

DESREGULAÇÃO DO COMPLEMENTO NAS DOENÇAS RENAIS: O QUE O NEFROLOGISTA PRECISA SABER EM 2023?

08 de maio de 2023

*Maria Almerinda Vieira Fernandes Ribeiro Alves
Disciplina de Nefrologia- DCM- FCM-UNICAMP*

Triggered by

Initiator Molecules

Proteases

C3 convertase

C5 convertase

Classical pathway

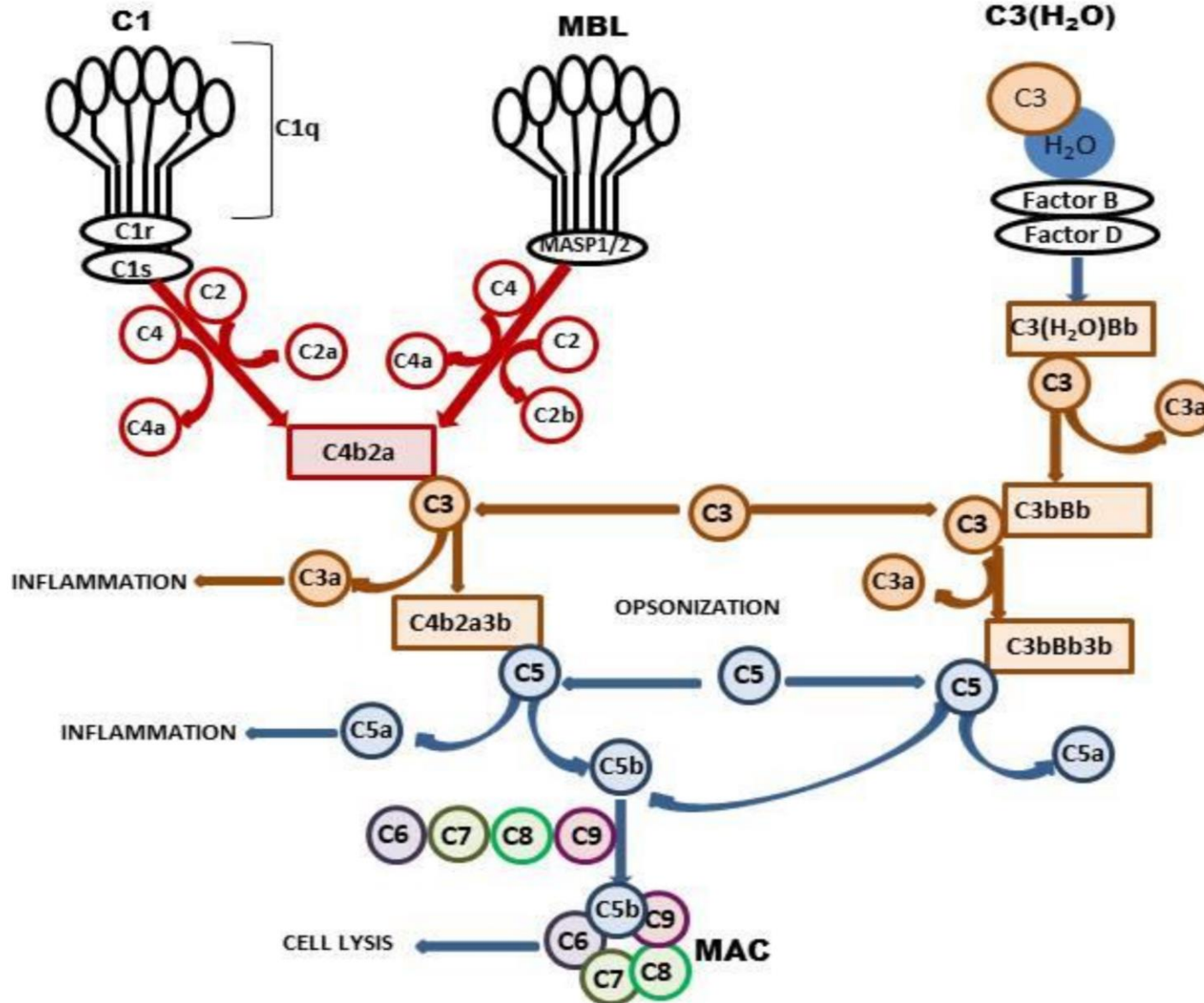
Antigen-antibody complex, Apoptotic cells, C reactive protein (CRP), B-Amyloid, Phospho-tau, Neuronal blebs

Lectin pathway

High-density of mannose, fructose and N-acetylated sugars on cell surfaces

Alternative pathway

Unknown molecules on pathogen surfaces



SISTEMA DO COMPLEMENTO

Objetivo

- Defesa imunológica (Inata e/ou adquirida)

Vias de Ativação

- Via Clássica
- Via Lectina
- Via alternativa
- Via comum

Marcadores de Ativação

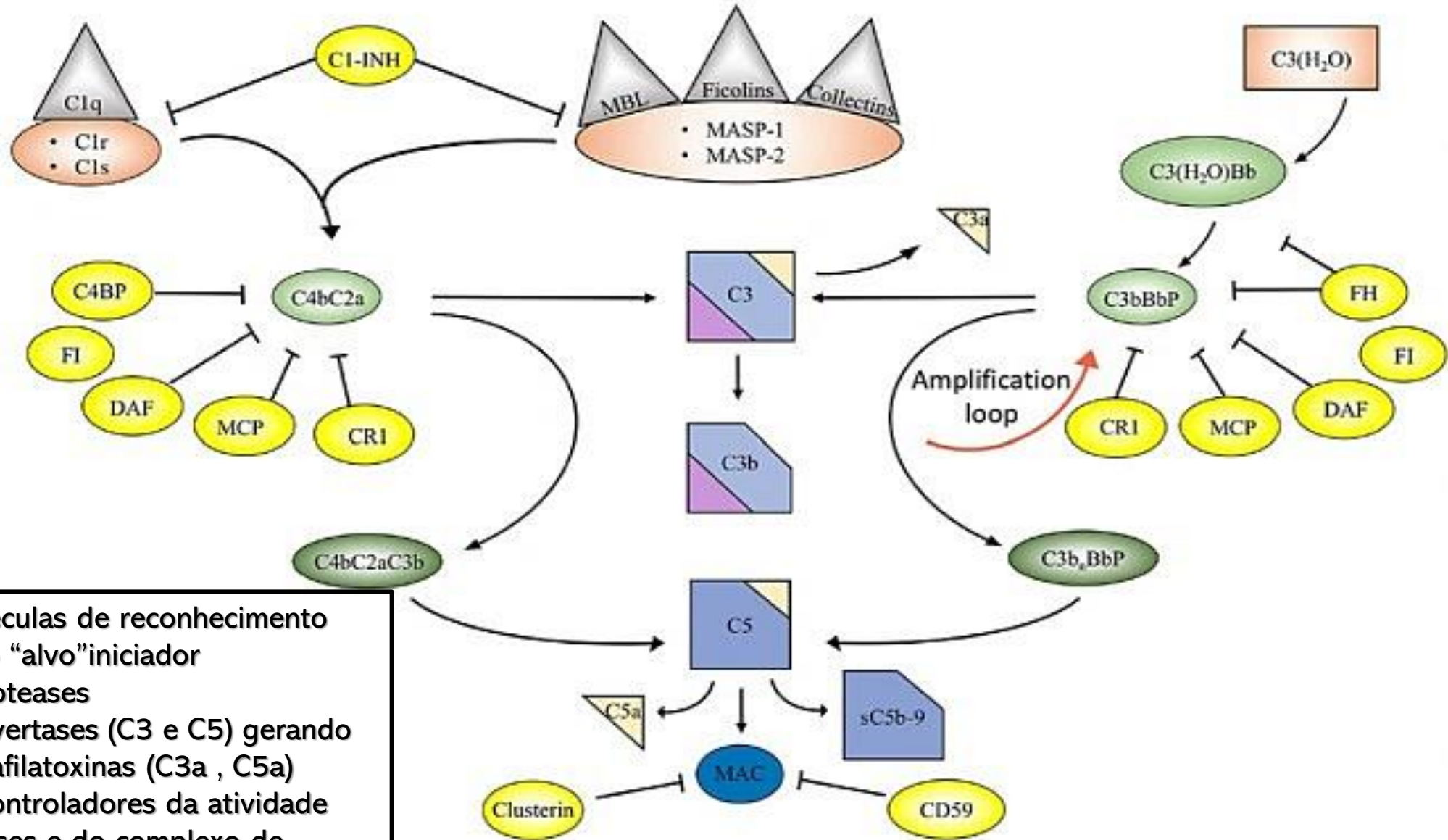
- C_{3a}, C_{3c}, C_{3d}
- C_{4a}, C_{4d}, Bb
- C_{5a}, C_{5b9}solúvel

A

Classical pathway

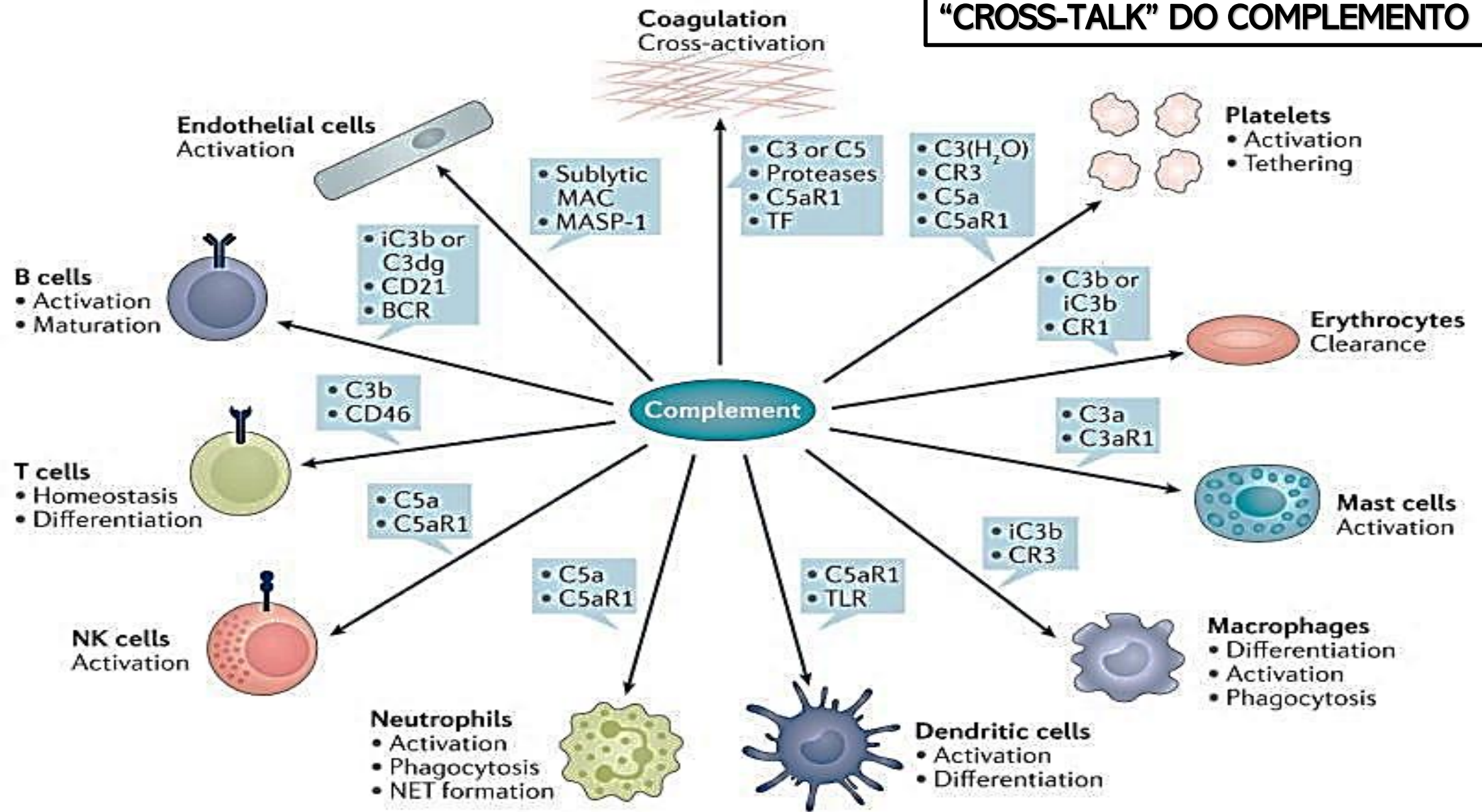
Lectin pathway

Alternative pathway

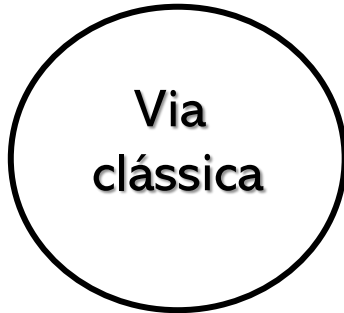


Cinza = moléculas de reconhecimento do "alvo" iniciador
Laranja = proteases
Verde = convertases (C3 e C5) gerando anafilatoxinas (C3a , C5a)
Amarelo = controladores da atividade das convertases e do complexo de ataque á membranas celulares

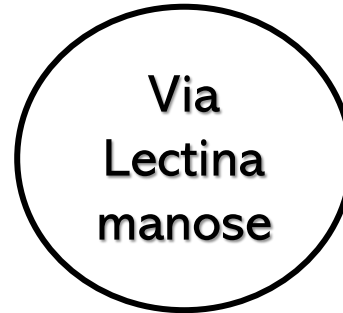
“CROSS-TALK” DO COMPLEMENTO



SISTEMA DE COMPLEMENTO



Reconhecimento através
de imunidade adquirida
ICs

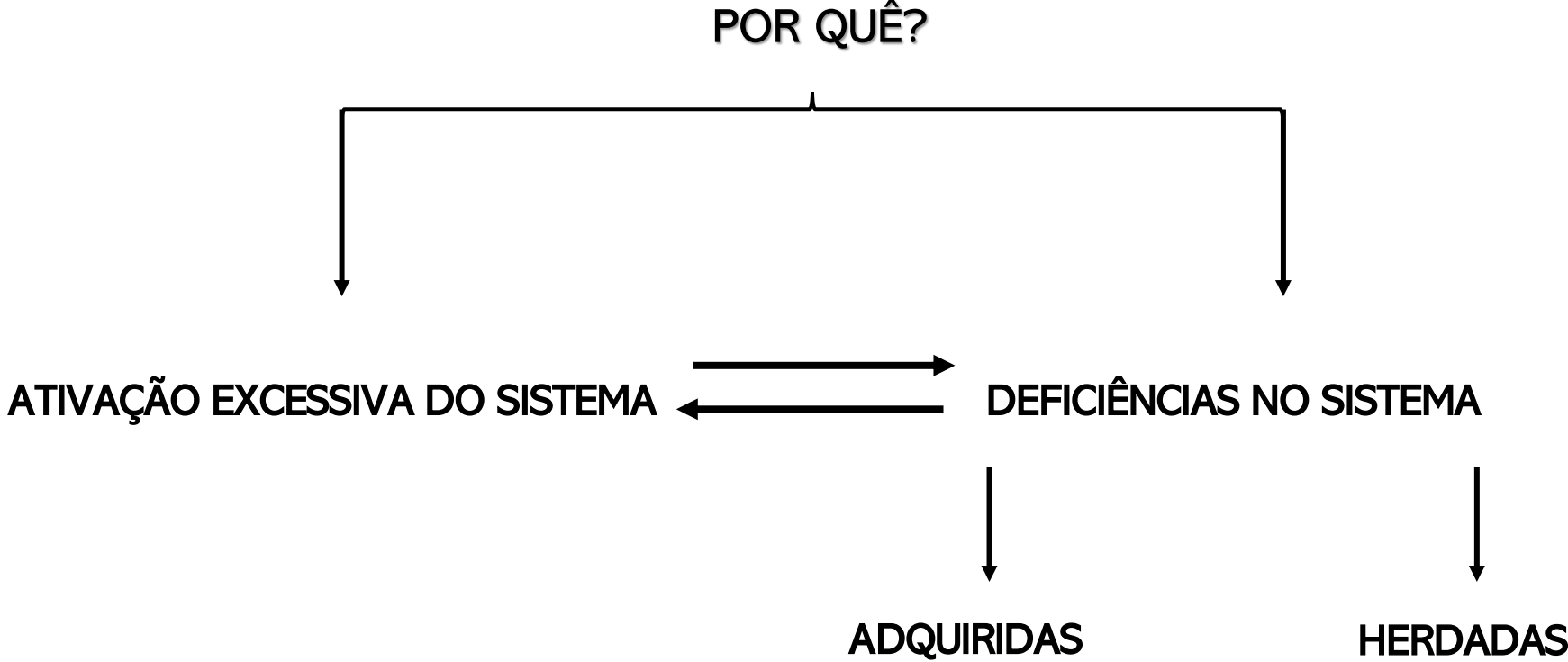


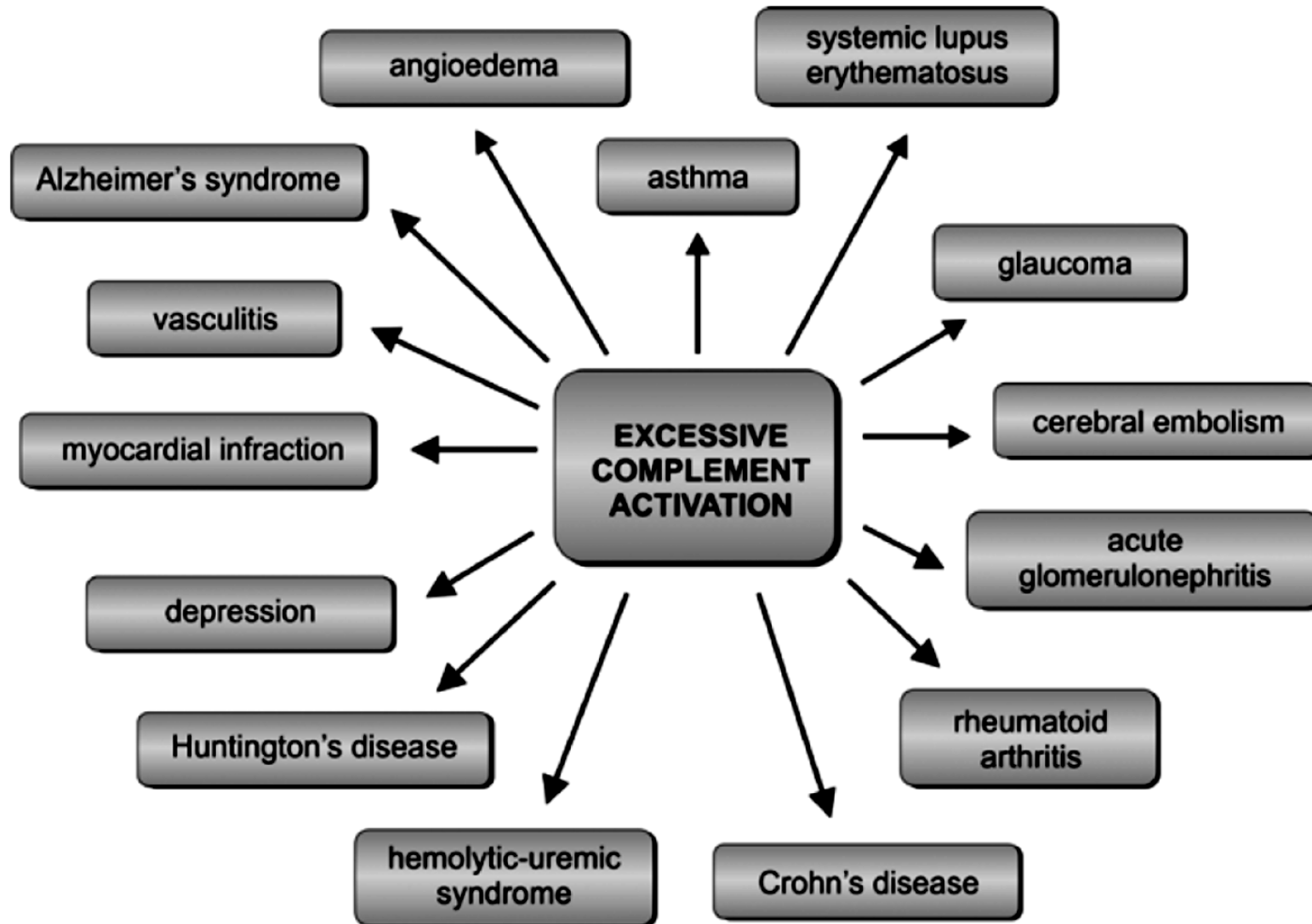
Reconhecimento através
de substâncias encontradas
na superfície de vários
microorganismos



“Basta reconhecer como
perigo”

COMPROMETIMENTO DO CONTROLE FUNCIONAL DO COMPLEMENTO





- São em torno de 50 proteínas e fragmentos de proteína que estão envolvidos no processo funcional do Complemento
- Ativação e consumo não são sinônimos
- A maior produção das proteínas envolvidas é de origem hepática
- Produção extra hepática foi identificada em rins, cérebro, intestino e pulmões

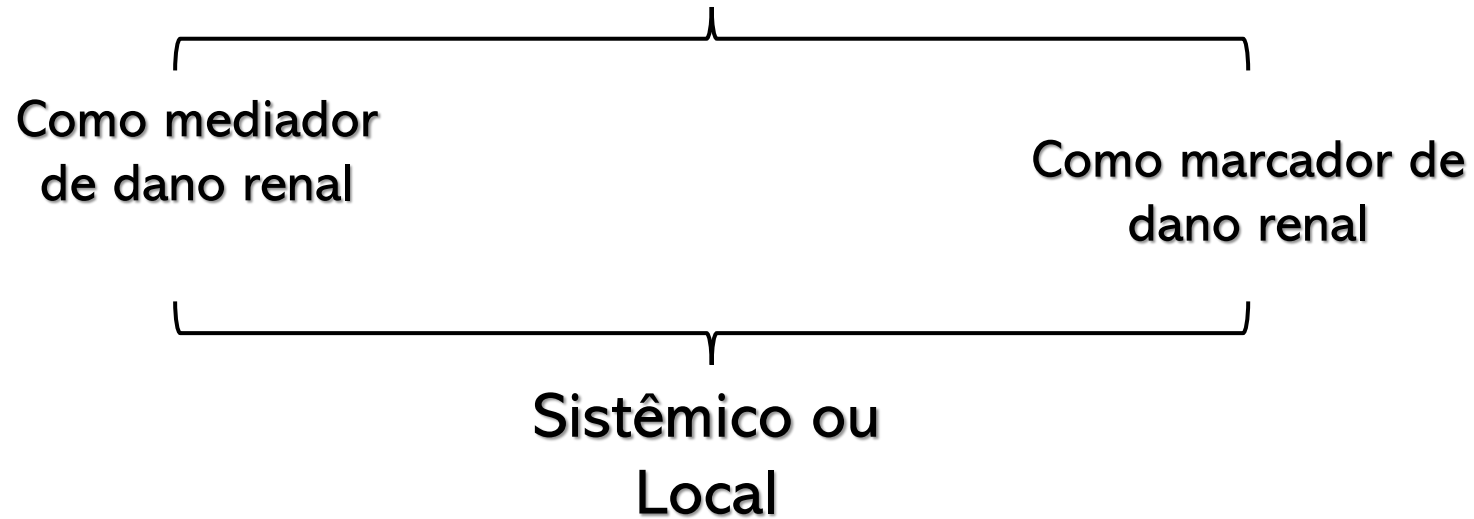
“The kidney is a major extrahepatic site of complement production with different kidney cells synthesizing both C3 and C5 and complement regulatory proteins such as CD46, CD55, CD59, and Crry” (Jessi J Alexander)

J Immunol 2023 Jan 15;210(2):119-125

	Síntese
Célula epitelial glomerular (podócito)	C ₃ C ₄
Célula mesangial	C ₂ C ₃ C ₄ FB FH
Célula endotelial	C ₃
Célula tubular epitelial	C ₂ C ₃ C ₄ FB FH

Síntese de componentes do sistema Complemento por células renais

SISTEMA DE COMPLEMENTO



COMO IDENTIFICAR O ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO?

- No sangue?
- No tecido?
- Na urina?
- No genoma?

SISTEMA DE COMPLEMENTO

Avaliando desregulação no sangue

sero? ou plasma?

Para a análise do sistema funcional (como um todo)
é soro

Para a análise individual dos componentes é plasma

IMPORTÂNCIA DA **TÉCNICA** ADEQUADA PARA AVALIAÇÃO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO

Which technique or assay?



Assessment of complement function or individual complement components?

Complement function



Individual complement components



Complement-preserved serum

- Hemolytic activity assays
CP (CH50)
AP (AH50)
- Functional ELISA
- Functionalized liposomes



EDTA-Plasma

- Nephelometry
- ELISAs
- Multiplex assays
- OMICS/protein arrays
- Mass spectrometry

Em **27%** de 92 estudos sobre adequação na coleta e/ou técnica (02/2017 a 02/2022) de avaliação do sistema de complemento foi identificado erro

IMPORTANCIA DA **COLETA** ADEQUADA DA AMOSTRA PARA AVALIAÇÃO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO

Which sample type?

Assessment of complement function or individual complement components?

Complement function

Individual complement components



Complement-preserved serum

- Collect aseptically and process within 1h
- Let clot at RT (30–45 min)
- Centrifuge 10 min, 2000xg, 4°C
- Store at -80°C
- Keep on ice during pre-analytical sample handling
- Avoid freeze-thawing

Prevent artificial complement activation in the tube!



EDTA-Plasma

- Put on ice immediately after collection
- Process within 1h
- Centrifuge 10 min, 2000xg, 4°C
- Store at -80°C
- Keep on ice during pre-analytical sample handling
- Avoid freeze-thawing

SISTEMA DE COMPLEMENTO

Avaliando desregulação no tecido

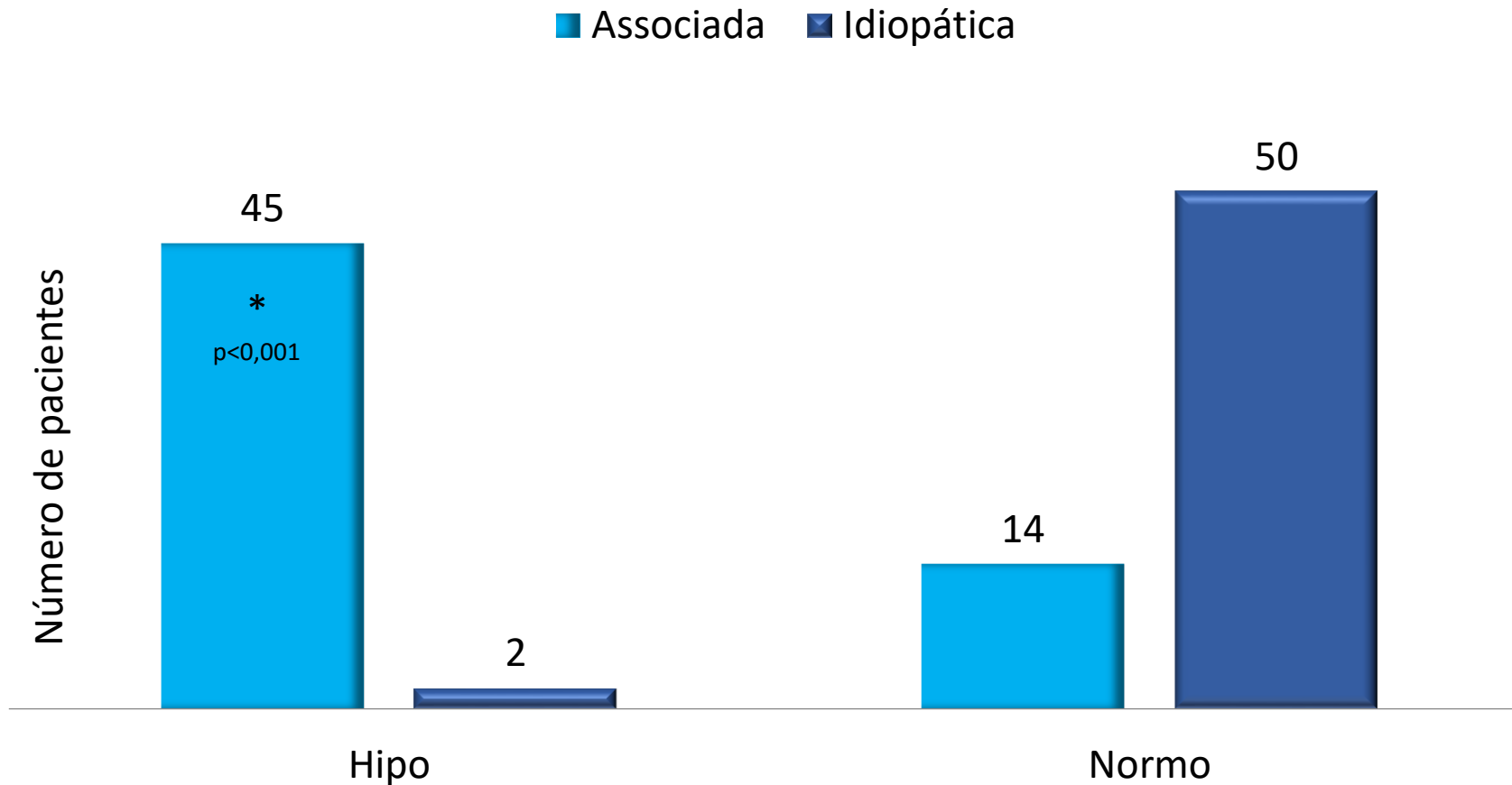
COMO IDENTIFICAR O ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO?

- No sangue?
- No tecido?
- Na urina?
- No genoma?

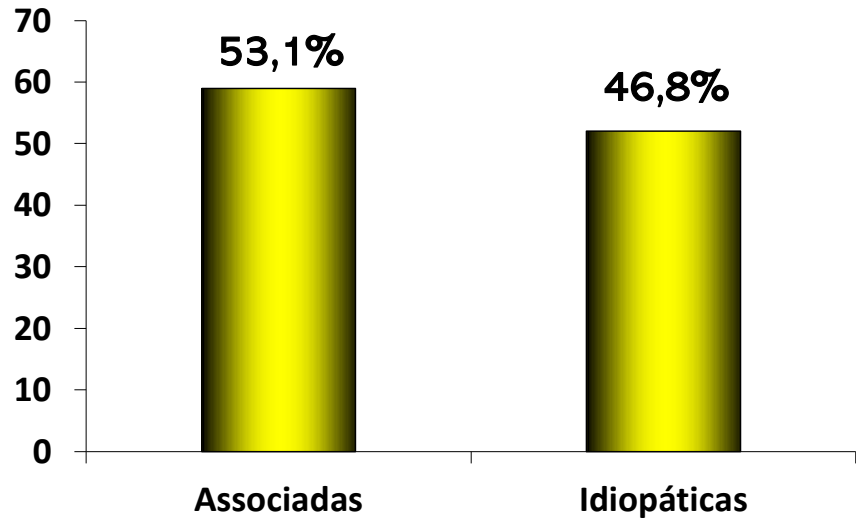
Glomerulopatias hipocomplementêmicas

Período :	2000 a 2005
Critérios de Inclusão: (no momento BR)	> 16 anos Biópsia Renal MO, IF, ME Sorologias vírus B, C, HIV Parasitológico Dosagem de C3 e C4 no plasma Ausência de história familiar
n	111

Etiologia de doenças glomerulares de acordo com a presença ou não de hipocomplementemia



Glomerulopatias hipocomplementêmicas



Na investigação etiológica 53,1% eram GPs associadas e dessas 95,7% eram hipocomplementêmicas

	Hipocomplementemia	Normocomplementemia
Associadas	45 (95,7%)	14 (21,8%)
Idiopáticas	2 (4,3%)	50 (78,2%)
	47	64

p < 0,0001

Glomerulopatias

		HIPOCOMPLEMENTEMIA		NORMOCOMPLEMENTEMIA	
IDIOPÁTICA	2	MEMBRANOPROLIFERATIVA		50	MEMBRANOSA 19
					GESF 10
					IGA 8
					LESÕES MÍNIMAS 7
					MEMBRANOPROLIFERATIVA 6
ASSOCIADA	45			14	
		LÚPUS ERITEMATOSO	35	LÚPUS ERITEMATOSO	6
		HIV	3	HIV	-
		PÓS ESTREPTOCÓCICA	2	PÓS ESTREPTOCÓCICA	-
		HEP B	1	HEP B	2
		VASCULITES	-	VASCULITES	2
		HEP C	1	HEP C	1
		NEOPLASIA	-	NEOPLASIA	1
		LUES	-	LUES	1
		“SHUNT”	1	“SHUNT”	-
		OSTEOMIELITE	1	OSTEOMIELITE	-
		ESQUISTOSSOMOSE	1	ESQUISTOSSOMOSE	1

MARCADORES **SÉRICOS** DO SISTEMA DE COMPLEMENTO RELACIONADOS A DOENÇA RENAL
PRESENÇA, GRAVIDADE E/OU ATIVIDADE

**AUMENTO SÉRICO
DO MARCADOR**

DOENÇA

Ba

Microangiopatia Trombótica associada a TX renal, GESF

Bb

Membranosa , GESF

C3a

Crianças em UTI, Membranosa primária, GESF

C4a

Crianças em UTI

C5b-9 solúvel

TX de doador falecido, GESF

SISTEMA DE COMPLEMENTO

Avaliando desregulação no tecido

COMO IDENTIFICAR O ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO?

- No sangue?
- **No tecido?**
- Na urina?
- No genoma?

VSUALIZANDO ELEMENTOS DO COMPLEMENTO NA BIÓPSIA RENAL

C3	rim nativo
C1q	rim nativo
C4d	rim transplantado

→ na rotina

E os outros componentes do sistema ?

- Vale a pena?
- Com que indicação?
- Em todas independente da indicação?

Com o objetivo de melhorar a identificação da via de complemento envolvida e a magnitude da ativação tecidual

VSUALIZANDO ELEMENTOS DO COMPLEMENTO NA BIÓPSIA RENAL

KEY POINTS

- Kidney biopsy staining for C3, C1q and C4d can provide valuable insight into complement activation in a broad spectrum of kidney disease.
 - Complement staining in kidney biopsies may help identify patients who will benefit from complement-directed therapies across a heterogeneous population.
 - Complement components vary significantly with respect to how quickly they are cleared from the tissue, which can influence their utility in the detection of disease and as markers of activity.
 - Interpretation of complement staining should be performed in nonsclerotic glomeruli due to the nearly universal staining for many complement components in glomerulosclerosis.
-

Current Opinion in Nephrology and Hypertension
32(3):p 241-248, May 2023.

**Investigando a ativação do
Complemento no tecido renal ?**

Classical

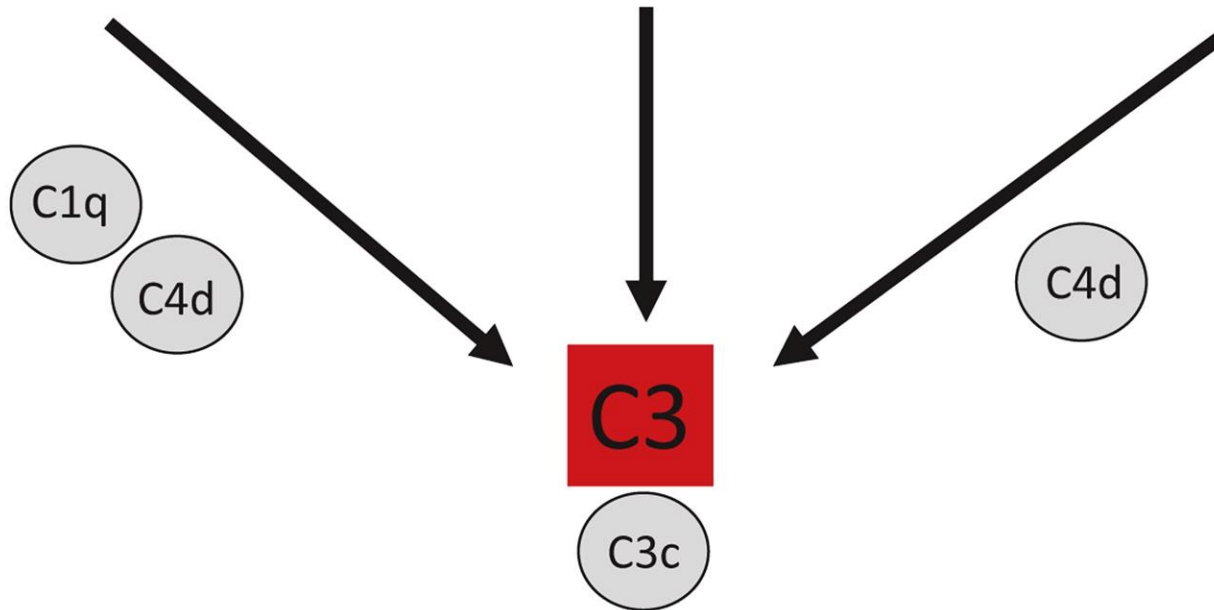
C1/C4/C2

Alternative

Factor B/Factor D/Properdin

Lectin

MBL/MASPs/C4/C2



DETECÇÃO DO COMPLEMENTO EM BIÓPSIAS RENAIIS POR QUÊ?

Importância da distribuição dos componentes do sistema para identificação da via de ativação envolvida

VALE A PENA IDENTIFICAR EM BIÓPSIAS RENAIIS PRODUTOS DE ATIVAÇÃO?

	C3	C4d	C1q	Ig
Classical	+	+	+	+
Alternative	+	-	-	-
Lectin	+	+	-	variable

- C_{3a} , C_{3c} , C_{3d}
- C_{4a} , C_{4d} , Ba , Bb
- C_{5a} , C_{5b9} *solúvel*

SISTEMA DE COMPLEMENTO

Avaliando desregulação na urina

COMO IDENTIFICAR O ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO?

- No sangue?
- No tecido?
- Na urina?
- No genoma?

MARCADORES **URINÁRIOS** DO SISTEMA DE COMPLEMENTO RELACIONADOS A DOENÇA RENAL PRESENÇA, GRAVIDADE E/OU ATIVIDADE

AUMENTO URINÁRIO DO MARCADOR	DOENÇA
Ba	IRA em cirurgia cardíaca , GESF
Bb	Vasculites ANCA, GESF
C3a	Vasculites ANCA
C3b	Glomerulosclerose Focal e Segmentar (GESF)
C3d	LES com nefrite, Nefrite Tubulo-intersticial
C4a	GESF
C5a	Transplante Renal , Vasculites ANCA, GESF
Fator H	IgA, Toxicidade por cisplatina
Properdina	Nefropatia por IgA, Receptor de Transplante renal
C5b-9 solúvel	Membranosa, GESF, IgA, Cisplatina , Receptor Tx , Vasculite ANCA, GESF, Membranoproliferativa

SISTEMA DE COMPLEMENTO

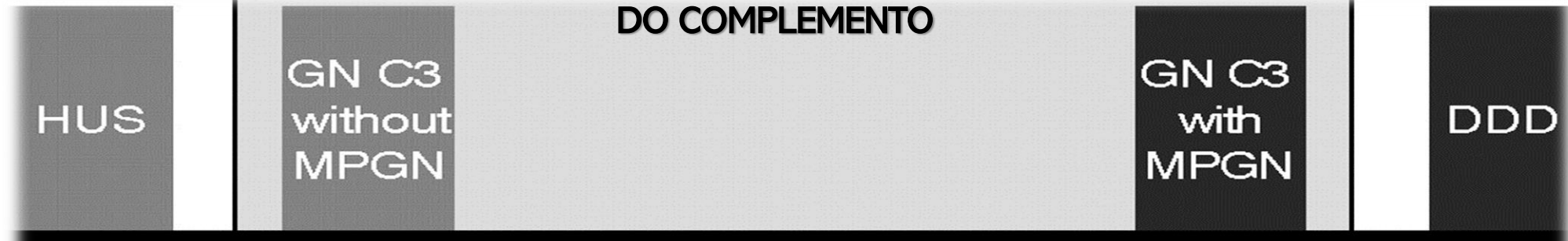
Avaliando desregulação na urina

COMO IDENTIFICAR O ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO?

- No sangue?
- No tecido?
- Na urina?
- No genoma?

AS DAMAS DA DESREGULAÇÃO DO COMPLEMENTO

CARACTERÍSTICAS DOS POSSÍVEIS ESPECTROS DAS DOENÇAS DE VIA ALTERNATIVA DO COMPLEMENTO



Local activation ?

Systemic activation ?

AS DAMAS DA DESREGULAÇÃO DO COMPLEMENTO

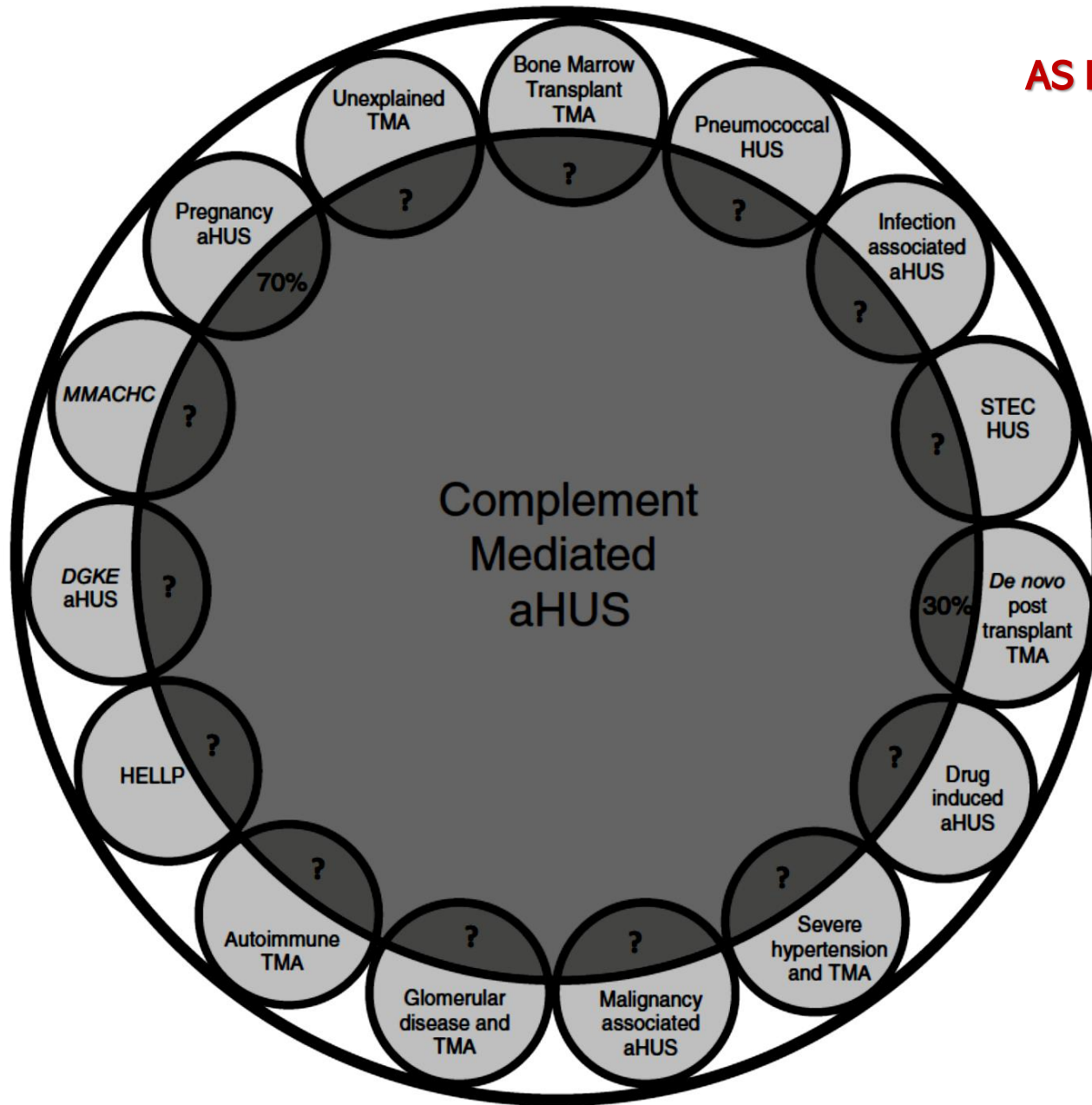
Síndrome Hemolítico Urêmica atípica



Associada a mutações do Complemento (via alternativa)

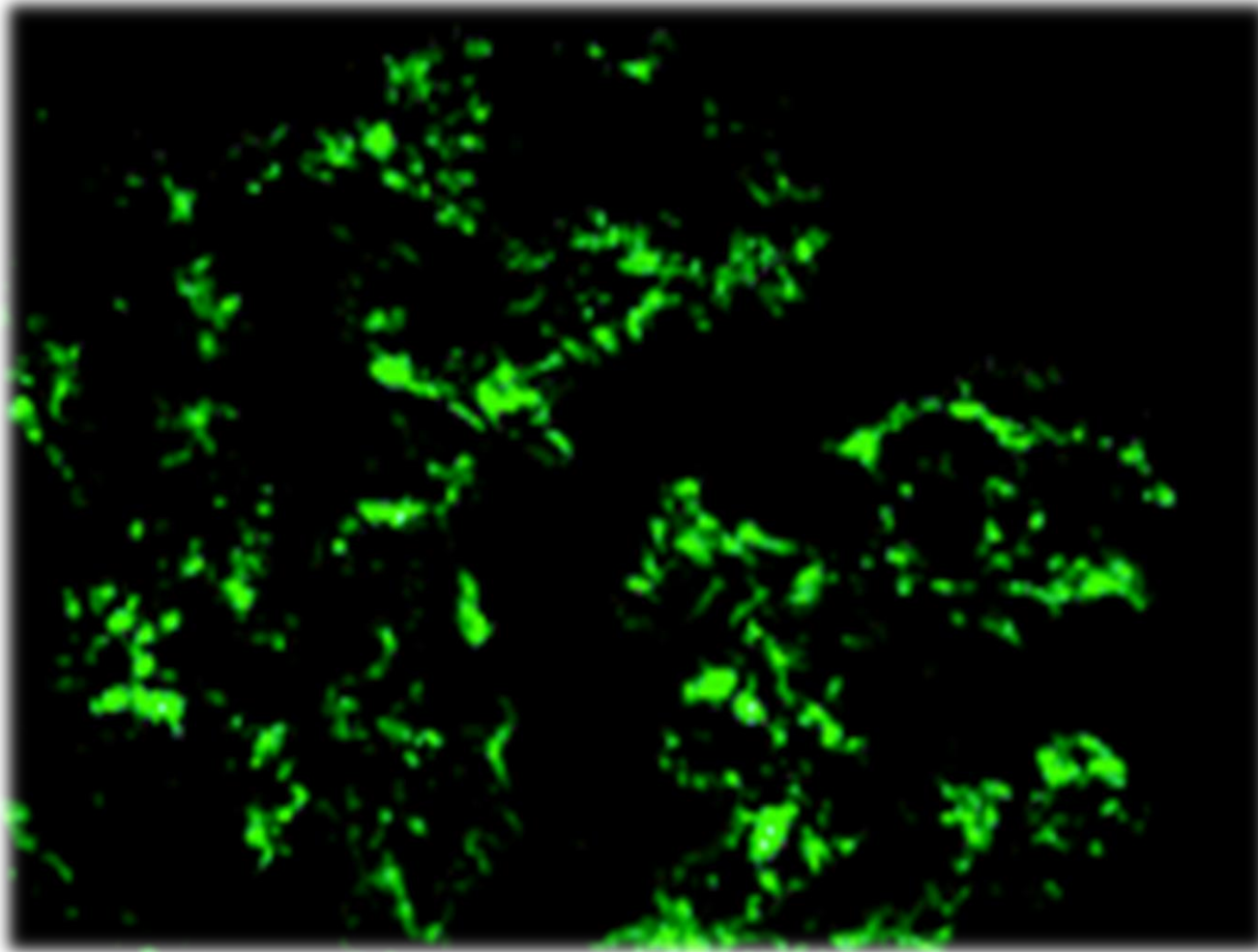
Possíveis quadros de microangiopatia trombótica, em diversas doenças, estão em associação com mutações.

Semin Immunopathol. 2018 Jan;40(1):49-64



GLOMERULOPATIA DE C₃

AS DAMAS DA DESREGULAÇÃO DO COMPLEMENTO



Mutações em fatores de
Complemento

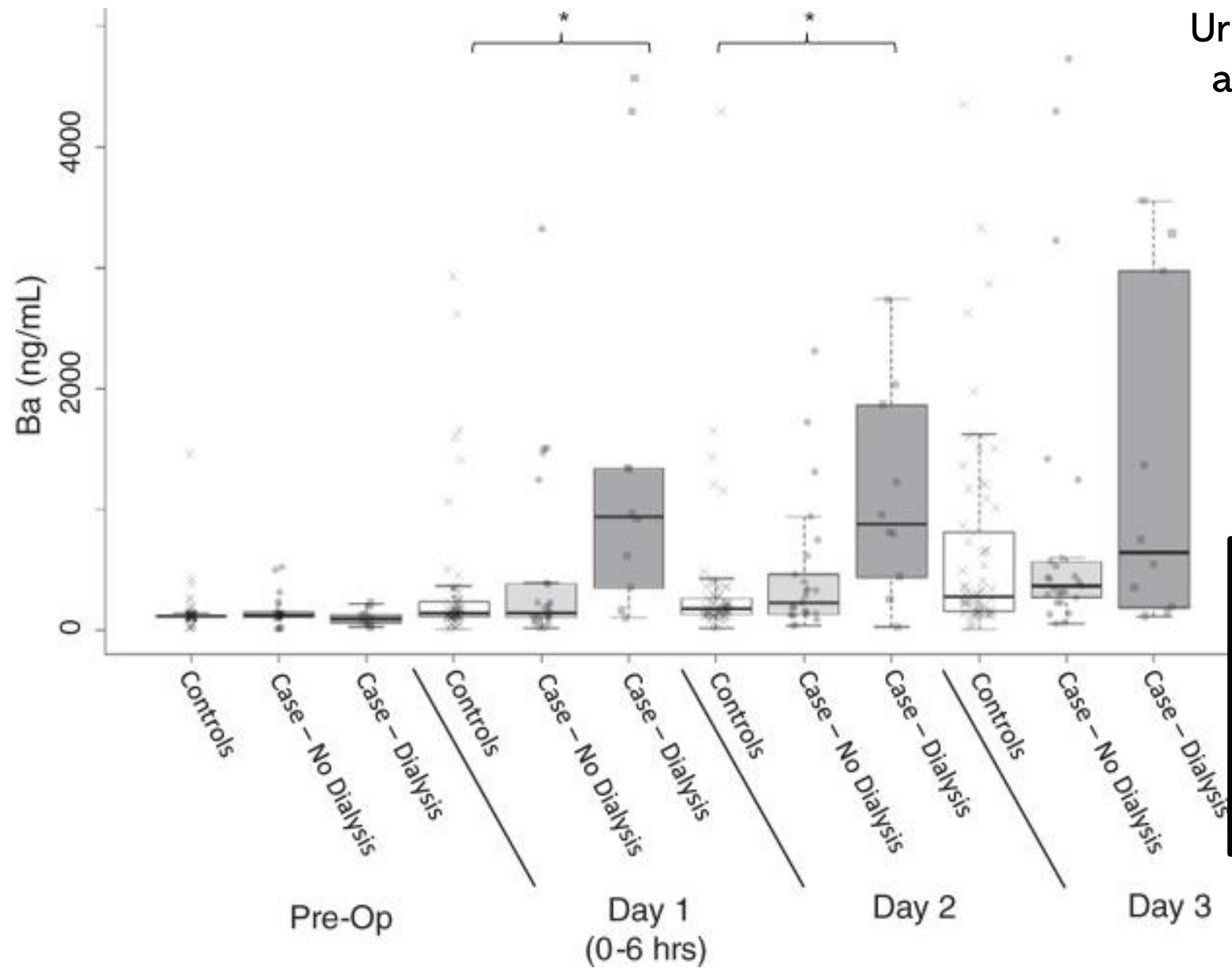
ou

Anticorpos contra proteínas
reguladoras de Complemento

COMPLEMENTO EM DOENÇA RENAL ALÉM DAS GLOMERULOPATIAS

TABLE 1 | The role of complement system in the kidney under different metabolic disorders.

Metabolic disorders	Components of complement system	Renal damage
Diabetic kidney disease	The lectin pathway, CD59	Albuminuria, declined eGFR, glomerular hypertrophy, renal fibrosis
Hypertensive kidney disease	The alternative pathway	Glomerular cell proliferation, cell necrosis, glomerulosclerosis, phenotypic transformation of MCs
Obesity-related nephropathy	C3a, C5a, properdin	Albuminuria, MCs proliferation, macrophage accumulation, and polarization
Hyperuricemia-induced kidney disease	The classic pathway The alternative pathway	Albuminuria and renal fibrosis



Urine complement activation fragments are increased in patients with kidney injury after cardiac surgery

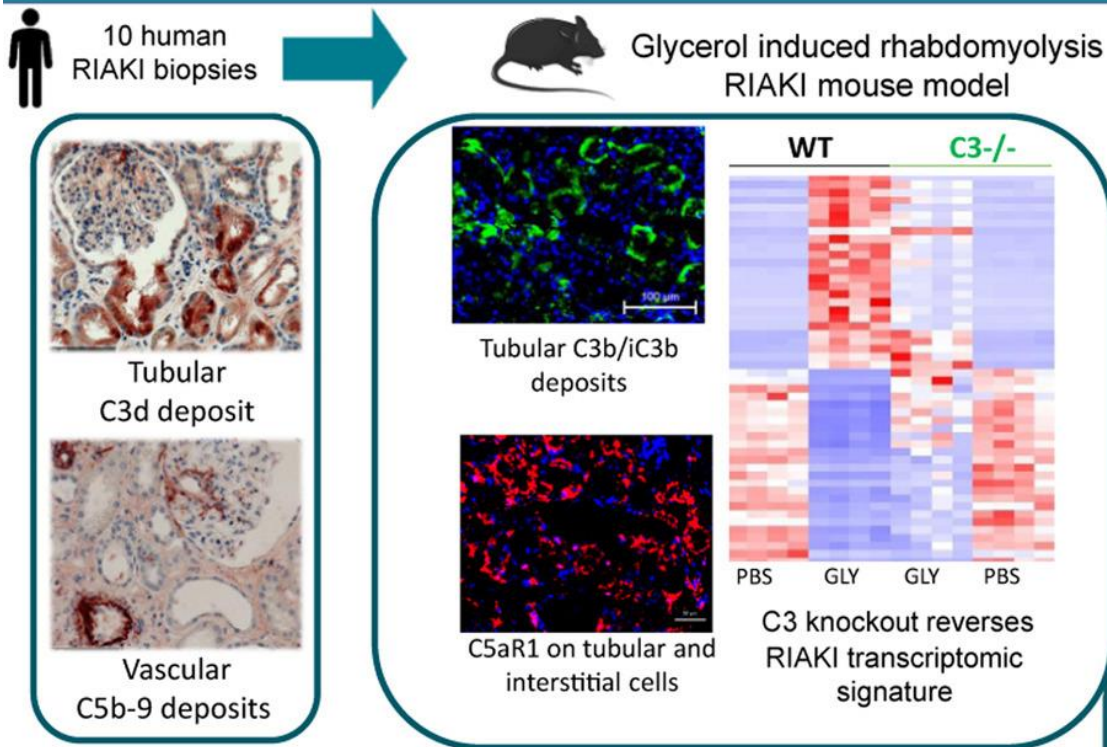
INJÚRIA RENAL AGUDA ATIVA O COMPLEMENTO?

Níveis urinários de fator Ba aumentam após cirurgia cardíaca, e são mais elevados naqueles que desenvolvem IRA em relação aos controles no D2 (* $p < 0.05$).

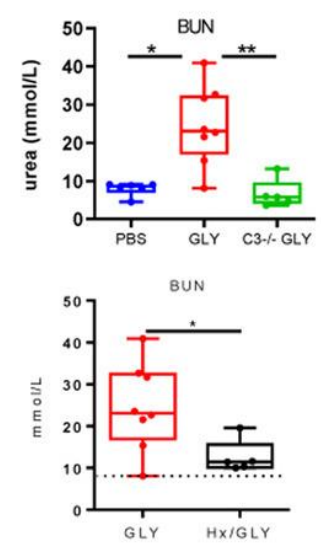
105 controles X 35 casos

COMPLEMENTO EM DOENÇA RENAL ALÉM DAS GLOMERULOPATIAS

Complement activation is a crucial driver of acute kidney injury in rhabdomyolysis



Kidney Protection



C3d depositado em túbulos de pacientes com diagnóstico de Injúria Renal Aguda em **rabdomiólise**

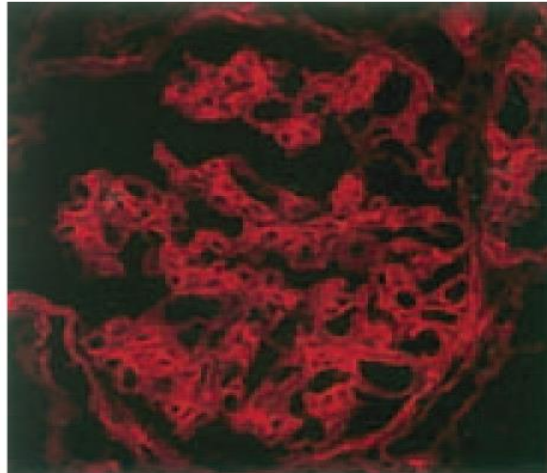
Indicando ativação do sistema

CONCLUSION: Complement system is activated in rhabdomyolysis induced acute kidney injury (RIAKI).
 Complement blocking and heme scavenging are promising therapeutic strategies.

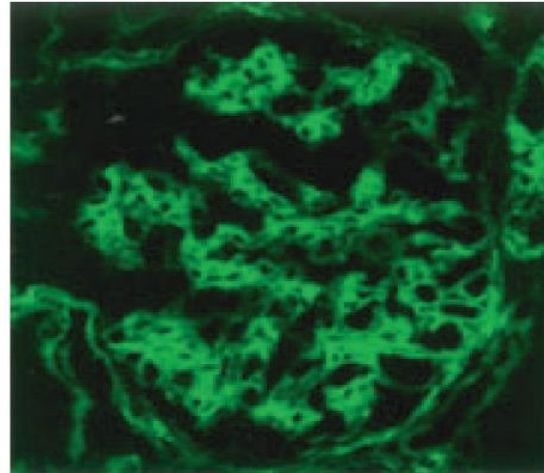
COMPLEMENTO EM DOENÇA RENAL ALÉM DAS GLOMERULOPATIAS

Immune complex
disease

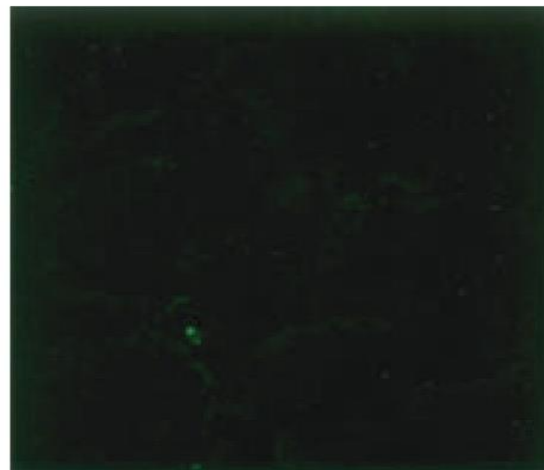
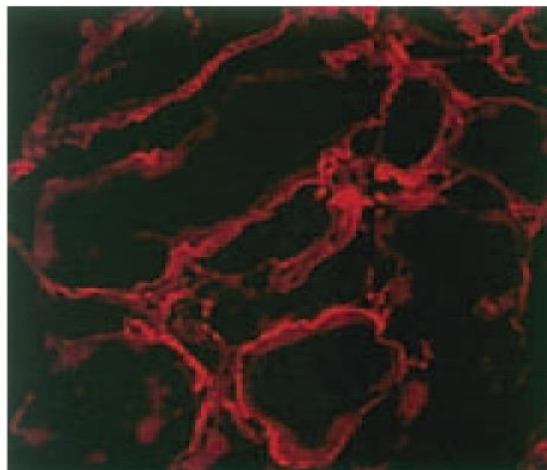
C3d



C4d



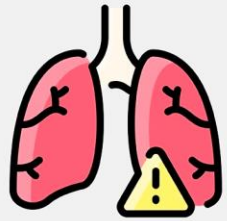
ATN



Acute tubular necrosis is characterized by activation of the alternative pathway of complement

n=9 histologia normal
n=7 NTA

Association between urine Ba and acute kidney injury (AKI)



Biorepository of children requiring mechanical ventilation



AKI pRIFLE criteria



n=73

* **Ba**, activation fragment of Factor B

AKI



n=56

Stage 1

46%

Stage 2

29%

Stage 3

25%

Urine Ba was higher in sepsis associated AKI as compared to non-sepsis associated AKI

There was a significant association between urine Ba and AKI (multivariate analysis)

Log_Urine Ba

7.6 6.5 4.5

Sepsis AKI Non-sepsis AKI No AKI

p<0.05

OR 1.57

(95% CI 1.13-2.20)

p=0.007

ELISAs were performed to quantitate urine Ba values

Included urine Ba, urine IL-18, urine NGAL, sepsis, & PRISM-II scores

Conclusions Urine Ba is significantly increased in patients with AKI compared to patients without AKI. In patients with similar illness severity, a doubling of urine Ba level was associated with a 57% increase in AKI diagnosis of any stage.

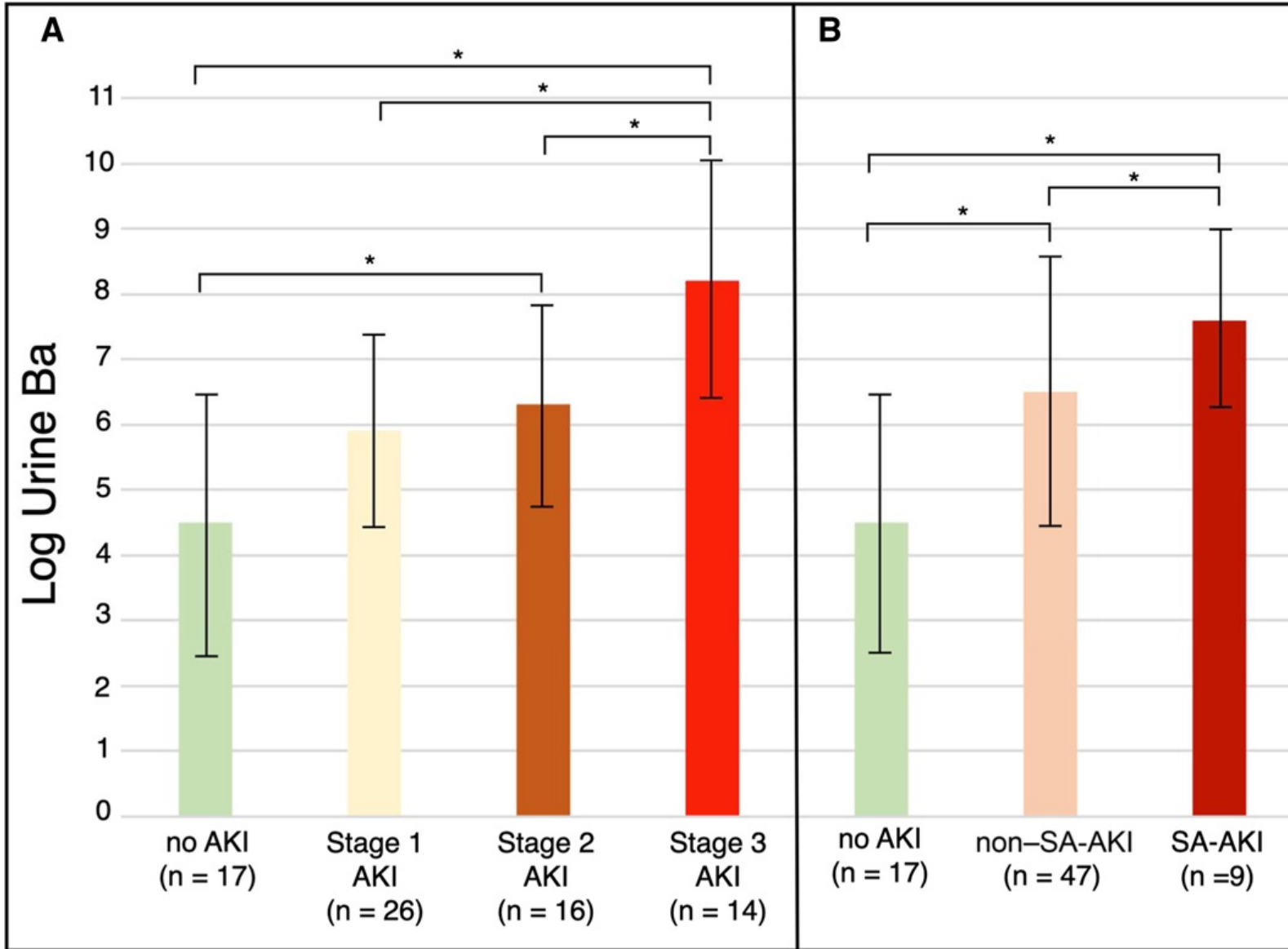
Erin K. Stenson, Charles L. Edelstein, Zhiying You, *et al.* **Urine Complement Factor Ba is associated with acute kidney injury in critically ill children. *Kidney360*.**

DOI: 10.34067/KID.0000000000000077

Visual Abstract by Edgar Lerma, MD, FASN

COMPLEMENTO EM DOENÇA RENAL ALÉM DAS GLOMERULOPATIAS

Urine Complement Factor Ba Is Associated with AKI in Critically Ill Children

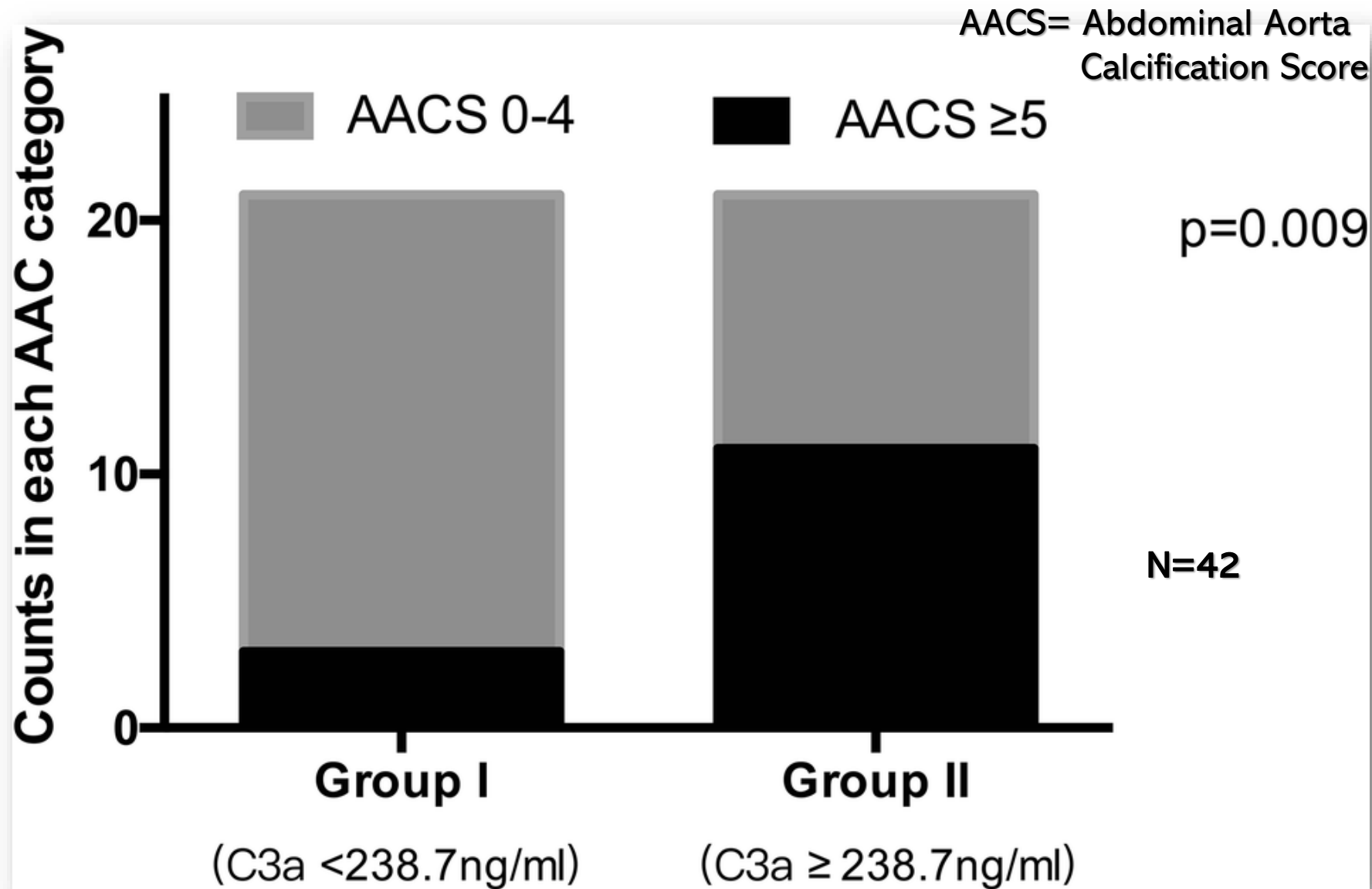


N= 73 crianças (56 com IRA)

- IRA 1 n=26
- IRA2 n=16
- IRA3 n=14

Associada a sepsis (SA)

Níveis urinários de fator Ba





importância da ativação do complemento em indivíduos renais crônicos em hemodiálise

ESSA MODALIDADE DE TRS ATIVA O COMPLEMENTO?

ativação do complemento aumenta risco de calcificação vascular?

Abdominal aorta calcification severity by plasma C3a median. Plasma C3a was positively correlated with the AAC score. Among patients with higher plasma C3a level, the incidence of severe calcification was higher

Associations between **complement proteins** and polymorphisms and **IgA nephropathy** severity

Associations with IgA nephropathy severity		
		
Glomerular	FHR5 C3b/iC3b/C3c C3d C5b9 C4d MBL L-ficolin MASP2 MASP1/3	FH
Plasma	gdlgA1:C3 FHR5 FHR1 FHR1:FH MBL	C3 (<90mg/dl) MASP3 MBL
Genetic	C3FF allele	

FHR5 Factor H related protein 5
 (interage com C3 e ativa o sistema)

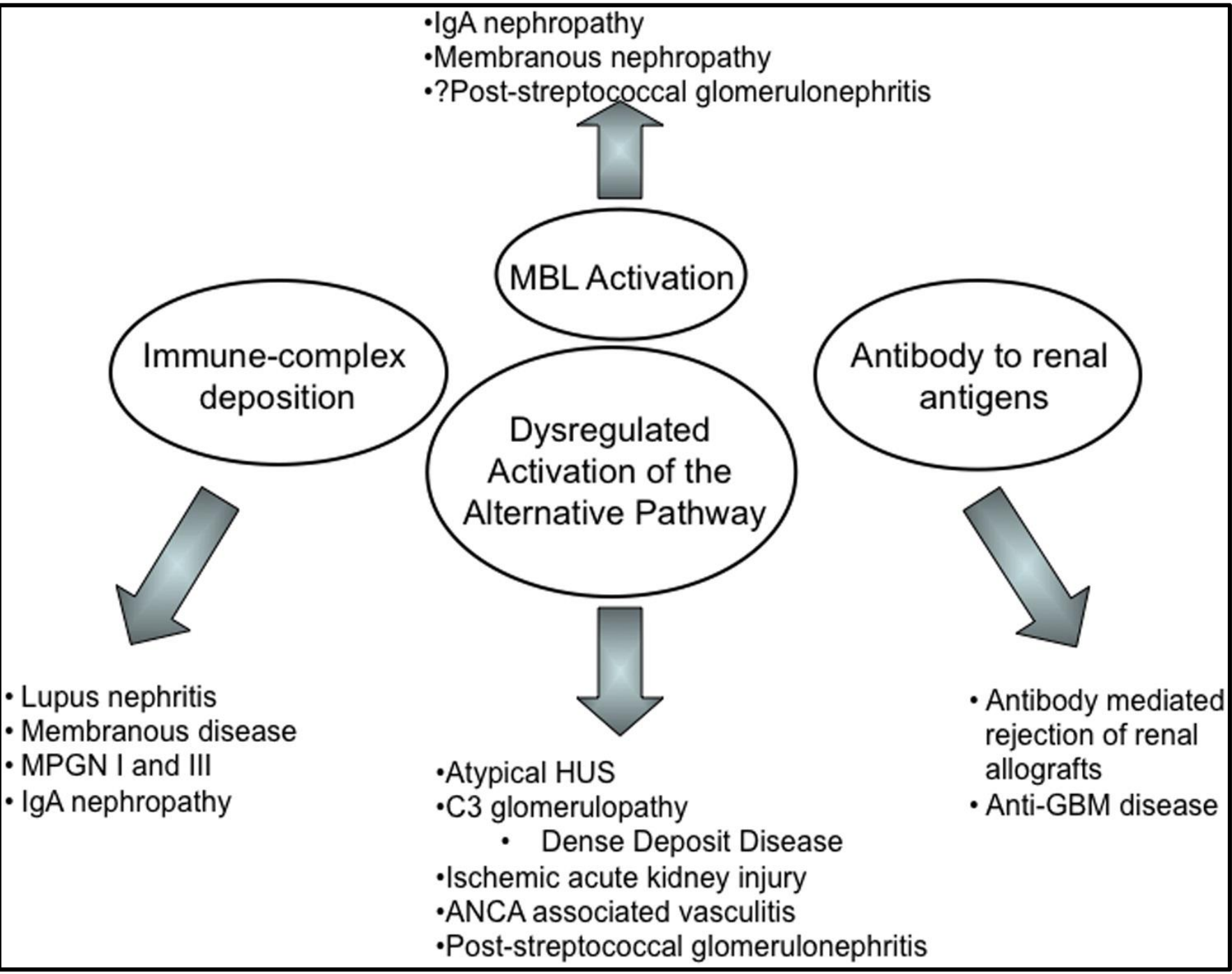
MBL Mannose-Binding Lectin

L -Ficolin Lectina Ficolina

MASP MBL Associated Serine Protease

Nefropatia por IgA considerada uma possível resposta inadequada dos componentes do sistema complemento iniciados pela via de Lectina-Manose

Mecanismos de ativação do Sistema de complemento em doenças renais



- IgA nephropathy
- Membranous nephropathy
- ?Post-streptococcal glomerulonephritis

MBL Activation

Immune-complex deposition

Antibody to renal antigens

Dysregulated Activation of the Alternative Pathway

- Lupus nephritis
- Membranous disease
- MPGN I and III
- IgA nephropathy

- Atypical HUS
- C3 glomerulopathy
 - Dense Deposit Disease
- Ischemic acute kidney injury
- ANCA associated vasculitis
- Post-streptococcal glomerulonephritis

- Antibody mediated rejection of renal allografts
- Anti-GBM disease

COMO ENTENDER , AVALIAR E COIBIR A DESREGULAÇÃO DO COMPLEMENTO NO FUTURO QUE SE APROXIMA

