

Nova proposta para diagnóstico do angioedema hereditário com papel filtro

New diagnostic approach to hereditary angioedema using filter paper

Maine Luellah Demaret Bardou¹, Rosemeire Navickas Constantino-Silva¹,
Maria Luiza Oliva-Alonso², Ana Júlia Ribeiro Teixeira³, Pedro Giavina-Bianchi³,
Eli Mansour⁴, Solange Oliveira Rodrigues Valle², Anete Sevciovic Grumach¹

RESUMO

Introdução: O angioedema hereditário (AEH) é raro, caracterizado por edema em subcutâneo, trato gastrointestinal e vias aéreas superiores. A deficiência do inibidor de C1 decorre da mutação em *SERPING1* (AEH-C1-INH) que resulta em acúmulo de bradicinina e maior permeabilidade endotelial. O AEH também pode apresentar-se com C1-INH normal. A avaliação funcional do C1-INH permite detectar as duas formas de AEH-C1-INH. O objetivo do estudo foi avaliar a triagem de pacientes usando amostras de gota de sangue seca (DBS - Dried blood spot) em papel filtro comparada à técnica atual por ensaio cromogênico. **Métodos:** Estudo multicêntrico, prospectivo, em pacientes com AEH subdivididos em: G1 - AEH-C1-INH (n = 53; tipos 1 = 48 e 2 = 5); G2-AEH com mutação de FXII (AEH-FXII) (n = 30) e G3-AEH sem mutação conhecida (AEH-UNK) (n = 10) e G4 - Controle (n = 10). Realizadas dosagens de C4 e C1-INH (imunodifusão radial); C1-INH funcional (ensaio cromogênico e DBS). A avaliação estatística utilizou o programa GraphPad Prism. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética (CAAE:41812720010010082). **Resultados:** Valores de C4 e C1-INHq resultaram em mediana de 9,14 e 8,9 mg/dL para G1; G2 de 33,2 e 34,2 mg/dL; G3 de 35,3 e 29,4 mg/dL e G4 32,2 mg/dL e 35,3 mg/dL respectivamente. Valores de fC1-INH pelo ensaio cromogênico e por DBS resultaram em mediana de 35% e 0% em G1; G2 de 120% e 81%; G3 de 120% e 91%; e em G4 de 32,2% e 35,3%, respectivamente. G1 com 42/53 amostras

ABSTRACT

Introduction: Hereditary angioedema (HAE) is a rare disease characterized by edema in the subcutaneous tissue, gastrointestinal tract, and upper airways. C1 inhibitor deficiency is caused by a *SERPING1* mutation (HAE-C1-INH) that results in bradykinin accumulation and increased endothelial permeability. HAE may also present with normal C1-INH. Functional assessment of C1-INH allows the detection of both forms of HAE-C1-INH. This study aimed to evaluate patient screening using dried blood spots (DBS) on filter paper compared with the current technique using chromogenic assays. **Methods:** A multicenter prospective study of patients with HAE divided into: G1 – HAE-C1-INH (n=53; types 1=48 and 2=5); G2 – HAE with FXII mutation (HAE-FXII) (n=30); G3 – HAE with unknown mutation (HAE-UNK) (n=10); and G4 – Control (n=10). C4 and C1-INH levels were measured (radial immunodiffusion); functional C1-INH levels were assessed using chromogenic assay and DBS. Statistical analysis used GraphPad Prism. The protocol was approved by the Ethics Committee (CAAE:41812720010010082). **Results:** The median C4 and C1-INHq levels were, respectively, 9.14 and 8.9 mg/dL for G1; 33.2 and 34.2 mg/dL for G2; 35.3 and 29.4 mg/dL for G3; and 32.2 and 35.3 mg/dL for G4. The median fC1-INH levels obtained by chromogenic assay and by DBS were, respectively, 35% and 0% for G1; 120% and 81% for G2; 120% and 91% for G3; and 32.2% and 35.3% for G4. G1 had 42/53 samples (79.2%) and 53/53 (100%) with

1. Centro Universitário FMABC, Imunologia Clínica - Santo André, SP, Brasil.
2. Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Serviço de Imunologia, Departamento de Clínica Médica - Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
3. Universidade de São Paulo, Divisão de Imunologia Clínica e Alergia - São Paulo, SP, Brasil.
4. Universidade Estadual de Campinas, Imunologia Clínica e Alergia, Departamento de Clínica Médica - Campinas, SP, Brasil.

Trabalho vencedor do “Prêmio Antônio de Oliveira Lima” concedido no L Congresso Brasileiro de Alergia e Imunologia da ASBAI em 2023, Maceió, Alagoas, Brasil.

Submetido em: 30/05/2024, aceito em: 04/08/2024.

Arq Asma Alerg Imunol. 2024;8(3):235-43.

(79,2%) e 53/53 (100%) com fC1-INH reduzida respectivamente. Em G2 30/30 (100%) e 28/30 (93,7%) com fC1-INH acima de 50% respectivamente. Para G3 e para G4 a fC1-INH estava normal em ambas as técnicas. **Conclusão:** O fC1-INH pela técnica em DBS permite identificar os pacientes com AEH-C1-INH com maior precisão que o ensaio cromogênico. Trata-se de coleta simples, de fácil transporte, facilitando o diagnóstico de AEH-C1-INH.

Descritores: Angioedema hereditário, inibidor de C1, fator XII, C1-INH, Complemento C4, biomarcador, diagnóstico.

reduced fC1-INH, respectively. In G2, 30/30 (100%) and 28/30 (93.7%) had fC1-INH above 50%, respectively. In G3 and G4, fC1-INH was normal with both techniques. **Conclusion:** The fC1-INH measured in DBS samples allows a more precise identification of patients with HAE-C1-INH than using the chromogenic assay. DBS samples are simple to collect and easy to transport, facilitating the diagnosis of HAE-C1-INH.

Keywords: Hereditary angioedema, C1 inhibitor, factor XII, C1-INH, complement C4, biomarker, diagnosis.

Introdução

Angioedema hereditário (AEH) é um termo usado para descrever episódios isolados e/ou recorrentes de angioedema em tecidos subcutâneo e submucoso, frequentemente envolvendo face, extremidades, trato gastrointestinal, genitália, vias aéreas superiores e que não apresenta associação com lesões de pele do tipo urticariformes. Frequentemente acomete muitas pessoas de uma mesma família por tratar-se de uma herança autossômica dominante com 75% com história familiar e 25% com mutação *de novo*¹. Existem diferentes tipos de AEH, o subtipo mais frequente é o AEH com deficiência do inibidor C1 (C1-INH) (AEH-C1-INH), causado por mais de 800 mutações que afetam o gene *SERPING1*^{2,3}.

A maioria das mutações em *SERPING1* leva a uma deficiência quantitativa na síntese e secreção de C1-INH (AEH-C1-INH tipo 1), e o diagnóstico é feito por baixos níveis plasmáticos quantitativos de C1-INH (C1-INHq). Em aproximadamente 15% dos casos de AEH-C1-INH, a mutação resulta em uma proteína anômala, detectada pela avaliação funcional de C1-INH (fC1-INH), caracterizando o AEH-C1-INH tipo 2⁴. Nestes pacientes, os níveis quantitativos de C1-INH são normais ou mesmo elevados, enquanto os níveis de C4 e a atividade funcional de C1-INH são baixos^{1,4,5}.

O C1-INH é inibidor de protease que inibe as vias do complemento, fibrinolítica, coagulação e cininacalcreína; sua deficiência resulta em uma liberação descontrolada de bradicinina (BK). A BK liga-se ao receptor B2 nas células endoteliais levando à liberação do óxido nítrico e vasodilatação^{6,7}. No entanto, existem pacientes com valores normais do C1-INH, tanto em valor como em função (AEH-nC1-INH), tendo sido associados até o momento a oito diferentes mutações. As mutações gênicas identificadas afe-

tam o gene do fator de coagulação XII (AEH-FXII)⁸, plasminogênio (AEH-PLG)⁹, Angiopoetina-1 (AEH-ANGPT1)¹⁰, Cininogênio 1 (AEH-KNG1)¹¹, mioferlina (AEH-MYOF)¹², heparansulfato-glucosamina 3-O-sulfotransferase 6 (HS3ST6)¹³, carboxipeptidase N subunidade 1 (CPN1)¹⁴ e disabled homolog 2-interacting protein (DAB2IP)^{15,16}.

Na atualidade, apesar de todas as ferramentas para o diagnóstico, a dificuldade reside no acesso aos exames, na coleta e na manipulação adequada das amostras, tendo em vista que as proteínas do sistema complemento são termolábeis, isto é, devem ser coletadas rapidamente e alíquotadas a -80 °C para posterior avaliação laboratorial^{1,5,17,18}. Além disso, atualmente, no Brasil há um número limitado de laboratórios clínicos que realizam a dosagem quantitativa e funcional do C1-INH^{19,20}. Portanto, o envio das amostras de locais distantes gera um custo muito elevado, pois o transporte deve ser feito em gelo seco e em curto prazo. Assim, a disponibilização de métodos que permitam o envio de amostras sem prejuízo da avaliação funcional do C1-INH seria uma ferramenta essencial para o aprimoramento e para a equidade de acesso ao diagnóstico de AEH-C1-INH. Considerando-se o que foi apresentado, o presente estudo teve como objetivo avaliar a fC1-INH por meio de amostras em papel de filtro (DBS) para o diagnóstico de AEH-C1-INH comparado ao ensaio cromogênico.

Métodos

Trata-se de estudo multicêntrico e prospectivo, incluindo pacientes maiores de 1 ano com diagnóstico confirmado de angioedema hereditário. Para tanto, considerou-se a apresentação clínica, a história

familiar positiva e os exames bioquímicos confirmatórios para pacientes com deficiência de C1-INH e/ou exames genéticos para o AEH com inibidor de C1 normal. Após a triagem inicial, 93 pacientes foram divididos em quatro grupos: (G1) AEH com deficiência de inibidor de C1 (AEH-C1-INH) tanto tipo 1 (n = 48) e quanto tipo 2 (n = 5); (G2) AEH com inibidor de C1 normal e identificação de mutação em FXII (AEH-FXII) (n = 30). (G3) AEH com inibidor de C1 normal e sem mutação conhecida (AEH-UNK) (n = 10), pois tiveram seu exoma sequenciado e não foram encontradas as mutações atuais descritas na literatura; e finalmente (G4), controles n = 10.

Foram excluídos os pacientes com incapacidade de fornecer consentimento informado ou com diagnóstico de angioedema adquirido e/ou com doenças que possam resultar em distúrbios do sistema complemento como nefropatias e hepatopatias.

As amostras foram separadas por centrifugação do sangue recém-coletado a 3000 rpm por 10 minutos a 4 °C. Estas foram imediatamente aliquotadas e armazenadas a -80 °C para realização da dosagem de C1-INHq, de C4 e da fC1-INH pelo método cromogênico. Foram realizadas dosagens de C4 e C1-INHq por imunodifusão radial; avaliação fC1-INH por ensaio cromogênico e por gota de sangue seca (DBS).

A avaliação da atividade funcional de C1-INH pelo método cromogênico foi realizado com o kit comercial Technochrome C1-INH®. Por esta técnica, há incorporação do substrato C1s sintético para medir a atividade inibitória da proteína C1-INH na amostra de plasma. A fC1-INH pelo método cromogênico é medida pela reação entre C1s e seu substrato artificial, Z-Lys-SBzl-HCl, para produzir cbz-Lys e tiometil benzeno. O tiometil benzeno é medido por um ensaio cromogênico, após derivatização com 5,5'-ditiobis(ácido 2-nitrobenzoico). Uma menor intensidade de cor indica maior atividade do inibidor de C1, pois significa que há menos produção de tiometil benzeno, que é um produto da reação envolvendo o C1s e o substrato, portanto, a intensificação da cor no teste cromogênico sugere uma redução na função do inibidor de C1.

O sangue também foi coletado em tubos Vacutainer EDTA. Após a coleta, os tubos foram invertidos para ressuspender as células sanguíneas e alíquotas de 60 µL colocadas no ponto do papel de filtro, e este foi seco por pelo menos 3 horas em temperatura ambiente e armazenadas a -20 °C por até 180 dias e enviadas para PerkinElmer Genetics para realização da fC1-INH por meio do DBS.

A coleta em papel filtro (DBS: *dried blood spot*) foi realizada em material padronizado fornecido por Perkin Elmer Genetics, onde se utilizou a Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (LC-MS/MS) que é capaz de medir fC1-INH. Neste ensaio primeiro é realizada a extração de C1-INH dos cartões DBS; depois liga-se o C1-INH do cartão com excesso de C1s. Após é realizada uma reação de C1s que não se ligou nas etapas anteriores com seu substrato. Isto gera a formação de cbz-Lys e tiometil benzeno. O produto cbz-Lys é analisado diretamente por LC MS/MS. Assim, este método mede a atividade inibitória de C1 esterase (C1s) pelo C1-INH presente nas amostras²¹.

Com relação aos valores de normalidade foram considerados para C4 16,7 a 38,5 mg/dL para mulheres e de 16,2 a 44,5 mg/dL para homens; para valores de C1-INHq considerado normais entre 19,5 e 34,5 mg/dL. Para fC1-INH, os valores de normalidade segundo o kit Technochrome era acima de 69%, e para o DBS, acima de 62,8%, segundo PerkinElmer Genetics. Porém, para o diagnóstico consideram-se valores acima de 50% de acordo com a literatura^{3,17,22}.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário FMABC (CAAE:41812720010010082). Os pacientes e voluntários assinaram aos termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e/ou Termo de Assentimento Livre Esclarecido (TALE) antes da inclusão no estudo.

Resultados

Os pacientes avaliados eram predominantemente do sexo feminino para todos os grupos. No G1, a idade média foi de 40 ($\pm 17,7$) anos para AEH-C1-INH tipo 1, e de 27 ($\pm 13,4$) anos com AEH-C1-INH tipo 2. Para o G2, a idade média foi de 38 ($\pm 18,6$) anos, e em G3 foi 40 ($\pm 14,4$) anos.

A maioria dos pacientes em todos os grupos era sintomática ao diagnóstico, com idade média de aparecimento dos sintomas variando de 10 a 26 anos (Tabela 1).

As medianas dos níveis séricos de C4 e C1-INHq resultaram para G1 em 9,14 e 8,9 mg/dL; para G2 em 33,2 e 34,2 mg/DL; e para G3 de 35,3 e 29,4 mg/dL, respectivamente (Tabela 2).

Dois pacientes com AEH-C1-INH tipo 1 apresentaram valores de C4 acima do normal (1 criança de 4 anos e 1 adulto de 27 anos). Para AEH-C1-INH

Tabela 1

Distribuição e características dos pacientes com AEH divididos por grupo

	G1		G2	G3	G4
	AEH-C1-INH tipo 1	AEH-C1-INH tipo 2	AEH-FXII	AEH-UNK	Controle
Distribuição	48	5	30	10	10
Sexo feminino n (%)	35 (72,9%)	4 (80 %)	20 (66,6%)	10 (100%)	4 (40%)
Média da idade (anos) (DP)	40 (\pm 17,6)	28 (\pm 13,4)	38 (\pm 18,6)	40 (\pm 14,1)	23 (\pm 25,8)
Idade média no início sintomas (anos) (DP)	15 (\pm 11,2)	10 (\pm 4,5)	20 (\pm 10,2)	26 (\pm 10,2)	–
Sintomáticos	44 (91,6%)	5 (100%)	23 (76,6%)	10 (100%)	–
Assintomáticos	4 (8,4%)	0	7 (23,4%)	0	10 (100%)
Total		53	30	10	10

AEH = angioedema hereditário, FXII = mutação fator XII da coagulação, UNK = mutação desconhecida, C1-INH = inibidor de C1 esterase.

Tabela 2

Distribuição dos valores bioquímicos encontrados por grupo de pacientes com AEH

	G1		G2	G3	G4
	AEH-C1-INH tipo 1	AEH-C1-INH tipo 2	AEH-FXII	AEH-UNK	Controle
Mediana C4 (mg/dL)		9,14	33,2	35,3	32,20
Mediana C1-INHq (mg/dL)	8,9	34,2	32,25	35,30	
fC1-INH cromogênico n (%)					
\leq 50%	38 (79,1%)	4 (71,5%)	–	–	
\geq 50 %	10 (20,9%)	1 (28,5%)	30 (100%)	–	10 (100%)
fC1-INH cromogênico mediana (%)		35	120	120	119,80
fC1-INH DBS n (%)					
\leq 50%	48 (100%)	5 (100%)	2 ^a (6,6%)	–	–
\geq 50 %	–	–	28 (93,4%)	10 (100%)	10 (100%)
fC1-INH DBS mediana (%)		0	81,8	109,63	101,20
Total pacientes	48	5	30	10	10

^a Gestantes.

AEH = angioedema hereditário, FXII = mutação fator XII da coagulação, UNK = mutação desconhecida, C1-INHq = quantidade de inibidor de C1 esterase, fC1-INH = função do inibidor de C1 esterase.

tipo 2 todos apresentaram valores reduzidos de C4, e em G2, G3 e G4 os valores estavam normais (Figura 1).

Os valores de C1-INHq encontraram-se reduzidos em 100% dos pacientes AEH-C1-INH tipo 1 e elevado nos 5 pacientes com AEH-C1-INH tipo 2, assim como em G2, G3 e G4 (Figura 2).

Para fC1-INH pelo ensaio cromogênico, as medianas foram de 35% para G1; de 120% para G2 e G3. Para o fC1-INH por DBS, a mediana foi de 0% para G1; de 81% para G2 e de 91% para G3 (Tabela 2).

Na avaliação individualizada da fC1-INH pelo ensaio cromogênico, G1 apresentou valores abaixo de 50% em 42 dos 53 pacientes (79,2%), sendo 10 pacientes com AEH-C1-INH tipo 1 e 4 pacientes AEH-C1-INH tipo 2 com valores acima de 50%. Para G2, G3 e G4, o fC1-INH encontrava-se acima de 50% (Tabela 2 e Figura 3).

Com relação aos valores da fC1-INH pelo método com DBS, no G1 100% dos pacientes apresentaram valores abaixo de 50%. No G2 duas gestantes apresentaram resultados reduzidos da função contra 28 pacientes com resultados normais. Para G3 e G4 todos os valores estavam acima de 50 % (Tabela 2 e Figura 4).

Discussão

O angioedema hereditário é uma doença potencialmente fatal quando não diagnosticada e tratada adequadamente, com taxa de mortalidade de 25 e 40%, como decorrência do edema de glote e asfixia (23, 24) Um estudo de mortalidade por AEH verificou uma taxa de mortalidade em torno de 17,5%, com apenas 13% dos pacientes com diagnóstico de AEH antes da morte²⁵. Isto é reflexo de uma miríade de fatores como a capacitação médica em reconhecer a doença, o número reduzido de especialistas, a dificuldade de acesso ao tratamento e ao acesso aos exames diagnósticos^{20,26}. Por exemplo, no Brasil, no Sistema Único de Saúde apenas dois laboratórios são capacitados a realizar a totalidade dos exames de diagnóstico²⁷ que compreendem a dosagem de C4, C1-INHq e a fC1-INH. Além disso, é de suma importância que na avaliação desses componentes do complemento, as amostras de sangue sejam processadas o mais rápido possível no soro e/ou no plasma EDTA. Se a análise não for realizada imediatamente, as amostras precisam ser congeladas a -80 °C até serem analisadas ou enviadas em gelo seco para estes laboratórios especializados. Outro ponto é que repetir o congelamento e o descongelamento pode levar a ativação *in vitro* do complemento¹⁸.

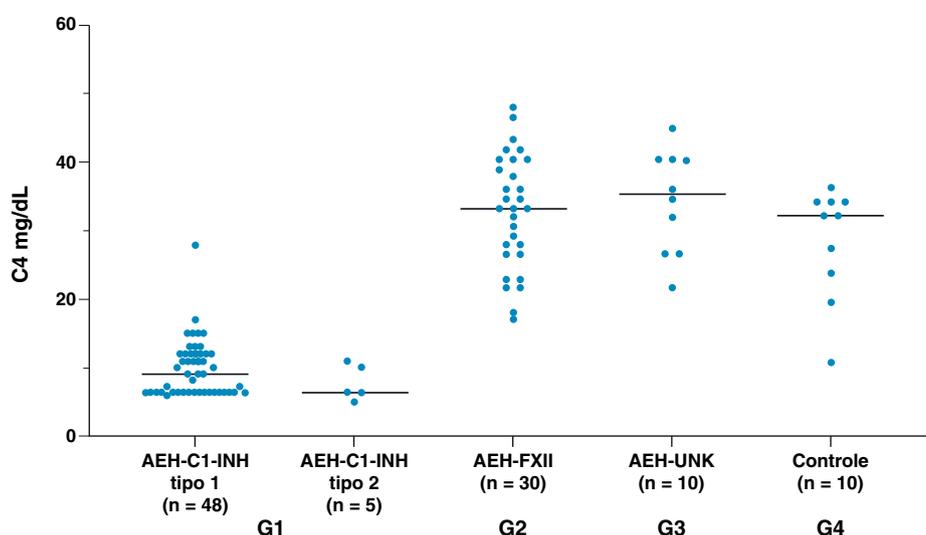


Figura 1

Valores de C4 por grupos de pacientes com AEH

AEH-1 = angioedema hereditário tipo 1, AEH-2 = angioedema hereditário tipo 2, AEH-FXII = angioedema hereditário com mutação fator XII da coagulação, UNK = angioedema hereditário mutação desconhecida.

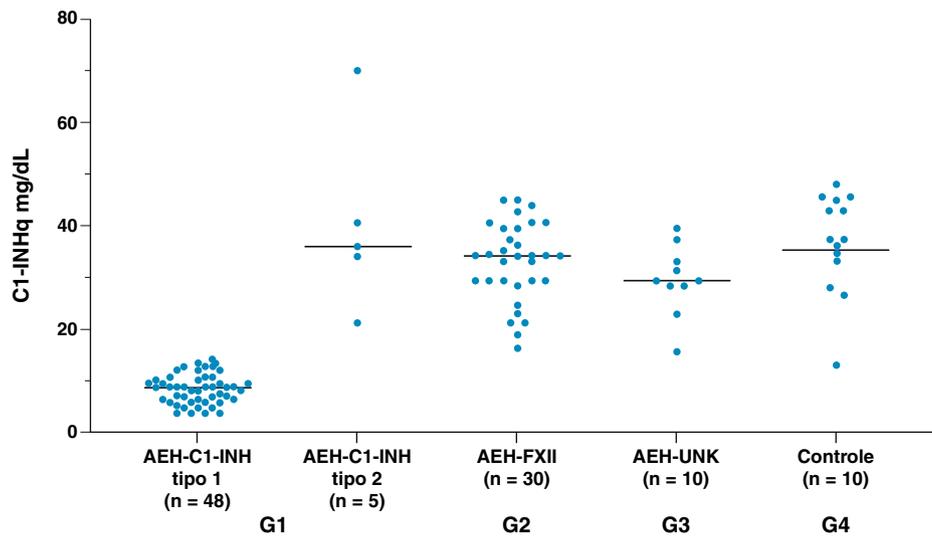


Figura 2

Valores da C1-INHq por grupos de pacientes com AEH

AEH-C1-INH tipo 1 = angioedema hereditário tipo 1, AEH-C1-INH tipo 2 = angioedema hereditário tipo 2, AEH-FXII = angioedema hereditário com mutação fator XII da coagulação, UNK = angioedema hereditário mutação desconhecida, fC1-INH = quantidade de inibidor de C1 esterase.

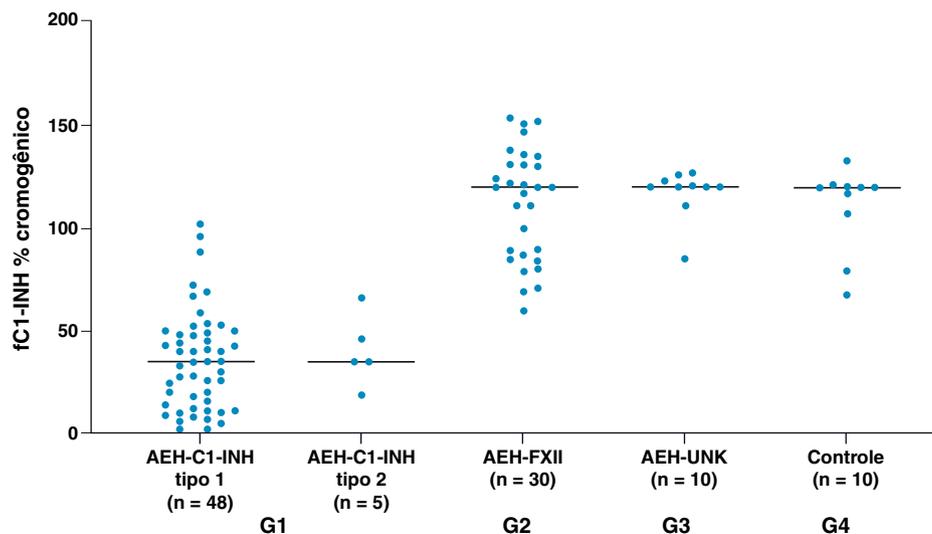


Figura 3

Valores da função de C1-INH pelo ensaio cromogênio por paciente com AEH

AEH-C1-INH tipo 1 = angioedema hereditário tipo 1, AEH-C1-INH tipo 2 = angioedema hereditário tipo 2, AEH-FXII = angioedema hereditário com mutação fator XII da coagulação, UNK = angioedema hereditário mutação desconhecida, fC1-INH = função do inibidor de C1 esterase.

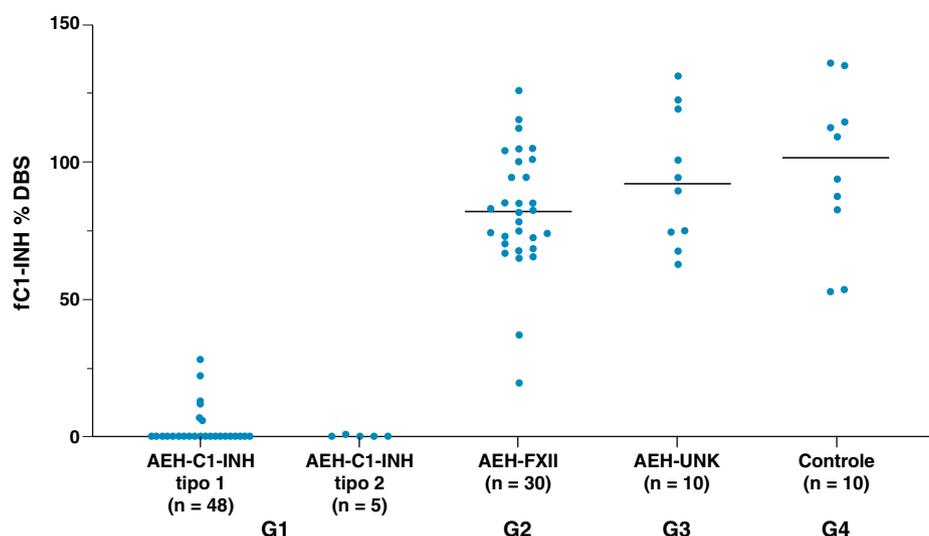


Figura 4

Valores da função de C1-INH pelo ensaio DBS por paciente com AEH

AEH-C1-INH tipo 1 = angioedema hereditário tipo I, AEH-C1-INH tipo 2 = angioedema hereditário tipo 2, AEH-FXII = angioedema hereditário com mutação fator XII da coagulação, UNK = angioedema hereditário mutação desconhecida, fC1-INH = função do inibidor de C1 esterase.

Atualmente, para o diagnóstico de pacientes com suspeita de AEH pode-se iniciar a investigação solicitando C4 como rastreio, disponível em vários laboratórios. Entretanto, esta estratégia revelou-se de baixa especificidade, pois o C4 ainda pode ser normal em 27% dos indivíduos que apresentam AEH-C1-INH estabelecido^{28,29}. Outro dado relevante é a solicitação isolada do C1-INHq; estará reduzido apenas nos pacientes com AEH-C1-INH tipo 1. Desta maneira, mensurar a fC1-INH torna-se importante para fins de diagnóstico devido ao seu potencial para diagnosticar ambos os tipos de AEH-C1-INH tipo 1 e 2.

Diante desse difícil cenário, ficou evidente neste estudo que condições como recebimento de amostras de locais distantes, a forma da coleta e as condições climáticas, podem influenciar no diagnóstico de pacientes com AEH. Onze pacientes do G1 (AEH-C1-INH) em nosso estudo apresentaram valores

normais de fC1-INH pelo ensaio cromogênico. Com a utilização do DBS (papel filtro), todos os 53 pacientes apresentaram C1-INHf < 50% como esperado para o G1 (AEH-C1-INH), mesmo com o envio das amostras para outro país e com tempo longo após a coleta. Estas foram mantidas a -20 °C (*freezer* comum) e processadas em até 180 dias (6 meses), como visto sem prejuízo para os resultados.

Do ponto de vista metodológico, o ensaio cromogênico é baseado em duas etapas de reações, enquanto o ensaio LC-MS/MS mede o produto direto da reação C1s, portanto, a variação do ensaio pode ser menor²¹.

Dois pacientes com AEH-C1-INH tipo 1 apresentaram valores de C4 acima do normal, isto é, 4% dos pacientes com AEH-C1-INH tipo 1 poderiam permanecer sem diagnóstico se apenas esta triagem fosse utilizada. Vale ressaltar que a padronização da amos-

tra em DBS demonstrou que o fC1-INH no sangue total permaneceu estável por 7 dias a 4 °C, por até 3 dias quando armazenado a 45 °C, e 134 dias quando armazenado em temperatura ambiente²¹, podendo representar uma alternativa de envio das amostras, pois exigiria um transporte com custo menor.

Vale ressaltar ainda, que neste estudo a técnica de DBS foi aplicada a pacientes com inibidor de C1 normal, pois o estudo para validação da técnica utilizou apenas pacientes com déficit em C1-INH. Observado de maneira interessante que no grupo com AEH-nC1-INH e mutação de FXII, mulheres grávidas apresentaram redução do fC1-INH por DBS (< 50%).

Conclusão

O estudo demonstrou que a fC1-INH, avaliado pela técnica do DBS, é confiável para diagnosticar pacientes com angioedema hereditário com inibidor de C1 reduzido quando comparada ao teste cromogênico. Este ensaio oferece reprodutibilidade superior para diagnóstico de pacientes com AEH-C1-INH. Trata-se de uma coleta simples, de fácil transporte e termoes-táveis, oferecendo reprodutibilidade e maior precisão para o diagnóstico de AEH-C1-INH.

Agradecimentos

À Takeda pelo apoio financeiro e de infraestrutura, aos centros participantes e à equipe da FMABC pelo trabalho realizado.

Referências

- 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.
- Busse PJ, Christiansen SC. Hereditary Angioedema. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1136-48.
- Maurer M, Magerl M, Betschel S, Aberer W, Ansotegui IJ, Aygören-Pürsün E, et al. The international WAO/EAACI guideline for the management of hereditary angioedema-The 2021 revision and update. *Allergy*. 2022 Jul;77(7):1961-90.
- Longhurst HJ, Bork K. Hereditary angioedema: an update on causes, manifestations and treatment. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2019;80(7):391-8.
- Wagenaar-Bos IG, Drouet C, Aygören-Pürsün E, Bork K, Bucher C, Bygum A, et al. Functional C1-inhibitor diagnostics in hereditary angioedema: assay evaluation and recommendations. *J Immunol Methods*. 2008;338(1-2):14-20.
- López Lera A. Pathophysiology and underlying mechanisms in hereditary angioedema. *Balkan Med J*. 2021;38(2):82-8.
- Sainz IM, Pixley RA, Colman RW. Fifty years of research on the plasma kallikrein-kinin system: from protein structure and function to cell biology and in-vivo pathophysiology. *Thromb Haemost*. 2007;98(1):77-83.
- Dewald G, Bork K. Missense mutations in the coagulation factor XII (Hageman factor) gene in hereditary angioedema with normal C1 inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;343(4):1286-9.
- Bork K, Wulff K, Steinmüller-Magin L, Braenne I, Staubach-Renz P, Witzke G, et al. Hereditary angioedema with a mutation in the plasminogen gene. *Allergy*. 2018;73(2):442-50.
- Bafunno V, Firinu D, D'Apolito M, Cordisco G, Loffredo S, Leccese A, et al. Mutation of the angiotensin-converting enzyme 1 gene (ANGPT1) associates with a new type of hereditary angioedema. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(3):1009-17.
- Bork K, Wulff K, Rossmann H, Steinmüller-Magin L, Braenne I, Witzke G, et al. Hereditary angioedema cosegregating with a novel kininogen 1 gene mutation changing the N-terminal cleavage site of bradykinin. *Allergy*. 2019;74(12):2479-81.
- Ariano A, D'Apolito M, Bova M, Bellanti F, Loffredo S, D'Andrea G, et al. A myoferlin gain-of-function variant associates with a new type of hereditary angioedema. *Allergy*. 2020;75(11):2989-92.
- Bork K, Wulff K, Möhl BS, Steinmüller-Magin L, Witzke G, Hardt J, et al. Novel hereditary angioedema linked with a heparan sulfate 3-O-sulfotransferase 6 gene mutation. *J Allergy Clin Immunol*. 2021;148(4):1041-8.
- Vincent D, Parsopoulou F, Martin L, Gaboriaud C, Demongeot J, Loules G, et al. Hereditary angioedema with normal C1 inhibitor associated with carboxypeptidase N deficiency. *J Allergy Clin Immunol Glob*. 2024;3(2):100223.
- D'Apolito M, Santacroce R, Vazquez DO, Cordisco G, Fantini CA, D'Andrea G, et al. DAB2IP associates with hereditary angioedema: Insights into the role of VEGF signaling in HAE pathophysiology. *J Allergy Clin Immunol*. 2024 Sep;154(3):698-706.
- Germenis AE, Rijavec M, Veronez CL. Leveraging Genetics for Hereditary Angioedema: A Road Map to Precision Medicine. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2021;60(3):416-28.
- Germenis AE, Cicardi M. Driving towards Precision Medicine for angioedema without wheals. *J Autoimmun*. 2019;104:102312.
- Grumach AS, Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol*. 2014;61(2):110-7.
- Veronez CL, Mendes AR, Leite CS, Gomes CP, Grumach AS, Pesquero JB, et al. The Panorama of Primary Angioedema in the Brazilian Population. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9(6):2293-304.e5.
- Serpa FS, Cruz AAS, Condino Neto A, Silva ECF, Franco JM, Mello JML, et al. O atendimento médico de pacientes com doenças imunoalérgicas no Brasil: reflexões e propostas para a melhoria - Carta de Belo Horizonte. *Arq Asma Alerg Imunol*. 2017;1(4):327-34.
- Lai Y, Zhang G, Zhou Z, Inhaber N, Bernstein JA, Chockalingam PS, et al. A novel functional C1 inhibitor activity assay in dried blood spot for diagnosis of Hereditary angioedema. *Clin Chim Acta*. 2020;504:155-62.
- Betschel S, Badiou J, Binkley K, Borici-Mazi R, Hébert J, Kanani A, et al. The International/Canadian Hereditary Angioedema Guideline. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2019;15:72.
- Bork K, Siedlecki K, Bosch S, Schopf RE, Kreuz W. Asphyxiation by laryngeal edema in patients with hereditary angioedema. *Mayo Clin Proc*. 2000;75(4):349-54.
- Giavina-Bianchi P, Arruda LK, Aun MV, Campos RA, Chong-Neto HJ, Constantino-Silva RN, et al. Brazilian Guidelines for Hereditary Angioedema Management - 2017 Update Part 1: Definition, Classification and Diagnosis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2018;73:e310.

25. Minafra FG, Gonçalves TR, Alves TM, Pinto JA. The Mortality from Hereditary Angioedema Worldwide: a Review of the Real-World Data Literature. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2022;62(1):232-9.
26. Serpa FS, Urrutia-Pereira M, Costa E, DiGesú RW, Guidacci MFRC, Cruz AS, et al. A especialidade de Alergia e Imunologia Clínica nos diferentes níveis de atenção à saúde no Brasil. *Arq Asma Alerg Imunol*. 2018;2(3):335-43.
27. Grupo de Estudos Brasileiro em Angioedema Hereditário, GEBRAH [Internet]. Disponível em: <https://gebraeh.com.br/diagnostico-laboratorial/>. Acessado em: maio/2024.
28. Tarzi MD, Hickey A, Förster T, Mohammadi M, Longhurst HJ. An evaluation of tests used for the diagnosis and monitoring of C1 inhibitor deficiency: normal serum C4 does not exclude hereditary angio-oedema. *Clin Exp Immunol*. 2007;149(3):513-6.
29. Charest-Morin X, Betschel S, Borici-Mazi R, Kanani A, Lacuesta G, Rivard G-É, et al. The diagnosis of hereditary angioedema with C1 inhibitor deficiency: a survey of Canadian physicians and laboratories. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 2018;14(1):83.

Fonte de financiamento: Maine L. D. Bardou recebeu bolsa de iniciativa do pesquisador do LASID em 2022-2023 (Takeda Scholarships). Anete S. Grumach é bolsista de produtividade CNPq (309824/2021-4) e possui bolsa de apoio à pesquisa de iniciativa do investigador pela Shire/Takeda.

Conflito de interesses: Maine L. D. Bardou e Ana Júlia Ribeiro Teixeira declaram não possuírem conflitos de interesses. Anete S. Grumach é palestrante e/ou consultora para Takeda, CSL Behring, Pharvaris, Kalvista, Exeltis, Pint-Pharma, Biomarin, Binding site e Multicare. Possui Bolsa de Produtividade do CNPq e bolsa de apoio à pesquisa de iniciativa do investigador pela Shire/Taked. Maria Luisa O. Alonso, Pedro Giavina-Bianchi, Solange O. R. Valle e Eli Mansour receberam apoio financeiro e/ou honorários da Takeda e CSL Behring.

Correspondência:
Maine Luellah Demaret Bardou
E-mail: maine_bardou@hotmail.com