

# Het complementsysteem 'to go' voor de hematoloog

The complement system 'to go' for the hematologist

E.M. Meulenbroek, D. Wouters, F.J. Bemelman en S. Zeerleder

## Samenvatting

Complement is een belangrijk onderdeel van het aangeboren immuunsysteem, dat naast het bestrijden van microbiële infecties ook cruciaal is voor het verwijderen van eigen dode lichaamscellen en immuuncomplexen. Een verstoorde regulatie van dit efficiënte systeem kan leiden tot een ongecontroleerde destructie van eigen lichaamscellen en dus ziekte. Voor de hematoloog zijn paroxysmale nachtelijke hemoglobinurie en atypisch hemolytisch-uremisch syndroom van belang. Dankzij de effectiviteit en beschikbaarheid van complementremmers kunnen deze aandoeningen nu beter worden behandeld. In dit overzichtsartikel wordt kort de fysiologie van het complementsysteem met zijn regulatoren besproken. Op basis hiervan worden de mechanismen en de klinische effecten van de beschikbare complementremmers bij deze 2 ziekten behandeld.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2013;10:288-96)

## Summary

Complement is an important part of the innate immune system that aids in fighting microbial infection as well as in removing own dead body cells. Disturbed regulation of complement can lead to uncontrolled destruction of own body cells and hence to disease. Important for the hematologist are paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and atypical hemolytic uremic syndrome. Due to their efficacy and availability of complement inhibitors, treatment of these diseases has improved considerably. In this review, we discuss the complement system and its regulators. Subsequently, the mechanisms and clinical effects of the available complement inhibitors for the use in these 2 diseases will be described.

## Inleiding in complement

Het complementsysteem bestaat uit 35 tot 40 eiwitten die circuleren in het bloedplasma (vaak in inactieve 'pro'-vorm) of tot expressie komen op celoppervlakken.<sup>1</sup> Pathogene microben, maar ook immuuncomplexen en apoptotische cellen, kunnen complement activeren. Dit leidt tot opsonisatie en dus tot verhoogde fagocytose, en uiteindelijk tot cellulysis. Tijdens de complementactivering komen pro-inflammatoire en vasoactieve mediators, de anafylatoxines, vrij.

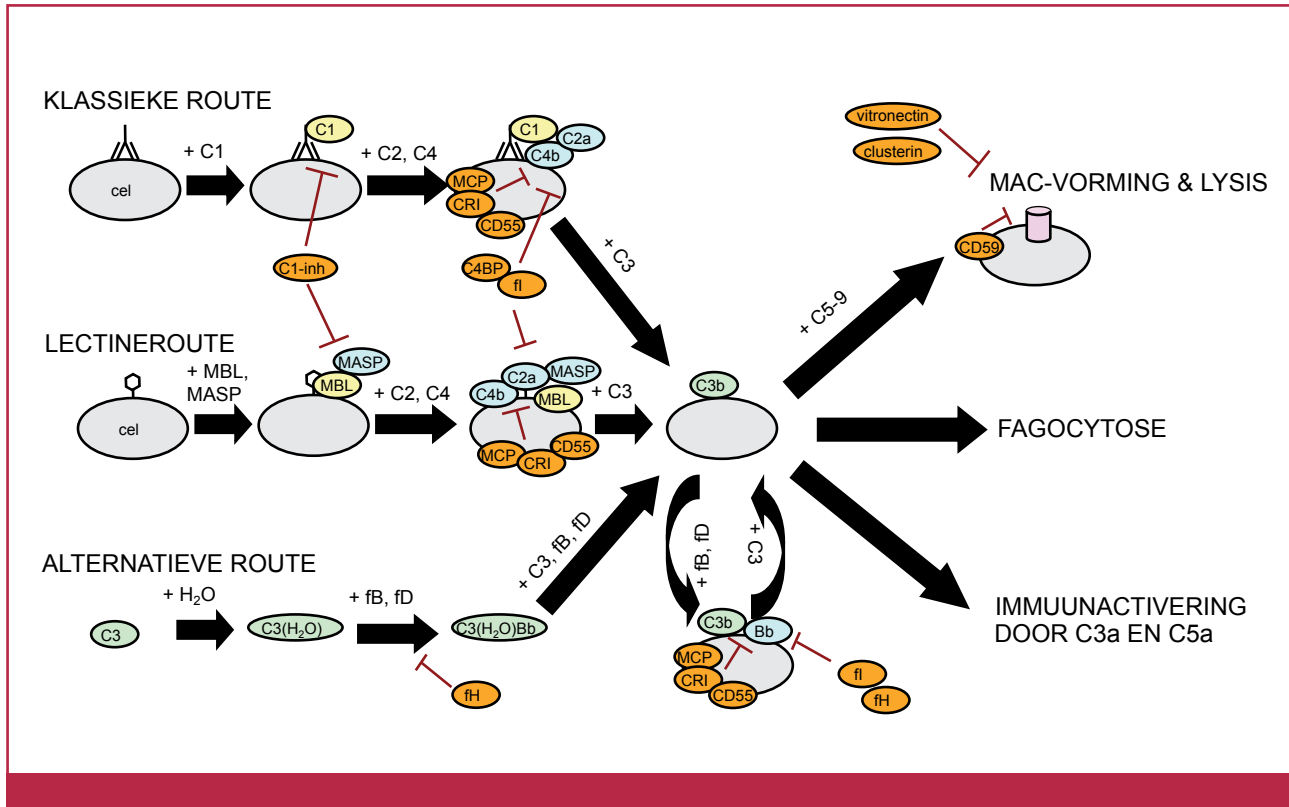
De activering van het complementsysteem kan via 1 van de 3 routes plaatsvinden (zie *Figuur 1*, pagina 289): de

klassieke, de lectine- en de alternatieve route. Alle 3 de routes komen samen bij de vorming van C3-convertase en depositie van C3b, een activatiefragment van C3. Bij de klassieke route bindt C1q aan het Fc-gedeelte van IgG- of IgM-antistoffen die gebonden zijn aan een specifiek antigeen. De binding van C1q leidt tot activering van C1r/C1s, de pro-enzymen van de klassieke route die aan het C1q-molecuul zijn gebonden en zo samen het C1-complex vormen. Het geactiveerde C1s splitst de componenten C4 en C2. Activatiefragmenten van deze 2 eiwitten vormen samen een C3-convertase (C4bC2a) op het oppervlak. Tijdens de activering van C4 komt

**Auteurs:** mw. dr. E.M. Meulenbroek, onderzoeker, mw. dr. D. Wouters, onderzoeker/groepsleider, afdeling Immunopathologie, Sanquin Research en Landsteiner Laboratorium, Academisch Medisch Centrum, Universiteit van Amsterdam, mw. dr. F.J. Bemelman, internist-nefroloog, afdeling Nierziekten, Academisch Medisch Centrum, Universiteit van Amsterdam, dhr. dr. S. Zeerleder, internist-hematoloog/onderzoeker/groepsleider, afdeling Hematologie, Academisch Medisch Centrum, Universiteit van Amsterdam. Correspondentie graag richten aan dhr. dr. S. Zeerleder, afdeling Hematologie, Academisch Medisch Centrum, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam, tel.: 020 566 91 11, e-mailadres: s.s.zeerleder@amc.uva.nl  
Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** atypisch hemolytisch-uremisch syndroom, complement, complementremmers, paroxysmale nachtelijke hemoglobinurie

**Key words:** atypical hemolytic-uremic syndrome, complement, complement inhibitors, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

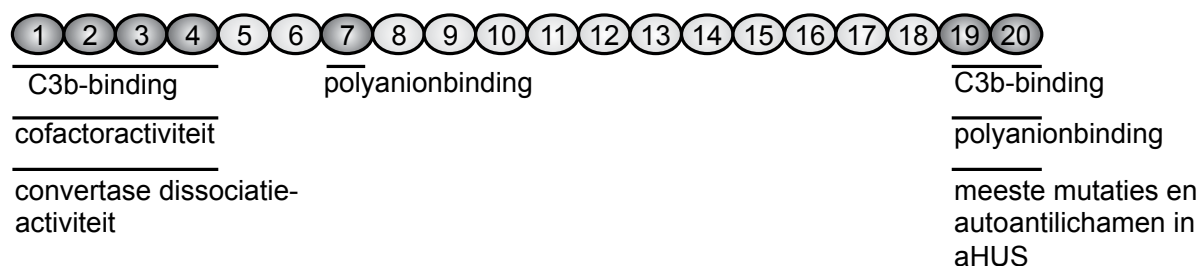


**Figuur 1.** Schematisch overzicht van het complementsysteem, waarin de 3 routes van complementactivatie te zien zijn die samenkomen bij C3-depositie. Complementremmers zijn aangegeven in oranje.

eerst een reactieve thioester beschikbaar in C4b, dat vervolgens covalent kan binden aan vrije amino- of hydroxylgroepen op het oppervlak van de activator. Bij de lectineroute herkent mannose-bindende lectine (MBL) of ficoline bepaalde koolhydraten (zoals D-mannose, N-acetylglucosamine en glucose) op het oppervlak van pathogenen, wat leidt tot activering van MBL-geassocieerde serineprotease 2 (MASP2). MASP2 activeert op zijn beurt C4 en C2 en dat leidt tot vorming van de C3-convertase C4bC2a. De door de klassieke en/of lectineroute gevormde C3-convertase splitst C3 in C3a en C3b, waardoor een reactieve thioester beschikbaar komt in het C3b-fragment, waarmee het covalent kan binden op het oppervlak van de activator. De alternatieve route kan worden geïnitieerd door een in het plasma continu plaatsvindende, spontane hydrolyse van de thioester in C3, waardoor C3(H<sub>2</sub>O) ontstaat. C3(H<sub>2</sub>O) heeft een conformatie die lijkt op die van geactiveerd C3 (C3b) en kan daardoor (net als C3b) binden aan factor B (fB). Factor D (fD) kan aan C3(H<sub>2</sub>O) gebonden fB knippen in Bb en Ba, waarbij een 'fluid-phase' C3-convertase (C3(H<sub>2</sub>O)Bb) kan worden gevormd. Deze 'fluid-phase' C3-convertase kan C3 activeren en het hierbij gevormde C3b kan ofwel binden op een nabijgelegen

oppervlak via de vrijgekomen thioester (zie boven) of snel worden geïnactiveerd door hydrolyse. Een via 1 van de beschreven routes gevormd en covalent gebonden C3b op het oppervlak kan weer een ander fB-molecuul binden en een nieuwe C3-convertase (C3bBb) op het oppervlak vormen. De door de 3 routes gevormde aan de oppervlakte gebonden C3-convertases kunnen 'fluid phase' C3 activeren, die weer als C3b op het oppervlak kan binden en samen met geactiveerd fB nieuwe C3-convertases kan vormen. Hierdoor vormt de alternatieve route ook een efficiënte amplificatieroute voor de andere activeringsroutes en deze amplificatielus kan leiden tot depositie van honderden C3b-moleculen op een oppervlak.

Alle routes van complementactivatie komen uit bij C3b-depositie op een oppervlak. C3b-depositie op een pathogeen zorgt voor fagocytose ervan via complementreceptoren (CR1 voor C3b, CR3 en CR4 voor iC3b (geïnactiveerd C3b) en CR1g voor C3b en iC3b). Een deel van het gevormde C3b zal binden aan het C3-convertase zelf, dat hiermee verandert in een C5-convertase (C4bC2aC3b of (C3b)<sub>2</sub>Bb). De C5-convertase splitst C5 in C5a en C5b. Aan C5b zullen vervolgens C6, C7 en C8 binden. C7 en C8 steken met een hydrofoob deel in het



**Figuur 2.** Schematisch overzicht van factor H. De 20 SCR-domeinen zijn afgebeeld als cirkels. De domeinen die het belangrijkst zijn voor de functie van fH zijn aangegeven onder het figuur, net als de domeinen waarin de meeste aHUS-geassocieerde mutaties zijn gevonden en waartegen aHUS-geassocieerde autoantilichamen zijn gericht.

celmembraan en leiden tot een polymerisatie van 10 tot 18 moleculen C9, die samen een porie vormen in het membraan (het membraanaanvalcomplex; MAC). De insertie van MAC in het celmembraan leidt tot lysis en vernietiging van de cel. Tijdens de enzymatische splitting van C4, C3 en C5 komen de anafylatoxines C4a, C3a en C5a vrij. Anafylatoxines zijn vasoactieve stoffen die leiden tot verhoging van de permeabiliteit van bloedvaten en zijn efficiënte chemoattractanten en activatoren van leukocyten (neutrofielen, mestcellen), waarbij C5a verreweg het sterkste effect heeft.

### Regulatie van het complementsysteem

Gezien de efficiëntie van het complementsysteem met zijn amplificatielus is een strikte controle nodig om schade aan het eigen weefsel en de eigen cellen te voorkomen. Op verschillende niveaus van het activatieproces vindt daarom regulatie plaats (zie *Figuur 1*). Er zijn 2 typen regulatoren te onderscheiden: eiwitten in plasma en eiwitten op het membraan van gastheercellen.

#### Complementregulatie in plasma

De klassieke en lectineroute worden geremd door het plasma-eiwit C1-inhibitor (C1-inh).<sup>2</sup> C1-inh is een serineproteaseremmer die C1r/C1s en MASP1 en MASP2 remt en daardoor tot minder activatie van C4 en C2 leidt. Verder bevat plasma factor I (fI), een actieve serineprotease die C3b en C4b kan deactiveren door hen te knippen (naar iC3b en vervolgens C3dg en C3d, en naar C4c en C4d). Factor I heeft hiervoor wel een cofactor nodig en daartoe kunnen enkele hieronder genoemde eiwitten dienen (fH, MCP, C4BP en CR1). C4-bindend eiwit (C4BP) is een plasma-eiwit dat de lectine- en klassieke route remt door enerzijds te binden aan C4b, zo-

dat C2a niet meer kan binden, en anderzijds het al via de klassieke en lectineroute gevormde C3-convertase (C4bC2a) kan dissociëren. Bovendien is C4BP een cofactor voor fI bij de afbraak van C4. Ten slotte zit in plasma factor H (fH), dat de alternatieve route remt door aan C3b te binden en hiermee binding van fB voorkomt. Daarnaast zorgt fH voor versnelde dissociatie van het Bb-fragment uit de C3- of C5-convertase van het alternatieve routecomplex. Factor H is ook een cofactor voor fI bij de afbraak van C3b. Factor H bindt voornamelijk via siaalzuur (en andere polyanionische structuren) aan gastheercellen en beschermt daardoor gastheercellen tegen complementactivatie zonder de werking van complement op pathogenen (die geen siaalzuur hebben) tegen te gaan. fH bestaat uit 20 'short consensus repeat' (SCR)-domeinen, waarvan de eerste 4 van belang zijn voor binding aan C3b en voor zijn remmende activiteit, en de laatste 2 domeinen voor interactie met het oppervlak van gastheercellen en C3b-binding (zie *Figuur 2*). Ook bestaan enkele fH-gerelateerde eiwitten ('factor H related proteins'; FHR). Deze eiwitten spelen waarschijnlijk een rol in complementregulatie, maar hun exacte functie is nog niet duidelijk.<sup>3</sup>

#### Complementregulatie op celoppervlakken

Complementreceptor 1 (CR1/CD35) remt alle complementroutes door C3- en C5-convertases te laten dissociëren en door als cofactor te fungeren voor fI bij de afbraak van C3b. Bovendien is CR1 de voornaamste receptor voor C3b. Via CR1 op erythrocyten worden met complement geopsoniseerde immunocomplexen naar de lever getransporteerd, waar ze worden opgeruimd door fagocyterende cellen. Op het membraan van de meeste gastheercellen komen zowel membraancofactor-

eiwit (MCP/CD46) als 'decay-accelerating factor' (DAF/CD55) voor. MCP fungeert als cofactor voor fl op het membraan en stimuleert dus de afbraak van C3b en C4b door fl.<sup>1</sup> DAF voorkomt de vorming van de C3- en C5-convertases en bevordert de dissociatie van deze convertases.

Lysis door MAC-vorming wordt gereguleerd door protectin (MIRL; CD59). CD59 voorkomt binding van C9 aan het C5b678-complex. De plasma-eiwitten clusterin en vitronectin remmen ook MAC-vorming door (een oplosbare vorm van) C5b67, C5b678 of C5b6789 te binden en zo te inactiveren. Hierdoor kan worden voorkomen dat gevormde C5b67-complexen wegdiffrundieren van hun activerende oppervlak en op een nabije gastheercel een MAC-complex vormen.<sup>4</sup>

### Therapeutische complementremmers voor hematologische complement-gerelateerde ziekten

Aangeboren of verworven defecten van complementregulatie met ongecontroleerde activatie van het complementsysteem als gevolg kunnen leiden tot destructie van circulerende bloedcellen of parenchymcellen. De bekendste voorbeelden van ziekten veroorzaakt door verstoorde complementregulatie zijn paroxismale nachtelijke hemoglobinurie en atypisch hemolytisch-uremisch syndroom. Tot voor kort was een gerichte behandeling van deze ziekten niet mogelijk. De afgelopen jaren zijn nieuwe complementremmers ontwikkeld die al ingang hebben gevonden in de behandeling van patiënten of binnenkort in klinische studies zullen worden getest. Het meest bekende voorbeeld is eculizumab (Soliris®, Alexion Pharmaceuticals), een gehumaniseerde monoklonale antistof die door binding aan C5 de splitsing van C5 remt en dus zowel MAC-vorming als productie van het anafylatoxine C5a voorkomt. De structuur van dit antilichaam is bijzonder: de zware keten bestaat uit constante regio 1 en de scharnierregio van IgG2, en regio 2 en 3 van IgG4, waardoor complementactivatie en Fc-receptorbinding worden voorkomen.<sup>5</sup> Compstatin, een cyclisch tridecapeptide, is een C3-remmer die in vitro en bij primaten effectief complement remt door aan C3 te binden en de enzymatische splitsing naar C3a en C3b voorkomt.<sup>6</sup> TT30 is een chimeer, recombinant eiwit bestaande uit de iC3b,C3d-bindingsdomeinen van CR2 (de eerste 4 SCR-domeinen) en het remmende deel van fH (de eerste 5 SCR-domeinen). Het remt in vitro de accumulatie van C3-fragmenten en MAC-vorming door de alternatieve route, maar het remt niet de klas-

sieke en lectineroute. Ook in preklinische studies bij apen blijkt het de alternatieve route efficiënt te remmen.<sup>7</sup> Het voordeel van TT30 is dat complementactivatie alleen daar wordt geremd waar iC3b of C3d wordt gevormd en dat het systemisch geen effect heeft.

### Paroxismale nachtelijke hemoglobinurie

Paroxismale nachtelijke hemoglobinurie (PNH) is een voorbeeld van een ziekte veroorzaakt door een defect in complementregulatie. De ziekte wordt gekarakteriseerd door intravasculaire lysis van rode bloedcellen die leidt tot hemolytische anemie. PNH is vaak geassocieerd met beenmergfalen, zoals aplastische anemie of myelodysplastisch syndroom. Het is een zeldzame ziekte met een incidentie van 1,3/10<sup>6</sup> per jaar en een gemiddelde overleving van ongeveer 20 jaar.<sup>8</sup>

PNH is het gevolg van een verworven mutatie in het gen dat codeert voor het *fosfatidylinositolglycaan A*-gen (*PIG-A*; op het X-chromosoom) in een kloon van een hematopoëtische stamcel. *PIG-A* codeert voor 1 van de enzymen die betrokken zijn bij de biosynthese van glycosylfosfatidylinositol (GPI), waarmee een reeks eiwitten zoals de complementregulators CD55 en CD59 aan het celoppervlak verankerd zitten. Een mutatie in het *PIG-A*-gen leidt tot een verlaagde expressie van GPI-verankerde eiwitten, waaronder CD55 en CD59. Het ontbreken van CD55 en CD59 op de celoppervlakken maakt de cellen gevoeliger voor destructie, omdat er een ongecontroleerde activatie van het complementsysteem op het niveau van de vorming van de C3-/C5-convertase en de vorming en insertie van het MAC in het celmembraan kan plaatsvinden. Klonale expansie van de cellen met gemuteerde *PIG-A* leidt tot een mozaïek van normale (GPI-bevattende) en abnormale (GPI-deficiënte) cellen in het perifere bloed.

Intravasculaire hemolyse met als gevolg hemoglobinurie zijn de klinische kenmerken van PNH. Deze zijn een directe consequentie van het ontbreken van de GPI-verankerde eiwitten CD55 en CD59. De bij PNH-patiënten vaak voorkomende klachten vermoeidheid, abdominale pijn, slikklachten en erectiele disfunctie berusten op een dystonie van de gladde spieren vanwege de depletie van het vasodilaterend werkende stikstofmonoxide (NO) door het vrijgekomen oxyhemoglobine, dat een hoge affiniteit toont voor NO. Trombo-embolische complicaties dragen significant bij aan de hoge morbiditeit en mortaliteit van PNH. Het mechanisme van het ontstaan van

trombose bij PNH is nog niet helemaal ontrafeld, maar de hemolyse lijkt een belangrijke rol te spelen. Vaak gaat het aantonen van een PNH-kloon hand in hand met meer of minder uitgesproken beenmergfalen, zoals aplastische anemie of myelodysplastisch syndroom. De grootte van de kloon waarin de GPI-verankerde eiwitten op cellen ontbreken, wordt met monoklonale antistoffen (anti-CD55/59) of met 'fluoresceïn-labeled proaerolysin variant' (FLAER) bepaald door middel van hoge resolutie flowcytometrie. Gezien het feit dat, in tegenstelling tot de andere GPI-deficiënte cellen, neutrofielen ondanks het ontbreken van CD55 en CD59 minder gevoelig zijn voor complement-gemedieerde lysis, wordt op basis van de GPI-deficiënte neutrofielenpopulatie de kloongrootte bepaald. De PNH-kloongrootte is naast de klinische verschijnselen en de uitslag van het beenmergonderzoek belangrijk om de ziekte volgens de 3 van de 'PNH Interest Groep' (organisatie geïnteresseerd in uitbreiding kennis over PNH) voorgestelde subcategorieën in te delen. Er wordt een onderscheid gemaakt tussen 'klassieke PNH', 'PNH in het kader van een beenmergziekte' en 'subklinische PNH'.

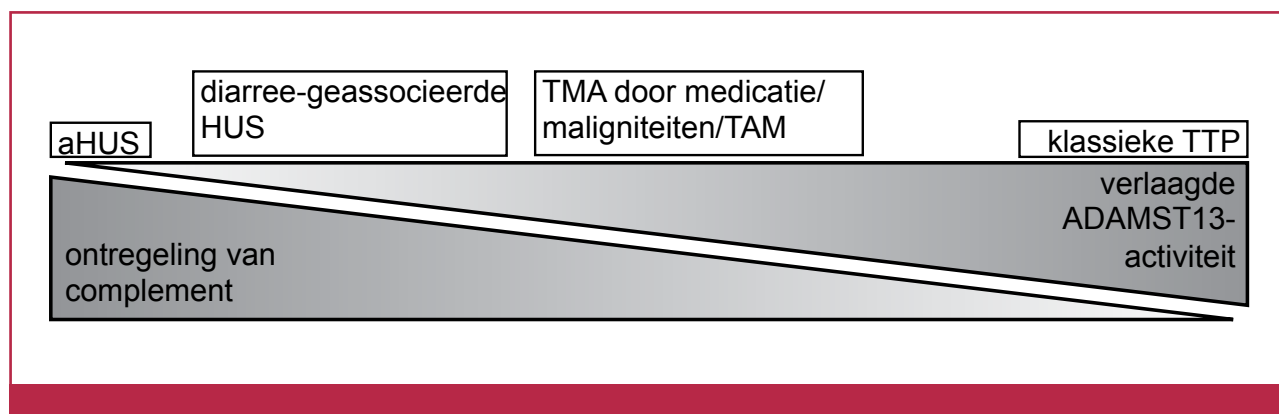
Aangezien de gevolgen van de hemolyse een significante bijdrage leveren aan de complicaties van PNH-patiënten, lijkt een behandeling met een complementremmer een 'sine qua non'. De behandeling met de complementremmer eculizumab heeft de langetermijnprognose en overleving van PNH-patiënten significant verbeterd. Eculizumab remt de enzymatische splitsing van C5 en dus de vorming van MAC en de introductie ervan in het celmembraan. Het voorkomt op deze manier hemolyse. Uit een retrospectieve studie met 79 patiënten bleek dat behandeling met eculizumab leidt tot minder intravasculaire lysis (resulterend in normale LDH) en dat 50-66% van de patiënten transfusieafhankelijk wordt. De behandeling met eculizumab leidde tot een significante vermindering van het risico op trombose.<sup>9</sup> Bovendien verbeterden de door de dystonie van de gladde spieren veroorzaakte klachten na behandeling met eculizumab. Voor aanvang van een behandeling met eculizumab moeten de patiënten worden gevaccineerd tegen *Neisseria meningitidis*. De activatie van de alternatieve route met de vorming en introductie van MAC in het celmembraan van *Neisseria* is een cruciaal aangeboren mechanisme om *Neisseria*-infecties te bestrijden. Dit aangeboren mechanisme wordt door de remming van C5 door eculizumab uitgeschakeld.<sup>10</sup> Eculizumab is in Nederland geregistreerd voor de indicatie 'PNH'. De kosten voor deze behande-

ling zijn echter hoog, wat gezien de bezuinigingen in de gezondheidszorg ondanks de registratie van het geneesmiddel de beschikbaarheid in Nederland in de praktijk duidelijk beperkt.

Hoewel eculizumab bij de meerderheid van de patiënten effectief bleek in klinische onderzoeken, bleef een deel van de patiënten transfusieafhankelijk. Deze patiënten vertoonden nog een positieve directe antiglobulinetest voor C3d. Dit is te wijten aan het feit dat eculizumab de activatie van C5 remt, maar de activatie van C3 via de alternatieve route niet beïnvloedt, waardoor nog steeds C3b-depositie op het celmembraan kan plaatsvinden en dus ook extravasculaire lysis.<sup>11</sup> Daarom lijkt een gerichte remming van C3 een aantrekkelijke mogelijkheid. Kandidaten hiervoor zijn TT30 en compstatin, die nu in ontwikkeling zijn, aangezien beide complement remmen op het niveau van C3. Compstatin remt al het in het bloed aanwezige C3, terwijl TT30 alleen complementremming geeft op plaatsen waar al C3-depositie heeft plaatsgevonden. Het laatste is aantrekkelijk om problemen als verhoogde kans op infecties te beperken.

### Atypisch hemolytisch-uremisch syndroom

Atypisch hemolytisch-uremisch syndroom (aHUS) is een ander voorbeeld van een ziekte veroorzaakt door een defect in complementregulatie. Het valt onder de trombotische micro-angiopathieën (TMA), wat de overkoepelende naam is voor een syndroom dat wordt gekarakteriseerd door een Coombs-negatieve micro-angiopathische hemolytische anemie met fragmentocyten in het perifere bloeditrijkje en trombocytopenie. Verdere klinische symptomen die vaak voorkomen zijn koorts, neurologische klachten (van verwardheid tot insult), nierinsufficiëntie, cardiale ischemie en pancreatitis. In het verleden werd vaak geprobeerd op basis van de kliniek TMA onder te verdelen als trombotische trombocytopenische purpura (TTP) of HUS; de aanwezigheid van neurologische klachten pleitte meer voor TTP, het optreden van nierinsufficiëntie of nierfalen werd meer geassocieerd met HUS. Er is echter gebleken dat deze 2 entiteiten klinisch maar moeilijk zijn te onderscheiden en dat ze daarom beter onder de paraplu TMA kunnen worden samengevat (zie *Figuur 3*). In 1998 werd een verlaagde activiteit van de Von Willebrand (vWF) 'cleaving protease' (A disintegrin and metalloprotease with a thrombospondin type 1 motif member 13'; ADAMTS13) beschreven bij patiënten met een



**Figuur 3.** Weergave van het spectrum van trombotische micro-angiopathie (TMA) met aan de ene kant aHUS (met een defect in de complementregulatie als oorzaak) en aan de andere kant klassieke TTP (met een sterk verlaagd ADAMST13-niveau als oorzaak). Daartussen zit een grijs gebied dat beter als TMA kan worden aangeduid (vaak veroorzaakt door een andere ziekte), waarbij vaak een verlaagde ADAMST13-activiteit wordt gemeten, maar niet zo laag om tot klassieke TTP te worden gerekend. Diarreegeassocieerde HUS wordt veroorzaakt door infectie met Shiga-‘like’ toxineproducerende bacteriën, zoals *E. coli*, en de daarbijbehorende complementhyperactivering. TAM=transplantatie-geassocieerde micro-angiopathie.

TMA-syndroom. Het aangeboren ontbreken of een verworven verminderde activiteit (door een remmer) van ADAMTS13 is kenmerkend voor ‘klassieke TTP’. Ongeveer 10% van de huidige TMA-syndromen berusten op een ADAMTS13-activiteit van <5% en dus op klassieke TTP. Verder bestaan ziekten die worden gecompliceerd door het optreden van een klinisch TMA-syndroom, maar waar de mate van verlaging van de ADAMTS13-activiteit niet voldoet aan de criteria van klassieke TTP. Vaak worden deze episodes uitgelokt door medicatie, maligniteiten, infecties, of treden ze op na beenmergtransplantaties (transplantatie-geassocieerde micro-angiopathie; TAM).

Het TMA-syndroom met nierinsufficiëntie kan weer worden onderverdeeld in de typische of met diarree (D+) geassocieerde HUS en de atypische niet-diarree (D-) geassocieerde HUS. De typische of D+ HUS komt het meest voor en treedt over het algemeen bij kinderen op. Recentelijk deed zich echter een epidemie voor in Duitsland, waarbij de getroffen personen vooral jonge vrouwen waren. Het wordt veroorzaakt door een infectie met een Shiga-‘like’ toxine producerende *E. coli*-stam. Een typische HUS heeft een aanzienlijke mortaliteit van 9% (meestal tijdens de acute fase van de ziekte), maar de prognose ten aanzien van nierfalen is goed, mits de patiënt door de acute fase heen komt. In 5 tot 10% van de gevallen wordt HUS niet veroorzaakt door een bacterie en is dan meestal niet geassocieerd met diarree. Deze aHUS heeft een slechtere prognose met een mortaliteit van 25%. De helft van deze patiënten ontwikkelt terminaal nierfalen.<sup>12</sup>

aHUS kan op elke leeftijd optreden en kan sporadisch of familiegerelateerd zijn. De incidentie van aHUS wordt geschat op 3/10<sup>6</sup> per jaar.<sup>13</sup>

Bij ongeveer de helft van de aHUS-patiënten is sprake van een mutatie in 1 van de eiwitten van de alternatieve route van complement. Mutaties en polymorfismen zijn gevonden in fH, fI, MCP, fB, C3 en trombomodulin.<sup>14,15</sup> Deze mutaties leiden tot een verminderde regulatie van de alternatieve route-activatie met als gevolg destructie van cellen door het introduceren van het MAC-complex en (door C5a-generatie) verhoogde influx van neutrofielen die door degranulatie nog extra schade veroorzaken. In het bijzonder de nier wordt ernstig aangetast. De glomerulaire basaalmembranen bevatten weinig tot geen membraan-gebonden complementregulatie-eiwitten en is daardoor meer afhankelijk van fH voor de bescherming tegen complementactivatie via de alternatieve route. Het ontbreken van functionele regulatoren leidt tot een ongecontroleerde activatie van de alternatieve route en destructie van glomerulus. Endotheelcellen zijn bovendien erg gevoelig voor MAC-geïnduceerde lysis. De kapotte endotheelcellen leiden tot stollingsactivatie met fibrinevorming, fragmentatie van erythrocyten en activatie en verbruik van trombocyten. Histologisch wordt dit gereflecteerd door trombocytrijke microtrombi in de capillairen en arterioles met als gevolg ischemie en necrose van het nierparenchym.<sup>16</sup>

De meest voorkomende mutaties in aHUS (~25%) zijn mutaties in fH (zie Tabel 1).<sup>13</sup> Deze zijn meestal hetero-

**Tabel 1.** Overzicht van de meest voorkomende mutaties in complementfactoren die leiden tot aHUS met hun locatie, frequentie en ziektemechanisme. Aangepast van referentie 24.

Mutatie	Locatie	Gevolg	Frequentie (%)
fH	plasma	verminderde remming	20-30
fI	plasma	verminderde remming	2-12
fB	plasma	meer activatie	1-2
C3	plasma	meer activatie	5-10
MCP	membraan	verminderde remming	10-15
trombomodulin	membraan	verminderde remming	5

zygoot en vaak in het C-terminale deel, waarmee fH bindt aan het oppervlak van gastheercellen of aan de glomerulaire basaalmembraan. Disfunctioneel fH met een mutatie in het C-terminale deel stimuleert dan nog wel C3b-afbraak in het plasma, maar remt niet de complementactivatie op celwandniveau. Andere mutaties kunnen leiden tot verminderde expressie van fH. Mutaties in MCP komen bij 10% van de aHUS-gevallen voor en leiden tot een verminderde expressie van MCP, waardoor gastheercellen minder worden beschermd tegen complement. Met aHUS-geassocieerde mutaties in fI (~5%) leiden tot ziekte door verminderde secretie of verminderde activiteit van fI en daardoor verminderde afbraak van C3b, dus ook wanneer dit spontaan wordt geactiveerd in de alternatieve route.<sup>17</sup> Verder kan aHUS worden veroorzaakt door mutaties in trombomodulin (~5%), een anti-coagulant eiwit op het oppervlak van gastheercellen dat normaal gesproken in samenwerking met fH de inactivering van C3b door fI stimuleert.<sup>15</sup> 'Gain-of-function'-mutaties bij aHUS-patiënten zijn gevonden in fB (~1%) en die leiden tot verhoogde activiteit van de alternatieve route door toegenomen stabiliteit en activiteit van de C3bBb-C3-convertase. C3-mutaties (~10%) kunnen aHUS veroorzaken door de gevoeligheid van C3 voor inactivering door MCP of fH te verminderen.<sup>17</sup> Ten slotte kan aHUS optreden door de vorming van autoantistoffen tegen het C-terminale deel van fH. De vorming van deze autoantistoffen is geassocieerd met homozygote chromosomale deleties van FHR1 en FHR3.<sup>18</sup> Mutaties in complementregulatiegenen kunnen ook worden gevonden bij gezonde familieleden: de penetrantie van de ziekte is 50-60%. Wellicht zijn combinaties van mutaties en polymorfismen ('aHUS-prone genotype') in meer dan 1 gen betrokken bij het fenotype, maar waarschijnlijk spelen ook omgevingsfactoren een rol. Bij 77% van de patiënten met een mutatie in fH, fI of

MCP wordt de eerste episode van aHUS uitgelokt door infecties.<sup>19</sup> Ook het optreden van aHUS kort na zwangerschap komt voor.<sup>20</sup>

Voor de diagnose van aHUS is het belangrijk om te screenen voor afwijkingen in complement.<sup>21</sup> Dit kan door de concentraties van de complementcomponenten C3, C4 en fB in plasma te meten met behulp van nefelometrie, door de concentraties van fH en fI in plasma te meten met ELISA en door MCP-expressie op granulocyten te meten met FACS. Antilichamen tegen fH kunnen worden gedetecteerd met ELISA, hoewel dit in de praktijk meestal niet gebeurt. Verder is een functionele assay beschreven voor fH die is gebaseerd op een hemolytische assay met schapenerythrocyten. Na incubatie met humaan serum, zijn schapenerythrocyten beschermd tegen lysis doordat fH aan het celoppervlak bindt via siaalzuur. Bij defecten in fH zullen de cellen wel lyseren. Mutatiescreening voor de genen betrokken bij aHUS kan plaatsvinden door 'direct sequencing', hoewel bij een deel van de aHUS-patiënten geen mutatie kan worden gevonden (minder dan de helft). Het is verder aan te raden om ADAMTS13-activiteit te bepalen om klassieke TTP uit te sluiten.

Aangezien het nierfalen doorgaans snel progressief is en er een hoge mortaliteit bestaat, is het onmiddellijk starten van een behandeling een 'sine qua non'. Dit kan de mortaliteit en morbiditeit van de ziekte aanzienlijk verminderen. Behandeling bestaat uit plasmaferese; hierbij worden de ontbrekende en/of disfunctionele complementregulators vervangen.<sup>22,23</sup> Plasmaferese dient echter ook verse complementfactoren toe. Vaak moeten deze patiënten chronisch plasmaferese ondergaan, een behandelingstraject dat voor patiënt (en familie) belastend is. Bovendien ontvangen deze patiënten grote hoeveelheden

## Aanwijzingen voor de praktijk

- 1.** In het complementsysteem zijn 3 activeringspaden die leiden tot activatie van C3 en C5 en uiteindelijk tot het introduceren van het membraanaanvalscapex in het celmembraan.
- 2.** Het complementsysteem wordt strak gereguleerd door plasma- en membraanverankerde regulatorie eiwitten.
- 3.** Paroxismale nachtelijke hemoglobinurie (PNH) en atypisch hemolytisch-uremisch syndroom (aHUS) worden veroorzaakt door een verstoring in complementregulatie.
  - a)** Bij PNH is er een gebrek aan membraanverankerde regulatoren (GPI-verankerd CD55 en CD59) wat tot lysis van met name rode bloedcellen en -plaatjes leidt.
  - b)** Bij aHUS is er sprake van een gebrek of disfunctie van met name plasmaregulatoren van de complementactivering (vooral factor H), wat uiteindelijk leidt tot celschade, hemolyse en nierfalen.
- 4.** Therapeutische complementremmers zijn werkzaam bij beide ziekten. Eculizumab is geregistreerd voor beide indicaties.

plasma met alle hieraan verbonden mogelijke complicaties (allergische reacties, TRALI, infectieuze complicaties enzovoort). Patiënten met aHUS als gevolg van een mutatie in het MCP hebben geen baat bij plasmaferese.

Een aanzienlijk percentage van patiënten met aHUS ontwikkelt uiteindelijk chronisch nierfalen en moet worden gedialyseerd. Niertransplantatie, over het algemeen de beste behandeling van eindstadium nierfalen, leidt bij aHUS-patiënten dikwijls tot transplantaatfalen als gevolg van een recidief van aHUS in de transplantaatnier. Recidieven treden op bij 15-20% van patiënten met een MCP-mutatie en bij 50-100% van patiënten met een mutatie in 1 van de plasmacomplementregulatoren.<sup>24</sup> Recentelijk is eculizumab in de behandeling van aHUS geregistreerd. Er is een aantal succesvolle verslagen voor het gebruik van eculizumab in aHUS. Een fase II-studie toonde aan dat bij behandeling met eculizumab de hemolytische anemie afneemt, het aantal trombocyten omhoog gaat en de nierfunctie beter wordt. De tweewekelijkse intraveneuze toediening is voor de patiënt minder belastend dan chronische plasmaferese. Binnenkort kunnen patiënten ook thuis worden behandeld. Deze behandeling van aHUS in de posttransplantatieperiode verbetert de functie van het transplantaat en dus de langetermijnprognose van deze patiënten.

### Conclusie

Complement is een cascadesysteem dat tot het aangeboren immuunsysteem hoort. Een strikte regulatie van het complementsysteem is nodig om een ongewilde of

overmatige activatie te voorkomen die kan leiden tot destructie van eigen cellen en weefsel. Gebrek aan complementregulatie kan leiden tot ernstige hemolytische anemieën, zoals PNH en aHUS. De complementremmer eculizumab heeft gezorgd voor een grote verbetering in de behandeling van deze ziekten, doordat het de activatie van C5 remt en tot een vermindering van het MAC leidt en dus tot minder lysis van cellen. Daarnaast wordt de ontstekingsreactie geremd, doordat de vorming van C5a wordt voorkomen. De behandelde patiënten zijn wel vatbaarder voor infecties met meningokokken. Eculizumab is in Nederland voorlopig geregistreerd als weesgeneesmiddel voor de indicatie PNH en aHUS. Voor patiënten met PNH wordt de behandeling momenteel gecoördineerd door dr. P. Muus, (Radboud Universiteit Nijmegen), sinds kort in nauwe samenwerking met de Nederlandse werkgroep PNH. Behandeling met eculizumab laat eerdere stappen van complementactivatie wel intact, wat als groot voordeel heeft dat het immuunsysteem niet ernstig wordt verzwakt door behandeling. Het betekent echter ook dat C3-depositie nog steeds kan optreden – en dus aanleiding geeft tot bijvoorbeeld extravasculaire lysis van erythrocyten – en dat daarom behandeling met eculizumab niet het volledige antwoord is op PNH en aHUS. Andere complementremmers zijn in ontwikkeling, zoals compstatin en TT30, die op C3-niveau ingrijpen.

### Dankwoord

Wij danken prof. dr. M.H.J. van Oers voor het lezen van het manuscript en zijn waardevolle commentaren.



## Referenties

1. Carroll MV, Sim RB. Complement in health and disease. *Adv Drug Del Rev* 2011;63:965-75.
2. Wouters D, Wagenaar-Bos I, Van Ham M, et al. C1 inhibitor: just a serine protease inhibitor? New and old considerations on therapeutic applications of C1 inhibitor. *Expert Opin Biol Ther* 2008;8:1225-40.
3. Skerka C, Zipfel PF. Complement factor H related proteins in immune diseases. *Vaccine* 2008;26(Suppl 8):19-14.
4. Tschopp J, Chonn A, Hertig S, et al. Clusterin, the human apolipoprotein and complement inhibitor, binds to complement C7, C8 beta, and the b domain of C9. *J Immunol* 1993;151:2159-65.
5. Rother RP, Rollins SA, Mojciak CF, et al. Discovery and development of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Nat Biotech* 2007;25:1256-64.
6. Ricklin D, Lambris JD. Compstatin: a complement inhibitor on its way to clinical application. *Adv Exp Med Biol* 2008;632:273-92.
7. Fridkis-Hareli M, Storek M, Mazsaroff I, et al. Design and development of TT30, a novel C3d-targeted C3/C5 convertase inhibitor for treatment of human complement alternative pathway-mediated diseases. *Blood* 2011;118:4705-13.
8. De Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood* 2008;112:3099-3106.
9. Kelly RJ, Hill A, Arnold LM, et al. Long-term treatment with eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sustained efficacy and improved survival. *Blood* 2011;117:6786-92.
10. Hillmen P, Young NS, Schubert J, et al. The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006;355:1233-43.
11. Risitano AM, Notaro R, Marando L, et al. Complement fraction 3 binding on erythrocytes as additional mechanism of disease in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients treated by eculizumab. *Blood* 2009;113:4094-4100.
12. Noris M, Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1035.
13. De Cordoba SR, Tortajada A, Harris CL, et al. Complement dysregulation and disease: from genes and proteins to diagnostics and drugs. *Immunobiology* 2012;217:1034-46.
14. Kavanagh D, Goodship T. Genetics and complement in atypical HUS. *Pediatr Nephrol* 2010;25:2431-42.
15. Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, et al. Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009;361:345.
16. Kerr H, Richards A. Complement-mediated injury and protection of endothelium: lessons from atypical haemolytic uraemic syndrome. *Immunobiology* 2012;217:195-203.
17. Le Quintrec M, Roumenina L, Noris M, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome associated with mutations in complement regulator genes. *Semin Thromb Hemost* 2010;36:641-52.
18. Jozsi M, Licht C, Strobel S, et al. Factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome correlate with CFHR1/CFHR3 deficiency. *Blood* 2008;111:1512-4.
19. Caprioli J, Noris M, Brioschi S, et al. Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108:1267-79.
20. Fakhouri F, Roumenina L, Provot F, et al. Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:859-67.
21. Roumenina LT, Loirat C, Dragon-Durey MA, et al. Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *J Immunol Methods* 2011;365:8-26.
22. Westra D, Wetzels JF, Volokhina EB, et al. A new era in the diagnosis and treatment of atypical haemolytic uraemic syndrome. *Neth J Med* 2012;70:121-9.
23. Taylor CM, Machin S, Wigmore SJ, et al. Clinical practice guidelines for the management of atypical haemolytic uraemic syndrome in the United Kingdom. *Br J Haematol* 2010;148:37-47.
24. Zuber J, Le Quintrec M, Sberro-Soussan R, et al. New insights into postrenal transplant hemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2011;7:23-35.

*Ontvangen 16 maart 2013, geaccepteerd 28 juni 2013.*