

Moderne Komplementanalytik Indikationen – Methodik – Perspektiven

Modern complement analysis: indications, methods and outlook

Ruxandra Tudoran¹ und Michael Kirschfink^{2,*}

¹Neurologische Universitätsklinik, Universität Heidelberg,
Heidelberg, Deutschland

²Institut für Immunologie, Universität Heidelberg,
Heidelberg, Deutschland

Zusammenfassung

Das Komplementsystem ist eines der Schlüsselsysteme der angeborenen Immunität und der Homöostase. Eine überschießende Komplementaktivierung, aber auch das Fehlen einzelner Komplementkomponenten oder -regulatoren können lebensbedrohliche Zustände verursachen. Die zum Krankheitsverständnis notwendigen Grundlagen, Indikationen für eine Komplementdiagnostik, die Interpretation der Resultate sowie therapeutische Interventionsmöglichkeiten sollen in dieser Übersichtsarbeit detailliert dargestellt werden.

Schlüsselwörter: Komplementaktivierung; Komplementdiagnostik; Komplementsystem; Immunabwehr.

Abstract

Complement is one of the key systems of innate immunity and homeostasis. Its excessive activation but also a deficiency of complement components or regulators can lead to life-threatening conditions. This review aims to provide the basic knowledge that clinicians need in order to understand complement-related diseases. Moreover, it shows possible indications and interpretations of a complement analysis and explains the rationale behind complement-targeted therapies.

Keywords: complement activation; complement analysis; complement system; immune defense.

*Korrespondenz: Prof. Dr. Michael Kirschfink, Institut für Immunologie, Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 305, 69120 Heidelberg, Deutschland
Tel.: (+49) 06221 56-4076
Fax: (+49) 06221 56-5586
E-Mail: kirschfink@uni-hd.de

Einleitung

Im letzten Jahr rückte das Komplementsystem wieder einmal in den Fokus des Interesses, als viele Patienten an dem von enterohämorrhagischen *E. coli* ausgelösten, zum Teil lebensbedrohlichen hämolytisch urämischem Syndrom (HUS) erkrankten. Die schnelle therapeutische Intervention mit einem neuen Komplementinhibitor (humanisierter anti-C5 Antikörper) führte bei der Mehrzahl der Patienten zu einer erheblichen Besserung des klinischen Zustandes und belegte damit eindrucksvoll die pathophysiologische Bedeutung des Komplementsystems für den Krankheitsprozess [1] und damit die Notwendigkeit einer aussagekräftigen Komplementanalytik [2].

Das Komplementsystem ist Teil der angeborenen Immunität. Es ist ein kaskadenartiges Netzwerk aus über 35 Proteinen, das in vielfältiger Weise nach Kontakt mit pathogenen Mikroorganismen aktiviert wird. Es ist nicht nur in der frühen Abwehrphase aktiv, sondern wirkt auch im Zusammenspiel mit den Elementen der erworbenen Immunität. Zu seinen Effektorfunktionen zählen die Beseitigung von Immunkomplexen, die Opsonisierung, die lytische Zerstörung von pathogenen Mikroorganismen sowie die Rekrutierung von Entzündungszellen mit anschließender Phagozytose. Eine überschießende oder inadäquate Aktivierung des Komplementsystems kann zu schwerwiegenden Erkrankungen führen.

Auch an nicht-immunologischen Prozessen ist das Komplementsystem maßgeblich beteiligt, sodass wir heute unsere Vorstellung von Komplement als Bakterienabwehrsystem um viele Funktionen zur Gewährleistung der Homöostase erweitern müssen [3].

Komplement wird im Wesentlichen über drei Wege aktiviert, den klassischen, den alternativen und den Lektin-Weg. Hierbei entstehen durch proteolytische Spaltung aus inaktiven Proteinen die aktiven Effektormoleküle. Jeder der auf ganz unterschiedliche Weise initiierten Aktivierungswege mündet in eine gemeinsame Endstrecke, die zum lytischen Membranangriffskomplex (MAC) führt (Abbildung 1). Ein fein abgestimmtes Kontrollsystem sorgt dafür, dass dieser Prozess auf die aktivierende Oberfläche beschränkt bleibt und körpereigenes Gewebe geschützt ist.

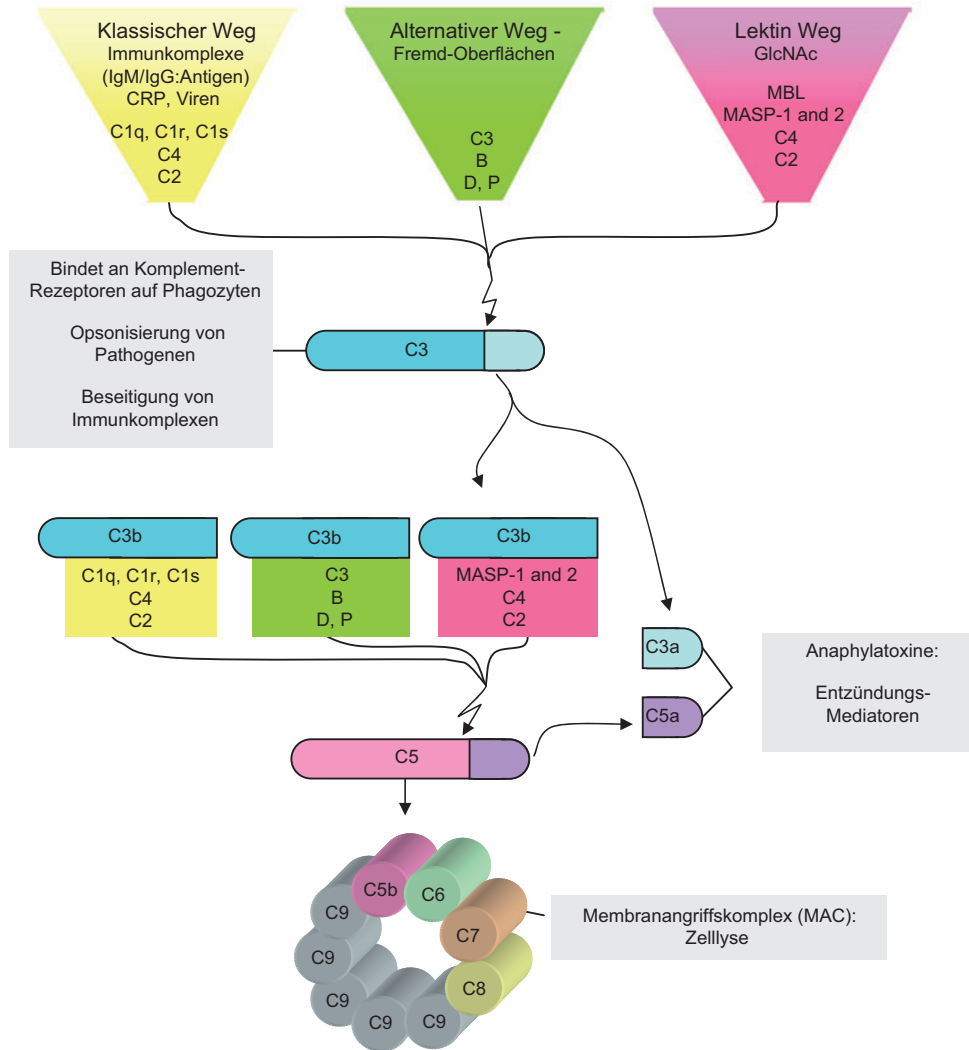


Abbildung 1 Vereinfachte Darstellung der drei Komplementaktivierungswege.

Komplementaktivierungswege

Der **klassische Weg** wird überwiegend durch Bindung von C1 (C1q_rs₂) an Antigen-Antikörper-Komplexe aktiviert, die IgG oder IgM enthalten. Nach Antigenbindung kommt es zu einer Konformationsänderung an den Fc-Regionen der Immunglobuline, wodurch die Komplement-bindenden Bereiche für die C1 Untereinheit C1q zugänglich werden. über weitere Reaktionen, an denen die Proteasen C1r und C1s beteiligt sind, wird die C3-Konvertase aus der vierten und zweiten Komponente (C4b2a) gebildet. Dieser Weg ist kalziumabhängig. Die Aktivierung des klassischen Weges ist auch über CRP, gram-negative Bakterien [4], apoptotische Zellen und virale Glykoproteine möglich [2].

Der **alternative Weg** wird von Mikroorganismen, ischämisch geschädigtem Gewebe oder Fremdoberflächen aktiviert. Ausgangssituation ist die auf niedrigem Niveau ständig ablaufende spontane Hydrolyse von C3 zu C3(H₂O), welche auch als „tickover“-Mechanismus bezeichnet wird. Das C3b-ähnliche C3(H₂O) bindet an Faktor B (fB), der daraufhin

von der Serinprotease Faktor D (fD) gespalten wird. Die nun gebildete Flüssigphasen-C3-Konvertase, C3(H₂O)Bb, wird von Properdin stabilisiert. Das durch diese Konvertase aus nativem C3 gesplattene C3b kann für kurze Zeit an körpereigene Zellen, Bakterien, Pilze, Viren oder Tumorzellen in nächster Nachbarschaft binden oder wird schnell inaktiviert. An dieses nun oberflächengebundene C3b lagert sich fB an, welcher daraufhin von fD gespalten wird. Die damit auf Zellen gebundene C3-Konvertase C3bBb führt nun durch verstärkte C3-Spaltung zur Opsonisierung und leitet gleichzeitig die Membranangriffsphase ein. Dieser Weg ist magnesiumabhängig.

Der **Lektin-Weg** hat als Ausgangspunkt die Bindung von Mannose-bindendem Lektin (MBL) [5] an Kohlenhydratgruppen auf der Oberfläche von Mikroorganismen, welche zu den sogenannten pathogen associated molecular patterns (PAMPs) zählen. MBL-assoziierte Serin-Proteasen (MASP) führen ähnlich wie C1s über die Spaltung von C2 und C4 zur Bildung der C3-Konvertase C4b2b. Im Gegensatz zum klassischen Aktivierungsweg ist der phylogenetisch viel ältere Lektin-Weg unabhängig von einer vorhergehenden

Antikörperbildung und gehört somit zu den frühesten Abwehrreaktionen. Im Rahmen des Ischämie-Reperfusionsschadens kommt der Aktivierung des Lektin-Weges durch Glykosamine, mitochondriale Proteine und Phospholipide eine bedeutende Rolle zu [6].

Alle drei Komplementaktivierungswege münden in eine gemeinsame Endstrecke, die **terminale Sequenz**, die zur Bildung des lytischen Membranangriffskomplexes (MAC) führt. Dieser setzt sich aus je einem Molekül C5b, C6, C7, C8 und bis zu 18 Molekülen C9 zusammen und hat die Form einer Pore, die sich in die Lipiddoppelschicht der Zellmembran einlagert. Wenn eine genügend große Anzahl dieser Poren in die Zellmembran eingebaut wird, stirbt die Zelle durch Lyse [3].

Komplementaktivierungsprodukte

Die Anaphylatoxine C3a und C5a zählen zu den stärksten Entzündungsmediatoren [7]. Sie erhöhen die Permeabilität der Blutgefäße, induzieren die Kontraktion glatter Muskulatur, führen zur Produktion von Sauerstoffradikalen durch Makrophagen, Neutrophile und Eosinophile und zur Ausschüttung von Histamin durch Mastzellen und basophile Granulozyten. Sie modulieren darüber hinaus die Synthese von Zytokinen (z.B. IL-6, TNF- α) durch B-Lymphozyten und Monozyten. Anaphylatoxine sind durch ihre Wirkung auf inflammatorische Zellen auch wesentlich an der Pathogenese verschiedener Erkrankungen beteiligt. Interessanterweise wurden Anaphylatoxinrezeptoren auch auf Zellen parenchymatöser Organe wie Leber, Niere oder ZNS entdeckt, so dass eine systemübergreifende Wirkung dieser hochwirksamen Peptide angenommen werden muss [8, 9].

C3b und iC3b, weitere C3 Metabolisierungsprodukte, opsonisieren Partikel und markieren sie somit für die über CR1 (CD35) und CR3 (CD11b/CD18) vermittelte Phagozytose.

Das nach C3b-Bindung am Antigen verbleibende C3d führt durch Bindung an den Komplementrezeptor 2 (CR2, CD21) zu einer deutlichen Herabsetzung der Aktivierungsschwelle von B-Lymphozyten. Interessanterweise dient dieser Rezeptor auch als Eintrittspforte für das Epstein-Barr-Virus. Der zu den beta2 Integrinen zählende CR3 (CD11b/CD18) ist während der Leukozytenadhäsion und – Transmigration sowie bei der Eliminierung opsonisierter Partikel von Bedeutung. In ähnlicher Weise stimuliert CR4 (CD11c/CD18) die Phagozytose.

Regulation des Komplementsystems

Eine Vielzahl löslicher und membrangebundener Komplementregulatoren wirken als Inhibitoren der frühen Aktivierungsschritte, beim Aufbau der C3-Konvertasen oder hemmen die Bildung des MAC.

Zu den löslichen Inhibitoren zählen der C1 Inhibitor (C1-inh), Faktor H (fH), C4-binding protein (C4bp), Faktor I (fI), Properdin, Clusterin und S-Protein (Vitronectin), während auf körpereigenen Zellen in der Zellmembran integrierte Regulatoren wie der Komplement Rezeptor 1 (CR1, CD35), das Membrancofaktorprotein (MCP, CD46), der decay accelerating factor (DAF, CD55) und CD59, den Schutz gegen einen Komplementangriff gewährleisten.

Es sollen im Folgenden nur die klinisch relevanten Regulatoren dargestellt werden. C1-inh verhindert die Aktivierung des C1-Komplexes. Ein Mangel an diesem multifunktionellen Inhibitor führt zum hereditären Angioödem (Quincke-Ödem). Darüber hinaus inhibiert C1-inh die MASP-Enzyme des Lektin-Weges, aber auch verschiedene Enzyme des Gerinnungs-, Fibrinolyse- und Kinin-Weges.

FH fördert den spontanen Zerfall („decay“) der C3 Konvertase C3bBb und fungiert wie MCP und CR1 als Kofaktor bei der C3b-Inaktivierung durch fI.

Der decay accelerating factor (DAF, CD55) beschleunigt die Dissoziation des Bb von C3b und des C2b von C4b.

CD59 bindet an C8 und C9 und verhindert dadurch wie Clusterin und S-Protein, die an den C5b-7 Komplex binden, die Bildung des MAC.

Die inflammatorisch hochwirksamen Anaphylatoxine C3a und C5a werden durch die Carboxypeptidase N weitgehend inaktiviert.

Klinische Bedeutung des Komplementsystems

Während Komplementdefekte ca. 4–5% aller primären Immundefekte ausmachen [10] und somit im klinischen Alltag selten vorkommen, sind es vor allem Entzündungserkrankungen in Folge eines überaktivierten Komplementsystems, welche klinisch bedeutsam sind. (Tabelle 1). So ist die massive Komplementaktivierung entscheidend an der Entwicklung lebensgefährlicher Zustände, wie dem adult respiratory distress syndrome [11] (ARDS), dem systemic inflammatory response syndrome (SIRS), der Sepsis [12, 13] und dem Multi-Organ-Versagen, nach z.B. schweren Traumata, Verbrennungen oder Infektionen, beteiligt. Eine überschießende Komplementaktivierung ist an verschiedenen Formen der Glomerulonephritis [14], an der Entstehung des Ischämie-Reperfusionsschadens [15–17], der Transplantatabstoßung [18] und der Entwicklung der rheumatoiden Arthritis [19] ursächlich beteiligt. Darüber hinaus beeinflusst Komplement die Entwicklung neurologischer Erkrankungen, wie der Multiplen Sklerose [20], des Morbus Alzheimer [21] oder des Guillain-Barré-Syndroms. Auch bei der Entwicklung von Allergie und Asthma ist das Komplementsystem beteiligt [22]. Daneben wird in zunehmendem Maße die Rolle von Komplementkomponenten in so unterschiedlichen biologischen Prozessen wie der Hämatopoese [23], Fortpflanzung, Lipidstoffwechsel und Organregeneration [24] klar.

Komplementdefekte

Die Klinik der Komplementdefekte (Tabelle 2) ist mannigfaltig [25]. Komplementdefizienzen im klassischen Aktivierungsweg führen nicht nur zu einer erhöhten Anfälligkeit für Infektionen mit kapselbildenden Bakterien, sondern finden sich häufig auch bei Patienten mit Systemischen Lupus erythematodes. Komplementdefizienzen im MBL-Weg führen zu erhöhten Raten an bakteriellen Infekten und Defekte von Komponenten der terminalen Sequenz, aber auch von Properdin sind mit einer erhöhten Häufigkeit von Neisserieninfektionen assoziiert.

Tabelle 1 Erkrankungen, an deren Pathogenese die Aktivierung des Komplementsystems beteiligt ist.

Allergische Reaktionen und Symptome	Anaphylaktischer Schock
	Allergie
	Asthma
Dermatologische Erkrankungen	Vaskulitis
	Pemphigus
	Psoriasis
Hämatologische Erkrankungen	Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie, Hämolytische Anämie
	Paroxysmale Kältehäoglobinurie
Neurologische Erkrankungen	Schlaganfall
	M. Alzheimer
	Multiple Sklerose
	Myasthenia gravis
	Guillain-Barré Syndrom
Infektiöse Erkrankungen	Sepsis
	Infektionen (v.a. Meningitiden mit Neisserien)
Renale Erkrankungen	Hämolytisch-urämisches Syndrom (atyp., typ.)
	Lupusnephritis
	Membranoproliferative Glomerulonephritis
	IgA Nephropathie
	Goodpasture Syndrom
	Post-Streptokokken Glomerulonephritis
	Transplantatabstoßung
Rheumatologische Erkrankungen	Systemischer Lupus erythematodes
	Rheumatoide Arthritis
	Sjögren Syndrom
	M. Behçet
	ANCA- assoziierte Vaskulitis
	Henoch-Schönlein Purpura
	Cryoglobulinämie
Vaskuläre Erkrankungen	Ischämierperfusionsschaden
	Myokardinfarkt und Arteriosklerose
Pulmonale Erkrankungen	Adult respiratory distress syndrome
Weitere Erkrankungen	Altersbedingte Makuladegeneration (AMD)
	Aborte
	M. Crohn

Tabelle 2 Krankheitsbilder, die mit Komplement-Defekten oder der Bildung von Antikörpern assoziiert sind.

Krankheitsbilder	Komplementdefekt/-mutation/Autoantikörper
Atyp./typ. hämolytisch urämisches Syndrom	fH, MCP, fI, C3, fB, anti-fH Autoantikörper
Membranoproliferative Glomerulonephritis	C3, C3-NEF fH, fI, anti-fH Autoantikörper
Hereditäres Angioödem	C1-inh, C4, C1q, anti C1-inh Autoantikörper
Meningitis	C5-C9, MBL, fI, fH, Properdin
Leukozyten Adhäsions-Defekt	CR3 (CD11b, CD18)
Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie	DAF (CD46), CD59
Systemischer Lupus erythematodes	C1(C1q)-C4, CR1 (CD35), CR3 (CD11b, CD18), Anti-C1q Autoantikörper

Bei **rezidivierenden bakteriellen Infektionen**, insbesondere bei systemischen Infektionen mit Neisserien, sollte eine Bestimmung der gesamthämolytischen Aktivität durchgeführt werden. Bei reduzierter Aktivität kann eine anschließende Titration der einzelnen Faktoren Aufschluss über die zugrunde liegende Defizienz geben. Da bei Patienten mit Defekten der 5. bis 9. Komponente die Häufigkeit einer Meningokokken-Erkrankung gegenüber der Normalbevölkerung 1000- bis 10.000-fach erhöht ist, wird die tetravalente Impfung gegen *N. meningitidis* dringend empfohlen.

Ein Risiko für rezidivierende Neisserien-Infektionen stellt zudem das Fehlen von Properdin dar [26]. Rezidivierenden bakteriellen Infektionen im Kleinkindalter kann auch ein MBL-Defekt zugrunde liegen [27]. Außer der Quantifizierung des MBL sollte in diesem Fall eine funktionelle Testung des Lektin-Weges erfolgen, da aufgrund von funktionsrelevanten genetischen Polymorphismen die alleinige Angabe der MBL-Konzentration nicht aussagekräftig ist.

Der Leukozytenadhäsionsdefekt (LAD) stellt eine lebensbedrohliche Beeinträchtigung der Leukozytenfunktion dar.

Erstmanifestation ist häufig eine verzögerte Abstoßung und Entzündung des Nabelschnurstumpfes des Neugeborenen. Ursache ist das Fehlen der CD18-Untereinheit von CR3 (CD11b/CD18) und CR4 (CD11c/CD18), wodurch Leukozyten nicht über Adhäsionsmoleküle an die Gefäßwand binden können, um ins Gewebe auszuwandern. Eine Diagnosestellung kann mittels FACS-Analyse des CD18-Moleküls erfolgen. Therapie ist eine prophylaktische lebenslange Antibiotika-Gabe oder eine Knochenmarkstransplantation.

In über 90% der Defekte im klassischen Aktivierungsweg (C1, C4, C2) besteht eine Assoziation zur Entwicklung eines SLE [28]. Besonders schwerwiegend ist dieses Krankheitsbild bei C1q-Defekten. Auch ein Mangel an C1 Inhibitor kann über eine Aktivierung des klassischen Weges mit dauerhaftem C4 und C2 Verbrauch für eine Erkrankung an SLE prädisponieren. Sowohl die mangelnde Entsorgung apoptotischen Zellmaterials als auch die starke Beeinträchtigung der Elimination von Immunkomplexen bilden dafür die molekulare Grundlage [29].

Beim **hereditären Angioödem** (HAE) führt ein C1-inh Mangel über die Aktivierung des Kallikrein-Kinin Systems zu einer ungebremsten Bradykinin-Bildung. Es kommt zu anfallsweise auftretenden Schwellungen an Lippen, Augenlidern, Ödemen im Intestinaltrakt bis hin zum potentiell letalen Larynxödem. Bei diesem mit 85% weitaus häufigstem Typ (HAE I) ist der Plasmaspiegel des Regulators auf 5–35% des Normwertes vermindert. Beim HAE II wird aufgrund einer Mutation im SERPING1 Gen ein funktionsloser C1-inh produziert. Daher ist es unabdingbar, immer auch die Funktion des Regulators zu messen. Die Akuttherapie besteht in der Gabe von gereinigtem C1-inh (z.B. Berinert®) oder dem Bradykinin B2 Rezeptor-Antagonisten Icatibant. Zur Prophylaxe kann neben dem C1-inh ggf. auch Danazol angewendet werden, ein modifiziertes Androgen, das die Synthese von C1-inh stimuliert. Das seltenere erworbene Angioödem (AAE, acquired angioedema) wird durch Autoantikörper gegen C1-inh verursacht, die im Rahmen von malignen hämatologischen Erkrankungen gebildet werden. Auch hier ist bei häufig normalem Proteinspiegel unbedingt die C1-inh Aktivität zu ermitteln. Die neutralisierende Aktivität des Autoantikörpers muss bei der Dosierung von C1-inh berücksichtigt werden. Viele Patienten mit einer typischen Angioödemsymptomatik weisen jedoch keinen C1 Inhibitor-mangel auf. Diese neuerdings als HAE Typ III klassifizierten Fälle können mit einer sog. "Gain-of-function" Mutation im Faktor XII Gen zusammenhängen [30].

Die **paroxysmal nächtliche Hämoglobinurie** wird durch eine fehlende Regulation der Komplementaktivierung auf der Erythrozytenoberfläche verursacht. Durch das Fehlen der Regulatoren CD59 und DAF (und anderer durch eine gemeinsame Ankerstruktur gebundenen Membranproteine) sind Erythrozyten besonders anfällig gegenüber einer Komplementattacke. Besonders im Schlaf kommt es zu wiederholten Episoden verstärkter hämolytischer Aktivität mit dunklem Morgenurin und Hämoglobinurie. Die Diagnose wird mittels Säure-Hämolyse-Test und FACS-Analyse gestellt. Komplikationen sind Thrombosen und Niereninsuffizienz. Für dieses Krankheitsbild wurde der

bereits o.a. Anti-C5-Antikörper (Eculizumab, Soliris) erstmalig zugelassen [31].

Das **atypische hämolytisch-urämische Syndrom** wird charakterisiert durch mikroangiopathische hämolytische Anämie, Thrombozytopenie und akutes Nierenversagen. Nahezu 50% aller Fälle werden mit Mutationen der Regulatoren fH, fI, des membranständigen MCP oder des C3 Moleküls in Verbindung gebracht [32]. Daneben wurden bei einigen Patienten auch fH-Autoantikörper beschrieben. Die Diagnostik besteht in der Analyse der gesamthämolytischen Aktivität (CH50, APH50), von C3, C3-Aktivierungsprodukten und SC5b-9 sowie der molekulargenetischen Analyse der oben aufgeführten Regulatoren. Während die regulatorische Funktion des fH in der flüssigen Phase meist erhalten ist, führen die bisher nachgewiesenen Mutationen zur fehlenden Bindungsfähigkeit des Inhibitors auf Zellen der Nieren bzw. der glomerulären Basalmembran. Gestützt durch Erfolge in der Behandlung schwerer Verlaufsformen des aHUS [33] wurde im September 2011 die Therapie mit Eculizumab zugelassen. Länger bekannt ist die zunächst eingesetzte Plasmatherapie, deren Erfolg möglicherweise von der damit verbundenen fH Substitution abhängt [34].

Die **altersbedingte Makuladegeneration** ist in den Industrieländern die führende Ursache von Blindheit. Die Bildung von Drusen führt hierbei zu einem starken zentralen Visusverlust. Mutationen von fH, C2, fB, und C3 scheinen kausal an der Entwicklung dieser Krankheit beteiligt zu sein [35]. Komplementmodulierende Therapieansätze werden derzeit erforscht [36].

Komplement-abhängige Entzündungsprozesse

Das Ausmaß der Aktivierung des Komplementsystems ist von großer klinischer Relevanz im Rahmen der **Sepsis**, nach Transplantation [37] oder bei Polytrauma-Patienten [38]. Im Gegensatz zur physiologisch ausgewogenen Aktivierung bewirkt die massive Aktivierung mit der Bildung von Anaphylatoxinen einen nahezu völligen Funktionsverlust der Neutrophilen, was zu einer dramatischen Verschlechterung der klinischen Situation führt. Durch ein Eingreifen in diesen Komplement-vermittelten Prozess ist es experimentell gelungen, die Überlebensrate von Versuchstieren signifikant zu erhöhen [39, 40]. Die Bestimmung von C3a und Procalcitonin erlaubt bei septischen Patienten eine genauere Diagnosestellung und ist von höherem prognostischem Wert als der routinemäßig bestimmte CRP-Wert [41].

Wie immunhistologische Untersuchungen ergaben, gehen die meisten Glomerulonephritiden mit einer Komplementaktivierung einher. Darunter ist die membranproliferative Glomerulonephritis Typ II (**MPGN II**) diejenige, bei der als erste kausal eine überschießende Komplementaktivierung aufgrund einer Dysregulation nachgewiesen werden konnte [14]. Bei der MPGN II findet sich häufig ein Autoantikörper gegen die C3-Konvertase des Alternativweges, der C3-Nephritisfaktor (C3-NEF). Dieser stabilisiert die C3-Konvertase in dem Maße, dass sie einer Regulation durch die Faktoren H und I nicht mehr zugänglich ist. Eine

stark reduzierte Gesamtkomplementaktivität bei niedrigem C3-Plasmaspiegel legt die Untersuchung auf einen C3-NEF nahe [42]. Dies geschieht durch den Nachweis der gesteigerten C3-Umwandlung im hämolytischen Test, in der Immundefixationsanalyse oder im ELISA. Darüber hinaus wurden auch Autoantikörper gegen C3b und fB als ursächlich für die autoimmune Form der MPGN festgestellt [10]. Ähnlich wie beim aHUS können auch bei der MPGN Mutationen im fH Gen Ursache für die Dysregulation der lokalen Komplementaktivierung in der Niere sein.

Das **Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom** ist gekennzeichnet durch rezidivierende Aborte und Thrombosen. Die Rolle der Komplementaktivierung bei dieser Krankheit wurde mehrfach bestätigt [43]. Therapeutisch wird Heparin gegeben, welches unter anderem durch Verstärkung der Regulatorfunktion von C1-inh und fH die Komplementaktivierung reduziert.

Zwei der häufigsten Erkrankungen der heutigen Zeit sind **Allergie und Asthma**. Offensichtlich sind Anaphylatoxine und deren Rezeptoren an der Pathogenese von Asthma maßgeblich beteiligt [22].

Die Bedeutung des Komplementsystems in der humoralen Abstoßungsreaktion von **Transplantaten** ist unbestritten [18]. Dabei kommt es zuweilen zur Bildung von Anti-Donor-Antikörpern. Diese Anti-Donor Antikörper und der durch Antikörperbindung aktivierte klassische Weg tragen zur Organschädigung bei. Diagnostisch hat sich C4d als in situ Marker der humoralen Abstoßung in Transplantatbiopsien als prognostischer Faktor etabliert [44]. Die prophylaktische Gabe von Eculizumab bei Risikopatienten wird zunehmend in Erwägung gezogen.

Analytik des Komplementsystems (s. auch: [1])

Eine Komplementdiagnostik sollte der Beantwortung folgender Fragen dienen:

1. Besteht ein Komplementdefekt?
2. Trägt eine überschießende Komplementaktivierung oder eine Fehlregulation zur Krankheitsentwicklung bei?

Ein Algorithmus zur Komplementdiagnostik ist in Abbildung 2 dargestellt.

Globaltests

Orientierend sollte bei jeder Komplementdiagnostik zunächst die Gesamtaktivität des klassischen (CH50) und alternativen (AH50) Weges bestimmt werden. Diese Globaltests informieren über die Integrität der gesamten Komplementkaskade. Eine fehlende oder stark reduzierte Aktivität weist auf einen primären Komplementdefekt hin, kann jedoch auch Folge eines durch erhöhten Verbrauch bedingten sekundären Defektes sein. Die Analyse von Parametern, die auf eine spezifische Aktivierung hindeuten, muss sich daher in solchen Fällen anschließen.

Die Globaltests werden meist als hämolytische Ansätze durchgeführt. Antikörperbeladene Schafserthrozyten aktivieren den klassischen Weg in der zu testenden Probe, was bei intaktem Komplementsystem zur Hämolyse der Erythrozyten führt. Die „50“ hinter den jeweiligen Testnamen weist darauf hin, dass als Ergebnis der Tests die Serumverdünnung angegeben wird, bei der 50% der eingesetzten Erythrozyten lysiert werden. Bei der Analyse des Alternativweges werden der klassische und der Lektin-Weg durch Ca²⁺-komplexierendes EGTA blockiert. Zur funktionellen Analyse einzelner Komplementproteine stehen seit einigen Jahren Defektseren zur Verfügung, denen das zu bestimmende Protein fehlt. Hier wird die Fähigkeit der Patientenprobe untersucht, die hämolytische Aktivität des Testserums wiederherzustellen.

Für die Defektanalytik wurde ein ELISA entwickelt, der alle drei Aktivierungswege parallel untersucht [45]. Diese Methode hat zum Vorteil, dass sie nicht auf stabile Testerythrozyten angewiesen und zeitlich weniger aufwändig ist als die hämolytischen Tests.

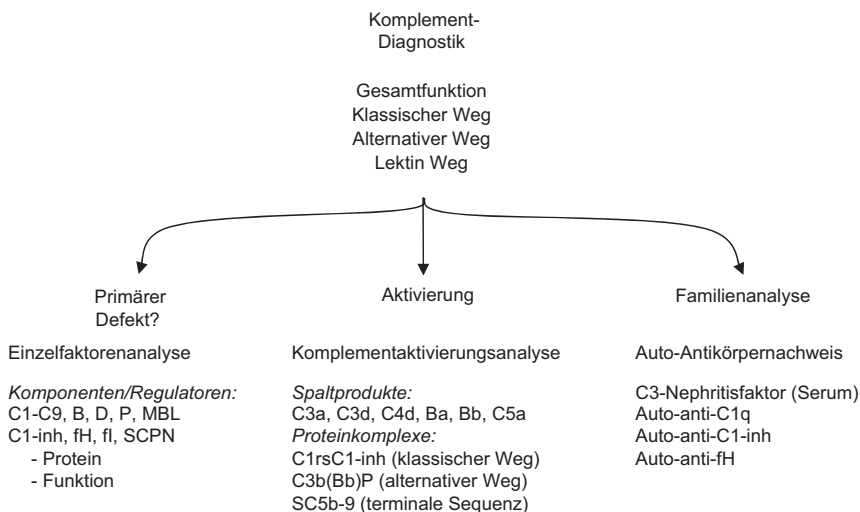


Abbildung 2 Algorithmus der Komplementdiagnostik.

Die noch in vielen Kliniken durchgeführte Untersuchung der Plasmakonzentrationen einzelner Komplementkomponenten, wie C3 und C4, erfasst sowohl native als auch aktivierte, d.h. bereits „verbrauchte“ Proteine. Sie wird zudem stark beeinflusst durch Syntheschwankungen wie beispielsweise bei der Akut-Phase-Reaktion und ist daher von nur eingeschränkter Aussagekraft.

Messung von Aktivierungsprodukten

Mit der Verfügbarkeit monoklonaler Antikörper gegen aktivierungsspezifische Neopeptide wurde die Entwicklung einfacher Nachweissysteme für Komplementaktivierungsprodukte wie z.B. der Anaphylatoxine [46], von Bb sowie der löslichen Proteinkomplexe C1rsC1-inh, C3b(Bb)P und SC5b-9 im Plasma und anderen Körperflüssigkeiten möglich. Durch die Wahl des geeigneten Parameters lässt sich genau feststellen, welcher Weg aktiviert wurde. So deuten erhöhte Plasmaspiegel an C4a oder C4d auf eine Aktivierung des klassischen Weges. Überdies bindet der C1-inh an aktiviertes C1r und C1s, so dass der Komplex C1rs-C1-inh nachweisbar wird. C3bBbP-Komplexe oder aktivierter fB (Ba oder Bb) eignen sich zur Bestimmung einer Aktivierung des alternativen Weges und die Bindung von C4-Spaltprodukten an immobilisierter Mannose unter Blockade des klassischen Weges dient als indirekter Marker des aktivierten Lektin-Weges. Wie C3a oder C3d kann der terminale Komplex SC5b-9 als Globalmarker der Komplementaktivierung bestimmt werden.

Essentiell für ein korrektes Ergebnis ist die Probengewinnung. EDTA in ≥ 10 mM Endkonzentration ist das standardmäßig benutzte Antikoagulum [47], da es durch seine Mg^{2+} und Ca^{2+} komplexierenden Eigenschaften die *in vitro* Aktivierung des Komplementsystems blockiert. Heparin und Zitrat sind dazu weniger geeignet. Das zentrifugierte Plasma kann bei Analyse am selben Tag im Eisbad oder Kühlschrank aufbewahrt werden, bei späterer Verarbeitung sollte die Probe aliquotiert und bei $-70^{\circ}C$ (kurzfristig auch bei $-20^{\circ}C$) tiefgefroren gelagert werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren sollte wegen der Gefahr der *in vitro* Aktivierung vermieden werden. Der Versand des gefrorenen Probenmaterials sollte auf Trockeneis erfolgen. Die Messung aktivierter Komplementkomponenten oder von Spaltprodukten im Urin kann durch hohe Mengen an Harnstoff und Urinproteasen beeinträchtigt werden, so dass die Zugabe von Proteinaseinhibitoren erforderlich ist.

Nachweis von Komplementproteinen im Gewebe

Die Diagnostik vieler Autoimmun- oder Immunkomplexerkrankungen basiert auf dem Nachweis von Immunglobulinen und Komplementablagerungen in verschiedenen Geweben. Zur immunhistologischen Diagnostik sind Antikörper gegen C3b, C4b, C4d und C5b-9 geeignet. Sie erlauben eine Differenzierung der involvierten Komplementaktivierungswege und geben einen Hinweis auf die Krankheitsaktivität. Die Anwesenheit von C3b deutet auf

eine floride Entzündung hin, während C3d-Ablagerungen bei Fehlen von C3b auf einen bereits abgelaufenen Prozess hinweist.

Wichtig ist eine sorgfältige Verarbeitung des Gewebes, um die Antigenstrukturen zu konservieren und unspezifische Reaktionen zu vermeiden.

Nachweis von Komplementproteinen auf Blutzellen

Agglutinationsassays zur Detektion von an Blutzellen gebundenen Komplementproteinen sind im Bereich der Immunhämatologie und Transfusionsmedizin von Bedeutung. Die Bestimmung von Erythrozyten-gebundenen Komplementkomponenten ist bei der Differenzierung autoimmunhämolytischer Anämien hilfreich. Auf Erythrozyten von Patienten mit Kälteagglutininen ist unter Raumtemperaturbedingungen C3b und C4b und nur in Ausnahmefällen (z.B. bei hoher Temperatur-Amplitude) der Kälteautoantikörper selbst nachweisbar.

Genetische Analyse des Komplementsystems

Polymorphismen in den Komplement-Genen sind mit verschiedenen Krankheiten assoziiert. Im Fall der AMD wurde eine starke Assoziation zwischen der Expression der Y402H Variante im fH Gen und einer Risikohöherung für die Entwicklung dieses Krankheitsbildes gesehen [48, 49].

Das atypische hämolytisch-urämische Syndrom ist häufig mit Mutationen von Komplementproteinen (C3, fB) und von Komplementregulatoren (fI, MCP, fH) assoziiert. Der genetische Hintergrund ist prädiktiv bezüglich des Wiederauftretens der Erkrankung nach einer Nierentransplantation [50].

Komplement als Parameter der Biokompatibilität

Biomaterialien werden als Bestandteile von Medizinprodukten teilweise millionenfach eingesetzt: Katheter, Stents, Führungsdrähte, Kanülen, Dialysemembranen und Plasmapheresegeräte, Medikamentenpumpen, Herz-Lungen-Maschinen, Herzschrittmacher, Herzklappen, Gefäßprothesen. Angestrebt wird, dass sich das verwendete Material bei Kontakt mit Patientengewebe inert verhält.

Wenn Biomaterialien mit Blut in Kontakt kommen, binden sie sofort Plasmaproteine. Da diese Fremdoberflächen keine Regulatorproteine aufweisen, kommt es oftmals zur Aktivierung des Gerinnungs- und des Komplementsystems. Die Folge können entzündliche Reaktionen und Thrombosierung [51] sein. Die Aktivierung des Komplementsystems, die während Hämodialyse auftritt, führt zu einer Ausschüttung von Thromboplastin und somit zu einem thrombogenen Zustand. Eine Blockade der Komplementaktivierung reduziert die Thromboplastinausschüttung [52].

Um die Biokompatibilität zu erhöhen können Materialien mit Heparin beschichtet werden, was über die Adsorption von Komplementregulatoren an das beschichtete Material zu einer Reduktion der Komplementaktivierung führt [27]. Darüber hinaus führen lösliche Komplementinhibitoren zur

Reduktion der Komplementaktivierung im Blut, das mit Fremdoberflächen in Berührung kommt. Dies reduziert die Ausschüttung proinflammatorischer und prokoagulatorischer Mediatoren [52].

Experimentelle Ansätze des molecular imprinting haben zum Ziel, durch veränderte Oberflächenbeschaffenheit der Materialien ohne weitere Beschichtung Komplementregulatoren anzuhafte. Vorteilhaft hierbei ist die Unabhängigkeit von pH-Wert, Temperatur und sonstigen Bedingungen. Ein anderer Ansatz ist die Veränderung der Nanostruktur, um durch die Porengröße der Materialien die Bildung der Konvertasen und somit die Komplementaktivierung zu verhindern [53].

Therapeutische Komplementinhibition

Eine Fülle tierexperimenteller Studien belegt die therapeutische Wirksamkeit von Eingriffen in das Komplementsystem. Hierfür werden monoklonale Antikörper, lösliche rekombinante Regulatorproteine, Rezeptor-Antagonisten und niedrigmolekulare Inhibitoren verwendet [54, 55] Bisher sind nur wenige der verfügbaren Komplementmodulatoren klinisch getestet worden.

HAE, PNH und aHUS sind die Indikationen, für die aktuell komplementmodulierende Therapeutika zugelassen sind. HAE wird erfolgreich mit C1-Inhibitor-Konzentraten (z.B. Berinert, Cinryze) behandelt. Bei der PNH und aHUS ist der humanisierte monoklonale anti-C5 Antikörper, Eculizumab, wirksam. Dieser Antikörper verhindert die Bildung der Anaphylatoxine und unterbindet die Entstehung des lytischen Membranangriffskomplexes. Eine Aktivierung von Komplement, z.B. durch pathogene Mikroorganismen mit der Möglichkeit einer Opsonisierung, ist von diesem Komplementinhibitor jedoch nicht betroffen. Bei Patienten, die in Folge einer Infektion mit Shiga-Toxin produzierenden *E. coli* ein hämolytisch-urämisches Syndrom entwickelt haben (STEC-HUS), führte die Therapie mit diesem Antikörper nach Versagen etablierter Therapien ebenfalls zu einer substantiellen Besserung. Beim STEC-HUS besteht im Gegensatz zum aHUS nur selten eine genetische Prädisposition durch Mutationen der Komplementregulatoren. Zwei Wochen vor der Gabe von Eculizumab sollte eine Meningokokken-Impfung durchgeführt werden.

Es gilt zu bedenken, dass eine komplette Langzeitinhibition des Komplementsystems als Nebenwirkung den Phänotyp einer Komplement-Defizienz haben kann. Im Idealfall sollte zwar die überschießende Aktivierung abgeschaltet werden, gleichzeitig aber grundlegende Funktionen der Infektabwehr erhalten bleiben. Durch Gewebetargeting versucht man, ohne Beeinflussung von gesundem Gewebe die Komplementinhibition nicht nur zielgenau, sondern auch mit geringerer Dosierung zu ermöglichen.

Ausblick

Das Komplementsystem spielt in einer Fülle physiologischer und pathophysiologischer Prozesse eine entscheidende

Rolle. Daher ist es unabdingbar, Störungen des Komplementsystems in die Differentialdiagnose einzubeziehen und diesem System nicht nur in der Forschung, sondern auch in der Klinik mehr Aufmerksamkeit zu schenken. So können über ein tieferes Verständnis der pathophysiologischen Bedeutung dieses komplexen Abwehrsystems und dessen moderner Analytik die Therapiemöglichkeiten vieler Erkrankungen grundlegend verbessert werden. In den letzten Jahren hat die moderne Komplementanalytik entscheidend zur Aufklärung pathophysiologischer Prozesse verschiedener Erkrankungen beigetragen und damit auch den Weg für neue effiziente Therapieansätze gebahnt. Durch den Zusammenschluss international führender diagnostischer Labore mit dem Ziel der Qualitätssicherung und Weiterentwicklung wird seit einigen Jahren dem berechtigten Wunsch nach einer qualitativ hochwertigen Komplementanalytik Rechnung getragen (<http://www.iuisonline.org/iuis/index.php/quality-assessment-and-standardization-committee.html>).

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine wirtschaftlichen oder persönlichen Interessenkonflikte bestehen.

Literatur

- Lapeyraque AL, Malina M, Fremaux-Bacchi V, Boppel T, Kirschfink M, Oualha M, et al. Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS. *N Engl J Med* 2011;364:2561–3.
- Mollnes TE, Jokiranta TS, Truedsson L, Nilsson B, Rodriguez de Cordoba S, Kirschfink M. Complement analysis in the 21st century. *Mol Immunol* 2007;44:3838–49.
- Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol* 2010;11:785–97.
- Merino S, Noguera MM, Aguilar A, Rubires X, Alberti S, Benedi VJ, et al. Activation of the complement classical pathway (C1q binding) by mesophilic *Aeromonas hydrophila* outer membrane protein. *Infect Immun* 1998;66:3825–31.
- Turner MW. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 1996;17:532–40.
- Collard CD, Vakeva A, Morrissey MA, Agah A, Rollins SA, Reenstra WR, et al. Complement activation after oxidative stress: role of the lectin complement pathway. *Am J Pathol* 2000;156:1549–56.
- Sacks SH. Complement fragments C3a and C5a: the salt and pepper of the immune response. *European J Immunol* 2010;40:668–70.
- Strey CW, Markiewski M, Mastellos D, Tudoran R, Spruce LA, Greenbaum LE, et al. The proinflammatory mediators C3a and C5a are essential for liver regeneration. *J Exp Med* 2003;198:913–23.
- Gasque P, Singhrao SK, Neal JW, Wang P, Sayah S, Fontaine M, et al. The receptor for complement anaphylatoxin C3a is expressed by myeloid cells and nonmyeloid cells in inflamed human central nervous system: analysis in multiple sclerosis and bacterial meningitis. *J Immunol* 1998;160:3543–54.
- European Society for Immunodeficiencies (ESID). Documented prevalence of PID in Europe. Available at: <http://www.esid.org/statistics>. Accessed 2012 April 1.

11. Zilow G, Joka T, Obertacke U, Rother U, Kirschfink M. Generation of anaphylatoxin C3a in plasma and bronchoalveolar lavage fluid in trauma patients at risk for the adult respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1992;20:468–73.
12. Gerard C. Complement C5a in the sepsis syndrome – too much of a good thing? *N Engl J Med* 2003;348:167–9.
13. Ward PA. The dark side of C5a in sepsis. *Nat Rev Immunol* 2004;4:133–42.
14. Appel GB, Cook HT, Hageman G, Jennette JC, Kashgarian M, Kirschfink M, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis type II (dense deposit disease): an update. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1392–403.
15. Proctor LM, Arumugam TV, Shiels I, Reid RC, Fairlie DP, Taylor SM. Comparative anti-inflammatory activities of antagonists to C3a and C5a receptors in a rat model of intestinal ischaemia/reperfusion injury. *Br J Pharmacol* 2004;142:756–64.
16. Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM. The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *Shock* 2004;21:401–9.
17. Karpel-Massler G, Fleming SD, Kirschfink M, Tsokos GC. Human C1 esterase inhibitor attenuates murine mesenteric ischemia/reperfusion induced local organ injury. *J Surg Res* 2003;115:247–56.
18. Asgari E, Zhou W, Sacks S. Complement in organ transplantation. *Current opinion in organ transplantation* 2010;15:486–91.
19. Ji H, Ohmura K, Mahmood U, Lee DM, Hofhuis FM, Boackle SA, et al. Arthritis critically dependent on innate immune system players. *Immunity* 2002;16:157–68.
20. Boos L, Campbell IL, Ames R, Wetsel RA, Barnum SR. Deletion of the complement anaphylatoxin C3a receptor attenuates, whereas ectopic expression of C3a in the brain exacerbates, experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2004;173:4708–14.
21. Eikelenboom P, Hack CE, Rozemuller JM, Stam FC. Complement activation in amyloid plaques in Alzheimer's dementia. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1989;56:259–62.
22. Laumonnier Y, Schmutte I, Kohl J. The role of complement in the diagnosis and management of allergic rhinitis and allergic asthma. *Curr Aller Asthma Rep* 2011;11:122–30.
23. Reza R, Mastellos D, Majka M, Marquez L, Ratajczak J, Franchini S, et al. Functional receptor for C3a anaphylatoxin is expressed by normal hematopoietic stem/progenitor cells, and C3a enhances their homing-related responses to SDF-1. *Blood* 2003;101:3784–93.
24. Markiewski MM, Mastellos D, Tudoran R, DeAngelis RA, Strey CW, Franchini S, et al. C3a and C3b activation products of the third component of complement (C3) are critical for normal liver recovery after toxic injury. *J Immunol* 2004;173:747–54.
25. Botto M, Kirschfink M, Macor P, Pickering MC, Wurzner R, Tedesco F. Complement in human diseases: lessons from complement deficiencies. *Mol Immunol* 2009;46:2774–83.
26. Sjöholm AG, Braconier JH, Soderstrom C. Properdin deficiency in a family with fulminant meningococcal infections. *Clin Exp Immunol* 1982;50:291–7.
27. Mollnes TE. Complement and biocompatibility. *Vox Sanguinis* 1998;74(Suppl 2):303–7.
28. Pickering MC, Botto M, Taylor PR, Lachmann PJ, Walport MJ. Systemic lupus erythematosus, complement deficiency, and apoptosis. *Adv Immunol* 2000;76:227–324.
29. Carroll MC. A protective role for innate immunity in systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Immunol* 2004;4:825–31.
30. Cichon S, Martin L, Hennies HC, Muller F, Van Driessche K, Karpushova A, et al. Increased activity of coagulation factor XII (Hageman factor) causes hereditary angioedema type III. *American J Hum Genet* 2006;79:1098–104.
31. Parker C. Eculizumab for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Lancet* 2009;373:759–67.
32. Nurnberger J, Philipp T, Witzke O, Opazo Saez A, Vester U, Baba HA, et al. Eculizumab for atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009;360:542–4.
33. Esparza-Gordillo J, Goicoechea de Jorge E, Buil A, Carreras Berges L, Lopez-Trascasa M, Sanchez-Corral P, et al. Predisposition to atypical hemolytic uremic syndrome involves the concurrence of different susceptibility alleles in the regulators of complement activation gene cluster in 1q32. *Hum Mol Genet* 2005;14:703–12.
34. Licht C, Weyersberg A, Heinen S, Stapenhorst L, Devenge J, Beck B, et al. Successful plasma therapy for atypical hemolytic uremic syndrome caused by factor H deficiency owing to a novel mutation in the complement cofactor protein domain 15. *Am J Kidney Dis* 2005;45:415–21.
35. Khandhadia S, Cipriani V, Yates JR, Lotery AJ. Age-related macular degeneration and the complement system. *Immunobiology* 2012;217:127–46.
36. Troutbeck R, Al-Qureshi S, Guymer RH. Therapeutic targeting of the complement system in age-related macular degeneration: a review. *Clin Exp Ophthalmol* 2012;40:18–26.
37. Serinsoz E, Bock O, Gwinner W, Schwarz A, Haller H, Kreipe H, et al. Local complement C3 expression is upregulated in humoral and cellular rejection of renal allografts. *Am J Transplant* 2005;5:1490–4.
38. Hecke F, Schmidt U, Kola A, Bautsch W, Klos A, Kohl J. Circulating complement proteins in multiple trauma patients—correlation with injury severity, development of sepsis, and outcome. *Crit Care Med* 1997;25:2015–24.
39. Huber-Lang MS, Riedeman NC, Sarma JV, Younkin EM, McGuire SR, Laudes IJ, et al. Protection of innate immunity by C5aR antagonist in septic mice. *FASEB J* 2002;16:1567–74.
40. Riedeman NC, Guo RF, Neff TA, Laudes IJ, Keller KA, Sarma VJ, et al. Increased C5a receptor expression in sepsis. *J Clin Invest* 2002;110:101–8.
41. Selberg O, Hecker H, Martin M, Klos A, Bautsch W, Kohl J. Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med* 2000;28:2793–8.
42. Rother U. A new screening test for C3 nephritis factor based on a stable cell bound convertase on sheep erythrocytes. *J Immunol Methods* 1982;51:101–7.
43. Holers VM, Girardi G, Mo L, Guthridge JM, Molina H, Pierangeli SS, et al. Complement C3 activation is required for antiphospholipid antibody-induced fetal loss. *J Exp Med* 2002;195:211–20.
44. Cohen D, Colvin RB, Daha MR, Drachenberg CB, Haas M, Nicleleit V, et al. Pros and cons for C4d as a biomarker. *Kidney Int* 2012.
45. Seelen MA, Roos A, Wieslander J, Mollnes TE, Sjöholm AG, Wurzner R, et al. Functional analysis of the classical, alternative, and MBL pathways of the complement system: standardization and validation of a simple ELISA. *J Immunol Methods* 2005;296:187–98.
46. Zilow G, Naser W, Rutz R, Burger R. Quantitation of the anaphylatoxin C3a in the presence of C3 by a novel sandwich

- ELISA using monoclonal antibody to a C3a neoepitope. *J Immunol Methods* 1989;121:261–8.
47. Stove S, Klos A, Bautsch W, Kohl J. Re-evaluation of the storage conditions for blood samples which are used for determination of complement activation. *J Immunol Methods* 1995; 182:1–5.
48. Sofat R, Casas JP, Webster AR, Bird AC, Mann SS, Yates JR, et al. Complement factor H genetic variant and age-related macular degeneration: effect size, modifiers and relationship to disease subtype. *Int J Epidemiol* 2012.
49. Raychaudhuri S, Iartchouk O, Chin K, Tan PL, Tai AK, Ripke S, et al. A rare penetrant mutation in CFH confers high risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2011;43:1232–6.
50. Zuber J, Le Quintrec M, Sberro-Soussan R, Loirat C, Fremeaux-Bacchi V, Legendre C. New insights into postrenal transplant hemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2011;7:23–35.
51. Gorbet MB, Sefton MV. Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. *Biomaterials* 2004;25:5681–703.
52. Kourtzelis I, Markiewski MM, Doumas M, Rafail S, Kambas K, Mitroulis I, et al. Complement anaphylatoxin C5a contributes to hemodialysis-associated thrombosis. *Blood* 2010;116:631–9.
53. Ferraz N, Ott MK, Hong J. Time sequence of blood activation by nanoporous alumina: studies on platelets and complement system. *Micro Res Tech* 2010;73:1101–9.
54. Mollnes TE, Kirschfink M. Strategies of therapeutic complement inhibition. *Mol Immunol* 2006;43:107–21.
55. Ricklin D, Lambris JD. Complement-targeted therapeutics. *Nat Biotechnol* 2007;25:1265–75.