

Trampas extracelulares de neutrófilos: una novedosa estrategia antiinfecciosa empleando moléculas antimicrobianas largamente conocidas

María Laura Gabelloni¹, Florencia Sabbione¹, Leonardo Iula¹, Irene Keitelman¹, Carolina Jancic¹, Mirta Giordano¹, Jorge Geffner², Analía Trevani¹

¹ Instituto de Medicina Experimental-CONICET, Academia Nacional de Medicina

² INIGEM (Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo), Hospital de Clínicas "José de San Martín", UBA.

*Corresponding autor: analiatrevani@yahoo.com.ar

Recibido el 5 de diciembre 2012;

Aceptado el 20 de diciembre de 2012

Resumen

Estudios realizados en la última década demostraron que los neutrófilos son capaces de mediar funciones antiinfecciosas a través de la generación de trampas extracelulares (NET) compuestas por cromatina y proteínas asociadas a ella, tales como proteasas lisosomales, y proteínas citoplasmáticas y nucleares. Estas trampas son liberadas en respuesta a diversos agentes biológicos como bacterias, hongos y parásitos, y actúan como una red de contención de la infección atrapando a los microorganismos, al mismo tiempo que median su destrucción extracelular gracias a su capacidad de sostener una alta concentración local de sustancias antimicrobianas. En esta revisión describimos los avances realizados en el conocimiento de los mecanismos que subyacen a la liberación de las NET, su composición y los estímulos que las desencadenan, y además discutimos de manera general su relevancia antiinfecciosa y su potencial participación en la respuesta autoinmune.

Palabras clave: Trampas extracelulares, neutrófilos, inflamación, cromatina, proteasas lisosomales, muerte celular.

Neutrophil extracellular traps: a novel anti-infectious strategy employing well-known anti-microbial molecules.

Abstract

Studies conducted in the last decade demonstrated that neutrophils are able to mediate anti-infectious functions by generating extracellular traps made by chromatin and associated proteins like lysosomal proteases, and cytoplasmic and nuclear proteins. These mesh-like structures are released in response to many different biological agents such as bacteria, fungi and parasites, and they are thought to limit the dissemination of microorganisms by snaring and eliminating them due to the high local concentration of anti-microbial agents. In this review, we describe the progress in our knowledge of the mechanisms that underlie NET generation, their composition and the stimuli able to trigger their release. We also briefly discuss the NETs anti-infectious relevance and their potential involvement in autoimmune responses.

Key words: Extracellular traps, neutrophils, inflammation, chromatine, lysosomal proteases, cell death

En 1883, Elie Metchnikoff (1845–1916), hoy considerado el padre de la inmunidad innata, describió el fenómeno de fagocitosis. Más de cien años después, sabemos que la contienda entre nuestro sistema inmunológico y los microorganismos no sólo tiene lugar a nivel intracelular en los fagosomas de células fagocíticas, sino también a nivel extracelular en unas estructuras descubiertas al inicio de esta centuria conocidas como “trampas extracelulares” que son liberadas por algunos glóbulos blancos (leucocitos) como neutrófilos, mastocitos y eosinófilos 1. En esta actualización centraremos nuestra atención en aquellas trampas extracelulares liberadas por neutrófilos (NET), las cuales han sido las más exhaustivamente estudiadas.

Mecanismos inmunes que nos protegen frente a infecciones

Numerosos resultados experimentales demostraron la existencia de mecanismos inmunes que no sólo nos defienden frente a la invasión microbiana sino que también se activan frente al daño celular para mantener la homeostasis corporal. Dentro de estos mecanismos inmunológicos se distinguen aquellos que forman parte de la inmunidad innata y otros que corresponden a la adaptativa. La inmunidad innata provee la primera línea de defensa del organismo frente a las infecciones. Incluye respuestas estereotipadas que no sólo intentan evitar la progresión de la infección sino que además contribuyen a la iniciación de las respuestas adaptativas y a determinar la naturaleza de la respuesta efectora a motorizarse a fin de eliminar al invasor. La respuesta adaptativa estará dirigida específicamente a moléculas expresadas por cada patógeno (antígenos) e involucrará la producción de anticuerpos y de linfocitos T efectoras.

Dentro de los mecanismos inmunes innatos, se incluyen aquellos ejecutados por los neutrófilos, leucocitos que cumplen un rol clave en la defensa frente a infecciones causadas por patógenos extracelulares como bacterias y hongos 2. A pesar de su relevancia en la defensa antiinfecciosa, su activación desmedida puede ocasionar un extenso daño de tejidos. Los neutrófilos son leucocitos que se caracterizan por poseer una elevada capacidad fagocítica y microbicida. En los humanos adultos estas células constituyen más de la mitad de los leucocitos circulantes y son los primeros en ser reclutados a los sitios de infección o daño tisular, donde median las fases más tempranas de la respuesta inflamatoria. El rol crucial que desempeñan estas células en la inmunidad antiinfecciosa se pone en evidencia en pacientes que sufren desórdenes funcionales o numéricos de neutrófilos, como la enfermedad granulomatosa crónica (EGC), la deficiencia en la adhesión leucocitaria de tipo 1 (LAD1) o las diversas formas de neutropenia, las cuales se caracterizan por una severa susceptibilidad a infecciones de naturaleza bacteriana y fúngica que amenazan su supervivencia 3.

Preparados para acudir a los focos de infección: Migración, activación y mecanismos microbicidas del neutrófilo

La presencia de un microorganismo invasor en un tejido, dispara la generación de señales de alerta. Entre estas señales se encuentran sustancias que activan al endotelio vascular local tornándolo apto para la migración de los leucocitos al tejido infectado a fin de acudir a erradicar la infección. La activación endotelial, por ejemplo, incrementa la expresión de moléculas de adhesión que facilitan la adherencia de neutrófilos al endotelio y su extravasación hacia el foco de infección 2. Entre estas moléculas son relevantes las selectinas como la L- y P-selectinas, y las integrinas, como LFA α 1 (CD11a/CD18) y Mac α 1 (CD11b/CD18) que sustentan la interacción de los neutrófilos con el endotelio. Además, la extravasación y correcta migración al foco de infección requiere de sustancias quimioattractantes que median el movimiento del neutrófilo dirigido por un gradiente de concentración. Dentro de estas sustancias son claves los componentes del complemento C5a y C3a, el PAF y quimiocinas como la IL α 8 2. El rol crucial de algunas de estas moléculas se manifiesta en la deficiencia de adhesión leucocitaria de tipo 1 (LAD 1), una patología en la que la ausencia de las integrinas LFA-1 y Mac-1 impide el acceso de los neutrófilos a los focos infecciosos 4.

Una vez en los focos de infección, los neutrófilos reconocen directamente a los organismos invasores a través de un conjunto de receptores conocidos como Receptores de Reconocimiento de Patrones (RRP), que reconocen moléculas características de los microorganismos pero que están ausentes en las células del huésped 5. Además, pueden reconocer a los microorganismos a través de receptores para componentes del complemento activado y de receptores para la porción Fc de las inmunoglobulinas G cuando los mismos se encuentran recubiertos (opsonizados) por ciertos componentes activados del sistema complemento o por anticuerpos, respectivamente. El reconocimiento de microorganismo infectante a través de este conjunto de receptores, suele desencadenar su fagocitosis 2.

Cuando un microorganismo es fagocitado, es sometido a dos sistemas microbicidas. Uno de ellos se encuentra constituido por una batería de enzimas hidrolíticas y de péptidos antimicrobianos presentes en el neutrófilo dentro de gránulos citoplasmáticos preformados que se fusionan con el fagosoma. Estas enzimas incluyen entre muchas otras a la elastasa, la catepsina G y la proteinasa 3, que ejercen funciones microbicidas en el interior de los fagosomas. El otro sistema microbicida al cual es sometido el microorganismo es dependiente de la producción de Intermediarios Reactivos del Oxígeno (IRO) por la enzima NADPH oxidasa, en un proceso conocido como estallido respiratorio por su intensa demanda de oxígeno molecular. La NADPH oxidasa constituye un complejo enzimático que involucra componentes citosólicos (las proteínas p47phox, p67phox, p40 y Rac) y componentes presentes en la membrana plasmática y en la membrana de ciertos gránulos que se fusionan a ella cuando los neutrófilos son activados (las proteínas gp91phox y p22phox, que juntas forman el citocromo b558). Sólo cuando los neutrófilos son activados, por ejemplo tras el reconocimiento de un microorganismo, los componentes citosólicos se translocan a la membrana plasmática (la cual

rápida­mente formará la membrana de los fagosomas naci­entes) asocián­dose al citocromo b558, donde se constituye una NADPH oxidasa activa capaz de generar anión superóxido, primer intermediario reactivo derivado del oxígeno a partir del cual, por diversas reacciones enzimáticas se generan peróxido de hidrógeno, hipoclorito, oxígeno singlete y cloraminas 6. Todas estas moléculas median el daño oxidativo a distintos componentes del microorganismo fagocitado.

Un nuevo mecanismo microbicida extracelular: las trampas extracelulares de neutrófilos (NET)

En 1958, Hirsch describió la capacidad bactericida de las histonas, la cual fue confirmada posteriormente por otros investigadores 7. El significado biológico de este hallazgo no fue comprendido en su momento porque era difícil explicar en qué circunstancias las histonas, proteínas usualmente presentes en el núcleo celular, podrían tomar contacto con los microorganismos. Casi cincuenta años más tarde, en el año 2004, Brinkmann y colaboradores hallaron una respuesta a este interrogante 1. Ellos describieron que la activación del neutrófilo no sólo puede desencadenar la fagocitosis de los microorganismos infectantes sino también la liberación de estructuras extracelulares similares a una red llamadas “trampas extracelulares de neutrófilos” o NET (de neutrophil extracellular traps). Estas redes están constituidas por la cromatina nuclear (ADN + histonas), proteínas de los gránulos de los neutrófilos y proteínas citoplasmáticas asociadas a ella 8. Las NET actuarían como una red de contención de la infección al mismo tiempo que mediarían la destrucción extracelular de los patógenos gracias a su capacidad de sostener una alta concentración local de sustancias antimicrobianas. Estas sustancias incluyen a las proteínas de los gránulos del neutrófilo y a las histonas.

¿Cuáles son los mecanismos moleculares que conducen a la liberación de NET?

La liberación de NET se encuentra asociada a una forma de muerte celular distinta de la apoptosis y de la necrosis, a la cual se denominó NETosis (Figura 1). Éste es un proceso activo en el cual el núcleo pierde su forma polilobulada, la eu□ y la heterocromatina se homogenizan (Figura 1, parte 1 y 2), la envoltura nuclear y las membranas granulares se desintegran y el material nuclear toma contacto directo con los componentes de los gránulos (Figura 1 parte 3). Finalmente, la membrana celular se rompe y las NET son liberadas en forma concomitante con la muerte celular (Figura 1 parte 4) 9. Dado que el ADN no sufre fragmentación, la cromatina se despliega una vez que es liberada al espacio extracelular. Ésta constituye un andamiaje que permite atrapar microorganismos. Sobre dicho andamiaje, las proteasas granulares asociadas y las propias histonas ejecutan funciones microbicidas en un radio de acción limitado por la cromatina liberada, que reduciría el daño a los tejidos lindantes.

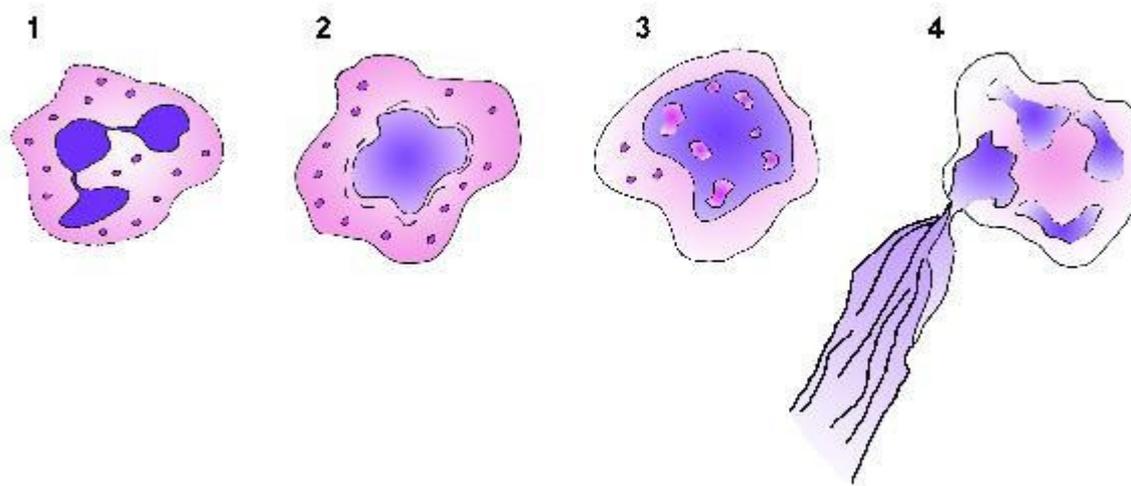


Figura 1. Mecanismo de NETosis.

Durante la NETosis, un evento crítico es la descondensación de la cromatina. Estudios previos demostraron que la hipercitrulinación de las histonas mediada por la enzima peptidilarginin deiminasa 4 (PAD4) regula el desplegado de la cromatina durante la formación de NET 10. También la enzima elastasa parece ser necesaria para la descondensación de la cromatina. Las evidencias experimentales sugieren que esta proteasa de los gránulos azurófilos se libera de los mismos por acción de IRO y luego se transloca al núcleo donde media la degradación de histonas nucleosomales permitiendo la descondensación de la cromatina. Más tardíamente, la mieloperoxidasa (MPO), otra enzima de los gránulos azurófilos, también se asocia a la cromatina contribuyendo a incrementar la descondensación a través de un mecanismo que no involucra a su actividad enzimática 11.

La formación de NET inducida por ácido forbol mirístico (PMA; el más potente inductor de su liberación) y por diversos géneros bacterianos, requiere además de la producción de IRO por la enzima NADPH oxidasa 9, 12. Por este motivo, quienes padecen la enfermedad granulomatosa crónica (EGC) ya que exhiben una deficiencia en la NADPH oxidasa, tienen comprometida su capacidad de formar NET. Estudios recientes, sin embargo, sugieren que en respuesta a otros estímulos como el ionóforo de calcio ionomicina, los IRO serían prescindibles 13.

A pesar de los requerimientos mencionados, es relativamente poco lo que se conoce sobre los mecanismos moleculares que conducen a la formación de NET, aunque es posible que nuestro conocimiento se incremente sustancialmente en años venideros por las activas investigaciones en curso en distintos laboratorios.

¿Cuáles son los componentes proteicos de la NET además de las histonas?

Mediante el empleo de técnicas de inmunomarcación y microscopía confocal, así como también por estudios de proteómica, se identificaron diversas proteínas asociadas a las NET. Estas incluyen al antígeno mielóide de diferenciación nuclear (MND), a proteínas de los gránulos como la MPO, elastasa, proteinasa 3, catepsina G, lactoferrina, azurocidina, lisozima C, BPI (proteína bactericida incrementadora de la permeabilidad), catelicidina, pentraxina y las alfa defensinas. Las NET también involucran proteínas citoplasmáticas, entre ellas enzimas glucolíticas, catalasa, cinco proteínas del citoesqueleto, tres proteínas S100 y la proteína antifúngica calprotectina 8, 14.

¿Qué estímulos conducen a la generación de NET?

La naturaleza de los estímulos que conduce a liberación de NET es muy variada. Uno de los más poderosos es el PMA (un activador de la proteína quinasa C). Otros agonistas proinflamatorios fisiológicos inductores de estas trampas son el componente del complemento C5a y la quimiocina IL-8. También numerosos agentes biológicos son capaces de inducir la liberación de NET, entre ellos, diversas bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycobacterium tuberculosis*), hongos (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*) y parásitos (*Plasmodium falciparum*, *Leishmania amazonensis*, *Eimeria bovis*) 15.

Se ha demostrado también que los neutrófilos son capaces de liberar NET en respuesta a cristales de urato monosódico (MSU). Éstos constituyen estímulos inflamatorios estériles, es decir, estímulos que generan inflamación pero no se encuentran asociados necesariamente a una infección, sino al daño celular. Cuando las células sufren daño o necrosis, liberan ácido úrico, un producto de desecho del catabolismo de las purinas. En microambientes extracelulares ricos en sodio, el ácido úrico forma cristales de MSU, que otros investigadores y nuestro grupo han demostrado ser capaces de inducir la liberación de NET 16 (Figura 2). Este hallazgo cobra relevancia en pacientes que padecen Gota, una enfermedad donde los cristales de MSU se depositan en las articulaciones provocando una artropatía dolorosa 17. Se ha demostrado que el fluido sinovial de las articulaciones de estos pacientes es capaz de inducir la liberación de NET 16.

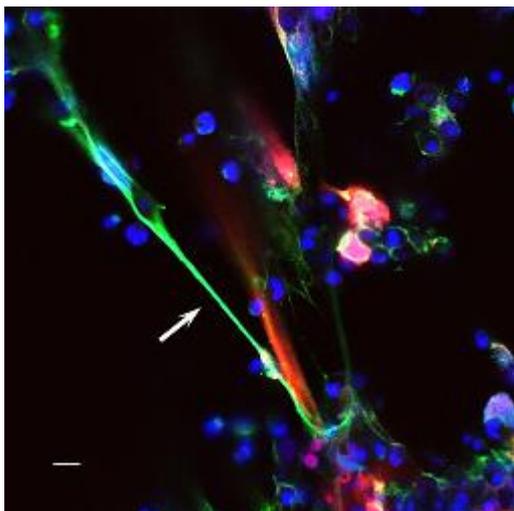


Figura 2: Imagen de NET generadas tras la estimulación de neutrófilos humanos purificados de sangre periférica con LPS y MSU. Los neutrófilos fueron estimulados para liberar NET, luego fueron fijados y el ADN fue teñido con ToPro3 (azul), los nucleosomas fueron evidenciados mediante un anticuerpo específico que emite fluorescencia roja (Dylight549) y la elastasa fue revelada con un anticuerpo que emite fluorescencia verde (DyLight 488). La imagen fue adquirida con un microscopio confocal Olympus FluoView1000. La barra representa 10 μ m. La flecha blanca señala una NET donde se observa la superposición de las fluorescencias azul, roja y verde.

Estudios realizados en ratones demostraron que cuando las plaquetas (componentes sanguíneos responsables de la formación de coágulos o trombos) son activadas por LPS a través de su receptor, el receptor de tipo Toll 4 (TLR4), se unen a los neutrófilos adheridos a sinusoides e inducen una robusta liberación de NET 18. Estas NET mantienen su integridad bajo condiciones de flujo, permitiendo el atrapamiento de bacterias que se encuentren en la sangre. Este mecanismo antibacteriano, sin embargo, ocurre a expensas de daño endotelial y de otros tejidos. Es interesante señalar que en este modelo, el LPS por sí sólo no ha sido capaz de estimular a los neutrófilos a liberar NET y que las concentraciones de LPS capaces de activar a las plaquetas son cien veces superiores a las necesarias para estimular otras funciones de los neutrófilos. Por este motivo, Paul Kubes, investigador a cargo de estos estudios, propone que las plaquetas funcionarían como un barómetro para detectar ciertos niveles de productos bacterianos en la sangre. De este modo, las plaquetas sólo se activarían en serias infecciones sistémicas e inducirían a los neutrófilos a liberar NET como último recurso para atrapar y matar a las bacterias 19. Este mecanismo ocurriría en la microvasculatura pulmonar y hepática, donde el atrapamiento sería más eficiente.

¿Son las NET inmunológicamente relevantes?

Existen distintas evidencias que sustentan la importancia inmunológica de las NET. Un ejemplo de ello son los resultados obtenidos en un modelo de sepsis, donde la disrupción de las NET por tratamiento intravascular con DNasa o por depleción de plaquetas, resultó en una marcada bacteriemia 20. Sin embargo, la evidencia más contundente sobre la importancia de las NET proviene de un estudio realizado con un paciente con enfermedad granulomatosa crónica que padecía una aspergillosis (micosis) recalcitrante. La aplicación de terapia génica a este paciente para corregir su deficiencia de la NADPH oxidasa, restauró parcialmente la producción de NET y como era esperable, la capacidad microbicida del paciente. Sorprendentemente la restitución de la capacidad de generar NET condujo a la eliminación de *Aspergillus nidulans* y a la cura de la aspergillosis pulmonar invasiva refractaria a la terapia 21.

El papel relevante de las NET como parte de la inmunidad innata se manifiesta también por la existencia de mecanismos desarrollados evolutivamente por microorganismos para evadir su acción, sea a través de la degradación de las NET, resistencia a ciertos factores intrínsecos de las mismas o la supresión de su producción 15. Por ejemplo, ciertos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* contienen una cápsula que disminuye su atrapamiento por las NET. Otros estudios demostraron que *S. pneumoniae* expresa una endonucleasa de superficie que permite al microorganismo degradar al ADN de las NET y escapar de las mismas, permitiendo la diseminación del patógeno 22. Diversos experimentos de manipulación genética microbiana, como la mutación de nucleasas bacterianas y la expresión heteróloga de las mismas en cepas que no las expresan, proveyeron sustento adicional al rol crítico de las NET en la defensa innata.

NET y autoinmunidad

A pesar de la relevancia de la NETosis en la defensa antiinfecciosa, las NET podrían representar un arma de doble filo para el organismo puesto que sus proteasas podrían ocasionar extenso daño tisular y porque en sí mismas constituyen una rica fuente de autoantígenos que podrían desencadenar fenómenos autoinmunes. Sustentando esta posibilidad, se ha reportado que muchos de los pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico, una enfermedad autoinmune caracterizada por la producción de anticuerpos contra antígenos nucleares como ADN y ribonucleoproteínas, exhibe una deficiente degradación de NET, que se acentúa cuando recrudescen la enfermedad 23. Por estos motivos, es de esperar que tanto la generación como la eliminación de las NET sean procesos cuidadosamente regulados.

Comentarios finales

Ha pasado mucho tiempo desde las observaciones realizadas por Metchnikoff y mucho hemos aprendido sobre la fisiología de los neutrófilos. Sin embargo, es aún muy reducida la información de que disponemos sobre la formación de NET, su regulación y eliminación. La

investigación extensiva en este campo que está teniendo lugar en distintos laboratorios, probablemente en un futuro no muy lejano aporte respuestas a muchos de los interrogantes que nos formulamos. Es de esperar que los resultados nos brinden también blancos terapéuticos potenciales para bloquear su producción en aquellas situaciones donde su capacidad de inducir daño tisular supera al beneficio aportado por su acción antimicrobiana.

Bibliografía

- 1 Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004;303(5663):1532-1535.
- 2 Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 2000;80(5):617-653.
- 3 Dinauer MC. Disorders of neutrophil function: an overview. *Methods Mol Biol* 2007;412:489-504.
- 4 Etzioni A. Genetic etiologies of leukocyte adhesion defects. *Curr Opin Immunol* 2009;21(5):481-486.
- 5 Prince LR, Whyte MK, Sabroe I, Parker LC. The role of TLRs in neutrophil activation. *Curr Opin Pharmacol* 2011;11(4):397-403.
- 6 Sheppard FR, Kelher MR, Moore EE, McLaughlin NJ, Banerjee A, Silliman CC. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *J Leukoc Biol* 2005;78(5):1025-1042.
- 7 Hirsch JG. Bactericidal action of histone. *J Exp Med* 1958;108(6):925-944.
- 8 Urban CF, Ermert D, Schmid M, et al. Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog* 2009;5(10):e1000639.
- 9 Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007;176(2):231-241.
- 10 Wang Y, Li M, Stadler S, et al. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J Cell Biol* 2009;184(2):205-213.
- 11 Papayannopoulos V, Metzler KD, Hakkim A, Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2010;191(3):677-691.
- 12 Remijnsen Q, Vanden Berghe T, Wirawan E, et al. Neutrophil extracellular trap cell death requires both autophagy and superoxide generation. *Cell Res* 2011;21(2):290-304.

- 13 Parker H, Dragunow M, Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Requirements for NADPH oxidase and myeloperoxidase in neutrophil extracellular trap formation differ depending on the stimulus. *J Leukoc Biol* 2012;92(4):841-849.
- 14 Papayannopoulos V, Zychlinsky A. NETs: a new strategy for using old weapons. *Trends Immunol* 2009;30(11):513-521.
- 15 von Kockritz-Blickwede M, Nizet V. Innate immunity turned inside-out: antimicrobial defense by phagocyte extracellular traps. *J Mol Med (Berl)* 2009;87(8):775-783.
- 16 Mitroulis I, Kambas K, Chrysanthopoulou A, et al. Neutrophil extracellular trap formation is associated with IL-1beta and autophagy-related signaling in gout. *PLoS One* 2011;6(12):e29318.
- 17 Rock KL, Kataoka H, Lai JJ. Uric acid as a danger signal in gout and its comorbidities. *Nat Rev Rheumatol* 2012.
- 18 Clark SR, Ma AC, Tavener SA, et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* 2007;13(4):463-469.
- 19 Phillipson M, Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation. *Nat Med* 2011;17(11):1381-1390.
- 20 McDonald B, Urrutia R, Yipp BG, Jenne CN, Kubes P. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from the bloodstream during sepsis. *Cell Host Microbe* 2012;12(3):324-333.
- 21 Bianchi M, Hakkim A, Brinkmann V, et al. Restoration of NET formation by gene therapy in CGD controls aspergillosis. *Blood* 2009;114(13):2619-2622.
- 22 Beiter K, Wartha F, Albiger B, Normark S, Zychlinsky A, Henriques-Normark B. An endonuclease allows *Streptococcus pneumoniae* to escape from neutrophil extracellular traps. *Curr Biol* 2006;16(4):401-407.
- 23 Leffler J, Martin M, Gullstrand B, et al. Neutrophil extracellular traps that are not degraded in systemic lupus erythematosus activate complement exacerbating the disease. *J Immunol* 2012;188(7):3522-3531.