

University of Groningen

## Complement modulation in renal replacement therapy

Poppelaars, Felix

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2018

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Poppelaars, F. (2018). *Complement modulation in renal replacement therapy: from dialysis to renal transplantation*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

# **Chapter 12**

---

**Summary, general discussion  
and future perspectives**

## Summary, general discussion and future perspectives

Kidney disease is a key determinant of poor health outcome and thereby has a major impact on health-care costs.<sup>1,2</sup> More than 2 million people worldwide are being treated for end-stage renal disease and the use of renal replacement therapy is expected to rise sharply in the next decade. While renal replacement therapy is a life-saving intervention for patients with end-stage renal disease, the quality of life and the life expectancy of these patients is still far less than the general population.<sup>3</sup> Chronic inflammation caused by renal replacement therapy is increasingly recognized as a potential mechanism that significantly contributes to the morbidity and mortality seen in these patients. The complement system is an essential part of the immune response.<sup>4</sup> Complement activation is a direct cause and aggravating factor in the pathogenesis of renal diseases.<sup>5</sup> Moreover, the complement system is activated during renal replacement therapy.<sup>5</sup> Further investigations of the complement system in renal replacement therapy can uncover valuable information to expand our understanding, to predict outcome and possibly to identify novel therapeutic targets and improve outcome.

**Chapter 1** consist of the general introduction and a rationale outlining the chapters of this thesis. In **Chapter 2**, the current knowledge of the complement system in hemodialysis and peritoneal dialysis is summarized. The mechanism leading to complement activation in hemodialysis is the binding of ficolin-2, MBL, properdin and/or C3b to the hemodialysis membrane, resulting in lectin pathway and alternative pathway activation.<sup>6,7</sup> Subsequently, complement activation leads to the induction of inflammation and the promotion of thrombosis.<sup>8,9</sup> Furthermore, long-term hemodialysis patients have decreased levels of complement compared to patients who started dialysis recently, most likely due to consumption.<sup>10,11</sup> Future studies should investigate whether these acquired deficiencies of complement proteins could explain the higher infection risk seen in hemodialysis patients. Moreover, long-term complications of hemodialysis such as cardiovascular events and mortality have been linked to complement, making complement inhibition a promising strategy during hemodialysis to improve outcome.<sup>9,12</sup> In peritoneal dialysis, local complement activation arises due to decreased expression of complement regulators by the peritoneal fluid.<sup>13-15</sup> In addition, cellular debris due to bio-incompatible peritoneal fluids combined with antibodies against microorganisms contribute to local complement activation. Subsequently, complement activation leads to further damage, inflammation and the activation of the coagulation system.<sup>16-19</sup> Recently, the link between complement activation and fibrosis has been proposed.<sup>20</sup> Future studies should, therefore, examine whether complement activation in peritoneal dialysis could stimulate peritoneal fibrosis. Though only evaluated in preclinical models, complement interventions in dialysis could reduce the undesired thrombo-inflammatory responses and consequently improve outcome in dialysis patients.<sup>17,18,21,22</sup> In **Chapter 3**, the nature and extent of activation of the complement system in hemodialysis were investigated. This chapter raises awareness about the fact that even modern hemodialysis membranes, with advanced nanostructured materials and enhanced biocompatibility profiles, still invoke significant complement activation. Furthermore, low MBL levels were independently associated with cardiovascular events. Most interestingly,

MBL considerably improved risk prediction beyond traditional cardiovascular risk factors. These results indicate that MBL could be used as a diagnostic tool and biomarker of cardiovascular risk in hemodialysis patients, thus improving prognostication. **Chapter 4** further investigates the mechanism of hemodialysis associated cardiovascular outcome. Hemodialysis patients that developed cardiovascular disease responded differently to dialysis than patients who remained free of cardiovascular disease during follow-up. Intradialytic complement activation predominantly occurred in the hemodialysis patients that would later develop a cardiovascular event. Moreover, the complement activation seen in these patients was accompanied by an enhanced thrombo-inflammatory response. This suggests that, in hemodialysis, the mechanism behind the higher cardiovascular risk could be attributed to complement, inflammation, and coagulation. Altogether **Chapter 3** and **Chapter 4** emphasizes the dual role of the complement system in hemodialysis. More specifically, MBL has been hypothesized to suppress the formation of atherosclerosis, via the removal of atherogenic particles.<sup>23</sup> In contrast, complement activation enhanced the pro-inflammatory state, endothelial damage, and thrombosis thereby promoting cardiovascular disease.<sup>24</sup> Meanwhile, **Chapter 5** shows that the complement system is also modulated by other factors. Intravenous iron preparations are widely used in the treatment of anemia in patients undergoing hemodialysis.<sup>25</sup> However, all intravenous iron preparations carry a risk of causing hypersensitivity reactions.<sup>26</sup> The pathophysiological mechanism is poorly understood, but the concept of a complement activation-related pseudo-allergy (CARPA) has been proposed.<sup>26-28</sup> **Chapter 5** shows that different intravenous iron formulations have the *in vitro* capacity to activate complement in healthy individuals as well as in hemodialysis patients. The result of these assays serves as a Proof of Principle, that intravenous iron could cause CARPA. In conclusion, **Part A** of this thesis depicts the overwhelming evidence on complement in dialysis and suggests that dialysis patients could benefit from complement inhibition. The clinical availability to safely target complement in patients leads to the question: how should we modulate the complement system in dialysis? Given the strong involvement of C5a in dialysis, inhibition at the level of the C5a receptor appears an attractive option. In the case of hemodialysis, systemic inhibition of complement is desirable, while peritoneal dialysis favors local complement inhibition. However, the possible negative impact of prolonged complement blockage on infectious disease and immunoregulation remains to be determined by future clinical trials. Finally, the cost of the different complement inhibitors should be taken into account, considering the high frequency of treatments required in dialysis patients.

The role of complement in kidney transplantation has been extensively studied.<sup>29</sup> While the importance of complement in renal ischemia-reperfusion injury and acute rejection is widely recognized, the role of complement in the pathogenesis of tissue damage in deceased donors remains underexplored.<sup>30</sup> **Chapter 6** describes the contribution of complement activation to brain death-induced organ injury. In brain-dead organ donors, complement is systemically and locally activated.<sup>31,32</sup> In addition, complement activation can be used as a clinical marker for the prediction of outcome after transplantation.<sup>32-34</sup> Moreover, experimental models of brain death have shown that inhibition of the complement cascade is a successful method to reduce inflammation and injury of donor grafts, thereby improving graft function and survival after transplantation.<sup>35-37</sup> Our understanding of the involvement of complement in

brain death donors has improved substantially, yet important questions remain unanswered such as the complement pathway(s) responsible for activation as well as the best target for intervention. The use of C1-inhibitor is considered for the prevention and treatment of renal transplant injury since it has several advantages compared to other forms of complement inhibition.<sup>38</sup> C1-inhibitor appears to be safe, since it has been used for over three decades in the treatment of hereditary angioedema.<sup>39</sup> In addition, C1-inhibitor also regulates the coagulation and the kinin systems and can inhibit leukocyte adhesion to the endothelium.<sup>40–42</sup> It has been suggested that C1-inhibitor has additional anti-inflammatory functions and anti-apoptotic effects independent of protease inhibition.<sup>43</sup> Prior to assessing the effect of C1-inhibitor on brain death-induced renal injury, the inhibitory capacity of C1-inhibitor was determined in **Chapter 7**. C1-inhibitor was able to block the three complement pathways. Furthermore, significant potentiation was seen of the inhibitory capacity of C1-inhibitor by the addition of heparinoids. Single or combined use of C1-inhibitor and heparinoids forms a promising treatment option for complement-mediated transplant injury. Accordingly, in **Chapter 8**, C1-inhibitor treatment was investigated in a rat model of brain death. In the animal model, C1-inhibitor effectively reduced complement activation and thereby increased functional levels. Moreover, treatment of brain-dead donors resulted in improved renal function and reduced renal injury. The beneficial effect found on kidneys of brain-dead donors is most likely due to the reduction of inflammatory cytokines such as IL-6. In contrast, the cellular influx of inflammatory cells in the kidney could not be prevented by C1-inhibitor treatment. Next, in **Chapter 9**, the contribution of complement activation to brain death-induced renal injury was further examined in a mouse model of brain death. Deficiency of C3 led to diminished pro-inflammatory gene expression and renal injury in brain-dead mice. C4-deficient and properdin-deficient mice were further used to dissect the pathway responsible for complement activation in brain-dead donors. In turn, a major role was found for the classical pathway and/or lectin pathway in brain death. More specifically, the inhibition of early complement components might form the optimal target in brain-dead donors. Finally, the effect of inhibition of C5a in brain death was determined with the use of C5a receptor 1 (C5aR1) deficient and C5a receptor 2 (C5aR2) deficient mice. There are two receptors for C5a, namely C5aR1 and C5aR2 (also known as C5L2) and both receptors are expressed in the kidney and on leukocytes.<sup>44,45</sup> Although these receptors share characteristics, clear differences exist. Irrespective of previous data on C5a in brain death, the C5a–C5aR1 axis is not the ideal target to improve renal graft quality in brain-dead donors. Nevertheless, C5aR2 deficiency led to partial protection against brain death-induced kidney injury. In addition, C5aR2<sup>-/-</sup> mice had the lowest number of infiltrating cells among the brain-dead groups, implying a role for the C5aR2 in recruitment of the leukocytes. Previously, the C5aR2 was assumed to be a decoy receptor for C5a since this receptor is uncoupled from G proteins and lacks receptor internalization.<sup>46</sup> However, the observations made in this chapter strongly oppose the hypothesis that the C5aR2 is a non-signaling decoy receptor. In **Chapter 10**, the function of the C5aR2 was further explored in renal ischemia-reperfusion injury. Recently, the C5a–C5aR1 axis has been shown to be crucial in the pathogenesis of this type of injury. In animal studies, inhibition of C5 or C5aR1 resulted in improved renal outcome after renal ischemia reperfusion.<sup>47–51</sup> In renal ischemia reperfusion, C5aR2 deficiency led to better renal function accompanied by reduced tubular damage and reduced renal inflammatory gene expression. In addition, renal dysfunction after ischemia reperfusion injury was mediated via the

expression of the C5aR2 on renal epithelial cells as well as leukocytes. Nonetheless, the C5aR2 was not involved in leukocyte migration. In conclusion, **Chapter 9** and **Chapter 10** provide clear evidence that the C5aR2 has a functional detrimental role in the pathogenesis of renal IR injury. Yet, the C5aR2 remains a controversial receptor within the complement system and is poorly understood within health and disease.<sup>45</sup> In **Chapter 11**, the final chapter, the combination of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in complement genes in the donor and recipient were found to be associated with graft survival. Previously, complement SNPs have been shown to impact outcome after kidney transplantation.<sup>52-56</sup> However, in this chapter, a Complotype genetic score was constructed based on multiple complement SNPs in the donor and recipient. The theory of the Complotype was first mentioned by *Harris et al.* and was suggested to impact the individual susceptibility to inflammatory and infectious diseases.<sup>57</sup> In this chapter, clear evidence is provided that rather than single polymorphism, the risk for graft loss is determined by the combination of complement SNPs in both the donor and recipient. Next to the additive effect of SNPs in complement proteins, we also showed that protective and hazardous SNPs could compensate for each other's effect. The latter could help to explain the contradictory result found in previous studies on the effect of single complement SNPs on renal allograft survival.<sup>52,58,59</sup> From a predictive perspective, the Complotype risk score could be used for the prognostication of graft loss for patients. However, the Complotype could also be used to determine compatibility between the donor kidney and the recipient. In current practice, HLA-typing and ABO-typing are done to assess compatibility.<sup>60</sup> The Complotype risk score could improve this assessment and thereby help to identify the best-suited recipient for each donor kidney. Furthermore, assessment of the Complotype could offer an indication of the potential complement-mediated renal allograft injury and, subsequently, identify renal patients that could benefit from treatment with complement inhibitors.

**Part B** of this thesis characterizes new potential targets for therapeutic complement inhibition in the brain-dead organ donor or in the recipient during reperfusion. Next, randomized clinical trials have to determine whether inhibition of complement in brain-dead donors or/and in the recipient will improve renal graft outcome after transplantation.<sup>61</sup>

**References**

1. Bello AK, Levin A, Tonelli M, Okpechi IG, Feehally J, Harris D, Jindal K, Salako BL, Rateb A, Osman MA, Qarni B, Saad S, Lunney M, Wiebe N, Ye F, Johnson DW: Assessment of Global Kidney Health Care Status. *Jama* 317: 1864, 2017
2. Couser WG, Remuzzi G, Mendis S, Tonelli M: The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney Int.* 80: 1258–1270, 2011
3. Robinson BM, Akizawa T, Jager KJ, Kerr PG, Saran R, Pisoni RL: Factors affecting outcomes in patients reaching end-stage kidney disease worldwide: differences in access to renal replacement therapy, modality use, and haemodialysis practices. *Lancet* 388: 294–306, 2016
4. Daniel R, George H, Kun Y, D John L: Complement - a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat. Immunol.* 11: 785, 2010
5. Ricklin D, Reis ES, Lambris JD: Complement in disease: a defence system turning offensive. *Nat. Rev. Nephrol.* 12: 383–401, 2016
6. Mares J, Richtrova P, Hricinova A, Tuma Z, Moravec J, Lysak D, Matejovic M: Proteomic profiling of blood-dialyzer interactome reveals involvement of lectin complement pathway in hemodialysis-induced inflammatory response. *Proteomics. Clin. Appl.* 4: 829–38, 2010
7. Mares J, Thongboonkerd V, Tuma Z, Moravec J, Matejovic M: Specific adsorption of some complement activation proteins to polysulfone dialysis membranes during hemodialysis. *Kidney Int.* 76: 404–413, 2009
8. Nilsson B, Ekdahl KN, Mollnes TE, Lambris JD: The role of complement in biomaterial-induced inflammation. *Mol. Immunol.* 44: 82–94, 2007
9. Ekdahl KN, Soveri I, Hilborn J, Fellström B, Nilsson B: Cardiovascular disease in haemodialysis: role of the intravascular innate immune system. *Nat. Rev. Nephrol.* 13: 285–296, 2017
10. Lin Y-P, Yang C-Y, Liao C-C, Yu W-C, Chi C-W, Lin C-H: Plasma protein characteristics of long-term hemodialysis survivors. *PLoS One* 7: e40232, 2012
11. Lines SW, Richardson VR, Thomas B, Dunn EJ, Wright MJ, Carter AM: Complement and Cardiovascular Disease - The Missing Link in Haemodialysis Patients. *Nephron* 132: 5–14, 2015
12. DeAngelis RA, Reis ES, Ricklin D, Lambris JD: Targeted complement inhibition as a promising strategy for preventing inflammatory complications in hemodialysis. *Immunobiology* 217: 1097–105, 2012
13. Sei Y, Mizuno M, Suzuki Y, Imai M, Higashide K, Harris CL, Sakata F, Iguchi D, Fujiwara M, Kodera Y, Maruyama S, Matsuo S, Ito Y: Expression of membrane complement regulators, CD46, CD55 and CD59, in mesothelial cells of patients on peritoneal dialysis therapy. *Mol. Immunol.* 65: 302–309, 2015
14. Reddingius RE, Schröder CH, Daha MR, Willems HL, Koster AM, Monnens LA: Complement in serum and dialysate in children on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit. Dial. Int.* 15: 49–53, 1995

15. Reddingius RE, Schröder CH, Daha MR, Monnens LA: The serum complement system in children on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit. Dial. Int.* 13: 214–8, 1993
16. Mizuno M, Ito Y, Mizuno T, Harris CL, Suzuki Y, Okada N, Matsuo S, Morgan BP: Membrane complement regulators protect against fibrin exudation increases in a severe peritoneal inflammation model in rats. *AJP Ren. Physiol.* 302: F1245–F1251, 2012
17. Bazargani F, Rother RP, Braide M: The roles of complement factor C5a and CINC-1 in glucose transport, ultrafiltration, and neutrophil recruitment during peritoneal dialysis. *Perit. Dial. Int.* 26: 688–96
18. Mizuno T, Mizuno M, Imai M, Suzuki Y, Kushida M, Noda Y, Maruyama S, Okada H, Okada N, Matsuo S, Ito Y: Anti-C5a complementary peptide ameliorates acute peritoneal injury induced by neutralization of Crry and CD59. *AJP Ren. Physiol.* 305: F1603–F1616, 2013
19. Mizuno T, Mizuno M, Morgan BP, Noda Y, Yamada K, Okada N, Yuzawa Y, Matsuo S, Ito Y: Specific collaboration between rat membrane complement regulators Crry and CD59 protects peritoneum from damage by autologous complement activation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26: 1821–1830, 2011
20. Danobeitia JS, Djamali A, Fernandez LA: The role of complement in the pathogenesis of renal ischemia-reperfusion injury and fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 7: 16, 2014
21. Reis ES, DeAngelis RA, Chen H, Resuello RRG, Ricklin D, Lambris JD: Therapeutic C3 inhibitor Cp40 abrogates complement activation induced by modern hemodialysis filters. *Immunobiology* 220: 476–82, 2015
22. Kourtzelis I, Markiewski MM, Doumas M, Rafail S, Kambas K, Mitroulis I, Panagoutsos S, Passadakis P, Vargemezis V, Magotti P, Qu H, Mollnes TE, Ritis K, Lambris JD: Complement anaphylatoxin C5a contributes to hemodialysis-associated thrombosis. *Blood* 116: 631–639, 2010
23. Pagowska-Klimek I, Cedzyński M: Mannan-binding lectin in cardiovascular disease. *Biomed Res. Int.* 2014: 616817, 2014
24. de Borst MH: The Complement System in Hemodialysis Patients: Getting to the Heart of the Matter. *Nephron* 132: 1–4, 2016
25. Kazmi WH, Kausz a T, Khan S, Abichandani R, Ruthazer R, Obrador GT, Pereira BJ: Anemia: an early complication of chronic renal insufficiency. *Am. J. Kidney Dis.* 38: 803–812, 2001
26. Szebeni J, Fishbane S, Hedenus M, Howaldt S, Locatelli F, Patni S, Rampton D, Weiss G, Folkersen J: Hypersensitivity to intravenous iron: classification, terminology, mechanisms and management. *Br. J. Pharmacol.* 172: 5025–36, 2015
27. Rampton D, Folkersen J, Fishbane S, Hedenus M, Howaldt S, Locatelli F, Patni S, Szebeni J, Weiss G: Hypersensitivity reactions to intravenous iron: guidance for risk minimization and management. *Haematologica* 99: 1671–1676, 2014
28. Szebeni J: Complement activation-related pseudoallergy: A stress reaction in blood triggered by nanomedicines and biologicals. *Mol. Immunol.* 61: 163–173, 2014



29. Jager NM, Poppelaars F, Daha MR, Seelen MA: Complement in renal transplantation: The road to translation. *Mol. Immunol.* 2017
30. Damman J, Schuur TA, Ploeg RJ, Seelen MA: Complement and renal transplantation: from donor to recipient. *Transplantation* 85: 923–7, 2008
31. Damman J, Nijboer WN, Schuur TA, Leuvenink HG, Morariu AM, Tullius SG, Van Goor H, Ploeg RJ, Seelen MA: Local renal complement C3 induction by donor brain death is associated with reduced renal allograft function after transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26: 2345–2354, 2011
32. Damman J, Seelen MA, Moers C, Daha MR, Rahmel A, Leuvenink HG, Paul A, Pirenne J, Ploeg RJ: Systemic complement activation in deceased donors is associated with acute rejection after renal transplantation in the recipient. *Transplantation* 92: 163–169, 2011
33. de Vries DK, van der Pol P, van Anken GE, van Gijlswijk DJ, Damman J, Lindeman JH, Reinders MEJ, Schaapherder AF, Kooten C van: Acute but transient release of terminal complement complex after reperfusion in clinical kidney transplantation. *Transplantation* 95: 816–20, 2013
34. Błogowski W, Dołęgowska B, Sałata D, Budkowska M, Domański L, Starzyńska T: Clinical analysis of perioperative complement activity during ischemia/reperfusion injury following renal transplantation. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 7: 1843–51, 2012
35. Damman J, Hoeger S, Boneschansker L, Theruvath A, Waldherr R, Leuvenink HG, Ploeg RJ, Yard BA, Seelen MA: Targeting complement activation in brain-dead donors improves renal function after transplantation. *Transpl. Immunol.* 24: 233–237, 2011
36. Atkinson C, Varela JC, Tomlinson S: Complement-dependent inflammation and injury in a murine model of brain dead donor hearts. *Circ. Res.* 105: 1094–101, 2009
37. Atkinson C, Floerchinger B, Qiao F, Casey S, Williamson T, Moseley E, Stoica S, Goddard M, Ge X, Tullius SG, Tomlinson S: Donor brain death exacerbates complement-dependent ischemia/reperfusion injury in transplanted hearts. *Circulation* 127: 1290–9, 2013
38. Berger M, Baldwin WM, Jordan SC: Potential Roles for C1 Inhibitor in Transplantation. *Transplantation* 100: 1415–1424, 2016
39. De Serres J, Gröner A, Lindner J: Safety and efficacy of pasteurized C1 inhibitor concentrate (Berinert P) in hereditary angioedema: a review. [jean.de.serres@aventis.com](mailto:jean.de.serres@aventis.com). *Transfus. Apher. Sci.* 29: 247–54, 2003
40. Davis AE, Cai S, Liu D: C1 inhibitor: biologic activities that are independent of protease inhibition. *Immunobiology* 212: 313–23, 2007
41. Cai S, Dole VS, Bergmeier W, Scafidi J, Feng H, Wagner DD, Davis AE: A direct role for C1 inhibitor in regulation of leukocyte adhesion. *J. Immunol.* 174: 6462–6, 2005
42. Davis AE, Lu F, Mejia P: C1 inhibitor, a multi-functional serine protease inhibitor. *Thromb. Haemost.* 104: 886–93, 2010
43. Fu J, Lin G, Wu Z, Ceng B, Wu Y, Liang G, Qin G, Li J, Chiu I, Liu D: Anti-apoptotic role for C1 inhibitor in ischemia/reperfusion-induced myocardial cell injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 349: 504–12, 2006

44. Monk PN, Scola A-M, Madala P, Fairlie DP: Function, structure and therapeutic potential of complement C5a receptors. *Br. J. Pharmacol.* 152: 429–48, 2007
45. Li R, Coulthard LG, Wu MCL, Taylor SM, Woodruff TM: C5L2: a controversial receptor of complement anaphylatoxin, C5a. *FASEB J.* 27: 855–864, 2013
46. Okinaga S, Slattery D, Humbles A, Zsengeller Z, Morteau O, Kinrade MB, Brodbeck RM, Krause JE, Choe H-R, Gerard NP, Gerard C: C5L2, a nonsignaling C5A binding protein. *Biochemistry* 42: 9406–15, 2003
47. Arumugam T V, Shiels IA, Strachan AJ, Abbenante G, Fairlie DP, Taylor SM: A small molecule C5a receptor antagonist protects kidneys from ischemia/reperfusion injury in rats. *Kidney Int.* 63: 134–42, 2003
48. Zheng X, Zhang X, Feng B, Sun H, Suzuki M, Ichim T, Kubo N, Wong A, Min LR, Budohn ME, Garcia B, Jevnikar AM, Min W-P: Gene silencing of complement C5a receptor using siRNA for preventing ischemia/reperfusion injury. *Am. J. Pathol.* 173: 973–80, 2008
49. Lewis AG, Köhl G, Ma Q, Devarajan P, Köhl J: Pharmacological targeting of C5a receptors during organ preservation improves kidney graft survival. *Clin. Exp. Immunol.* 153: 117–26, 2008
50. De Vries B, Matthijsen RA, Wolfs TGAM, Van Bijnen AAJHM, Heeringa P, Buurman WA: Inhibition of complement factor C5 protects against renal ischemia-reperfusion injury: inhibition of late apoptosis and inflammation. *Transplantation* 75: 375–82, 2003
51. de Vries B, Köhl J, Leclercq WKG, Wolfs TGAM, van Bijnen AAJHM, Heeringa P, Buurman WA: Complement factor C5a mediates renal ischemia-reperfusion injury independent from neutrophils. *J. Immunol.* 170: 3883–9, 2003
52. Damman J, Daha MR, Leuvenink HG, van Goor H, Hillebrands JL, Dijk MC van, Hepkema BG, Snieder H, Born J van den, de Borst MH, Bakker SJ, Navis GJ, Ploeg RJ, Seelen MA: Association of complement C3 gene variants with renal transplant outcome of deceased cardiac dead donor kidneys. *Am. J. Transplant* 12: 660–8, 2012
53. Brown KM, Kondeatis E, Vaughan RW, Kon SP, Farmer CKT, Taylor JD, He X, Johnston A, Horsfield C, Janssen BJC, Gros P, Zhou W, Sacks SH, Sheerin NS: Influence of donor C3 allotype on late renal-transplantation outcome. *N. Engl. J. Med.* 354: 2014–2023, 2006
54. Bay JT, Schejbel L, Madsen HO, Sørensen SS, Hansen JM, Garred P: Low C4 gene copy numbers are associated with superior graft survival in patients transplanted with a deceased donor kidney. *Kidney Int.* 84: 562–569, 2013
55. Bay JT, Sørensen SS, Hansen JM, Madsen HO, Garred P: Low mannose-binding lectin serum levels are associated with reduced kidney graft survival. *Kidney Int.* 83: 264–271, 2013
56. Eikmans M, de Canck I, van der Pol P, Baan CC, Haasnoot GW, Mallat MJK, Vergunst M, de Meester E, Roodnat JI, Anholts JDH, van Thielen M, Doxiadis IIN, de Fijter JW, van der Linden PJE, van Beelen E, van Kooten C, Kal-van Gestel J a., Peeters AM a., Weimar W, Roelen DL, Rossau R, Claas FHJ: The Functional Polymorphism Ala258Ser in the Innate Receptor Gene Ficolin-2 in the Donor Predicts Improved Renal Transplant Outcome.

- Transplant. J.* 94: 478–485, 2012
57. Harris CL, Heurich M, Rodriguez de Cordoba S, Morgan BP: The complotype: dictating risk for inflammation and infection. *Trends Immunol.* 33: 513–21, 2012
  58. Brown KM, Kondeatis E, Vaughan RW, Kon SP, Farmer CKT, Taylor JD, He X, Johnston A, Horsfield C, Janssen BJC, Gros P, Zhou W, Sacks SH, Sheerin NS: Influence of donor C3 allotype on late renal-transplantation outcome. *N. Engl. J. Med.* 354: 2014–2023, 2006
  59. Varaganam M, Yaqoob MM, Döhler B, Opelz G: C3 polymorphisms and allograft outcome in renal transplantation. *N. Engl. J. Med.* 360: 874–80, 2009
  60. Stegall MD: The Right Kidney for the Right Recipient: The Status of Deceased Donor Kidney Allocation Reform. *Semin. Dial.* 23: 248–252, 2010
  61. Ricklin D, Barratt-Due A, Mollnes TE: Complement in clinical medicine: Clinical trials, case reports and therapy monitoring. *Mol. Immunol.* 2017

## Samenvatting, algemene discussie en toekomstperspectieven

Nierziekten leiden vaak tot slechte gezondheidsuitkomsten en hebben daarnaast een grote impact op de huidige zorgkosten.<sup>1,2</sup> Wereldwijd worden er meer dan 2 miljoen mensen behandeld voor nierfalen en men verwacht dat het gebruik van niervervangende therapieën de komende tien jaar exponentieel zal toenemen. Niervervangende therapie is levensverlengend, desalniettemin hebben deze patiënten een lagere kwaliteit van leven en is de levensverwachting korter vergeleken met de algemene populatie.<sup>3</sup> De chronische ontsteking, welke veroorzaakt wordt door de niervervangende therapie, wordt steeds meer gezien als een belangrijke oorzaak voor de kortere levensduur van patiënten met nierfalen. Het complement systeem is een essentieel onderdeel van het immuun systeem en zou daarom een centrale rol kunnen spelen in deze chronische ontstekingsreactie.<sup>4</sup> Tevens is ongewenste complement activatie een belangrijke oorzaak en/of verergerde factor in de pathogenese van verschillende nierziekten.<sup>5</sup> Ook tijdens niervervangende therapieën wordt het complement systeem geactiveerd.<sup>5</sup> Verder onderzoek naar het complement systeem in niervervangende therapieën is daarom noodzakelijk om onze kennis uit te breiden en daarmee een nieuwe specifieke behandeling te ontwikkelen.

**Hoofdstuk 1** bestaat uit een algemene introductie en rationale met een korte omschrijving van de hoofdstukken uit dit proefschrift. In **Hoofdstuk 2** wordt de huidige literatuur over het complement systeem in hemodialyse en peritoneale dialyse samengevat. Het mechanisme achter het ontstaan van complement activatie tijdens hemodialyse is de binding van ficoline-2, MBL, properdine en/of C3b aan de kunstnier, resulterend in activatie van de lectine- en alternatieve route.<sup>6,7</sup> Vervolgens leidt complement activatie tot de initiatie van een ontstekingsreactie en de bevordering van de stollingscascade.<sup>8,9</sup> Bovendien, hebben chronische hemodialyse patiënten verlaagde complement levels ten opzichte van patiënten die net gestart zijn met hemodialyse, hoogstwaarschijnlijk ten gevolge van verbruik.<sup>10,11</sup> In toekomstige studies zou er gekeken moeten worden of deze verworven complement deficiënties verantwoordelijk zijn voor het hogere infectie risico van hemodialyse patiënten. Bovendien lijken lange termijn gevolgen van hemodialyse zoals hart- en vaatziekten gekoppeld aan het complement systeem, en is dit een reden waarom remming van het complement systeem een veelbelovende strategie kunnen zijn om de gezondheidsuitkomsten bij hemodialyse patiënten te verbeteren.<sup>9,12</sup> Tijdens peritoneale dialyse treedt er lokale complement activatie op ten gevolge van een verlaagde expressie van complement regulatoren door de dialysevloeistof.<sup>13-15</sup> Daarnaast wordt complement activatie verder gestimuleerd door celresten, als gevolg van de bio-incompatibele dialysevloeistof, en door antilichamen tegen micro-organismen. Uiteindelijk resulteert complement activatie in nog meer schade, ontsteking en activatie van de stollingscascade.<sup>16-19</sup> Onlangs is er een relatie aangetoond tussen complement activatie en het ontstaan van fibrose.<sup>20</sup> Toekomstige studies, zouden daarom moeten onderzoeken of complement activatie tijdens peritoneale dialyse de vorming van peritoneale fibrose stimuleert. Op basis van pre-klinische studies, zou de remming van complement tijdens dialyse zorgen voor een vermindering van de ontstekingsreactie en zodoende een verbetering van gezondheidsuitkomsten van dialyse patiënten.<sup>17,18,21,22</sup> In **hoofdstuk 3** werd de mate van complement activatie tijdens hemodialyse

onderzocht. Dit hoofdstuk maakt duidelijk dat zelfs de modernste kunstnieren nog steeds het complement system activeren, ondanks de geavanceerde nanogestructureerde materialen en verbeterde biocompatibiliteit. Daarnaast bleek dat lage MBL levels onafhankelijk geassocieerd waren met het ontstaan van hart- en vaatziekte. Bovendien, verbeterde het includeren van MBL als variabele in de risicoanalyse de risico-predictiemodellen voor hart- en vaatziekten bovenop de klassieke risicofactoren. Deze resultaten tonen aan dat MBL gebruikt zou kunnen worden als diagnostisch hulpmiddel en biomarker voor het risico op hart- en vaatziekten van hemodialyse patiënten. In **hoofdstuk 4** werd het mechanisme van hemodialyse-geassocieerde hart- en vaatziekten verder onderzocht. Hemodialyse patiënten die in de toekomst hart- en vaatziekten zullen ontwikkelen reageren anders op de kunstnier, dan hemodialyse patiënten die geen hart- en vaatziekten zullen ontwikkelen. Complement activatie tijdens de dialysesessie kwam voornamelijk voor bij hemodialyse patiënten die hart- en vaatziekten zullen ontwikkelen. Nog belangrijker; complement activatie in deze patiënten werd vergezeld door een versterkte ontstekingsreactie en een verhoogde activiteit van de stollingscascade. Dit suggereert dat in hemodialyse patiënten de verhoogde kans op hart- en vaatziekten mogelijk veroorzaakt wordt door het complement systeem, de ontstekingsreactie en de stollingscascade. Alles samengenomen, laten **hoofdstuk 3** en **hoofdstuk 4** zien dat het complement system een dubbele rol heeft tijdens hemodialyse. MBL is geassocieerd met een verlaagde de kans op hart- en vaatziekten, mogelijk door het remmen van de vorming van aderverkalking door het verwijderen van atherogene deeltjes.<sup>23</sup> Daarentegen is complement activatie geassocieerd met een verhoogde kans op hart- en vaatziekten, waarschijnlijk doordat complement activatie leidt tot een ontstekingsreactie, endotheel schade en activatie van de stollingscascade.<sup>24</sup> **Hoofdstuk 5** laat zien dat het complement systeem ook wordt beïnvloed door andere factoren. Intraveneuze ijzerpreparaten worden veel gebruikt voor de behandeling van bloedarmoede van hemodialyse patiënten.<sup>25</sup> Niettemin, alle intraveneuze ijzerpreparaten dragen een risico op het veroorzaken van een overgevoelighedsreactie.<sup>26</sup> Het mechanisme achter deze reacties is onbekend, maar een concept van een complement-gemedieerde overgevoelighedsreactie (CARPA) is reeds gesuggereerd.<sup>26-28</sup> In hoofdstuk 5 wordt aangetoond dat de verschillende intraveneuze ijzerpreparaten *in vitro* capaciteit hebben om het complement systeem te activeren in bloed van gezonde vrijwilligers en hemodialyse patiënten. De resultaten van deze proeven dienen als *Proof of Principle* dat deze ijzerpreparaten een complement-gemedieerde overgevoelighedsreactie (CARPA) kunnen veroorzaken. Concluderend, **deel A** van dit proefschrift beschrijft het overweldigende bewijs voor complement activatie tijdens dialyse en suggereert dat dialysepatiënten baat kunnen hebben bij complementremming. De bestaande klinische beschikbaarheid om veilig complement te remmen bij patiënten leidt tot de vraag: hoe moeten we het complementsysteem bij dialyse moduleren? Gezien de sterke betrokkenheid van C5a bij dialyse lijkt inhibitie op het niveau van de C5a-receptor een aantrekkelijke optie. Verder is in het geval van hemodialyse systemische remming van het complement wenselijk, terwijl bij peritoneale dialyse lokale complementremming wenselijk is. Echter, de mogelijke negatieve impact van langdurige complement blokkering op infectieziekten en immunoregulatie moet nog worden bepaald middels toekomstige klinische studies. Ten slotte moet rekening worden gehouden met de kosten van de verschillende complementremmers, gezien de vereiste hoge behandelingsfrequentie bij dialysepatiënten.

De rol van complement bij niertransplantatie is uitgebreid bestudeerd.<sup>29</sup> Hoewel het belang van complement bij ischemie-reperfusie schade van de nier en acute afstoting algemeen wordt erkend, blijft onderzoek naar de rol van complement in de pathogenese van weefselbeschadiging bij overleden donoren onderbelicht.<sup>30</sup> **Hoofdstuk 6** beschrijft de bijdrage van complement activatie aan de door hersendood geïnduceerde orgaanschade. In hersendode orgaandonoren is het complement systemisch en lokaal geactiveerd.<sup>31,32</sup> Daarnaast kan complementactivatie worden gebruikt als een klinische marker voor de voorspelling van de uitkomst na transplantatie.<sup>32-34</sup> Bovendien hebben experimentele modellen van hersendood aangetoond dat remming van de complementcascade een succesvolle methode is om ontsteking en beschadiging van donortransplantaten te verminderen, waardoor orgaanfunctie en overleving na transplantatie wordt verbeterd.<sup>35-37</sup> De kennis over de betrokkenheid van complement bij hersendode donoren is aanzienlijk verbeterd, maar belangrijke vragen blijven onbeantwoord, zoals welke complement route(s) verantwoordelijk zijn voor activering en het beste doelwit voor therapeutische interventies. Het gebruik van C1-esterase remmer wordt overwogen voor de preventie en behandeling van niertransplantatiebeschadiging, omdat het verscheidene voordelen heeft in vergelijking met andere vormen van complementremming.<sup>38</sup> De behandeling met een C1-esterase remmer is veilig, aangezien deze al meer dan drie decennia wordt gebruikt bij de behandeling van erfelijk angio-oedeem.<sup>39</sup> Daarnaast reguleert de C1-esterase remmer ook de stollings- en kininesystemen en kan het de adhesie van leukocyten aan het endotheel remmen.<sup>40-42</sup> Er wordt gesuggereerd dat C1-esterase remmer additionele anti-inflammatoire functies en anti-apoptotische effecten heeft, onafhankelijk van proteaseremming.<sup>43</sup> Alvorens het effect van de behandeling met C1-esterase remmer op hersendood-geïnduceerd nierletsel werd bestudeerd, werd de remmende capaciteit van C1-esterase remmer bepaald in **hoofdstuk 7**. C1-esterase remmer was in staat om alle drie de complement-routes te remmen. Verder werd er significante potentiëring waargenomen van de remmende capaciteit van C1-esterase remmer door de toevoeging van heparinoïden. Enkelvoudig of gecombineerd gebruik van een C1-esterase remmer en heparinoïden vormt een veelbelovende behandelingsoptie voor complement-gemedieerde transplantatiebeschadiging. In **hoofdstuk 8** werd de behandeling met een C1-esterase remmer onderzocht in een rattenmodel van hersendood. In het diermodel verminderde C1-esterase remmer effectief complement activatie en verhoogde zo functionele complement levels. Bovendien resulteerde de behandeling van hersendode donoren in een verbeterde nierfunctie en verminderde nierschade. Het gunstige effect op de nieren van hersendode donoren is hoogstwaarschijnlijk toe te schrijven aan de reductie van inflammatoire cytokines zoals IL-6. Daarentegen kon de cellulaire influx van ontstekingscellen in de nier niet worden voorkomen door behandeling met een C1-esterase remmer. Vervolgens werd in **hoofdstuk 9** de bijdrage van complement activatie aan hersendood-geïnduceerde nierbeschadiging nader onderzocht in een muismodel van hersendood. Deficiëntie van C3 leidde tot verminderde pro-inflammatoire genexpressie en verminderde nierbeschadiging bij hersendode muizen. C4-deficiënte en properdine-deficiënte muizen werden verder gebruikt om de route te ontleden die verantwoordelijk is voor complement activatie in hersendode donoren. Hieruit bleek dat er een belangrijke rol is voor de klassieke route en/of lectine route in hersendood. Nog belangrijker, de remming van vroege complement componenten lijkt het optimale doelwit te vormen voor therapeutische interventie bij hersendode donoren. Tenslotte werd het effect van remming van C5a in hersendood bepaald met het gebruik van C5a-receptor 1 (C5aR1)-

deficiënte en C5a-receptor 2 (C5aR2)-deficiënte muizen. Er zijn namelijk twee receptoren voor C5a, de C5aR1 en de C5aR2 (ook bekend als C5L2) en beide receptoren komen tot expressie in de nier en op witte bloedcellen.<sup>44,45</sup> Hoewel deze receptoren erg op elkaar lijken, zijn er ook duidelijke verschillen. Op basis van onze gegevens lijkt de C5a-C5aR1-as niet het ideale doelwit in hersendode donoren om de niertransplantatiekwaliteit te verbeteren, ongeacht eerdere gegevens over C5a bij hersendood. Desalniettemin leidde C5aR2-deficiëntie tot gedeeltelijke bescherming van nierletsel in hersendode donoren. Bovendien hadden C5aR2<sup>-/-</sup> muizen het laagste aantal infiltrerende cellen onder de hersendode groepen, wat betekent dat de C5aR2 mogelijk een rol speelt bij de rekrutering van witte bloedcellen. Eerder werd aangenomen dat de C5aR2 een decoy receptor was voor C5a, omdat deze receptor niet gekoppeld is aan G-eiwitten en geen receptor-internalisatie heeft.<sup>46</sup> De observaties uit dit hoofdstuk spreken de hypothese dat de C5aR2 een niet-signalerende decoy receptor is tegen. In **hoofdstuk 10** werd de rol van de C5aR2 verder onderzocht bij ischemie-reperfusie schade van de nier. Onlangs is aangetoond dat de C5a-C5aR1-as cruciaal is in de pathogenese van dit type letsel. In dierstudies resulteerde de remming van C5 of C5aR1 in een verbeterde renale uitkomst na ischemie reperfusie van de nier.<sup>47-51</sup> C5aR2-deficiëntie tijdens ischemie reperfusie van de nier, leidde tot een betere nierfunctie, gepaard gaande met verminderde tubulaire schade en verminderde renale inflammatoire genexpressie. Hieruit valt te concluderen dat de C5aR2 een schadelijke rol speelt in de pathogenese van ischemie-reperfusie schade. Dit schadelijk effect werd gemedieerd via zowel de expressie van de C5aR2 op nierepitheel cellen evenals op witte bloedcellen. Desalniettemin, de C5aR2 is niet betrokken bij witte bloedcelmigratie. Ten slotte, bieden **Hoofdstuk 9** en **hoofdstuk 10** duidelijk bewijs dat de C5aR2 een functionele schadelijke rol heeft in de pathogenese van transplantatie schade aan de nieren. Toch blijft de C5aR2 een controversiële receptor binnen het complement systeem en blijft er nog veel onduidelijkheid bestaan over de rol van de C5aR2.<sup>45</sup>

In **hoofdstuk 11**, het laatste hoofdstuk, bleek de combinatie van single nucleotide polymorfisme (SNPs) in complement genen in de donor en de ontvanger te zijn geassocieerd met transplantaatoverleving van de donornier. Eerder werd aangetoond dat complement-SNP's de uitkomst na niertransplantatie beïnvloeden.<sup>52-56</sup> In dit hoofdstuk werd echter een Complotype-genetische score geconstrueerd op basis van meerdere complement-SNP's in de donor en de ontvanger. De theorie van het Complotype werd voor het eerst genoemd door *Harris et al.* en verondersteld het Complotype de individuele vatbaarheid voor ontstekings- en infectieziekten te beïnvloeden.<sup>57</sup> In dit hoofdstuk wordt duidelijk aangetoond dat in plaats van enkele polymorfisme het risico op verlies van het transplantaat wordt bepaald door de combinatie van complement-SNP's in zowel de donor als de ontvanger. Naast het additieve effect van SNP's in complement-eiwitten, toonden we ook aan dat beschermende en gevaarlijke SNP's elkaars effect konden compenseren. Dit laatste zou kunnen helpen om het tegenstrijdige resultaat te verklaren dat werd gevonden in eerdere studies over het effect van complement-SNP's op de overleving van het transplantaat.<sup>52,58,59</sup> Vanuit een voorspellend perspectief zou de Complotype risicoscore kunnen worden gebruikt voor de prognose van het transplantaat na de transplantatie. Het Complotype zou echter ook kunnen worden gebruikt om de compatibiliteit tussen de donornier en de ontvanger te bepalen. In de huidige praktijk worden HLA-typering en ABO-typering uitgevoerd om de compatibiliteit te

beoordelen.<sup>60</sup> De Complotype-risicoscore kan deze beoordeling verbeteren en daardoor helpen om de meest geschikte ontvanger voor elke donornier te identificeren. Bovendien geeft de Complotype-risicoscore een indicatie van de mogelijke complement-gemedieerde schade aan de getransplanteerde nier. Daarnaast helpt de risicoscore bij het identificeren van patiënten die baat kunnen hebben bij behandeling met complementremmers.

**Deel B** van dit proefschrift identificeerde nieuwe potentiële doelenwitten voor therapeutische complementremming in de hersendode orgaandonor of in de ontvanger tijdens reperfusie. Vervolgens moeten gerandomiseerde klinische onderzoeken bepalen of remming van complement in hersendode donoren en/of in de ontvanger de uitkomst na niertransplantatie zal verbeteren.<sup>61</sup>



## Referenties

1. Bello AK, Levin A, Tonelli M, Okpechi IG, Feehally J, Harris D, Jindal K, Salako BL, Rateb A, Osman MA, Qarni B, Saad S, Lunney M, Wiebe N, Ye F, Johnson DW: Assessment of Global Kidney Health Care Status. *Jama* 317: 1864, 2017
2. Couser WG, Remuzzi G, Mendis S, Tonelli M: The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney Int.* 80: 1258–1270, 2011
3. Robinson BM, Akizawa T, Jager KJ, Kerr PG, Saran R, Pisoni RL: Factors affecting outcomes in patients reaching end-stage kidney disease worldwide: differences in access to renal replacement therapy, modality use, and haemodialysis practices. *Lancet* 388: 294–306, 2016
4. Daniel R, George H, Kun Y, D John L: Complement - a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat. Immunol.* 11: 785, 2010
5. Ricklin D, Reis ES, Lambris JD: Complement in disease: a defence system turning offensive. *Nat. Rev. Nephrol.* 12: 383–401, 2016
6. Mares J, Richtrova P, Hricinova A, Tuma Z, Moravec J, Lysak D, Matejovic M: Proteomic profiling of blood-dialyzer interactome reveals involvement of lectin complement pathway in hemodialysis-induced inflammatory response. *Proteomics. Clin. Appl.* 4: 829–38, 2010
7. Mares J, Thongboonkerd V, Tuma Z, Moravec J, Matejovic M: Specific adsorption of some complement activation proteins to polysulfone dialysis membranes during hemodialysis. *Kidney Int.* 76: 404–413, 2009
8. Nilsson B, Ekdahl KN, Mollnes TE, Lambris JD: The role of complement in biomaterial-induced inflammation. *Mol. Immunol.* 44: 82–94, 2007
9. Ekdahl KN, Soveri I, Hilborn J, Fellström B, Nilsson B: Cardiovascular disease in haemodialysis: role of the intravascular innate immune system. *Nat. Rev. Nephrol.* 13: 285–296, 2017
10. Lin Y-P, Yang C-Y, Liao C-C, Yu W-C, Chi C-W, Lin C-H: Plasma protein characteristics of long-term hemodialysis survivors. *PLoS One* 7: e40232, 2012
11. Lines SW, Richardson VR, Thomas B, Dunn EJ, Wright MJ, Carter AM: Complement and Cardiovascular Disease - The Missing Link in Haemodialysis Patients. *Nephron* 132: 5–14, 2015
12. DeAngelis RA, Reis ES, Ricklin D, Lambris JD: Targeted complement inhibition as a promising strategy for preventing inflammatory complications in hemodialysis. *Immunobiology* 217: 1097–105, 2012
13. Sei Y, Mizuno M, Suzuki Y, Imai M, Higashide K, Harris CL, Sakata F, Iguchi D, Fujiwara M, Kodera Y, Maruyama S, Matsuo S, Ito Y: Expression of membrane complement regulators, CD46, CD55 and CD59, in mesothelial cells of patients on peritoneal dialysis therapy. *Mol. Immunol.* 65: 302–309, 2015
14. Reddingius RE, Schröder CH, Daha MR, Willems HL, Koster AM, Monnens LA: Complement in serum and dialysate in children on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit. Dial. Int.* 15: 49–53, 1995
15. Reddingius RE, Schröder CH, Daha MR, Monnens LA: The serum complement system in children on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit. Dial. Int.* 13: 214–8, 1993
16. Mizuno M, Ito Y, Mizuno T, Harris CL, Suzuki Y, Okada N, Matsuo S, Morgan BP: Membrane complement regulators protect against fibrin exudation increases in a severe peritoneal inflammation model in rats. *AJP Ren. Physiol.* 302: F1245–F1251, 2012
17. Bazargani F, Rother RP, Braide M: The roles of complement factor C5a and CINC-1 in glucose transport, ultrafiltration, and neutrophil recruitment during peritoneal dialysis. *Perit. Dial. Int.* 26: 688–96
18. Mizuno T, Mizuno M, Imai M, Suzuki Y, Kushida M, Noda Y, Maruyama S, Okada H, Okada N, Matsuo S, Ito Y: Anti-C5a complementary peptide ameliorates acute peritoneal injury induced by neutralization of Crry and CD59. *AJP Ren. Physiol.* 305: F1603–F1616, 2013
19. Mizuno T, Mizuno M, Morgan BP, Noda Y, Yamada K, Okada N, Yuzawa Y, Matsuo S, Ito Y: Specific collaboration between rat membrane complement regulators Crry and CD59 protects peritoneum from damage

- by autologous complement activation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26: 1821–1830, 2011
20. Danobeitia JS, Djamali A, Fernandez LA: The role of complement in the pathogenesis of renal ischemia-reperfusion injury and fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 7: 16, 2014
  21. Reis ES, DeAngelis RA, Chen H, Resuello RRG, Ricklin D, Lambris JD: Therapeutic C3 inhibitor Cp40 abrogates complement activation induced by modern hemodialysis filters. *Immunobiology* 220: 476–82, 2015
  22. Kourtzelis I, Markiewski MM, Doumas M, Rafail S, Kambas K, Mitroulis I, Panagoutsos S, Passadakis P, Vargemzis V, Magotti P, Qu H, Mollnes TE, Ritis K, Lambris JD: Complement anaphylatoxin C5a contributes to hemodialysis-associated thrombosis. *Blood* 116: 631–639, 2010
  23. Pağowska-Klimek I, Cedzyński M: Mannan-binding lectin in cardiovascular disease. *Biomed Res. Int.* 2014: 616817, 2014
  24. de Borst MH: The Complement System in Hemodialysis Patients: Getting to the Heart of the Matter. *Nephron* 132: 1–4, 2016
  25. Kazmi WH, Kausz a T, Khan S, Abichandani R, Ruthazer R, Obrador GT, Pereira BJ: Anemia: an early complication of chronic renal insufficiency. *Am. J. Kidney Dis.* 38: 803–812, 2001
  26. Szebeni J, Fishbane S, Hedenus M, Howaldt S, Locatelli F, Patni S, Rampton D, Weiss G, Folkersen J: Hypersensitivity to intravenous iron: classification, terminology, mechanisms and management. *Br. J. Pharmacol.* 172: 5025–36, 2015
  27. Rampton D, Folkersen J, Fishbane S, Hedenus M, Howaldt S, Locatelli F, Patni S, Szebeni J, Weiss G: Hypersensitivity reactions to intravenous iron: guidance for risk minimization and management. *Haematologica* 99: 1671–1676, 2014
  28. Szebeni J: Complement activation-related pseudoallergy: A stress reaction in blood triggered by nanomedicines and biologicals. *Mol. Immunol.* 61: 163–173, 2014
  29. Jager NM, Poppelaars F, Daha MR, Seelen MA: Complement in renal transplantation: The road to translation. *Mol. Immunol.* 2017
  30. Damman J, Schuur TA, Ploeg RJ, Seelen MA: Complement and renal transplantation: from donor to recipient. *Transplantation* 85: 923–7, 2008
  31. Damman J, Nijboer WN, Schuur T a., Leuvenink HG, Morariu AM, Tullius SG, Van Goor H, Ploeg RJ, Seelen M a.: Local renal complement C3 induction by donor brain death is associated with reduced renal allograft function after transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26: 2345–2354, 2011
  32. Damman J, Seelen M a, Moers C, Daha MR, Rahmel A, Leuvenink HG, Paul A, Pirenne J, Ploeg RJ: Systemic complement activation in deceased donors is associated with acute rejection after renal transplantation in the recipient. *Transplantation* 92: 163–169, 2011
  33. de Vries DK, van der Pol P, van Anken GE, van Gijlswijk DJ, Damman J, Lindeman JH, Reinders MEJ, Schaapherder AF, Kooten C van: Acute but transient release of terminal complement complex after reperfusion in clinical kidney transplantation. *Transplantation* 95: 816–20, 2013
  34. Błogowski W, Dołęgowska B, Sałata D, Budkowska M, Domański L, Starzyńska T: Clinical analysis of perioperative complement activity during ischemia/reperfusion injury following renal transplantation. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 7: 1843–51, 2012
  35. Damman J, Hoeger S, Boneschansker L, Theruvath A, Waldherr R, Leuvenink HG, Ploeg RJ, Yard B a., Seelen M a.: Targeting complement activation in brain-dead donors improves renal function after transplantation. *Transpl. Immunol.* 24: 233–237, 2011
  36. Atkinson C, Varela JC, Tomlinson S: Complement-dependent inflammation and injury in a murine model of brain dead donor hearts. *Circ. Res.* 105: 1094–101, 2009
  37. Atkinson C, Floerchinger B, Qiao F, Casey S, Williamson T, Moseley E, Stoica S, Goddard M, Ge X, Tullius SG, Tomlinson S: Donor brain death exacerbates complement-dependent ischemia/reperfusion injury in transplanted hearts. *Circulation* 127: 1290–9, 2013

38. Berger M, Baldwin WM, Jordan SC: Potential Roles for C1 Inhibitor in Transplantation. *Transplantation* 100: 1415–1424, 2016
39. De Serres J, Gröner A, Lindner J: Safety and efficacy of pasteurized C1 inhibitor concentrate (Berinert P) in hereditary angioedema: a review. [jean.de.serres@aventis.com](mailto:jean.de.serres@aventis.com). *Transfus. Apher. Sci.* 29: 247–54, 2003
40. Davis AE, Cai S, Liu D: C1 inhibitor: biologic activities that are independent of protease inhibition. *Immunobiology* 212: 313–23, 2007
41. Cai S, Dole VS, Bergmeier W, Scafidi J, Feng H, Wagner DD, Davis AE: A direct role for C1 inhibitor in regulation of leukocyte adhesion. *J. Immunol.* 174: 6462–6, 2005
42. Davis AE, Lu F, Mejia P: C1 inhibitor, a multi-functional serine protease inhibitor. *Thromb. Haemost.* 104: 886–93, 2010
43. Fu J, Lin G, Wu Z, Ceng B, Wu Y, Liang G, Qin G, Li J, Chiu I, Liu D: Anti-apoptotic role for C1 inhibitor in ischemia/reperfusion-induced myocardial cell injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 349: 504–12, 2006
44. Monk PN, Scola A-M, Madala P, Fairlie DP: Function, structure and therapeutic potential of complement C5a receptors. *Br. J. Pharmacol.* 152: 429–48, 2007
45. Li R, Coulthard LG, Wu MCL, Taylor SM, Woodruff TM: C5L2: a controversial receptor of complement anaphylatoxin, C5a. *FASEB J.* 27: 855–864, 2013
46. Okinaga S, Slattery D, Humbles A, Zsengeller Z, Morteau O, Kinrade MB, Brodbeck RM, Krause JE, Choe H-R, Gerard NP, Gerard C: C5L2, a non-signaling C5A binding protein. *Biochemistry* 42: 9406–15, 2003
47. Arumugam T V, Shiels IA, Strachan AJ, Abbenante G, Fairlie DP, Taylor SM: A small molecule C5a receptor antagonist protects kidneys from ischemia/reperfusion injury in rats. *Kidney Int.* 63: 134–42, 2003
48. Zheng X, Zhang X, Feng B, Sun H, Suzuki M, Ichim T, Kubo N, Wong A, Min LR, Budohn ME, Garcia B, Jevnikar AM, Min W-P: Gene silencing of complement C5a receptor using siRNA for preventing ischemia/reperfusion injury. *Am. J. Pathol.* 173: 973–80, 2008
49. Lewis AG, Köhl G, Ma Q, Devarajan P, Köhl J: Pharmacological targeting of C5a receptors during organ preservation improves kidney graft survival. *Clin. Exp. Immunol.* 153: 117–26, 2008
50. De Vries B, Matthijsen RA, Wolfs TGAM, Van Bijnen AAJHM, Heeringa P, Buurman WA: Inhibition of complement factor C5 protects against renal ischemia-reperfusion injury: inhibition of late apoptosis and inflammation. *Transplantation* 75: 375–82, 2003
51. de Vries B, Köhl J, Leclercq WKG, Wolfs TGAM, van Bijnen AAJHM, Heeringa P, Buurman WA: Complement factor C5a mediates renal ischemia-reperfusion injury independent from neutrophils. *J. Immunol.* 170: 3883–9, 2003
52. Damman J, Daha MR, Leuvenink HG, van Goor H, Hillebrands JL, Dijk MC van, Hepkema BG, Snieder H, Born J van den, de Borst MH, Bakker SJ, Navis GJ, Ploeg RJ, Seelen MA: Association of complement C3 gene variants with renal transplant outcome of deceased cardiac dead donor kidneys. *Am. J. Transplant* 12: 660–8, 2012
53. Brown KM, Kondeatis E, Vaughan RW, Kon SP, Farmer CKT, Taylor JD, He X, Johnston A, Horsfield C, Janssen BJC, Gros P, Zhou W, Sacks SH, Sheerin NS: Influence of donor C3 allotype on late renal-transplantation outcome. *N. Engl. J. Med.* 354: 2014–2023, 2006
54. Bay JT, Schejbel L, Madsen HO, Sørensen SS, Hansen JM, Garred P: Low C4 gene copy numbers are associated with superior graft survival in patients transplanted with a deceased donor kidney. *Kidney Int.* 84: 562–569, 2013
55. Bay JT, Sørensen SS, Hansen JM, Madsen HO, Garred P: Low mannose-binding lectin serum levels are associated with reduced kidney graft survival. *Kidney Int.* 83: 264–271, 2013
56. Eikmans M, de Canck I, van der Pol P, Baan CC, Haasnoot GW, Mallat MJK, Vergunst M, de Meester E, Roodnat JJ, Anholts JDH, van Thielen M, Doxiadis IIN, de Fijter JW, van der Linden PJE, van Beelen E, van Kooten C, Kal-van Gestel J a., Peeters AM a., Weimar W, Roelen DL, Rossau R, Claas FHH: The Functional

- Polymorphism Ala258Ser in the Innate Receptor Gene Ficolin-2 in the Donor Predicts Improved Renal Transplant Outcome. *Transplant. J.* 94: 478–485, 2012
57. Harris CL, Heurich M, Rodriguez de Cordoba S, Morgan BP: The complotype: dictating risk for inflammation and infection. *Trends Immunol.* 33: 513–21, 2012
  58. Brown KM, Kondeatis E, Vaughan RW, Kon SP, Farmer CKT, Taylor JD, He X, Johnston A, Horsfield C, Janssen BJC, Gros P, Zhou W, Sacks SH, Sheerin NS: Influence of donor C3 allotype on late renal-transplantation outcome. *N. Engl. J. Med.* 354: 2014–2023, 2006
  59. Varaganam M, Yaqoob MM, Döhler B, Opelz G: C3 polymorphisms and allograft outcome in renal transplantation. *N. Engl. J. Med.* 360: 874–80, 2009
  60. Stegall MD: The Right Kidney for the Right Recipient: The Status of Deceased Donor Kidney Allocation Reform. *Semin. Dial.* 23: 248–252, 2010
  61. Ricklin D, Barratt-Due A, Mollnes TE: Complement in clinical medicine: Clinical trials, case reports and therapy monitoring. *Mol. Immunol.* 2017