 patients dans le groupe témoin (douleurs abdominales).

Les caractéristiques des patients sont détaillées dans la *table 1*.

Au sein du groupe témoin, les diagnostics étaient les suivants : gastroentérite aigue, pancréatite aiguë (2 patients), colite aigue (2 patients, à *campylobacter* et *clostridium*), fécalome, gastrite, pyélonéphrite aigue (2 patients), sigmoïdite diverticulaire, poussée de maladie de Crohn.

b) D-Dimères :

Le dosage des D-Dimères était réalisé à l'inclusion, à H0 puis à J7, en dehors de toute symptomatologie clinique. Dans le groupe des AE bradykiniques, on note un taux de D-dimères significativement plus élevé (*figure 1*) en crise qu'à J7 (médiane respective de 2.2 versus 0.52 ng/mL, $p < 10^{-3}$) et par rapport à l'inclusion (2.2 versus 0.36 ng/mL, $p < 10^{-3}$). Il n'existe en revanche pas de corrélation entre l'intensité de la crise (évaluée par une échelle

visuelle numérique) et le taux de D-Dimères ($p=0.78$). L'analyse en sous-groupe ne permet pas de mettre en évidence une différence du taux en crise entre les patients atteints d'AE du type 1 et les AE secondaires aux IEC ou aux ARA2.

Dans le groupe des AE histaminiques (groupe 2), on note aussi une augmentation des D-Dimères au cours de la crise (1.97 vs 0.65 ng/mL, $p=0.04$), du même ordre que dans le groupe 1 (2.2 vs 1.97 ng/mL, $p=0.55$).

En revanche, dans le groupe 3, le taux de D-Dimères est stable.

Enfin, le taux de D-dimères est significativement plus élevé en crise dans le groupe 1 que dans le groupe témoin (2.2 versus 0.69 ng/mL respectivement, $p=0.01$, *figure 2*). Il n'existe pas de différence entre le taux de D-dimères du groupe 2 et 3 ($p=0.25$).

L'étude de la courbe ROC (*figure 3*) met en évidence un seuil de D-Dimères de 1.530 ng/ml pour lequel les caractéristiques du test sont les suivantes : sensibilité = 90%, spécificité = 63.6%, valeur prédictive négative (VPN) = 87.5% et valeur prédictive positive (VPP) = 69.2%.

c) Exploration du complément :

L'ensemble des paramètres explorés du complément n'a pas permis de mettre en évidence de différence entre le J0 des patients du groupe 1 présentant un déficit en C1INH (7 patients) et le taux basal. L'activité du C1INH est faible chez les sujets présentant un AE héréditaire de type 1 (médiane de 2.6 U/mL en crise versus 2 U/mL à J7, $p=0.61$), de même que le dosage pondéral du C1INH (respectivement 37 versus 42 mg/l, $p=0.40$) et le C4 (respectivement 34.5 versus 51 mg/l, $p=0.44$).

De même, les taux antigéniques et d'activité du C1INH et les taux de C4 sont stables chez les patients présentant un AE lié aux IEC, ainsi que dans le groupe 2 et 3.

d) VE-cadhérine :

Dans le groupe 1, il est retrouvé un taux de VE-cadhérine circulante plus élevé lors de la crise (H0), qu'à J7 (1990 versus 1566 ng/mL, $p=0.01$, *figure 4*). L'étude de la cinétique du marqueur biologique dans le temps a mis en évidence une corrélation du taux à l'intensité de la crise évaluée par le médecin en charge du patient ($\rho = 0.75$, $p=0.04$). Cependant, on ne note pas d'intérêt diagnostique ou pronostic du suivi de la cinétique de la VE Cadhérine ; celle-ci augmente rapidement au cours de la crise (H0), et son taux se normalise dès la résolution des symptômes cliniques.

Le taux circulant ne diffère pas entre les différents groupes au cours de la crise (respectivement 1990, 1869 et 1764 ng/mL) ni en dehors de toute crise (1566, 1705 et 1703 ng/mL respectivement).

DISCUSSION

Cette étude a permis de mettre en évidence plusieurs marqueurs sériques au cours d'une crise d'AE. Si le diagnostic positif d'AE est en règle générale clinique, le diagnostic étiologique reste quelquefois difficile, notamment dans les formes d'AE histaminiques sans urticaire ou dans les crises abdominales d'AE bradykinique. Les D-Dimères apportent ici une aide importante. Comme l'avait déjà évoqué Cugno et al. [11] auprès de 28 patients, nous confirmons un taux significativement supérieur de D-Dimères au cours de la crise d'AE bradykinique, par rapport à des sujets contrôles. En revanche, on note un taux plus bas de D-Dimères au cours de la rémission ($p < 10^{-3}$) contrairement à Cugno et al. [11] qui ne retrouvait pas d'intérêt à la cinétique du marqueur. Augmenté aussi dans les crises d'urticaire et d'AE histaminique [12], le taux de D-dimères ne permet cependant pas de distinguer une origine histaminique ou bradykinique à l'AE. Du fait d'un manque probable de puissance, nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre le taux de D-Dimères et la sévérité de la crise, comme il a été montré au cours de l'AE associé à une urticaire [13].

Un taux seuil de D-Dimères peut être défini. Selon la courbe ROC (*figure 3*), le seuil de 1.530 ng/mL est le plus exact et présente des performances intéressantes en termes de sensibilité (90%) et de VPN (87.5%). Cependant, un seuil de 0.62 ng/ml donne une VPN de 100% ce qui permet d'exclure la possibilité d'une crise d'AE (notamment dans les crises abdominales isolées) à ce seuil par rapport à une autre étiologie de douleurs abdominales. En revanche, la spécificité de ce test reste faible, du fait de l'importance des pathologies à l'origine d'une augmentation de ce biomarqueur.

L'exploration du complément (antigène et activité du C1INH, C4) n'est pas retrouvée comme marqueur potentiel biologique de la crise d'angioedème. Leur taux ne varie pas au

sein du groupe des patients porteur d'un déficit en C1INH ou des patients présentant un AE acquis aux IEC. Dans la littérature, ces résultats sont controversés par une étude de Suffiti et al. [14] qui retrouvait un taux de complément significativement plus bas au cours de la crise qu'en rémission ; cependant, Cugno et al. [11] et Kadjacs E et al. [15] n'ont pas retrouvé cette différence. L'exploration du complément dans le cadre d'un bilan étiologique d'AE peut donc être réalisée indifféremment au cours ou à distance d'une crise pour affirmer le diagnostic de déficit en C1INH. De plus, il n'existe pas de variation du complément lors des crises d'AE histaminique, ce qui permet de réaliser ce dosage lors d'une crise eu urgence en cas de doute diagnostique entre un AE bradykinique héréditaire (type 1 ou 2) et un AE histaminique.

Enfin, le troisième marqueur exploré dans cette étude est un marqueur du stress endothélial : la VE-cadhérine, protéine transmembranaire participant aux jonctions adhérentes entre cellules endothéliales [16]. Un cas récent [17] rapporte l'élévation sérique de cette protéine dans le sérum de patient au cours d'un épisode d'AE bradykinique, et l'augmentation du taux de VE cadhérine soluble suite à l'exposition d'une monocouche de cellules endothéliales à la bradykinine et la kallibréine [17]. Cette action est responsable d'une augmentation de la perméabilité vasculaire par disjonction intercellulaire. Nous confirmons dans notre étude l'intérêt du dosage de la VE cadhérine lors des crises d'AE chez les patients présentant un AE bradykinique par rapport au taux basal (J7 et/ou inclusion) ; en revanche, il n'existe pas de différence significative du taux de VE-cadhérine lors d'une crise entre les différents groupes (AE bradykinique, AE histaminique et témoins). La cinétique du marqueur est rapide, et la corrélation entre l'intensité de l'œdème et le taux sérique de VE-cadhérine témoigne du lien physiopathologique probable entre le clivage de la VE-cadhérine intercellulaire, la perméabilité vasculaire et la formation de l'œdème. L'étude de cette

cinétique montre que les variations de VE-cadhérine circulante sont extrêmement rapides et peut servir de marqueur biologique d'évolution pour un même patient atteint d'AE bradykinique dont les taux de base en VE-cadhérine sérique sont connus.

L'absence de différence entre les 3 groupes est le reflet de la faible spécificité de ce marqueur, qui témoigne de l'agression vasculaire qui peut avoir lieu au cours d'un AE bradykinique, d'un relargage histaminique important ou d'une affection intra-abdominale. Il s'agit de la première description de la cinétique de la VE-cadhérine au cours d'AE histaminiques, dont les résultats ne mettent cependant pas en évidence de variations significatives. Un effectif plus important permettrait peut-être de montrer une augmentation de la VE-cadhérine comme reflet de la perméabilité vasculaire dans le groupe 2 au cours de la crise, comme il a été montré au sein des AE bradykiniques.

CONCLUSION

L'exploration des anomalies de la fibrinolyse et notamment le dosage des D-Dimères constituent un bon marqueur de la crise d'AE bradykinique. Un taux seuil de D-Dimères a pu être déterminé pour permettre de différencier une crise abdominale au cours d'un AE bradykinique d'une autre étiologie de douleurs abdominales. L'exploration de la VE-cadhérine, protéine du stress vasculaire, ne permet pas de différencier un AE histaminique d'un AE bradykinique, mais présente un pic caractéristique de la crise. La poursuite de ces explorations biologiques et la confirmation par d'autres équipes devraient permettre d'utiliser ces marqueurs en pratique courante pour le diagnostic différentiel entre ces deux formes physio-pathologiquement différentes et dont l'identification conditionne la prise en charge thérapeutique des patients.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Grattan C, Powell S, Humphreys F. Management and diagnostic guidelines for urticaria and angioedema. *Br J Dermatol* 2001; 144:708-14
- 2- Zingale L, Beltrami L, Zanichelli A, Maggioni L, Pappalardo E, Cicardi B, Cicardi M. Angioedema without urticaria : a large clinical survey. *CMAJ* 2006; 175 : 1065-70
- 3- Davis AE III. The physiopathology of hereditary angioedema. *Clin Immunol* 2005; 114: 3-9
- 4- Lumry WR, Castaldo AJ, Vernon MK, Blaustein MB, Wilson DA, Horn PT. The humanistic burden of hereditary angioedema: Impact on health-related quality of life, productivity, and depression. *Allergy Asthma Proc* 2010; 31: 407-14
- 5- Bork K, Siedlecki K, Bosch S, Schopf R, Kreuz W. Asphyxiation by laryngeal edema in patients with hereditary angioedema. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 349-54
- 6- Craig T, Wasserman R, Levy R, Bewtra A, Schneider L, Flint. Prospective Study of Rapid Relief Provided by C1 Esterase Inhibitor in Emergency Treatment of Acute Laryngeal Attacks in Hereditary Angioedema. *J Clin Immunol*.2010; 30: 823-9
- 7- Temino V, Peebles S. The spectrum and treatment of angioedema. *Am J Med* 2008; 121: 282-286
- 8- Deroux A, Vilgrain I, Dumestre-Pérard C, Boccon-Gibod I, Bouillet L. Towards a specific marker for acute bradykinin-mediated angioedema attacks: a literature review. *Eur J Dermatol*. In press
- 9- Drouet C et al. A sensitive method to assay blood complement C1 inhibitor activity ». *Clinica Chimica Acta*, 1988;174;121-130
- 10- Bouillet L, Mannic T, Arboleas M, Subileau M, Massot C, Drouet C, et al. Hereditary angioedema: key role for kallikrein and bradykinin in vascular Endothelial-cadherin cleavage and edema formation. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:232-4

- 11- Cugno M, Zanichelli A, Bellatore AG, Griffini S, Cicardi M. Plasma biomarkers of acute attacks in patient with angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Allergy*. 2009;64:254-57.
- 12- Kasperska-Zajac A, Brzoza Z. Increased D-dimer concentration in plasma of patients with severe acute urticaria. *Br J Dermatol*. 2009;161(6):1409-10
- 13- Takahagi S, Mihara S, Iwamoto K, Morioka S, Okabe T, Kameyoshi Y, Hide M. Coagulation/fibrinolysis and inflammation markers are associated with disease activity in patients with chronic urticaria. *Allergy* 2010; 65: 649-56.
- 14- Suffitti C, Zanichelli A, Maggioni L, Bonanni E, Cugno M, Cicardi M. High molecular weight kininogen cleavage correlates with disease state in the bradykinin mediated angioedema due to hereditary C1-inhibitor deficiency. *Clin Exp Allergy*. 2014 (in press).
- 15- Kadjacs E, Jani PK, Csuka D, Varga LA, Prohaszka Z, Farkas H, Cervenak L. Endothelial cell activation during edematous attacks of hereditary angioedema types I and II. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:1686-91.
- 16- Bouillet L, Baudet AE, Deroux A, Sidibé A, Dumestre-Perard C, Mannic T, Treillard B, Arboleas MA, Chiqet CA, Gulino-Debrac DG, Vilgrain IY. Autoantibodies to vascular endothelial cadherin in humans: association with autoimmune diseases. *Lab Invest* 2013;93:1194-202.
- 17- L Bouillet, Mannic T, Arboleas M, Subileau M, Massot C, Drouet C, Huber P, Vilgrain I. Hereditary angioedema: key role for kallikrein and bradykinin in vascular endothelial cadherin cleavage and edema formation. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128:232-4..

TABLEAU

Table 1 :

Caractéristiques des patients à l'inclusion.

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
n	11	11	11
Homme (%)	2 (18%)	3 (27%)	7 (64%)
Age médian (années)	62	59	66
Durée d'hospitalisation (médiane en heures)	34	45	125
Décès (n)	0	0	1
Traitements spécifiques entrepris (nombre de patients traités)	<i>Acide tranexamique</i> : 2 <i>Beriner[®]</i> : 3 <i>Firazy[®]</i> : 1 Pas de traitement : 7	Antihistaminiques : 11 Corticoïdes : 6 Pas de traitement : 0	Antalgiques Palier 1 : 11 Palier 2 : 6 Palier 3 : 4
Localisation des œdèmes	ORL : 7 Extrémités : 5 Abdominale : 2	ORL : 10 Extrémités : 3 Tronc : 2	NA
EVA médiane H0	7	6	8

NA : non applicable

FIGURES

Figure 1 :

Résultats du dosage des D-dimères en ng/ml chez les 11 patients présentant un AE bradykiniques (groupe 1). La courbe en rouge représente la médiane pour chaque valeur de temps (inclusion, H0 et J7).

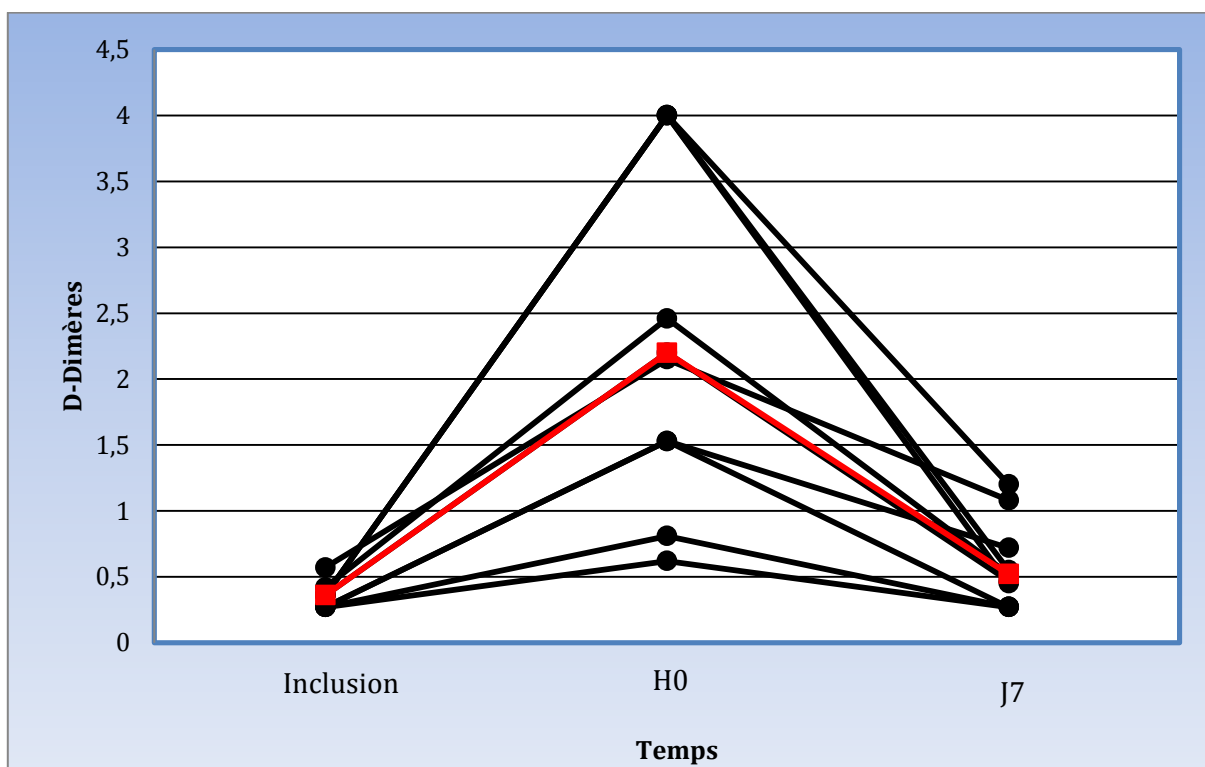
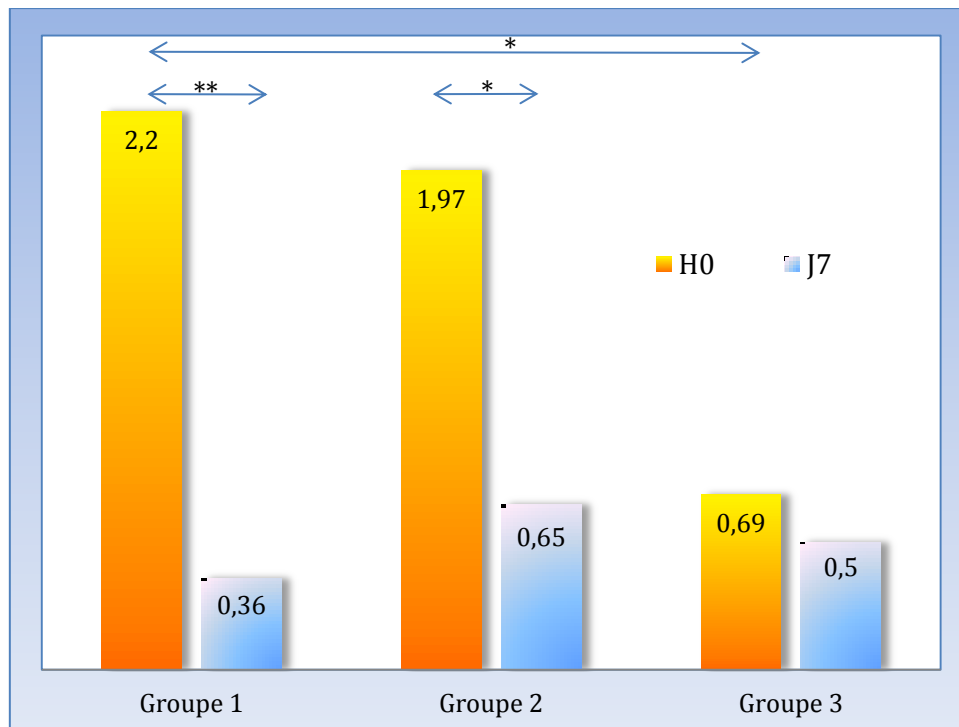


Figure 2 :

Taux des D-dimères (en ng/ml) à H0 et J7 dans les 3 groupes, patients présentant un AE bradykinique (groupe 1), histaminique (groupe 2), ou une douleur abdominale non bradykinique et non histaminique d'étiologie connue (groupe 3).



* : $p < 0.05$

** : $p < 10^{-3}$

Figure 3 :

Courbe ROC (Receiver Operating Curves) évaluant le taux des D-Dimères en fonction de l'appartenance au groupe 1 (angioedème bradykinique) ou 3 (témoins). Le seuil de 1.53 ng/ml apporte l'exactitude la plus importante (sensibilité : 0.900, spécificité : 0.636, exactitude : 0.762).

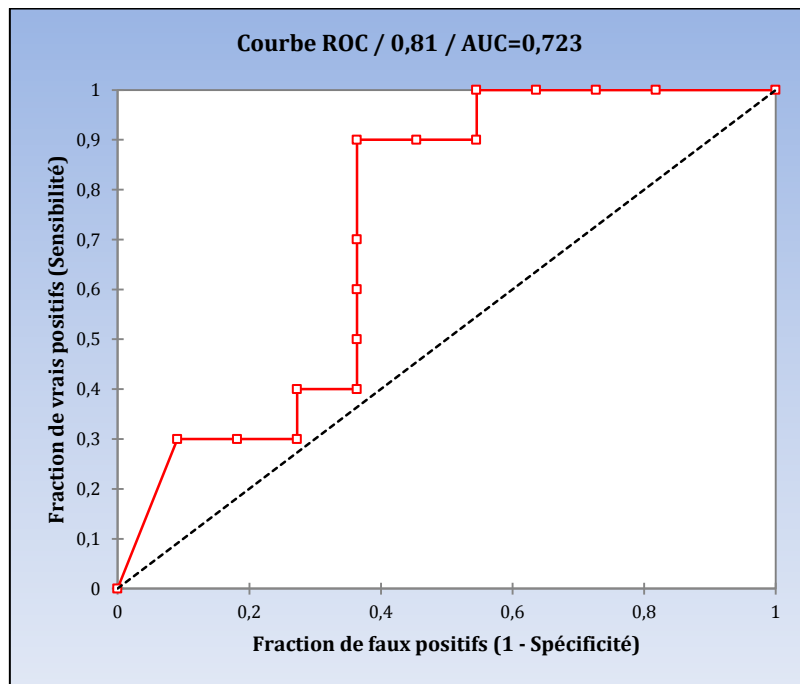
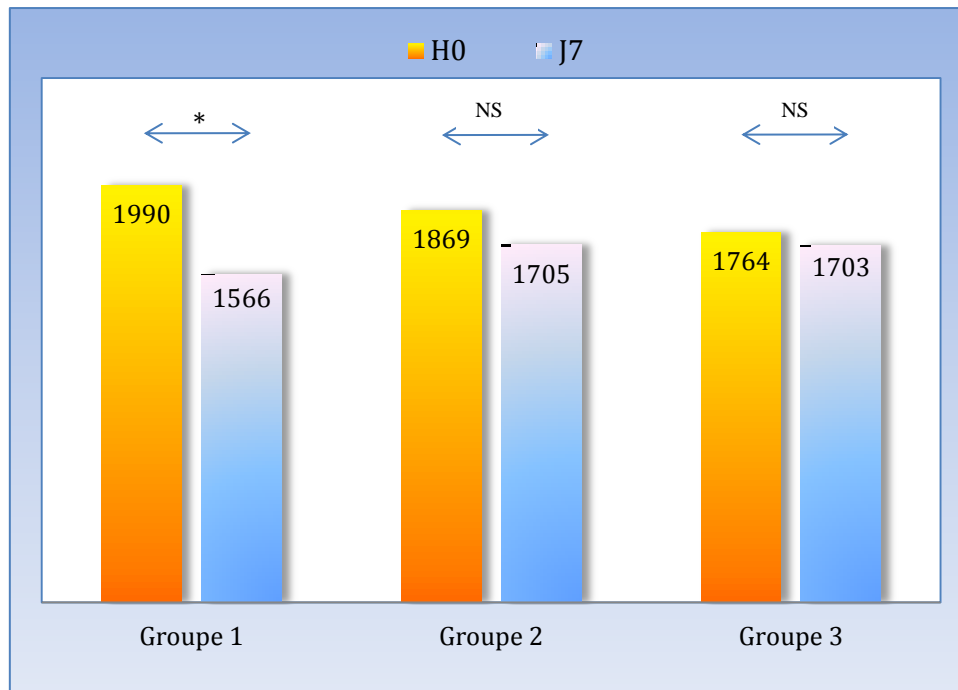


Figure 4 :

Taux de VE-cadhérine sérique en ng/ml à H0 et J7 dans les 3 groupes de patients.



NS : Non Significatif

** : $p < 0.05$*

*** : $p < 10^{-3}$*

ANNEXES

Annexe 1:

Cinétique des prélèvements au cours de l'étude.

Les différents biomarqueurs sont indiqués avec les tubes nécessaires et les horaires de prélèvements.

	Inclusion	H0	H3	H6	H12	H24	H48	J7
Renseignements cliniques	x	x	x	x	x	x	x	x
Traitement en cours	x	x	x	x	x	x	x	x
VE-cadhérine Tube jaune 7 ml	x	x	x	x	x	x	x	x
D-Dimères Tube bleu pâle 5 ml	x	x						x
C1 Inhibiteur + protéine C4 Tube jaune 5 ml Tube bleu pale 5 ml	x	x						x
Sérologie EBV Tube jaune 7 ml	x	x					x	x
PCR EBV sang Tube EDTA mauve	x	x					x	x
Prélèvement salive (charge virale EBV) (pot 40mL rouge)	x	x					x	x

Annexe 2 :

Fiche de consentement de participation.

CONSENTEMENT DE PARTICIPATION	
<u>Titre identifiant la recherche :</u> « Détermination de biomarqueurs spécifiques de la crise d'angioedème bradykinique »	
CENTRE DE REFERENCE DES ANGIOEDEMES CREAK Investigateur principal : Pr L. Bouillet CHU de Grenoble Clinique universitaire de médecine interne Tel. 04 76 76 94 49	Promoteur : CHU de Grenoble Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation CHU de Grenoble BP 217 Tel : 04 76 76 84 55

***J'ACCEPTE DE PARTICIPER A CETTE RECHERCHE DANS LES CONDITIONS PRECISEES
CI-DESSUS***

Si je le désire, je serai libre à tout moment d'arrêter ma participation sans encourir aucune responsabilité, aucun risque ou conséquence. J'en informerai alors le Dr. Bouillet Laurence.

Les données qui me concernent resteront strictement confidentielles. Je n'autorise leur consultation que par des personnes soumises au secret professionnel et collaborant à cette recherche.

Je pourrai à tout moment demander toute information complémentaire auprès des médecins investigateurs.

J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette étude puissent faire l'objet d'un traitement informatisé, après l'anonymat, par le promoteur ou pour son compte. J'ai bien noté que mon droit d'accès prévu par la loi informatique et liberté s'exerce à tout moment.

J'ai reçu une fiche d'information détaillée. J'ai reçu copie du présent document, j'ai été informé(e) qu'une copie sera également conservée par les organisateurs dans des conditions garantissant la confidentialité, et y consens. J'ai été informé que conformément à la réglementation sur les études cliniques, le CPP Sud Est V a rendu un AVIS FAVORABLE pour la réalisation de cette recherche, en date du 12/09/2012 et a obtenu une autorisation de l'ANSM.

Nom du volontaire :

Date :

Signature du volontaire :

Nom de l'investigateur :

Date :

Signature de l'investigateur :

Annexe 3 :

Fiche anonymisée d'inclusion des patients.

Initiales du patient :

(3 premières lettres du nom) : /___/___/___/

(2 premières du prénom) /___/___/

Date de naissance (JJ /MM /AAAA) :

Homme/femme :

Date et heure du début de la crise

JJ /MM /AAAA :

Heure/minutes :

Critères d'inclusion :

- âgée > 18 ans
- Crise d'AE bradykinique
- Crise d'AE histaminique
- Douleur abdominale d'origine connue
- affiliation à la sécurité sociale ou bénéficiaire d'un tel régime

Critères de non inclusion :

- Crise d'AE d'étiologie inconnue
- Personne privée de liberté par décision judiciaire ou administrative, personne -faisant l'objet d'une mesure de protection légale.
- Mineur.

ATCDS personnels médicaux et chirurgicaux :

Traitements en cours :

Type d'AE ou de douleur abdominale :

Type de crise : Faciale, ORL, abdominale

Intensité : 0-----10

Traitements réalisés pour cette crise (heure de la prise par rapport au début de crise et à la prise de sang) :

Délai entre le début de la crise et le premier prélèvement :

CONCLUSION

THESE SOUTENUE PAR : Alban DEROUX

TITRE : Etude BIOBRAD : Recherche de marqueurs biologiques de la crise d'angioedeme.

Le diagnostic étiologique des angioedèmes (AE) est difficile notamment en situation d'urgence. Deux grands cadres nosologiques doivent être évoqués : les AE histaminiques et les AE bradykiniques. La distinction est basée sur la clinique exclusivement, en l'absence de marqueurs biologiques actuels.

Cette étude prospective monocentrique (protocole BIOBRAD) a étudié des marqueurs biologiques chez trente-trois patients atteints d'AE bradykiniques, histaminiques et un groupe témoin (onze patients dans chaque groupe).

L'exploration des anomalies de la fibrinolyse et notamment le dosage des D-Dimères constituent un bon marqueur de la crise d'AE bradykiniques. Un taux seuil de D-Dimères (0.062 ng/mL) a pu être déterminé pour permettre de différencier une crise abdominale d'AE bradykinique d'une autre étiologie de douleurs abdominales. L'exploration de la VE-cadhérine, protéine du stress vasculaire, ne permet pas de différencier un AE histaminique d'un AE bradykinique, mais présente un pic caractéristique de la crise. L'exploration des anomalies du complément et notamment le dosage du C4 et de l'activité fonctionnelle du C1 inhibiteur montre un taux stable pendant et après la crise, permettant de réaliser ce dosage dans la pratique courante à distance de l'épisode aigu.

La poursuite de ces explorations biologiques et la confirmation par d'autres équipes devraient permettre d'utiliser ces marqueurs en pratique courante pour le diagnostic différentiel entre ces deux formes physio-pathologiquement différentes et dont l'identification conditionne la prise en charge thérapeutique des patients.

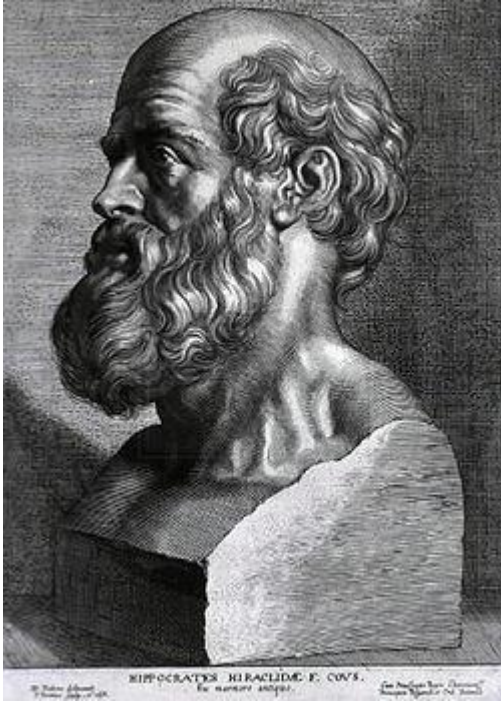
VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Grenoble, le 10/02/15

LE DOYEN
J.P. ROMANET



LE PRESIDENT DE LA THESE
PROFESSEUR L BOUILLET

A large, stylized handwritten signature in blue ink, corresponding to the name 'L BOUILLET' mentioned in the text above.



SERMENT D'HIPPOCRATE

*En présence des Maîtres de cette
Faculté, de mes chers condisciples et
devant l'effigie d'HIPPOCRATE,*

*Je promets et je jure d'être fidèle aux
lois de l'honneur et de la probité dans
l'exercice de la Médecine.*

*Je donnerai mes soins gratuitement à
l'indigent et n'exigerai jamais un salaire
au-dessus de mon travail. Je ne
participerai à aucun partage clandestin
d'honoraires.*

*Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ;
ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à
corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*

*Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race,
de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon
patient.*

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

*Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes
connaissances médicales contre les lois de l'humanité.*

*Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

RESUME

Le diagnostic étiologique des angioedèmes (AE) est difficile notamment en situation d'urgence. Deux cadres doivent être évoqués : les AE histaminiques, qui représentent 95% des cas, et les AE bradykiniques plus rares mais au pronostic plus sévère. La distinction est basée sur la clinique mais parfois il est difficile de les différencier ; il n'existe aucun marqueur biologique de la crise. La recherche de marqueurs de soins courant pourrait permettre une amélioration de la prise en charge de ces AE. Des travaux précédents ont identifié des cibles : D-dimères, C4, VE cadhérine. Nous avons mené une étude prospective évaluant les dosages de ces marqueurs au cours d'un épisode d'AE. Trois groupes de patients ont été testés : AE bradykiniques (crises périphériques et abdominales), AE histaminiques, et douleurs abdominales non bradykiniques, au moment (J0) puis à distance de la crise (J7). 33 patients ont été inclus, 11 dans chaque groupe. Le taux des D-dimères était élevé lors de la crise d'AE bradykinique (médiane de 2.2 à J0 versus 0.52 ng/mL à J7, $p < 10^{-3}$), et significativement supérieur au groupe témoin (2.2 versus 0.69 ng/mL respectivement, $p = 0.01$). La valeur seuil de 0.62 ng/ml permet d'obtenir une valeur prédictive négative de 100% pour l'AE bradykinique. Les protéines du complément étaient stables au cours de la crise et à distance. Le dosage de la VE-cadhérine retrouve une augmentation du taux circulant en crise (1990 à J0 versus 1566 ng/ml à J7, $p = 0.01$) ; les taux sont équivalents entre les AE bradykiniques et histaminiques. L'exploration des D-Dimères constitue un marqueur prometteur de la crise d'AE bradykinique dans les formes abdominales de diagnostic difficile.

Mots-clefs

Angioedeme; Bradykinine; Histamine; D-dimères; Biomarqueurs; VE-cadhérine; Complément.