

Étude du complément et de la première fraction du complément dans l'ataxie télangiectasie

Par

L. SCHÖNGUT, G. FÜST et MARGUERITE SURJÁN

Clinique de Pédiatrie No. I. de l'Université Médicale Semmelweis et
l'Institut d'Hygiène Publique, Budapest

(Reçu le 2 janvier 1970)

Chez 7 enfants atteints d'ataxie télangiectasie âgés de 4 1/2 à 15 ans les A. déterminent le taux du complément et de la première fraction du complément. Ils confirment la constatation déjà faite sur un plus petit nombre de malades que le taux du C1 est significativement plus élevé chez ces enfants que chez les enfants bien portants du même âge. Ils précisent que chez leurs enfants l'augmentation du taux du C1 est indépendante du taux de l'IgA du sérum, qu'il n'y a pas de corrélation significative entre cette augmentation et celle de la céruloplasmine et enfin ils ont trouvé que chez 2 des 3 enfants exempts de toute infection le C1 a présenté des taux élevés à des examens répétés. Le troisième enfant exempt d'infections et qui a présenté un taux bas de C1 à des examens répétés était celui de leur série chez qui les autres paramètres de la carence immunitaire étaient les moins prononcés.

Depuis les années 60 les recherches concernant le complément ont pris un essor considérable. L'augmentation du taux du complément dans les processus inflammatoires, dans les infections aiguës, dans les brûlures, dans l'infarctus du myocarde, etc. sont des faits aujourd'hui bien acquis. Le comportement du complément et de ses fractions dans les déficiences immunitaires est resté un terrain relativement peu exploré. GEWURZ et coll. [4] ont été les premiers à étudier les taux des différentes fractions du complément dans les états de carence immunitaire accompagnés d'infections et par une fréquente apparition d'affections malignes (agammaglobulinémie, syndrome de Chediak, syndrome d'Al-

drich, etc.). Quatre malades atteints d'ataxie télangiectasie font également partie de ce groupe de malades. C'est l'étude de la fraction C1 qui leur a fourni le plus de renseignement. Ils ont trouvé que dans l'agammaglobulinémie avec lymphopénie le taux de cette fraction baisse, tandis qu'elle est normale ou augmentée chez les autres malades y compris les enfants atteints d'ataxie télangiectasie. Ayant la possibilité d'examiner un nombre relativement élevé d'enfants atteints d'ataxie télangiectasie typique nous nous sommes proposés d'étudier chez eux le taux du complément total et de sa première fraction (C1). (Nous avons déterminé aussi — mais dans quelques cas seulement — le taux de

la 4^e fraction (C4) du complément.) Le nombre relativement élevé des malades examinés (sept) ainsi que le nombre des examens pratiqués (dix-sept) nous autorise, nous semble-t-il, de chercher réponse aux questions suivantes: le taux du complément et de sa première fraction, différent-ils du taux des enfants bien portants du même âge; y a-t-il un rapport entre le taux du C1 et les autres paramètres de l'examen immunologiques et de l'état clinique de ses malades.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sérum: Nous avons gardé le sang des malades et des témoins à la température du laboratoire pendant 30–60 minutes, puis au frigidaire pendant 30 minutes pour les centrifuger ensuite. Après aspiration nous avons conservé les sérums à -20°C jusqu'à l'exécution des titrages qui ont été pratiqués 1 à 4 jours après la prise de sang.

Réactifs: Nous avons préparé le réactif R1 pour la détermination de la fraction C1 à partir du sérum de cobaye selon la méthode de HEGEDÜS et GREINER [7] et de BIER et coll. [2]. Nous avons dialysé le sérum contre un tampon faible en ions. Lors du titrage nous avons complété le réactif R1 par du sérum de cobaye dilué, inactivé à 56°C (réactif H). Le réactif R₄ a été préparé en traitant le sérum de cobaye par NH_4OH .

Système hémolytique: Suspension de globules rouges de mouton à 2% et de solution hémolytique à 1:2000 à parties égales.

Solution diluante: Tampon au véronal pH 7,4.

Détermination du taux du complément du sérum humain: Nous avons pratiqué des sérums à examiner des dilutions à 1:10 et nous en avons placé dans des tu-

bes du type Wassermann à des quantités progressivement augmentées de 0,1 ml (0,10–0,50). Nous avons complété à 2 ml le volume de chaque tube par la solution diluante. Nous avons ajouté 1 ml du système hémolytique. Après une incubation de 60 minutes à 37°C nous avons centrifugé les tubes présentant une hémolyse partielle et nous avons déterminé la concentration en hémoglobine de la substance surnageante par un spectrophotomètre du type UNICAM à $545\ \mu\text{m}$. Nous avons calculé la quantité donnant 50% d'hémolyse (CH_{50}) suivant l'équation de von Krogh d'après la méthode graphique [9]. Nous avons exprimé le taux du complément par la valeur réciproque de la quantité de sérum donnant une hémolyse de 50%, en tenant compte de la dilution de base. En vue d'éliminer les variations journalières du titrage nous avons déterminé en même temps chaque fois le taux de sérums lyophilisés de cobaye à taux connus et c'est en tenant compte de ces résultats que nous avons corrigé les valeurs obtenues selon la méthode de WALTON et ELLIS [15]. Dans la suite nous rendons compte des résultats ainsi obtenus.

Détermination du taux du C1 du sérum humain: Nous avons placé dans des tubes du type Wassermann des quantités de 0,10–0,50 ml de sérum à examiner, dilué à 1:100. Nous avons ajouté à chaque tube 0,30 ml de réactif H, dilué à 1:5 ainsi que 0,30 ml du réactif R1 dilué à 1:9 et nous avons complété le volume dans chaque tube à 2 ml par la solution diluante. Nous avons pratiqué par la suite comme lors du titrage du complément total. Nous avons ici aussi pratiqué la correction susmentionnée.

Détermination du taux du C4 dans le sérum humain: La technique du titrage est la même que celui du titrage de C1 avec la différence qu'à la place des réactifs R1 et H nous avons ajouté 0,30 ml du réactif R4.

Analyse statistique: Comme le sous-multiple de la variance des deux groupes à comparer s'est montré significatif par

TABLEAU I

Taux du complément et de sa première fraction dans le sérum d'enfants atteints d'ataxie télangiectasie

Nom	Age	Complément CH ₅₀	C1 CH ₅₀	Fréquence des infections	IgA	Céru- loplasmine
Sz. S.	10	105	1110, 1530	+	+	515
D. L.	10	52, 58	1600, 1410 1860, 1200 1240	--	--	452
P. J.	12	105, 93	830, 680 790, 640	--	--	444,8
P. M.	15	--	1030	+	+	460
T. F.	11	--	1200	++	--	550
N. M.	8	146	1220, 1480	+	--	495
B. G.	6 1/2	56, 93	1040, 1080	--	--	--
Enfants bien portants	8-18	72±15	941±146			

le test F, nous avons pratiqué l'évaluation non pas par le test *t* de Student mais par le test *d* [6].

RÉSULTATS

Nous avons examiné 17 échantillons de sérum de 7 enfants atteints d'ataxie télangiectasie. Nous avons déterminé dans chaque cas le taux du C1 et dans 8 échantillons de sérum de 5 malades le taux du complément total. Chez 3 enfants enfin nous avons examiné aussi le taux du C4. Nous avons pratiqué parallèlement les mêmes examens chez 35 enfants et adolescents âgés de 8 à 18 ans. L'âge moyen des témoins dépasse celui des enfants examinés mais selon les examens de *Gewurz* et coll. [5] de 2 à 18 ans les différentes fractions du

complément ne présentent pas de différence significative selon l'âge et le sexe des enfants. Au Tableau I nous représentons les résultats concernant le complément et la fraction C1 exprimés en unités hémolytiques à 50%. Nous y faisons figurer également le nombre et la nature des infections présentés par les enfants, le degré de l'atteinte de l'hypersensibilité retardée, le taux de la céruloplasmine, ainsi que le comportement de l'IgA sérique chez chaque enfant examiné.

Comme il ressort des résultats représentés au Tableau I, les taux du complément et de sa fraction C1 diffèrent notablement l'un de l'autre. On trouve aussi bien des taux élevés de C1 avec des taux bas de complément total que la constellation in-

verse. Dans le cas de la première fraction du complément la tendance à l'augmentation est pratiquement univoque. En dehors du malade N°1 tous les résultats traduisent un taux élevé. Sur la Figure 1, nous représentons les taux de la fraction C1 comparés à ceux des enfants bien portants servant de témoins.

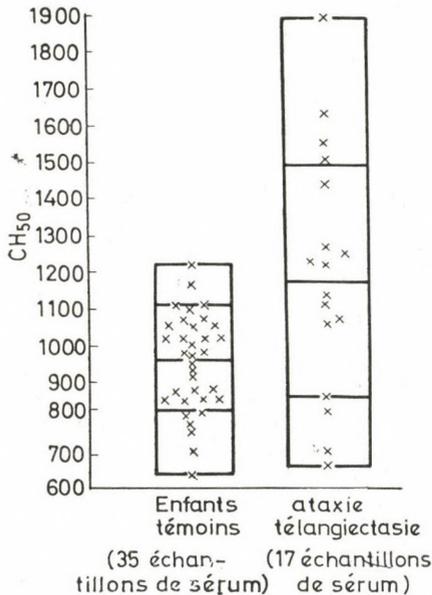


FIG. 1. Taux de la première fraction du complément dans le sérum d'enfants bien portants et d'enfants atteints d'ataxie télangiectasie

La Figure 1 nous montre que la moyenne des groupes diffère notablement l'une de l'autre. Celle du groupe des témoins est de 941 CH_{50} (S. D.: ± 146) celle des enfants malades de 1173 CH_{50} (S. D.: ± 344). Calculée à l'aide du test *d*, la différence entre les deux groupes s'est montrée fortement significative ($p < 0,01$). Chez trois malades nous avons déterminé aussi

le taux du C4. Les résultats obtenus dans les 3 cas ont montré des valeurs normales ($7050 \pm 3560 CH_{50}$).

Nous avons encore examiné s'il-y-a une corrélation entre le taux du C1 et les différents paramètres immunologiques et cliniques présentés par ces enfants. Nous avons calculé le coefficient de corrélation entre les taux du C1 et les taux de la céruloplasmine, mais le résultat n'était pas significatif ($p < 0,05$). Le taux du C1 était plus élevé que la normale aussi bien chez les enfants chez qui dans le sang l'IgA était absent, diminué ou atteignait un taux correspondant à leur âge.

Les enfants examinés présentaient soit des infections légères (au Tableau: +) — rhinopharyngite, état grippal —; ou bien des infections graves et répétées (au Tableau: ++) — otomastoidite chronique, pneumopathies à répétitions —. Deux des trois de nos enfants sont et étaient exempts de toute infection, néanmoins leur taux de C1 était élevé.

DISCUSSION

Nous avons déterminé dans 17 échantillons de sérum de 7 enfants atteints d'ataxie télangiectasie le taux de la première fraction du complément ainsi que le complément dans 8 échantillons provenant de 5 malades. Selon nos connaissances actuelles le système complémentaire possède 9 fractions (C1, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9). Le C1 présente 3 sous-fractions (C1_q, C1_r, C1_s) et circule dans

le sérum sous une forme complexe macromoléculaire. Les fractions du complément font partie des globulines sériques et on a trouvé que plusieurs de ces fractions (C1, C2, C4) sont pourvues d'une activité enzymatique. Le complément total du sérum humain est une valeur plus difficile à déterminer que celles de ses fractions, encore que dans certains cas il y a une corrélation étroite entre certains fractions (C2, C3) et le complément. En plus du titrage du complément il faut donc déterminer aussi celui d'une ou de plusieurs des fractions parce que des variations mêmes importantes des taux de certaine fractions (C1, C4) ne se traduisent pas toujours par une variation importante de complément total. Par contre dans un certain nombre de cas l'augmentation ou la diminution de certaines fractions du complément peut avoir une signification diagnostique. Les résultats de nos propres examens soutiennent également cette opinion. Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre le taux du complément et de sa première fraction. Nous avons trouvé aussi bien des taux de C1 bas avec des taux élevés de complément que la constellation inverse. Des deux taux c'est celui du C1 qui a donné des valeurs univoques. Nous restreindrons donc la discussion de nos résultats en premier lieu sur ceux qui concernent le C1.

Compte tenu de la rareté relative de la maladie de nos enfants et du nombre de nos examens, nous pouvons préciser que dans l'ataxie télangiectasie le taux du C1 est significativement

plus élevé que normalement. Un seul (P. J.) des 7 malades examinés a présenté un taux situé à la limite inférieure de la normale. Ce malade âgé de 12 ans dont le diagnostic est certifié aussi par l'étude histologique du cervelet (la cérébellectomie a été pratiquée antérieurement à nos examens) diffère d'ailleurs par bien d'autres points du groupe homogène de nos autres enfants. Son immunité cellulaire est relativement peu touchée, les réactions d'hypersensibilités retardées peu atteintes, l'IgA fait complètement défaut et du sérum et de la salive, son taux de plasmocytes est presque normal ainsi que le nombre absolu de ses petits lymphocytes. Grabataire à cause de son ataxie il passe sa vie en milieu hospitalier sans jamais présenter d'infections. C'est le moins «immunopathe» — si l'on peut dire — de tous nos enfants touchés par cette immunopathie.

Aujourd'hui nous ne sommes pas encore en mesure de préciser la cause de l'augmentation du taux de C1 dans l'ataxie télangiectasie. GEWURZ et coll. [5] ont trouvé des taux plus élevés de C1 également dans d'autres immunopathies accompagnées d'infections fréquentes et d'apparition fréquente d'affections malignes. Cela permet éventuellement de supposer que l'augmentation du C1 est en rapport avec la diminution des fonctions immunitaires. Une autre explication serait la corrélation entre l'augmentation de ce taux et la fréquence des infections existantes chez ces malades. L'augmentation du taux du complément

au cours des processus inflammatoires, infections etc. est connue depuis longtemps [12]. Dernièrement on a décrit que certaines fractions du complément augmentent durablement aussi au cours des infections chroniques [10, 13]. Parmi nos malades les infections, surtout celles des voies respiratoires étaient souvent présentes. Mais 2 de 3 de nos malades (D. L., B. G.) exempts d'infections depuis de longues années présentaient néanmoins des taux élevés de C1. Il semble bien donc que si les infections jouent certainement un rôle dans l'augmentation du C1, ce rôle n'est pas exclusif. Nous devons donc supposer qu'il y a des rapports encore mal élucidés entre les systèmes complémentaires et le système immunitaire et c'est en étudiant ce dernier au cours des immunopathies que nous contribuerons à éclaircir ce problème. Pour le moment nous ne disposons à ce sujet que d'hypothèses. Selon TALMAGE et PEARLMAN [14] l'élévation du taux du complément inhiberait la division des cellules immunocompétentes. Selon la récente expérience d'AZAR [1] chez l'animal d'expérience dont le taux du complément a été baissé à 0, après traitement par la vitamine A une dose d'antigène qui chez l'animal normal détermine une tolérance, est suivi d'une réaction immunitaire en l'absence du complément.

Les constatations de O'CONNEL et coll. [11] et de JACOBS et coll. [8] selon lesquelles chez les nouveau-nés atteints d'aplasie thymique on ne peut pas titrer le C1 du sérum, font

penser à une corrélation entre cette glande et la première fraction du complément. Les observations de GEWURZ et coll. [4] ainsi que nos propres constatations contredisent cette constatation car dans l'ataxie télangiectasie il y a dysplasie ou absence complète du thymus. Les expériences pratiquées par l'un de nous [3] sur des rats nouveau-nés thymectomisés montrent également que le taux du C1 était identique à ceux d'animaux témoins non thymectomisés.

Nous n'avons pas trouvé de rapport entre les taux des céruloplasmines et ceux du C1 ni les variations constatées concernant le taux de l'IgA sérique de nos malades et le taux de la première fraction du complément.

Les déterminations du taux du C1 pratiquées en séries (5 déterminations pendant un an) chez l'enfant D. L. âgé de 10 ans présentent un intérêt particulier. C'est l'un des enfants qui depuis des années sous notre contrôle n'a jamais présenté d'infections décelables, a toujours eu un taux de C1 élevé (v. Tableau I). Lors de la première détermination du C1 l'état clinique de l'enfant était mauvais, son taux de C1 était élevé. Pendant les 3 à 4 mois suivants son état continuait à s'aggraver, son ataxie augmente, l'enfant devient apathique, maigrit notablement. Le chiffre absolu des petits lymphocytes baisse à 500. A ce moment, — sans que l'enfant présente la moindre infection, son taux de C1 atteint le taux de 1860 CH₅₀. Sous l'influence d'un changement de milieu et de différents traitements symptomatiques, l'état

clinique s'améliore notablement, le taux de Cl baisse (1120—1240 CH₅₀), le nombre des petits lymphocytes augmente (700—1000).

Les résultats de nos examens confirment que l'étude du complément au cours de l'ataxie télangiectasie est un examen utile. Il complète le diagnostic et fournit une donnée supplémentaire quant à l'état des fonctions immunitaires. Du point de vue théorique il contribue à l'éclaircissement des rapports entre les systèmes complémentaires et immunitaires.

BIBLIOGRAPHIE

1. AZAR, M. M.: Failure to induce tolerance in absence of complement. *Fed. Proc.* **28**, 293 (1969).
2. BIER, O. G., LEYTON, G., MAYER, M. M., HEIDELBERGER, M.: A comparison of human and guinea pig complements and their component fractions. *J. exp. Med.* **81**, 449 (1945).
3. FÜST, G., KERESZTES, M., SURJÁN, M.: The effect of thymectomy and splenectomy on the titre of complement components in rats. In preparation.
4. GEWURZ, H., PICKERING, J., GOOD, R. A.: Complement and complement component activities in diseases associated with repeated infections and malignancy. *Int. Arch. Allergy* **33**, 369 (1968).
5. GEWURZ, H., PICKERING, R. J., MergenHAGEN, S. E., GOOD, R. A.: The complement profile in acute glomerulonephritis, systemic lupus erythematosus and hypocomplementic chronic glomerulonephritis. Contrasts and experimental correlations. *Int. Arch. Allergy* **34**, 556 (1968).
6. HAJTMAN, B.: *Matematikai statisztika*. Tankönyvkiadó, Budapest 1966. p. 111.
7. HEGEDÜS, A., GREINER, H.: Quantitative Bestimmung der Komplement Bestandteile. *Z. Immun.-Forsch.* **92**, 1 (1938).
8. JACOBS, J. C., DE CAPOA, A., MCGILFRAY, E., MORSE, J. H., SCHULLINGER, J. N., BLANC, W. A., HEIRD, W. C., MILLER, O. J., ROSSEN, R. D., WALZER, R. A.: Complement deficiency and chromosomal breaks in a case of Swiss-type agammaglobulinaemia. *Lancet* **1**, 499 (1968).
9. KABAT, E. A., MAYER, M. M.: *Experimental Immunochemistry*. Thomas, Springfield 1961. 2nd. ed., P. 111.
10. KAUFMAN, H. S., FRICK, O. L., FINK, D.: Serum complement (B₁C) in young children with atopic dermatitis. *J. Allergy* **41**, 1 (1968).
11. O'CONNELL, E. J., ENRIQUEZ, P., LINMAN, J. W.: Absence of activity of first component of complement in man: Association with thymic aplasia and defective inflammatory response. *J. Lab. clin. Med.* **70**, 715 (1967).
12. RAPP, H. J., BORSOS, T.: Complement research: Fundamental and applied. *J. Amer. med. Ass.* **198**, 1347 (1966).
13. SOLIMAN, M., EL-MEHAIRY, M. M., ABD-EL-GHAFFAR, Y.: Complement values in bronchial asthma. *Ann. Allergy* **26**, 476 (1968).
14. TALMAGE, D. W., PEARLMAN, D. S.: The antibody response: A model based on antagonistic actions of antigen. *J. theoret. Biol.* **5**, 321 (1963).
15. WALTON, K. W., ELLIS, H. A.: A method for serial determination of serum complement. *Immunology* **1**, 224 (1958).

Dr. L. SCHÖNGUT

Bókay J. u. 53

Budapest VIII., Hongrie