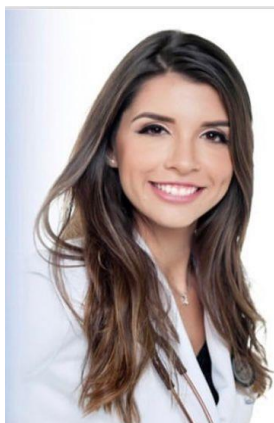


CADERNOS DE PATOLOGIA RENAL ANNO VII
Material de apoio

Diabetes Mellitus e o Sistema Complemento



Autora: Natália Janoni Macedo, médica, nefrologista pela UNIFESP

INTRODUÇÃO

A diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica que se caracteriza pela desregulação do metabolismo glicêmico. Em 2017, a Federação Internacional de Diabetes estimou em 48% o aumento da prevalência da DM até 2045 (425.000.000 para 629.000.000 de doentes).¹ Tendo em vista sua alta prevalência, associada ao desenvolvimento de complicações, o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 possui um impacto substancial na saúde mundial, sendo responsável por altos custos individuais e socioeconômicos.²

Uma das consequências mais graves do DM é o desenvolvimento da doença vascular, que por sua vez, pode ser dividida em complicações microvasculares e macrovasculares. A microangiopatia, que afeta capilares e arteríolas, leva à nefropatia diabética, sendo essa a principal causa de doença renal crônica e doença renal terminal no mundo.² Pacientes com doença renal crônica de etiologia diabética representam 25 a 45% dos indivíduos em terapia renal substitutiva (TRS) e 44% dos novos casos de DRC estágio 5. Embora a Nefropatia Diabética seja mais associada ao DM tipo 1, 80% dos doentes em terapia renal substitutiva por diabetes têm DM tipo 2 devido à maior prevalência desta patologia.¹

O desenvolvimento do diabetes mellitus e suas complicações tardias estão intimamente ligadas à inflamação de baixo grau. Esta associação é evidenciada pela presença de altos níveis de marcadores inflamatórios, como a proteína C-reativa, sugerindo que as complicações diabéticas tardias possam ser induzidas por inflamação. No entanto, os mecanismos subjacentes que a desencadeiam são pouco compreendidos.³ Evidências sugerem um papel do sistema imune inato na inflamação associada ao DM e na nefropatia diabética, tendo sido descrito o papel dos receptores de reconhecimento de padrões, como os receptores Toll-like e os NOD-like.⁴ O sistema complemento, por sua vez, possui um papel central no sistema imune inato, por meio da interação com diferentes receptores de reconhecimento de padrões, além de ser um importante gerador de inflamação. Evidências crescentes apontam para um papel do

sistema complemento na patogênese da nefropatia diabética e sugerem que a ativação do complemento pode não apenas identificar pacientes com risco dessa complicação, mas também ser alvo terapêutico.³

NEFROPATIA DIABÉTICA E DOENÇA RENAL DO DIABETES

A doença renal do diabetes apresenta-se clinicamente como a redução da taxa de filtração glomerular e/ou albuminúria em pacientes com Diabetes Mellitus que não possuam características que sugiram diagnósticos alternativos, não indicando um fenótipo histopatológico específico de doença e, portanto, podendo ocorrer por outras diversas causas, tais como nefroesclerose hipertensiva e injúria renal aguda não resolvida, embora em geral seja causada por nefropatia diabética. A nefropatia diabética, por sua vez, refere-se a mudanças funcionais e patológicas estruturais vistas nos rins dos pacientes com diabetes, que levam a uma apresentação clínica caracterizada por proteinúria, hipertensão e redução progressiva da TFG. Essa condição é causada, em termos gerais, pela exposição prolongada a altos níveis de glicose, o que já foi demonstrado por vários grandes estudos prospectivos em pacientes com DM 1 e DM2. O risco de desenvolvimento de nefropatia diabética tem um componente genético que é provavelmente poligênico.⁵ Evidências das últimas duas décadas indicam que uma variedade de diferentes mecanismos medeia os efeitos da hiperglicemia na vasculatura, contribuindo para o desenvolvimento da nefropatia diabética. A quantidade de vias e a interação entre vários fatores são complexas, mas, de forma simplificada, foram divididas previamente em quatro categorias principais: (1) fatores metabólicos; (2) fatores hemodinâmicos; (3) fatores de crescimento e/ou citocinas; (4) fatores intracelulares.⁶ A hiperglicemia leva à produção e circulação de produtos finais de glicação avançada, geração de fatores de crescimento e mudanças hemodinâmicas e hormonais. Coletivamente, essas mudanças resultam em hiperfiltração e hipertensão glomerular, bem como alteração da composição glomerular, que clinicamente se manifestam como albuminúria e hipertensão. Histologicamente, ocorrem diversas mudanças estruturais, incluindo deposição de matriz extracelular, principalmente no mesângio, além de espessamento da membrana basal glomerular, mudanças proliferativas e atrofia tubular, resultando por fim em fibrose intersticial e glomeruloesclerose como via final de várias doenças renais.⁵ Em adição a esses mecanismos, evidências cada vez mais robustas apontam para uma contribuição importante do sistema imune inato, incluindo o sistema complemento, no desenvolvimento da nefropatia diabética.

O SISTEMA COMPLEMENTO

O sistema complemento é um importante componente do sistema imune inato, ao promover a inflamação e aumentar a habilidade de anticorpos e células fagocíticas de promover o clearance de microrganismos e de células lesionadas.⁷ O sistema complemento é composto por muitas proteínas plasmáticas, a maioria proteases, que reagem umas com as outras por clivagem proteolítica para induzir resposta inflamatória. Três caminhos distintos ativam a cascata do complemento por meio da ligação a moléculas de reconhecimento de padrão: (1) Via das lectinas, que é desencadeada por carboidratos nas superfícies celulares; (2) via clássica, que envolve a ativação mediada por anticorpos por meio do complexo C1; (3) via alternativa, que envolve a ativação direta do C3 por meio de ligação de superfície. A ativação de qualquer um desses caminhos leva a produção de C3 convertase, que ativa a fração do complemento C3,

levando a geração da opsonina C3b e eventualmente geração do complexo de ataque de membrana (MAC), o qual lisa, lesa ou ativa células alvo.^{8,9}

A ativação da via clássica ocorre por meio da formação de um complexo antígeno-anticorpo (geralmente IgG), ativando a fração C1, via domínio C1q. A fração C1 do complemento é um complexo não covalente composto de 3 diferentes proteínas – C1q, C1r, C1s. Após a formação do complexo, C1q ativa C1r e C1s, que então cliva C2 e C4, levando à produção de C4b2b (C3 convertase).³

A via das lectinas e a via alternativa possuem mecanismos de ativação independente de anticorpos. A lectina ligadora de manose (MBL) é considerada o ativador clássico do caminho das lectinas, embora estudos da última década tenham mostrado que um grupo de moléculas de reconhecimento de padrões chamado ficolinas também ativa a via das lectinas. A iniciação da via da lectina ocorre quando essas moléculas se ligam a frações de carboidratos expressas na superfície de patógenos e células infectadas e/ou danificadas. Essa ligação ativa serino-proteases associadas à MBL (MASPs), levando à clivagem dos componentes do complemento C2 e C4 e à formação da C4b2b C3 convertase e os eventos subsequentes continuam similar à via clássica.^{3,8}

A via alternativa do complemento é ativada pela hidrólise contínua em baixo grau do C3. O fragmento C3b (que também pode ser gerado por qualquer uma das outras vias) pode se ligar ao fator B da membrana plasmática e, facilitado pelo fator D, pode formar a C3bBb (a C3 convertase da via alternativa), amplificando dessa forma a cascata do complemento.

Após a clivagem do C3 em C3a e C3b, os 3 caminhos se unem para formar uma via única. Fragmentos C3b se ligam às C3 convertases para produzir uma C5 convertase que, por sua vez, cliva C5 em C5a e C5b. Então as moléculas C6-C9 se ligam a C5b para formar o complexo de ataque de membrana (MAC).³

O SISTEMA COMPLEMENTO NA NEFROPATIA DIABÉTICA

Há evidências crescentes de que o sistema complemento contribui para o desenvolvimento da nefropatia diabética, embasadas por estudos experimentais e clínicos. Acredita-se que dois mecanismos principais explicam a participação do complemento na patogênese da nefropatia diabética. Primeiro, a ativação da via da lectina, que ocorre em resposta à glicação de proteínas que são expressas nas superfícies celulares como resultado à superexposição à glicose, por meio da ligação de moléculas de reconhecimento de padrão a essas.^{10,11} Segundo, acredita-se que a hiperglicemia induz a glicação de proteínas reguladoras do complemento, levando à disfunção de sua capacidade regulatória, que então facilita a ocorrência de um auto-ataque do complemento, por meio da hiperativação das vias do complemento. Por exemplo, CD59, uma proteína de membrana que inibe especificamente a formação de MAC, é inativada pela glicação de seu resíduo de lisina-41, resultando em aumento da deposição de MAC, que, por sua vez, pode facilitar a autoativação das vias do complemento.^{12,13}

A. Desregulação do caminho das lectinas

➤ MBL

Achados de diversos estudos in vitro sugerem que as alterações em glicoproteínas induzidas pelo diabetes, que ocorrem por alteração da glicosilação proteica enzimática ou pela formação não enzimática de produtos da glicosilação avançada (AGEs), podem estimular a ativação do complemento por meio da ligação da MBL a neo-epítotos.^{11,12}

Vários estudos experimentais realizados com camundongos demonstraram relação causal entre MBL e a nefropatia diabética. A relevância clínica desses estudos também foi confirmada em estudos clínicos de pacientes com DM1 e DM2. Um estudo transversal de pacientes normoalbuminúricos com DM1 reportou níveis elevados de MBL circulante em comparação com controles saudáveis; além disso, os níveis de MBL foram positivamente associados aos níveis de albuminúria, mesmo dentro da faixa normal de albuminúria.¹⁴ Em uma coorte de indivíduos com DM1, pacientes com genótipos associados a altos níveis de MBL tiveram um risco 50% maior de desenvolver nefropatia e mortalidade significativamente maior em 10 anos de acompanhamento do que pacientes com genótipo de MBL de “baixa expressão”.¹⁵

Em um estudo de pacientes com DM1 recém-diagnosticado, os níveis séricos de MBL medidos logo após o início do diabetes foram preditores robustos da incidência de albuminúria de pequena monta ao longo de 18 anos de acompanhamento. Estudos adicionais embasam uma associação entre MBL e nefropatia diabética entre pacientes com DM1, incluindo um grande estudo multicêntrico prospectivo, que relatou uma associação entre as concentrações de MBL e a progressão da doença renal de albuminúria de grande monta para insuficiência renal terminal em indivíduos com DM1.¹⁶⁻¹⁹

Conforme visto outro estudo, em pacientes com DM1 e DRC que receberam transplante pâncreas-rim simultâneo, os níveis séricos de MBL pré-operatórios foram preditores de sobrevida do enxerto e do paciente, com baixos níveis de MBL associados a melhores desfechos²⁰. Além disso, um estudo de 2016 de pacientes com DM1 e nefropatia diabética que receberam um transplante pâncreas-rim versus transplante de rim isolado encontrou que os níveis de MBL circulantes normalizaram em pacientes que tiveram sucesso do transplante duplo, tendo ocorrido especialmente em pacientes com um polimorfismo no gene MBL2. Por outro lado, os níveis circulantes de MBL permaneceram elevados entre os pacientes que receberam o transplante renal isolado, sugerindo que o controle glicêmico, e não a reversão da doença renal terminal, está associado à diminuição dos níveis de MBL. Em concordância a essa proposta, os níveis de glicose e hemoglobina glicada (HbA1c), e não os níveis de creatinina sérica ou a taxa de filtração glomerular estimada, correlacionaram-se com os níveis de MBL.²¹

Como no DM1, o MBL é fortemente preditivo de aumento da excreção urinária de albuminúria e mortalidade entre pacientes com DM2. Vários estudos dos últimos anos confirmaram a utilidade dos níveis MBL circulantes em prever o desenvolvimento de nefropatia diabética no DM2. Juntos, a maior parte dos estudos confirmam o valor dos níveis circulantes de MBL como um preditor robusto de nefropatia diabética em DM1 e DM2, embora os achados relacionados a polimorfismos de MBL nem sempre tenham sido consistentes.²²⁻²³

➤ **MASP**

Em contraste com o número maior de estudos que avaliaram o papel da MBL na nefropatia diabética, apenas um estudo publicado investigou o papel das MASP-1, MASP-2 e MASP-3 no diabetes. Os pesquisadores compararam os níveis de MASP-1, MASP-2 e MASP-3 em 30 crianças com DM1 e 45 adultos com DM1 com os níveis em controles não diabéticos. Em comparação com controles pareados por idade, os níveis de MASP-1 e MASP-2 foram significativamente maiores entre adultos e crianças com DM1, enquanto os níveis de MASP-3 não diferiram entre pacientes e controles. O nível de HbA1c correlacionou-se com os níveis de MASP-1 e MASP-2, com esses níveis diminuindo conforme obtinha-se um melhor controle glicêmico.²⁴ Até o momento, nenhum estudo foi publicado sobre os níveis de MASP no DM2. Embora os níveis elevados de MASP-1 e MASP-2 possam ser indicativos do aumento da atividade do complemento em DM1, a relevância potencial de MASP-1 e MASP-2 para o desenvolvimento de nefropatia diabética nos pacientes com DM1 e DM2 ainda necessita de investigação adicional.³

B. Frações do Complemento C3, C4 e C5

Múltiplos estudos corroboram um papel das frações do complemento C3, C4 e C5 na nefropatia diabética. Alguns estudos experimentais evidenciaram um acúmulo de C3 em modelos animais com diabetes. Em estudos da década de 70, a indução de DM1 em ratos (pela administração de estreptozotocina) levou a um aumento dos níveis glomerulares de C3, os quais foram normalizados após o transplante de células pancreáticas.²⁵⁻²⁶ Além disso, o transplante renal com rins provenientes de ratos com DM1 realizado em ratos não diabéticos levou à redução da expressão de C3 glomerular e do volume mesangial em 50% dos rins transplantados.²⁷

Entretanto, um estudo de 2016, que demonstrou um aumento dos níveis de MBL glomerular em ratos com DM induzido, não encontrou diferença na IF em relação à intensidade de deposição de C3, C4 ou C9 em comparação com controles não diabéticos, embora níveis circulantes do produto de ativação do complemento C3a estivessem aumentados nos animais com DM1 induzido.²⁸ Não se sabe se essa aparente disparidade entre os níveis de MBL e C3 glomerulares são reais ou por questões metodológicas não conhecidas do estudo. Ao contrário desse estudo, níveis elevados de C3 foram detectados em dois outros modelos de camundongos com DM1 induzido e uma maior deposição de C3 nos glomérulos e capilares glomerulares também foi observada em um modelo experimental com camundongos DM2.²⁹⁻³²

O papel da deposição de componentes do complemento na nefropatia diabética também foi avaliada em estudos clínicos. Análises imuno-histoquímicas e transcriptômicas encontram um aumento de 6x nos níveis glomerulares de C3 em biópsias de pacientes com doença renal diabética.³³ Além disso, um estudo de 2013 mostrou que os níveis plasmáticos de C3 eram significativamente maiores em pacientes com DM2 e macroalbuminúria do que naqueles com normoalbuminúria.³⁴

A relação entre a fração C4 do complemento e nefropatia diabética também foi descrita em alguns estudos clínicos. Dentre 24 crianças com DM1, 25% tinham níveis séricos de C4 consumidos, sem associação com os níveis circulantes de C3.³⁵ Outro estudo demonstrou que pacientes com DM1 e microangiopatia tinham menores níveis séricos de C4 do que pacientes com normoalbuminúria e que os níveis de C4 estavam inversamente correlacionados com o grau de ativação do complemento.³⁶ Porém, essa associação inversa não foi confirmada por outro estudo, o que pode sugerir que baixos

níveis de C4 possam ser uma consequência do DM ao invés de terem um papel na patogênese da doença.³⁷

Em um modelo diabético de longo seguimento (55 semanas) em ratos, a inibição de C5 resultou em reduções na deposição de C3, na excreção de proteinúria e na expansão mesangial.

C. MAC

Uma série de estudos imunohistoquímicos usando anticorpos dirigidos contra a fração C9 do MAC, localizaram o MAC na membrana basal glomerular, túbulo e cápsula de Bowman no tecido renal de pacientes com DM1. A avaliação da histologia renal de pacientes com variados graus de função renal demonstrou uma correlação entre os níveis de MAC e a magnitude da expansão mesangial entre os pacientes com DM1.³⁸⁻⁴⁰ A deposição de MAC nos glomérulos de pacientes diabéticos também tem sido demonstrada em estudos mais recentes.⁴¹ Esses resultados são interessantes uma vez que o MAC é produto do sistema complemento, e níveis elevados de MAC em pacientes com DM1 parecem destacar a ativação universal do complemento, desde MBL, MASP e C3 até o MAC.

O SISTEMA COMPLEMENTO COMO ALVO TERAPÊUTICO

As evidências do papel do sistema complemento em várias doenças vem estimulando o interesse no desenvolvimento de anticorpos, micromoléculas e biológicos que atuem nesse alvo. Entretanto, apenas poucas drogas foram testadas em ensaios clínicos, e ainda menos passaram da fase 1 desses ensaios.⁴² No entanto, a terapia dirigida ao complemento permanece uma área de interesse ativo, com novos insights de estudos estruturais, genômicos e moleculares, bem como o sucesso de alguns inibidores do complemento como o eculizumab, um anticorpo monoclonal contra o C5 aprovado para tratamento de doenças como SHU atípica, encorajando pesquisas futuras nesse campo.³

Abordagens para modular o complemento podem ser categorizadas em 5 grupos principais: 1) Interrompendo a ativação da via clássica e da via da lectina, inibindo complexos iniciadores (por exemplo, anticorpos monoclonais neutralizantes contra MBL, C1q, C1s ou MASP) ou inibindo enzimas iniciadoras (por exemplo, inibidores de serinoproteases como o inibidor de C1); 2) Inibindo enzimas ativadoras da via alternativa (exemplo, a IgG1 humanizada lampalizumab e inibidores de proteases de pequenas moléculas); 3) Inibidores da C3 convertase e/ou atividade de C3 (C1INH); 4) Inibidores da C5 convertase ou atividade do C5 (como eculizumab); 5) Inibidores da MAC (por exemplo o CD59 solúvel recombinante).³

Apenas alguns estudos experimentais avaliaram os efeitos terapêuticos do bloqueio do complemento na nefropatia diabética. A trombomodulina é uma molécula que, além de inibir a atividade de trombina, tem propriedades anti-inflamatórias ao impedir a ativação do complemento por meio de seu domínio semelhante à lectina, reduzindo a ativação do complemento induzida por glicose em podócitos e células endoteliais in vitro.⁸ Essa molécula foi avaliada em um estudo experimental em modelo animal, que estudou os efeitos da trombomodulina no desenvolvimento de alterações renais em um modelo de ratos diabéticos com DM1. O estudo mostrou que os ratos sem

a trombomodulina tinham maior ativação do complemento e nefropatia diabética mais grave que os ratos sem a intervenção.⁴³

Dois estudos investigaram os efeitos do bloqueio de receptores C3a do complemento e/ou receptores C5a em ratos com DM1 induzido e um modelo de DM2 induzido. O bloqueio dos receptores C3a e C5a no modelo DM1 melhorou a transição do endotélio ao miofibroblasto por meio da via de sinalização Wnt/ β -catenina, indicando um potencial efeito protetor do bloqueio do complemento nas alterações fibróticas renais. Da mesma forma, o bloqueio dos receptores C3a em outro modelo de ratos com DM2 melhorou a morfologia e a função renal, novamente favorecendo a possibilidade de um papel do C3a nas alterações renais diabéticas.^{44,45} Outro estudo com modelo de ratos DM2 demonstrou que o bloqueio do componente C5 com o inibidor do complemento K-76COONa diminuiu a gravidade da albuminúria e da expansão mesangial. A deposição glomerular de C3 foi mais pronunciada em ratos diabéticos não tratados do que em animais diabéticos tratados com K-76COONa, sugerindo portanto um papel patogênico do C5 no dano renal induzido por diabetes.⁴⁶

Atualmente, a melhor terapia direcionada ao sistema complemento com o objetivo de prevenir o desenvolvimento da nefropatia diabética ainda não está bem definida. Vários compostos que modulam o sistema complemento já estão em uso clínico em outras doenças, além da nefropatia diabética. Os mais promissores desses agentes devem ser testados quanto à sua capacidade de prevenir ou retardar a progressão da nefropatia diabética. No entanto, é importante notar que o sistema complemento tem um papel importante na defesa do hospedeiro e, apesar dos benefícios potenciais do bloqueio do sistema complemento no dano renal induzido pelo diabetes, qualquer abordagem para modular a sinalização do complemento traz riscos consideráveis.

Indivíduos com deficiência em componentes da via da lectina ou da via clássica tipicamente apresentam infecções bacterianas recorrentes. Além disso, indivíduos com sinalização deficiente da via clássica podem ter uma capacidade prejudicada de eliminar imunocomplexos, o que, por sua vez, aumenta o risco de nefrite lúpica em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, por exemplo. Indivíduos com deficiência em algum componente da via alternativa possuem maior risco de desenvolver infecções bacterianas por germes Gram-negativos, e deficiências nas vias terminais do sistema complemento aumentam o risco de sepse e/ou meningite por meningococo.⁴² Dessa forma, a melhor maneira de minimizar o risco de complicações iatrogênicas seria uma tentativa de afetar minimamente os efeitos fisiológicos da sinalização pelo complemento por meio do bloqueio específico da via mais relevante na patogênese. Ainda não se sabe se a inibição crônica do complemento, como seria necessária para uma doença como o diabetes mellitus, estaria associada com efeitos adversos aceitáveis.³

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O controle metabólico rigoroso e o tratamento renoprotetor e anti-hipertensivo apropriado são cruciais para prevenir e tratar a nefropatia entre pacientes com DM1 ou DM2. A crescente incidência e prevalência de diabetes em todo o mundo está levando a um aumento no número de pacientes com complicações diabéticas tardias, incluindo

a nefropatia. Embora existam inúmeras intervenções terapêuticas disponíveis que poderiam retardar o desenvolvimento e progressão da nefropatia diabética, muitos pacientes continuam a progredir para ESRD, existindo uma necessidade urgente de se desenvolver novos biomarcadores para identificar pacientes em risco de progressão da doença, bem como novos agentes terapêuticos para tratá-la.

Evidências clínicas e experimentais apontam um papel de vários componentes do sistema complemento na patogênese da nefropatia diabética. Além disso, os níveis de MBL circulantes parecem ser biomarcadores confiáveis e robustos do desenvolvimento e progressão da nefropatia diabética em humanos.

Nos últimos anos houve um aumento do interesse no desenvolvimento de moduladores terapêuticos do sistema complemento. Alguns compostos já estão em uso clínico para outras doenças além da nefropatia diabética, e estes devem ser testados quanto à sua capacidade de retardar ou interromper a progressão da nefropatia diabética. As pesquisas em andamento também provavelmente levarão ao desenvolvimento de novos inibidores do complemento, com potencial benefício para os pacientes com nefropatia diabética, embora o efeito de qualquer inibidor do complemento, no que diz respeito à suscetibilidade a infecções ou a doenças por imunocomplexos, precisará ser cuidadosamente monitorado.

REFERÊNCIAS

1. Review article - Diabetic Nephropathy - Revista Portuguesa de Diabetes. 2021; 16 (2)
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, Seventh Edition. Diabetes Atlas <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html> (2015).
3. Allan Flyvbjerg - Review article – Nature reviews| Nephrology - The role of the complement system in diabetic nephropathy - Published online 6 Mar 2017
4. Wada, J. & Makino, H. Innate immunity in diabetes and diabetic nephropathy. *Nat. Rev. Nephrol.* 12, 13–26 (2016).
5. Kausik Umanath and Julia B. Lewis - Update on Diabetic Nephropathy: Core Curriculum 2018 - *Am J Kidney Dis.* 71(6): 884-895. Published online - February 2, 2018.
6. Schrijvers, B. F., De Zeeuw, D. L., De Zeeuw, A. S. & Flyvbjerg, A. From hyperglycemia to diabetic kidney disease: the role of metabolic, hemodynamic, intracellular factors and growth factors/cytokines. *Endocr. Rev.* 25, 971–1010 (2004).
7. Greg H. Tesch - Review Article - Diabetic nephropathy – is this an immune disorder?. *Clinical Science* (2017) 131 2183–2199
8. Sydney C. W. Tang and Wai Han Yiu – Review article - Innate immunity in diabetic kidney disease - *Nature Reviews | Nephrology*. Published online 15 January 2020.
9. Flyvbjerg, A. Diabetic angiopathy, the complement system and the tumour necrosis factor superfamily. *Nat. Rev. Endocrinol.* 6, 94–101 (2010).
10. Fortpied, J., Vertommen, D. & Van Schaftingen, E. Binding of mannose-binding lectin to fructosamines: a potential link between hyperglycaemia and complement activation in diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 26, 254–260 (2010).
11. Fan, W. X. et al. Activation of the lectin complement pathway on human renal glomerular endothelial cells triggered by high glucose and mannose-binding lectin. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 18539–18549 (2011).

12. Acosta, J. et al. Molecular basis for a link between complement and the vascular complications of diabetes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97, 5450–5455 (2000).
13. Qin, X. et al. Glycation inactivation of the complement regulatory protein CD59: a possible role in the pathogenesis of the vascular complications of human diabetes. *Diabetes* 53, 2653–2661 (2004).
14. Hansen, T. K. et al. Elevated levels of mannan-binding lectin in patients with type 1 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 4857–4861 (2003).
15. Østergaard, J. A. et al. Increased all-cause mortality in patients with type 1 diabetes and high-expression mannan-binding lectin genotypes: a 12-year follow-up study. *Diabetes Care* 38, 1898–1903 (2015).
16. Kaunisto, M. A. et al. Elevated MBL concentrations are not an indication of association between the MBL2 gene and type 1 diabetes or diabetic nephropathy. *Diabetes* 58, 1710–1714 (2009).
17. Hovind, P. et al. Mannose-binding lectin as a predictor of microalbuminuria in type 1 diabetes: an inception cohort study. *Diabetes* 54, 1523–1527 (2005).
18. Hansen, T. K. et al. Association between mannan-binding lectin, high-sensitivity C-reactive protein and the progression of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetologia* 53, 1517–1524 (2010).
19. Zhao, S. Q. & Hu, Z. Mannose-binding lectin and diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *J. Clin. Lab. Anal.* 30, 345–350 (2016).
20. Berger, S. P. et al. Low pretransplantation mannan-binding lectin levels predict superior patient and graft survival after simultaneous pancreas-kidney transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18, 2416–2422 (2007).
21. Bijkerk, R. et al. Simultaneous pancreas-kidney transplantation in patients with type 1 diabetes reverses elevated MBL levels in association with MBL2 genotype and VEGF expression. *Diabetologia* 59, 853–858 (2016).
22. Hansen, T. K. et al. Mannose-binding lectin and mortality in type 2 diabetes. *Arch. Intern. Med.* 166, 2007–2013 (2006).
23. Elawa, G. et al. The predictive value of serum mannan-binding lectin levels for diabetic control and renal complications in type 2 diabetic patients. *Saudi Med.*
24. Jenny, L. et al. Plasma levels of mannan-binding lectin-associated serine proteases MASP-1 and MASP-2 are elevated in type 1 diabetes and correlate with glycaemic control. *Clin. Exp. Immunol.* 180, 227–232 (2015).
25. Mauer, S. M. et al. Pancreatic islet transplantation. Effects on the glomerular lesions of experimental diabetes in the rat. *Diabetes* 23, 748–753 (1974).
26. Mauer, S. M. et al. Studies of the rate of regression of the glomerular lesions in diabetic rats treated with pancreatic islet transplantation. *Diabetes* 24, 280–285 (1975).
27. Lee, C. S. et al. Renal transplantation in diabetes mellitus in rats. *J. Exp. Med.* 139, 793–800 (1974).
28. Østergaard, J. A. et al. Increased autoreactivity of the complement-activating molecule mannan-binding lectin in a type 1 diabetes model. *J. Diabetes Res.* 2016, 1825738 (2016).
29. Xiao, X. et al. Cellular and humoral immune responses in the early stages of diabetic nephropathy in NOD mice. *J. Autoimmun.* 32, 85–93 (2009).
30. Yang, L. et al. Inflammatory gene expression in OVE26 diabetic kidney during the development of nephropathy. *Nephron Exp. Nephrol.* 119, e8–e20 (2011).

31. Wehner, H. et al. Glomerular changes in mice with spontaneous hereditary diabetes. *Lab. Invest.* 27,331–340 (1972).
32. Kelly, K. J., Liu, Y., Zhang, J., Dominguez, J. H. Renal C3 complement component: feed forward to diabetic kidney disease. *Am. J. Nephrol.* 41, 48–56 (2015).
33. Woroniecka, K. I. et al. Transcriptome analysis of human diabetic kidney disease. *Diabetes* 60, 2354–2369 (2011).
34. Fujita, T. et al. Complement-mediated chronic inflammation is associated with diabetic microvascular complication. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 29, 220–226 (2013).
35. Chiarelli, F., Verrotti, A., La Penna, G. & Morgese, G. Low serum C4 concentrations in type-1 diabetes mellitus. *Eur. J. Pediatr.* 147, 197–198 (1988).
36. Barnett, A. H. et al. Low plasma C4 concentrations: association with microangiopathy in insulin dependent diabetes. *Br. Med. J.* 289, 943–945 (1984).
37. Cooper, M. E. et al. Low serum C4 concentrations and microangiopathy in type I and type II diabetes. *Br. Med. J.* 292, 801 (1986).
38. Falk, R. J. et al. Neoantigen of the polymerized ninth component of complement. Characterization of a monoclonal antibody and immunohistochemical localization in renal disease. *J. Clin. Invest.* 72,560–573 (1983).
39. Falk, R. J., Scheinman, J. I., Mauer, S. M. & Michael, A. F. Polyantigenic expansion of basement membrane constituents in diabetic nephropathy. *Diabetes* 32 (Suppl. 2), 34–39 (1983).
40. Falk, R. J. et al. Ultrastructural localization of the membrane attack complex of complement in human renal tissues. *Am. J. Kidney Dis.* 9, 121–128 (1987).
41. Uesugi, N. et al. Possible mechanism for medial smooth muscle cell injury in diabetic nephropathy: glycooxidation-mediated local complement activation. *Am. J. Kidney Dis.* 44, 224–238 (2004).
42. Morgan, B. P. & Harris, C. L. Complement, a target for therapy in inflammatory and degenerative diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 14, 857–877 (2015).
43. Wang, H. et al. The lectin-like domain of thrombomodulin ameliorates diabetic glomerulopathy via complement inhibition. *Thromb. Haemost.* 108, 1141–1153 (2012).
44. Li, L. et al. C3a and C5a receptor antagonists ameliorate endothelial-myofibroblast transition via the Wnt/ β -catenin signaling pathway in diabetic kidney disease. *Metabolism* 64, 597–610 (2015).
45. Li, L. et al. C3a receptor antagonist ameliorates inflammatory and fibrotic signals in type 2 diabetic nephropathy by suppressing the activation of TGF- β / smad3 and IKB α pathway. *PLoS ONE* 9, e113639 (2014).
46. Fujita, T. et al. Complement activation accelerates glomerular injury in diabetic rats. *Nephron* 81, 208–214 (1999).