

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Trastornos moleculares y genéticos en las glomerulopatías causadas por desregulación del complemento. Correlaciones genotipo-fenotipo e implicaciones terapéuticas

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Fernando Caravaca Fontán

DIRECTORES

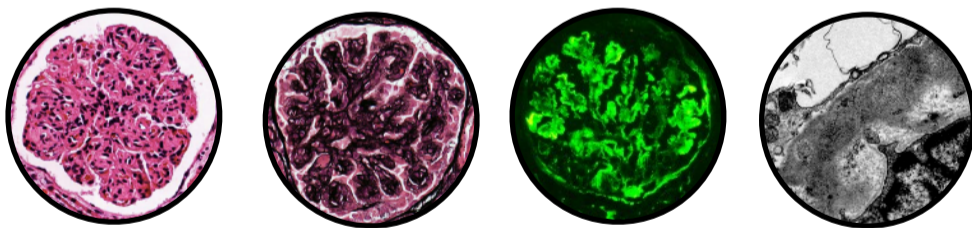
Manuel Praga Terente
Elena Goicoechea de Jorge



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

**TRASTORNOS MOLECULARES Y GENÉTICOS
EN LAS GLOMERULOPATÍAS CAUSADAS
POR DESREGULACIÓN DEL COMPLEMENTO.
CORRELACIONES GENOTIPO-FENOTIPO E
IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS.**



Doctorando: Fernando Caravaca Fontán

Directores: Prof. D. Manuel Praga Terente
Prof. Dña. Elena Goicoechea de Jorge

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

**Trastornos Moleculares y Genéticos en las Glomerulopatías
Causadas por Desregulación del Complemento. Correlaciones
Genotipo-Fenotipo e Implicaciones Terapéuticas**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR:

Fernando Caravaca Fontán

DIRECCIÓN:

Prof. D. Manuel Praga Terente

Prof. Dña. Elena Goicoechea de Jorge

Agradecimientos

A mis padres y hermanos por su excelencia educativa, inestimable cariño y valiosos consejos.

Al Prof. D. Manuel Praga, por su admirable talento e inagotable capacidad de generar ideas y proyectos científicos, y por las grandes oportunidades que me ha brindado.

A la Prof. Dña. Elena Goicoechea por su gran ayuda en la realización de este proyecto de investigación, por su amabilidad y disponibilidad, así como por su gran talento y capacidad docente, que me han facilitado la inmersión en este complejo tema.

A todos los investigadores asociados al proyecto del Grupo de Enfermedades Glomerulares de la S.E.N. (GLOSEN) por su valiosa aportación de datos e información clínica, sin los cuales no habría sido posible esta investigación.

Abreviaturas

C3Nef: Factor nefrítico de C3

C5Nef: Factor nefrítico de C5

CAM: Complejo de ataque a membrana

CR1: Receptor de complemento 1

DAF: Factor acelerador del decaimiento de convertasas

EDD: Enfermedad por depósitos densos

EIP: Emparejamiento por índice de propensión

ERCT: Enfermedad renal crónica terminal

FH: Factor H

FHR1–5: Proteínas relacionadas con factor H 1–5

FI: Factor I

GC3: Glomerulopatía C3

GLOSEN: Grupo de Enfermedades Glomerulares de la Sociedad Española de Nefrología

GN: Glomerulonefritis

GNC3: Glomerulonefritis C3

HR: *Hazard ratio*

IC: intervalo de confianza

MCP: Proteína cofactora de membrana

MLPA: amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples

MMF: Micofenolato mofetil

OR: *Odds ratio*

RC3a: Receptor de C3a

RC5a: Receptor de C5a

SHUa: Síndrome hemolítico urémico atípico

SRA: Sistema renina-angiotensina

Índice General

Índice Detallado	6
Índice de Tablas.....	9
Índice de Figuras	12
Resumen	15
Summary	17

Índice Detallado

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

1.1	Introducción general.....	21
1.2	Sistema del complemento	
1.2.1	Generalidades	23
1.2.2	Vías de activación	25
1.2.3	La vía alternativa del complemento	27
1.2.4	Principales reguladores.....	30
1.2.5	Estudio genético y molecular del complemento	35
1.2.6	Implicación del complemento en patología glomerular	39
1.3	Glomerulopatía C3	
1.3.1	Definición.....	41
1.3.2	Epidemiología	44
1.3.3	Patogénesis.....	44
1.3.4	Presentación clínica.....	47
1.3.5	Características histopatológicas	49
1.3.6	Diagnóstico genético y molecular	52

1.3.7 Evolución natural y factores pronósticos	55
1.3.8 Tratamiento	57
1.3.9 Recurrencia en el trasplante renal	61

Capítulo 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

2.1 Hipótesis.....	63
2.2 Objetivos.....	64
2.2.1 Objetivo principal	64
2.2.2 Objetivos secundarios.....	64

Capítulo 3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Diseño del estudio.....	66
3.2 Población de estudio.....	66
3.2.1 Pacientes	66
3.2.2 Criterios de inclusión y exclusión.....	66
3.3 Variables de estudio.....	67
3.3.1 Demográficas.....	67
3.3.2 Clínicas	67
3.3.3 Analíticas.....	68
3.3.4 Histológicas.....	68
3.3.5 Tratamientos	69
3.4 Definiciones y variables resultado	70
3.4.1 Definiciones.....	70
3.4.2 Variables resultado	72
3.5 Estudio genético y molecular del complemento.....	73
3.5.1 Extracción de muestras	73
3.5.2 Análisis genético y molecular	74

3.6 Estudio estadístico.....	76
------------------------------	----

Capítulo 4. RESULTADOS

4.1 Pacientes	79
4.2 Histología.....	83
4.3 Estudio genético y molecular.....	86
4.4 Tratamientos	89
4.5 Remisión de la enfermedad.....	93
4.6 Desarrollo de enfermedad renal crónica terminal	97
4.7 Tratamiento con esteroides y micofenolato mofetil	106
4.8 Recidiva de la enfermedad	112

Capítulo 5. DISCUSIÓN

5.1 Características basales y genético-moleculares de la cohorte.....	117
5.2 Factores asociados a progresión de la enfermedad	123
5.3 Respuesta terapéutica	126
5.4 Mecanismo de acción de esteroides y micofenolato mofetil	129
5.5 Limitaciones y fortalezas del estudio.....	130

Capítulo 6. CONCLUSIONES.....131

BIBLIOGRAFÍA.....134

Índice de Tablas

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

Tabla 1.1. *Resumen de los principales reguladores de la vía alternativa del complemento a nivel plasmático y de membrana.*

Tabla 1.2. *Implicación del complemento en patologías sistémicas y renales.*

Tabla 1.3. *Características clínicas, analíticas e histológicas de los diferentes clusters de estudio.*

Tabla 1.4. *Proteínas híbridas relacionadas con factor H involucradas en la patogenia de la glomerulopatía C3.*

Tabla 1.5. *Principales genes analizados con su correspondiente locus cromosómico*

Tabla 1.6. *Variantes genéticas asociadas a desarrollo de glomerulopatía C3*

Tabla 1.7. *Índice histopatológico de la glomerulopatía C3 propuesto por la Universidad de Columbia.*

Capítulo 3. MATERIAL Y MÉTODOS

Tabla 3.1. *Índice Histológico de la Glomerulopatía C3*

Capítulo 4. RESULTADOS

Tabla 4.1. *Características clínicas basales de los pacientes estudiados según grupos de edad.*

Tabla 4.2. *Características clínicas basales de acuerdo al subtipo histológico de glomerulopatía C3.*

Tabla 4.3. Características histológicas de los pacientes incluidos según grupos de edad.

Tabla 4.4. Características histológicas de los pacientes de acuerdo al subtipo de glomerulopatía C3.

Tabla 4.5: Características clínicas según la presencia de variantes genéticas en genes del complemento y/o autoanticuerpos contra componentes del complemento.

Tabla 4.6. Tratamientos según los grupos de edad.

Tabla 4.7: Características clínicas según el tratamiento recibido.

Tabla 4.8: Características clínicas, histológicas y genético-moleculares de acuerdo al desarrollo de remisión

Tabla 4.9: Regresión logística multivariante de los principales determinantes de remisión de la enfermedad.

Tabla 4.10: Características clínicas e histológicas según el desarrollo de enfermedad renal crónica terminal.

Tabla 4.11: Análisis univariable y multivariable de los determinantes de desarrollo de enfermedad renal crónica terminal.

Tabla 4.12. Características clínicas antes y después del emparejamiento por índice de propensión.

Tabla 4.13: Características clínicas histológicas y genéticas de los pacientes tratados con esteroides y micofenolato mofetil según alcanzaran o no remisión de la enfermedad.

Tabla 4.14: Regresión de Cox de los principales determinantes de ausencia de respuesta al tratamiento con esteroides y micofenolato mofetil.

Tabla 4.15: Características clínicas de los pacientes de acuerdo al desarrollo o no de recidiva de la enfermedad.

Tabla 4.16: Características clínicas de los pacientes tratados con esteroides y micofenolato mofetil de acuerdo al desarrollo o no de recidiva de la enfermedad.

Tabla 4.17: Regresión de Cox de los principales determinantes de recidiva en pacientes tratados con esteroides y micofenolato mofetil.

Índice de Figuras

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

Figura 1.1. Componentes fundamentales de la inmunidad innata y adaptativa. Adaptado de Dranoff.

Figura 1.2. Estructura de los receptores para las anafilotoxinas C3a y C5a.

Figura 1.3. Representación de las tres vías principales de activación del complemento.

Figura 1.4. Representación gráfica de la molécula de C3.

Figura 1.5. Representación de la convertasa de C3 escindiendo una molécula de C3 en fragmentos C3b y C3a.

Figura 1.6. Representación de la fase terminal del complemento.

Figura 1.7. Representación del Factor H con sus correspondientes dominios y su interacción en fase fluida o fase sólida.

Figura 1.8. Representación las proteínas relacionadas con factor H mostrándose la homología en los dominios moleculares

Figura 1.9. Representación de C3b y sus productos de degradación (Adaptado de Janssen et al).

Figura 1.10. Representación del autoanticuerpo C3Nef, con capacidad de estabilizar la convertasa de C3

Figura 1.11. Clasificación “clásica” de la glomerulonefritis membranoproliferativa según la localización de los depósitos en el microscopio electrónico

Figura 1.12. Clasificación actual de la glomerulonefritis membranoproliferativa (GNMP).

Figura 1.13. Representación de la competición de factor H nativo con la forma oligomérica de proteína relacionada con factor H 5 (CFHR5) mutante como resultado de la duplicación de los dominios N-terminal de esta molécula.

Figura 1.14. Presencia de drusas en la membrana de Bruch.

Figura 1.15. Representación de glomerulonefritis C3 con presencia de depósitos predominantes en la vertiente subendotelial de la membrana, y enfermedad por depósitos densos con depósitos intramembranosos.

Figura 1.16. A) Glomerulonefritis membrano proliferativa con proliferación mesangial, engrosamiento de paredes capilares e hiper celularidad endocapilar que confiere al glomérulo un aspecto lobulado. B) Tinción de tricrómico de Masson mostrando la hiper celularidad del ovillo con acentuación de la configuración lobular.

Figura 1.17. Inmunofluorescencia positiva de C3 (+++) de predominio mesangial en imagen de la izquierda y parietal en imagen de la derecha.

Capítulo 3. MATERIAL Y MÉTODOS

Figura 3.1. Diseño experimental del presente estudio

Figura 3.2. Material entregado a cada centro participante para la extracción y envío de muestras biológicas.

Capítulo 4. RESULTADOS

Figura 4.1. Diagrama de flujo de la cohorte estudiada.

Figura 4.2. Valores séricos basales de C3 según los grupos de edad.

Figura 4.3. Valores séricos basales de C3 según los grupos de edad

Figura 4.4. Frecuencia con la que fue prescrito cada tratamiento en el conjunto total de pacientes.

Figura 4.5. Curvas de Kaplan-Meier de remisión de la enfermedad según el tratamiento con esteroides y MMF, frente a otros tratamientos inmunosupresores.

Figura 4.6. *Curvas de supervivencia renal de acuerdo a los grupos de edad.*

Figura 4.7. *Curvas de supervivencia renal en pacientes con GNC3 y EDD.*

Figura 4.8. *Curvas de supervivencia renal de acuerdo a las diferentes pautas terapéuticas prescritas.*

Figura 4.9. *Curvas de supervivencia renal de acuerdo a los terciles del índice de cronicidad de la biopsia renal*

Figura 4.10. A) *Diagrama de puntos mostrando la diferencia estandarizada de la media (d de Cohen) para cada covariable antes y después del emparejamiento por índice de propensión. B)* *Diagrama de puntos con los índices de propensión en el grupo tratado o no tratado con MMF, mostrando si fueron emparejados o descartados en el análisis.*

Figura 4.11. *Curvas de supervivencia renal de acuerdo a la pauta de inmunosupresión en la cohorte obtenida tras el emparejamiento por índice de propensión*

Figura 4.12. *Curvas de supervivencia renal de acuerdo según tratamiento inmunosupresor en pacientes con variantes patogénicas en los genes del complemento.*

Figura 4.13. *Curvas de supervivencia renal según la pauta de inmunosupresión en pacientes con autoanticuerpos contra componentes del complemento.*

Figura 4.14. *Evolución de creatinina, albúmina, niveles séricos de C3 y proteinuria en pacientes tratados con esteroides y micofenolato mofetil, de acuerdo al desarrollo de remisión.*

Figura 4.15. *Curvas de supervivencia renal en los diferentes “clusters”, de acuerdo al tratamiento con esteroides y micofenolato mofetil u otros tratamientos.*

Resumen

INTRODUCCIÓN:

La glomerulopatía C3 (GC3) es una entidad clínico-patológica secundaria a una desregulación de la vía alternativa del complemento en plasma y el microentorno glomerular, distinguiéndose la glomerulonefritis C3 (GNC3) y la enfermedad por depósitos densos (EDD). La desregulación del complemento puede ser debida a alteraciones genéticas en genes del complemento y/o autoanticuerpos frente a diferentes componentes del complemento.

Estudios previos han mostrado un beneficio terapéutico de la pauta de esteroides y micofenolato mofetil (MMF) en esta entidad, aunque el perfil genético-molecular de estos pacientes no fue estudiado de forma sistemática.

OBJETIVOS:

Los objetivos de este estudio fueron: 1) Analizar la correlación entre la presencia de autoanticuerpos contra componentes del complemento y/o determinadas variantes genéticas en los genes del complemento, con la respuesta a determinados tratamientos inmunosupresores; 2) Analizar los principales determinantes asociados a la progresión de la enfermedad; 3) Identificar factores de riesgo para el desarrollo de recidiva de la enfermedad tras una remisión inicial de la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio retrospectivo de observación sobre una cohorte multicéntrica de pacientes con GC3 procedentes de 35 hospitales pertenecientes al Grupo de Español de Enfermedades Glomerulares de la S.E.N. (GLOSEN). Se incluyeron pacientes con diagnóstico de GC3 según los criterios de inmunofluorescencia, entre enero de 1995 y marzo de 2018.

Se recogieron variables demográficas, clínicas, bioquímicas, histológicas y terapéuticas de interés pronóstico, para analizar los principales factores asociados a remisión de la enfermedad, desarrollo de enfermedad renal crónica terminal (ERCT) y recidiva tras una remisión previa.

Se analizaron genes del complemento por secuenciación de nueva generación, se determinaron las variaciones del número de copias de la región *CFH-CFHR1-5* por MLPA, y se analizó la presencia de factor nefrítico C3 (C3NeF) y anticuerpos anti-factor H (FH) mediante ELISA y ensayos hemolíticos.

RESULTADOS:

El grupo de estudio incluyó a 97 pacientes, 81 con GNC3 (84%) y 16 con EDD (16%). La edad media de los pacientes fue de 32 ± 21 años, siendo el 46% varones.

El 22% de los casos presentaban variantes patogénicas en genes del complemento, 40% variantes de significado incierto, y un 30% de los casos autoanticuerpos frente a componentes del complemento.

Cuarenta y dos casos fueron tratados con esteroides y MMF, y este tratamiento se asoció con una mayor probabilidad de remisión de la enfermedad (79%) y una menor probabilidad de desarrollar ERCT (14%), en comparación con los pacientes tratados con otras terapias. El análisis del beneficio terapéutico de esteroides y MMF se completó mediante un emparejamiento por índice de propensión ajustado por las principales variables pronósticas, para evitar el posible sesgo de indicación. La superioridad terapéutica de esteroides y MMF se observó tanto en pacientes con variantes patogénicas en genes del complemento, como en pacientes con autoanticuerpos.

El principal determinante para no alcanzar remisión fue la proteinuria basal. Un 33% de los pacientes que habían alcanzado remisión con este esquema terapéutico presentaron una recidiva de la enfermedad tras su suspensión. Un tratamiento más prolongado con MMF se asoció con una menor probabilidad de recidiva.

CONCLUSIONES:

El beneficio terapéutico de la pauta de esteroides y MMF en la GC3 es independiente de los principales factores patogénicos analizados en este estudio.

Summary

INTRODUCTION:

C3 glomerulopathy (C3G) is a clinicopathological entity secondary to the dysregulation of the alternative complement pathway in plasma and the glomerular microenvironment, and two different entities can be distinguished: C3 glomerulonephritis (C3GN) and dense deposit disease (DDD). The alternative complement dysregulation may be due to genetic abnormalities in complement genes and/or antibodies against complement components. Previous studies showed a therapeutic benefit of corticosteroids plus mycophenolate mofetil (MMF) in this entity, although the genetic and molecular profile of these patients were not systematically analyzed.

AIMS:

The aims of this study were: 1) To analyze the correlation between the presence of autoantibodies against complement components and/or genetic variants in complement genes, with treatment response to different immunosuppressants; 2) To analyze the main determinants of progression to end-stage kidney disease (ESKD); 3) To identify risk factor for the development of a relapse of the disease after a previous remission.

MATERIAL AND METHODS:

Retrospective, observational study in multicenter cohort of patients with C3G from 35 hospital belonging to the Spanish Group for the Study of Glomerular Diseases (GLOSEN).

Patients diagnosed with C3G according to immunofluorescence criteria were included between January 1995 and March 2018.

Demographic, clinical, biochemical, histological and therapeutic variables of prognostic interest were recorded and used to analyze the main determinants of disease remission, ESKD, and relapse after a previous remission.

Genetic abnormalities in complement genes were analyzed with next generation sequencing, copy number variations were determined with MLPA, and the detection of C3 nephritic factors (C3NeF) and anti-factor H antibodies were analyzed with ELISA and hemolytic assays.

RESULTS:

The study group consisted of 97 patients, 81 with C3GN (84%) and 16 with DDD (16%). The mean age of study patients was 32±21 years, being 46% of them male.

22% had complement pathogenic variants, 40% had variants of unknown significance, and 30% had autoantibodies.

Forty-two patients were treated with corticosteroids plus MMF, and this treatment was associated with a higher rate of remission (79%) and lower probability of ESKD (14%), as compared to other immunosuppressive regimens and conservative treatment.

This outcome was further confirmed in a propensity-matched sub-cohort to minimize confounding. The therapeutic superiority of corticosteroids plus MMF was observed both in patients with complement abnormalities and with autoantibodies. However, patients with pathogenic variants in complement genes only achieved partial remission, whereas complete remissions were common among patients with autoantibody-mediated forms. The main determinant of no remission was baseline proteinuria.

Relapses occurred after treatment discontinuation in 33% of the patients who had achieved remission with corticosteroids plus MMF, and a longer treatment length of MMF was associated with a lower risk of relapse.

CONCLUSIONS:

The beneficial response to corticosteroids plus MMF treatment in C3G appears independent of the pathogenic drivers analyzed in this study.

1

INTRODUCCIÓN

Contenido

1.1	Introducción general.....	21
1.2	Sistema del complemento	
1.2.1	Generalidades.....	23
1.2.2	Vías de activación.....	25
1.2.3	La vía alternativa del complemento.....	27
1.2.4	Principales reguladores de la vía alternativa del complemento	30
1.2.5	Estudio genético y molecular del complemento	35
1.2.6	Implicación del complemento en patologías renales.....	39
1.3	Glomerulopatía C3	
1.3.1	Definición	41
1.3.2	Epidemiología	44
1.3.3	Patogénesis	44
1.3.4	Presentación clínica	47
1.3.5	Características histopatológicas	49
1.3.6	Diagnóstico genético y molecular	52
1.3.7	Evolución natural y factores pronósticos.....	55
1.3.8	Tratamiento.....	57
1.3.9	Recurrencia en el trasplante renal	61

1.1 Introducción General

Las glomerulonefritis (GN) constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades renales caracterizadas por una pérdida de la normal estructura y función del glomérulo.

En las GN se produce una alteración en el número y/o fenotipo de las células glomerulares, así como en la matriz extracelular, pudiendo dar lugar a alteraciones estructurales muy variadas.

En conjunto, las GN son enfermedades poco frecuentes pero que se asocian con una elevada morbimortalidad y necesidad de inicio de terapia renal sustitutiva (diálisis o trasplante) tanto en pacientes pediátricos como en edad adulta.

En los últimos años se han realizado importantes avances en el conocimiento de las bases patogénicas de estas enfermedades, y especialmente en el papel que juega la inmunidad (congénita o adquirida) sobre la predisposición y curso evolutivo de estos procesos (1). Así, el sistema del complemento, constituyente fundamental de la inmunidad innata, se ha involucrado en patologías como el síndrome hemolítico urémico, nefropatía IgA, vasculitis o lupus eritematoso sistémico, entre otros (2). Esto ha permitido a su vez el desarrollo de nuevos fármacos dirigidos contra dianas moleculares específicas.

La glomerulopatía C3 (GC3) es una rara enfermedad causada por la desregulación de la vía alternativa del complemento, que se asocia con un pronóstico renal global desfavorable (3).

Sin embargo, dada su baja incidencia y su elevada variabilidad biológica, son menos conocidos los determinantes genéticos o moleculares que podrían condicionar una mejor respuesta a los tratamientos inmunosupresores disponibles en la actualidad.

En las siguientes secciones se revisa la fisiopatología del sistema del complemento y el estado actual del conocimiento sobre la GC3.

1.2 Sistema del Complemento

El organismo humano está en contacto persistente con microorganismos ambientales, y su supervivencia habría sido improbable sin la existencia de un sistema inmunitario eficaz. Los patógenos responsables pueden ser causantes de infecciones intracelulares o extracelulares, para las que la respuesta inmune debe ser diferente.

Además del reconocimiento de elementos propios y ajenos, el sistema inmune debe ser capaz de reconocer tejidos no viables como resultado de traumatismos o el remodelado celular habitual.

Conceptualmente, el sistema inmune se divide en dos grandes grupos: la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa. En la **Figura 1.1** se representan los principales componentes de la inmunidad innata y adaptativa.

La primera se encarga de reconocer patrones moleculares altamente conservados o comunes a diferentes patógenos para poder desarrollar una respuesta inmediata mientras se desarrollan otros mecanismos de defensa (4,5). Los principales componentes de la inmunidad innata lo constituyen las barreras físicas (piel, membranas, mucosas), proteínas mediadoras de la inflamación (proteína C reactiva, complemento...), péptidos antimicrobianos en las superficies celulares (defensinas, catelicidinas...), receptores celulares con capacidad de detectar microorganismos (receptores “*toll-like*”), células con capacidad de liberar citocinas proinflamatorias (macrófagos, mastocitos, células “*natural killer*”...), fagocitos (neutrófilos, monocitos, macrófagos) (6).

La inmunidad adaptativa, íntimamente ligada a la anterior, permite desarrollar una respuesta más potente y específica contra los patógenos, así como generar memoria inmunitaria. Sus principales componentes son los linfocitos B y T (7). Los linfocitos B se diferencian en células plasmáticas que segregan anticuerpos con capacidad de reconocer antígenos ajenos. Por su parte, los linfocitos T tienen capacidad de reconocer células infectadas que expresan antígenos extraños en la superficie, y se distinguen los linfocitos T citotóxicos y colaboradores (“*helper*”).

En las siguientes líneas se desarrolla el sistema del complemento, que es uno de los elementos filogenéticamente más antiguos y con un papel fundamental en la inmunidad innata.

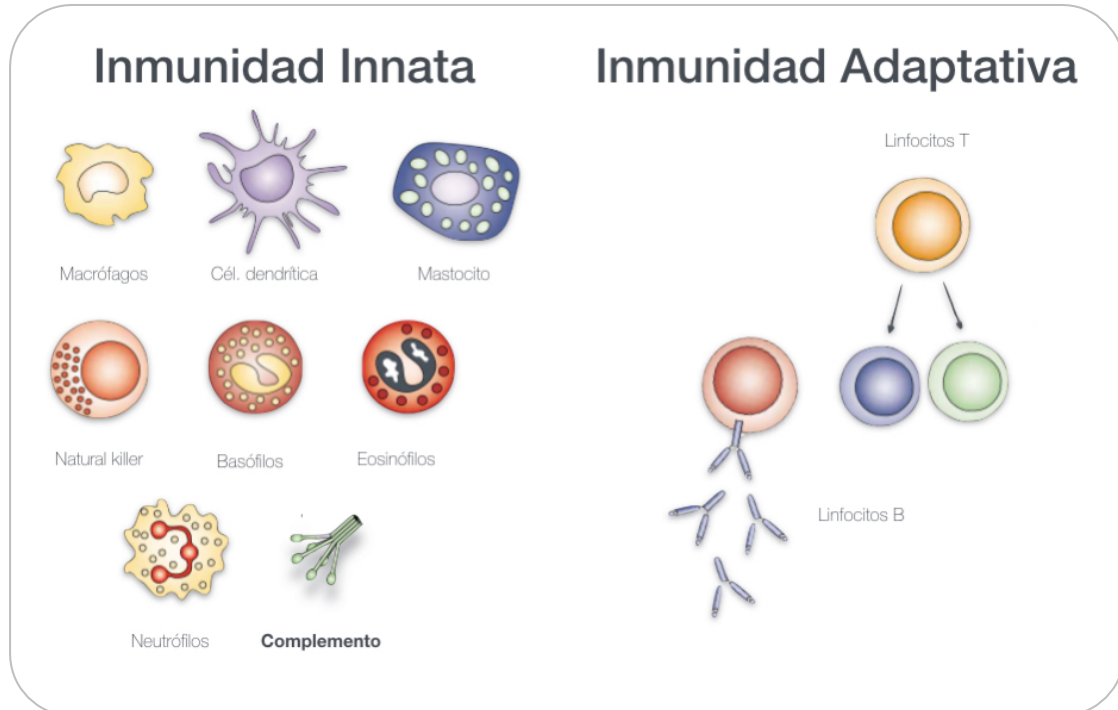


Figura 1.1. Componentes fundamentales de la inmunidad innata y adaptativa. Adaptado de Dranoff (8).

1.2.1 Generalidades

El sistema del complemento está formado por un conjunto de proteínas plasmáticas sintetizadas mayoritariamente en el hígado, o proteínas de membrana expresada en las superficies celulares, que interaccionan en diferentes cascadas bioquímicas (9). El complemento actúa a nivel plasmático, tisular o intracelular (9).

Pese a que el tipo de respuesta que desarrolla el complemento es inespecífica, tiene un papel relevante en la defensa del organismo frente a patógenos antes de que se elabore una respuesta adaptativa, y en la eliminación de los complejos inmunes circulantes o aclaramiento de los restos celulares (10).

La activación del complemento da lugar a tres tipos de efectores (9):

- 1) Anafilotoxinas como los componentes C3a y C5a, con capacidad de activar y atraer a leucocitos tras la interacción con sus receptores específicos (RC3a y RC5a). En la **Figura 1.2** se representa la función de las anafilotoxinas C3a y C5a.
- 2) Oponinas como los componentes C3b, iC3b y C3d, con capacidad para “etiquetar” las superficies uniéndose de manera covalente para facilitar su transporte y eliminación.
- 3) Complejos de ataque a membrana (CAM)

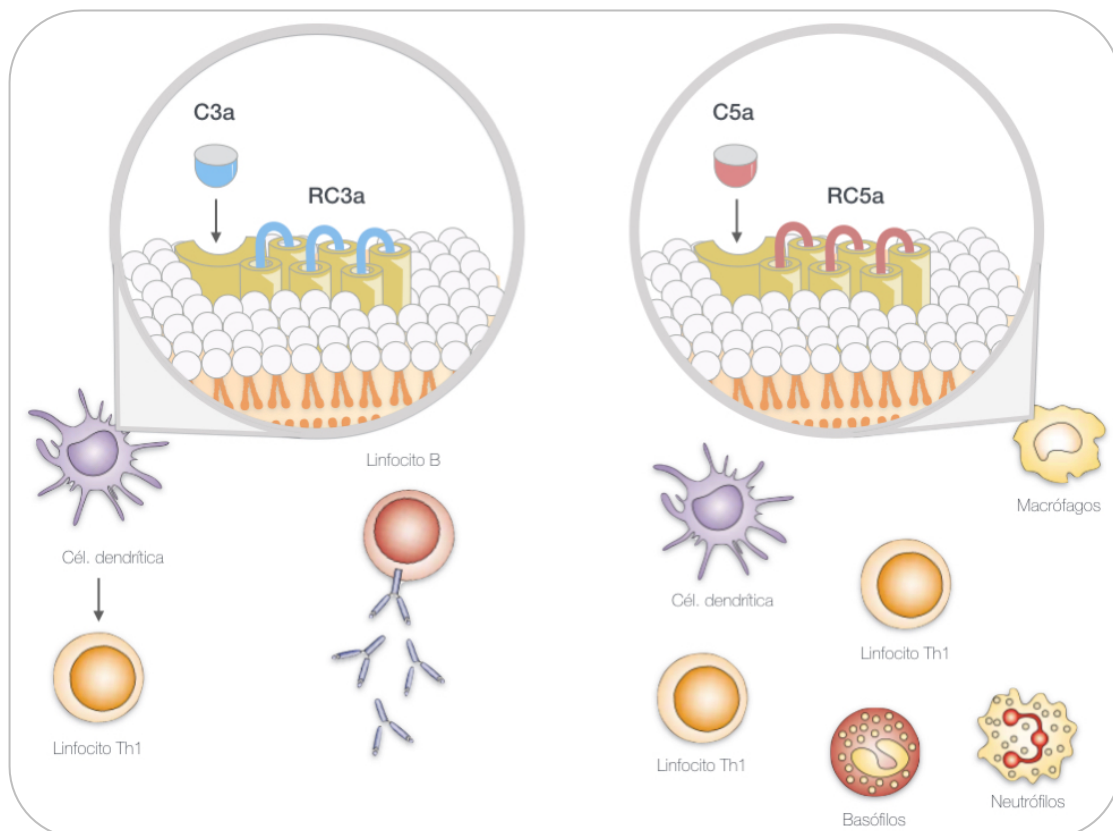


Figura 1.2. Estructura de los receptores para las anafilotoxinas C3a y C5a. Las anafilotoxinas participan en la inflamación interaccionando con sus respectivos receptores presentes en la superficie celular. C3a induce la respuesta clonal del linfocito B y la secreción de citocinas proinflamatorias. Además, estimula la fase de contracción de la respuesta del linfocito T. C5a está involucrado en la expansión de linfocitos Th1, y la activación de vías de señalización proinflamatorias de los macrófagos. Ambas tienen propiedades quimiotácticas y atraen a las células inmunitarias al sitio de inflamación (11,12). Además, algunos estudios han descrito un potencial efecto antiinflamatorio de C3a en algunos contextos (13).

El sistema del complemento tiene la capacidad de distinguir entre estructuras propias y ajenas, y en condiciones fisiológicas se encuentra estrechamente regulado por diferentes factores (tanto en fase fluida como sobre superficies celulares) para evitar el daño propio (10).

En los últimos años se han descrito otras importantes funciones del complemento, como la regulación de la respuesta inmune adaptativa, la regeneración tisular, movilización de células madre, el correcto desarrollo del sistema nervioso, o la implantación del embrión (14).

1.2.2 Vías de activación

Existen tres vías principales de activación del complemento (**Figura 1.3**)

(9,10,15):

- Vía clásica: Se activa por la unión del complejo C1 a inmunocomplejos formados por IgM o IgG. C1 está formado por seis moléculas de C1q y dos moléculas denominadas C1r y C1s. Su interacción con las inmunoglobulinas condiciona un cambio conformacional de la molécula con la posterior activación de C1r y C1s. C1s escinde las moléculas de C4 y C2, conformando en último término la molécula C4bC2a o convertasa de C3 de la vía clásica.
- Vía de las lectinas: Similar a la anterior, pero esta vía se inicia por la unión de la lectina de unión a manosa (en inglés "*mannose binding lectin*") o la ficolina a carbohidratos en la superficie de determinados microorganismos.
- Vía alternativa: A diferencia de las anteriores, la vía alternativa del complemento se mantiene activa de manera permanente pero con un bajo nivel de actividad. Se inicia por la hidrólisis espontánea de un enlace tioéster de la molécula C3, que condiciona un cambio conformacional en la misma dando lugar a C3(H₂O). Esto permite la unión del factor B, que a su vez es sustrato del factor D, y en último término se forma la molécula C3(H₂O)Bb o convertasa de C3 inicial de la vía alternativa. Esta molécula es estabilizada por la properdina.

Las C3 convertasas generadas en cualquiera de las vías tienen una potente acción proteolítica sobre el factor C3, generando las nuevas moléculas C3a y C3b. De manera similar al C3(H₂O), el fragmento C3b es reconocido por el factor B, que será de nuevo sustrato de factor D dando lugar a otra convertasa de C3 de la vía alternativa, C3bBb. Además, los fragmentos C3b se unen de manera covalente a cualquier superficie dando lugar a nuevas convertasas de C3, y esta secuencia amplifica la opsonización de los patógenos y la generación de anafilotoxinas (9).

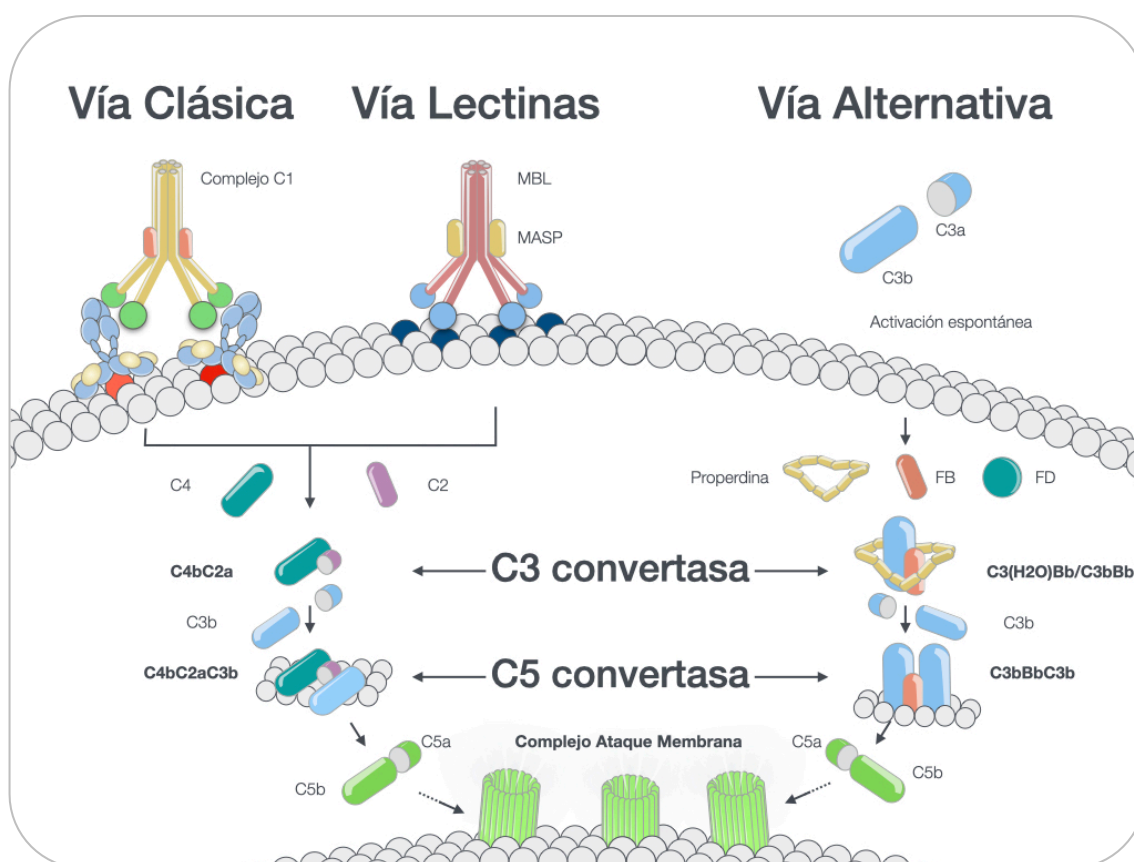


Figura 1.3. Representación de las tres vías principales de activación del complemento. Cada una de las vías se inicia por mecanismos diferentes pero todas convergen en la formación de la convertasa C3 que activa dicha molécula y permite el depósito del fragmento C3b en la superficie de la célula. La unión del fragmento C3b a la convertasa de C3 (de la vía clásica o alternativa) conforma la convertasa C5, con capacidad para escindir la molécula de C5 en C5a y C5b. Ésta última tiene capacidad de reclutar a las moléculas C6, C7, C8, y C9 que polimeriza formando el denominado complejo de ataque a membrana.

Las convertasas C3 (C4b2a y C3bBb) son precursoras de las convertasas C5. La adición del fragmento C3b a las convertasas C3 forma la convertasa C5 con capacidad para escindir la molécula C5 en C5a y C5b (9), iniciando la cascada terminal del complemento.

La interacción secuencial de C5b con las moléculas C6, C7 y C8 favorece la inserción del complejo a la membrana de la célula y posterior unión y polimerización de 10 a 16 moléculas de C9, conformando el complejo de ataque a membrana (CAM) que podría causar la muerte celular (9,15).

1.2.3 La vía alternativa del complemento

En condiciones fisiológicas, la vía predominante de activación del complemento es la vía alternativa. Como se ha mencionado en párrafos previos, la vía alternativa se mantiene activa de manera persistente, habiéndose comparado este nivel de funcionamiento al ralentí de un motor de combustión (“*tick-over mechanism*”) (16).

C3 es la molécula central de la vía alternativa del complemento, y su activación espontánea es el elemento característico (**Figura 1.4**). Se trata de una molécula de gran tamaño (formada por 1641 residuos de aminoácidos) con 13 dominios identificados, en los que se diferencia una cadena alfa y una beta (17).

La hidrólisis espontánea de un enlace tioéster de la molécula de C3 promueve un cambio conformacional de la misma convirtiéndola en una forma bioactiva en fase fluida (C3H₂O) (16). Esta transformación permite exponer un dominio molecular al que se une el denominado factor B (en una reacción mediada por magnesio), que a su vez es sustrato del factor D (liberando un péptido Ba), y permite la conformación de la molécula C3(H₂O)Bb o convertasa de C3 (9). Esta nueva molécula tiene capacidad de interactuar con moléculas circulantes de C3, escindiéndolas en C3a y C3b (18,19) (**Figura 1.5**).

Las moléculas de C3b generadas se depositan de manera covalente en las inmediaciones de la convertasa C3 (aproximadamente a 60 nm de la misma) (20). En células propias las moléculas de C3b depositadas acaban siendo

inactivadas por diferentes reguladores de membrana o plasmáticos, aunque esto se describe con más detalle en la siguiente sección.

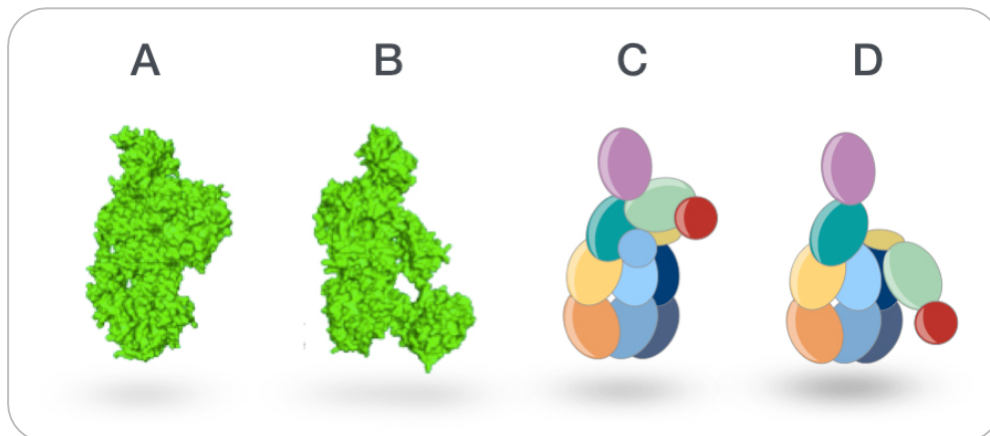


Figura 1.4. Representación gráfica de la molécula de C3. A) Representación molecular de C3 en su forma bio-inactiva. Adaptado de Merle et al (16). B) Representación molecular de C3 en su forma bioactiva. Adaptado de Merle et al (16). C y D) Representación de los distintos dominios de la molécula con el correspondiente cambio conformacional de la forma bioactiva.

Por otra parte, se ha descrito recientemente que las moléculas de C3b pueden interactuar con moléculas de superficie, como la P-selectina (21,22), properdina (23–25), proteína 4A relacionada con factor H (16) o el propio grupo hemo (26,27) dando lugar a la activación local del complemento (16).

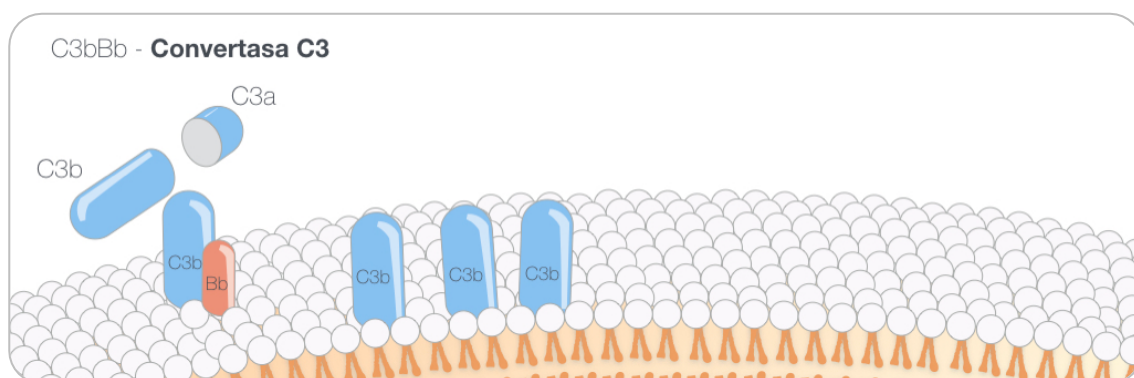


Figura 1.5. Representación de la convertasa de C3 escindiendo una molécula de C3 en fragmentos C3b y C3a. Adyacente a la misma se encuentran fragmentos C3b depositados en la superficie celular.

La convertasa de C3 es un complejo molecular con una vida media corta (alrededor de 90 segundos), por lo que requiere su estabilización a través de la asociación con la properdina (23). Esta es secretada por monocitos/macrófagos y linfocitos T, almacenándose en gránulos de neutrófilos y mastocitos (28,29). La función de la properdina depende de su grado de polimerización siendo la forma tetramérica hasta 10 veces más potente que la forma dimérica (16). La amplificación de la vía alternativa incrementa la densidad de las moléculas C3b depositadas en la superficie, las cuales constituyen los ligandos de receptores en células del sistema fagocítico encargadas de la eliminación de la célula marcada (14). Por otro lado, los agregados de C3b de la superficie conducen a la formación de la convertasa de C5, iniciando la fase terminal del complemento (14,16) (**Figura 1.6**).

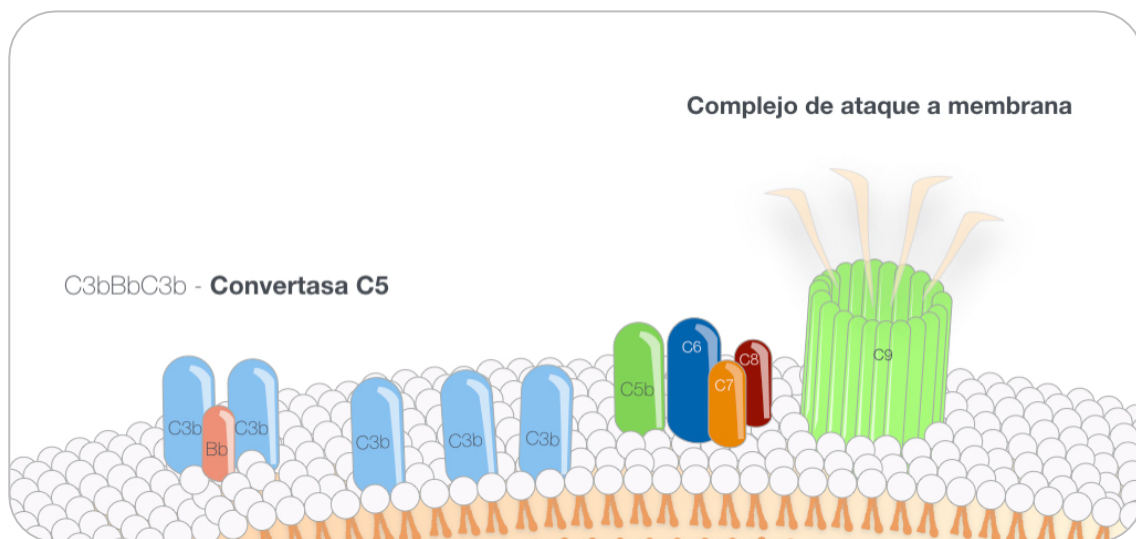


Figura 1.6. Representación de la fase terminal del complemento. La convertasa de C5 genera fragmentos bioactivos de esta molécula C5a y C5b. La molécula C5b se une de manera secuencial a C6, C7, C8, provocando la inserción a la membrana celular y posterior unión de múltiples subunidades de C9 que polimerizan formando el complejo de ataque a membrana.

1.2.4 Principales reguladores de la vía alternativa del complemento

El sistema del complemento tiene un elevado potencial destructivo y proinflamatorio por lo que son precisos mecanismos que regulen su activación para evitar el daño sobre estructuras propias (10,14). A lo largo de la evolución se han desarrollado un conjunto de proteínas plasmáticas o adheridas a membranas celulares que se encargan de controlar la actividad del complemento (10,17). En las siguientes líneas se desarrollan los principales factores reguladores del complemento, resumidos en la **Tabla 1.1**.

Tabla 1.1. Resumen de los principales reguladores de la vía alternativa del complemento a nivel plasmático y de membrana. Adaptado de Noris et al (10).

Regulador	Nombre alternativo	Función
<u>A NIVEL PLASMÁTICO</u>		
Factor H	FH	Regulador principal de la vía alternativa. Reconocimiento de superficies; Acelera decaimiento de convertasa; Cofactor de factor I; Compite con FB por la unión a C3b.
Proteínas relacionadas con factor H	FHR1–5	Modulación de la acción reguladora que ejerce CFH
Factor I	FI	Degradación de C3b, iC3b y C3dg
Properdina		Estabiliza a C3bBb disminuyendo su desactivación.
<u>A NIVEL DE MEMBRANA</u>		
MCP	CD46	Cofactor de factor I en la degradación de C3b
DAF	CD55	Acelera la disociación de convertasas C3 y C5
CR1	CD35	Une C3b e iC3b; Induce fagocitosis y acelera decaimiento de convertasas; cofactor de factor I
Trombomodulina	THBD	Cofactor que facilita la actividad de CFH y facilita la inactivación de C3a y C5a
CD59	Protectina	Bloquea la asociación de las subunidades de C9 impidiendo la formación del complejo de ataque a membrana
Vitronectina	Proteína S	Se une a C5b–7 inhibiendo la polimerización de C9
Clusterina	Apolipoproteína J	Se une a C5b–7 inhibiendo la formación de C5b–9

Factor H:

El factor H (FH) es el principal regulador de la vía alternativa del complemento tanto a nivel plasmático como en las superficies celulares (30). Se trata de una glucoproteína abundante en plasma con una concentración aproximada de 400 mg/l (10). Su producción es predominantemente hepática, aunque también se ha descrito producción extrahepática a nivel de endotelio, células del mesangio glomerular o podocitos (10).

Está formada por 20 dominios con dos extremos diferenciados (**Figura 1.7**): región N-terminal formada por los dominios 1–4 proporcionan la actividad reguladora del complemento, actuando como cofactor para la inactivación de C3b, así como compitiendo la unión de factor B a C3b y promoviendo la disociación de la convertasa de C3 (31); por otra parte, la región C-terminal formada por los dominios 19–20 es responsable del reconocimiento de superficies celulares a través de la interacción con glucosaminoglicanos de superficies celulares que contienen ácido siálico (30,31). Esta región permite la actividad reguladora de FH en superficies celulares.

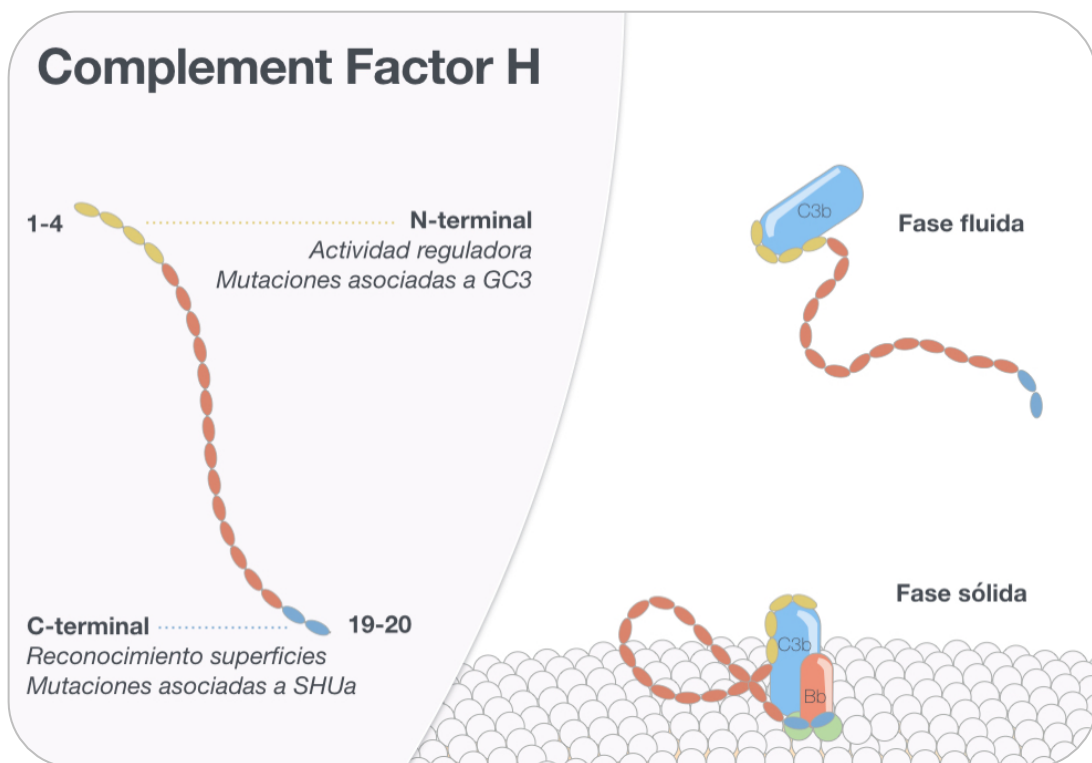


Figura 1.7. Representación del Factor H con sus correspondientes dominios y su interacción en fase fluida o fase sólida.

Los patógenos carecen de estos carbohidratos de superficie por lo que el FH no se verá atraído por su superficie y permitirá la activación del complemento (16), consiguiendo de esta manera una correcta discriminación entre estructuras propias y ajenas.

Así, mutaciones en la región N-terminal provocan un defecto de regulación del complemento en fase fluida, que puede estar asociado al desarrollo de GC3, y mutaciones en región C-terminal provocan un defecto de regulación sobre superficies celulares que puede asociarse al desarrollo de síndrome hemolítico urémico (10).

Proteínas relacionadas con factor H:

Se trata de un conjunto de proteínas codificadas por genes muy próximos a los genes de *CFH* y ejercen un papel modulador de la actividad reguladora de FH (32). Presentan una homología muy alta en la secuencia de aminoácidos con la proteína de FH, lo que inicialmente hizo pensar que se trataba de proteínas reguladoras del complemento con funciones similares a las que presenta FH (32). Sin embargo, al carecer de la región reguladora de FH (N-terminal), no tienen capacidad de regular el complemento de la misma forma. Aunque aún existen importantes lagunas en el conocimiento del papel fisiológico de estas proteínas, en el momento actual se considera que competirían con el propio FH en la unión a determinadas superficies modulando así su papel regulador (32,33). Además, las proteínas relacionadas con FH forman dímeros constituidos por la misma cadena o cadenas diferentes (33). En la **Figura 1.8** se representan las diferentes proteínas relacionadas con factor H con sus respectivos dominios, su homología con FH y la formación de estructuras oligoméricas.

Factor I:

El factor I (FI) es una serin proteasa plasmática con capacidad de degradar la molécula de C3b en presencia de diferentes cofactores como FH, proteína cofactor de membrana (MCP) o CR1, entre otros (9). La actividad proteasa de FI genera el producto de degradación de C3b, denominado iC3b, sin capacidad para unirse con factor B (34).

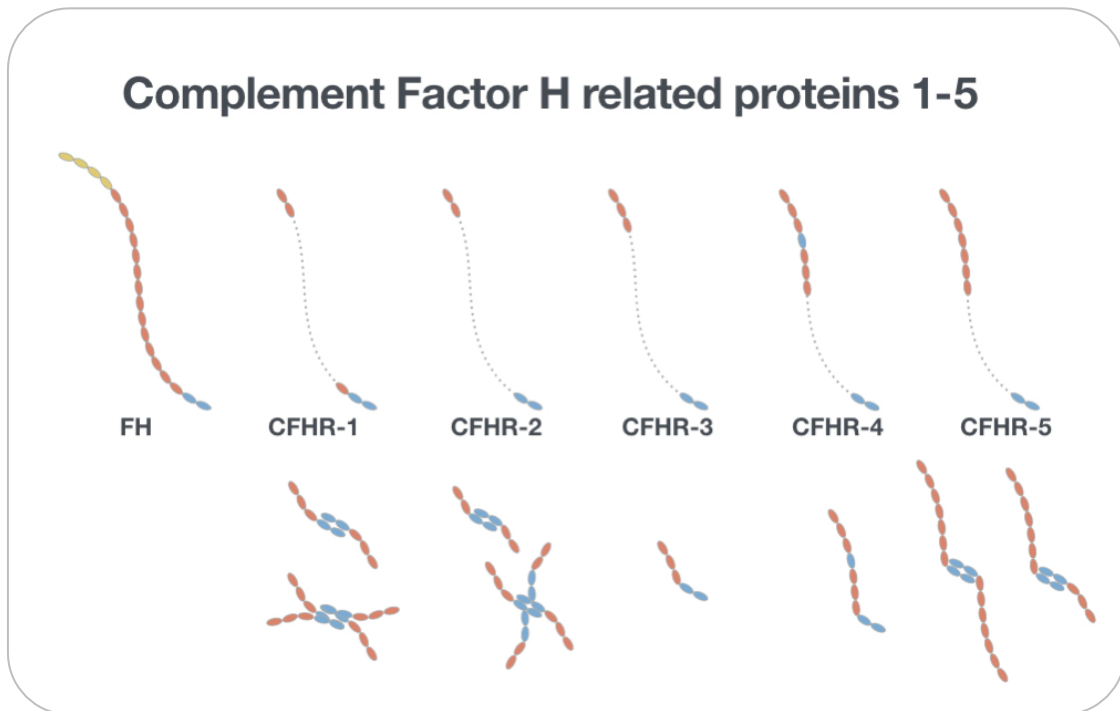


Figura 1.8. Representación las proteínas relacionadas con factor H mostrándose la homología en los dominios moleculares, y representando las posibles estructuras oligoméricas que pueden conformar.

Reguladores de membrana:

Dentro de los principales reguladores de membrana destacan la proteína cofactor de membrana (MCP), el factor acelerador del decaimiento (DAF) y el receptor de complemento 1 (CR1).

MCP actúa como cofactor de FI en la degradación de C3b en las células donde se expresa (35). DAF acelera la disociación de la convertasa de C3 alterando su estabilidad (10,36).

Por otra parte, CR1 tiene una amplia distribución en el organismo y su función varía según la célula que lo expresa. En los eritrocitos, CR1 forma agrupamientos que facilitan la adhesión de inmunocomplejos que posteriormente serán aclarados por el sistema mononuclear fagocítico (10).

Además, tiene una actividad cofactor de FI, facilitando la degradación de C3b en iC3b y posteriormente C3c y C3dg (9,10,37) (**Figura 1.9**).

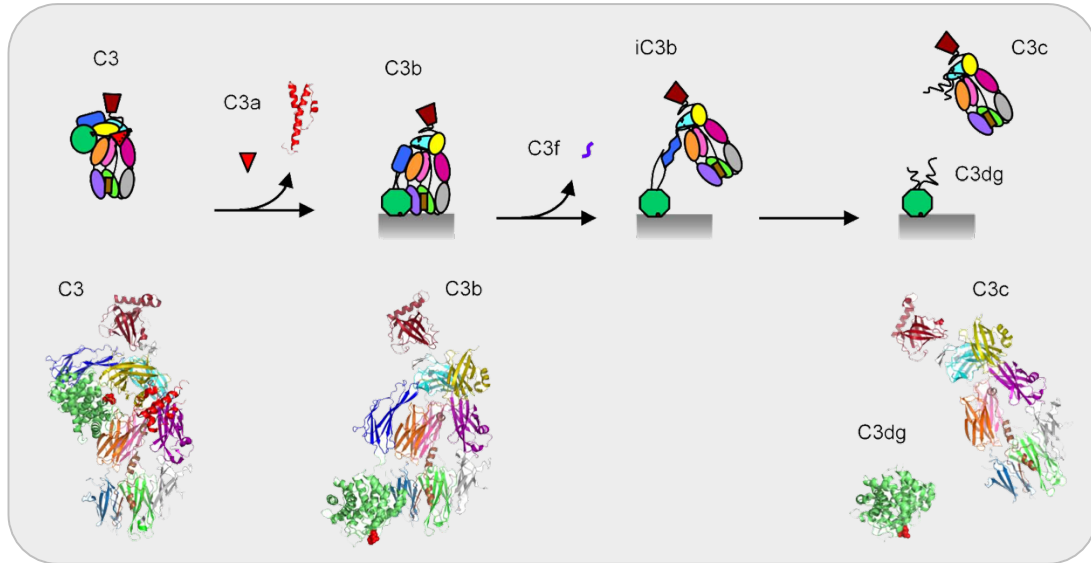


Figura 1.9. Representación de C3b y sus productos de degradación (Adaptado de Janssen et al) (17).

Otra molécula es la trombomodulina, con capacidad de regular el complemento a través de dos mecanismos: por un lado favoreciendo la proteólisis de C3b mediada por FI en presencia de CFH (38); por otro lado, la trombomodulina tiene capacidad de inactivar las anafilotoxinas C3a y C5a a través del inhibidor de la fibrina activado por trombina (39,40).

Dentro de los reguladores principales de la vía terminal del complemento destaca CD59, que inhibe la asociación de C9 con C5b–8 evitando la formación del complejo de ataque a membrana (10).

1.2.5 Estudio molecular y genético del complemento

Cuando se sospecha una alteración en el complemento, resulta de interés realizar una evaluación bioquímica completa que incluya estudio genético y molecular, determinación de autoanticuerpos, así como ensayos funcionales (41).

El análisis funcional permite determinar si el complemento funciona correctamente o no, pero el análisis individual de los componentes y reguladores permite desvelar defectos cualitativos o cuantitativos que justifiquen la alteración (41). Por otro lado, la medición de los productos terminales de activación permite discernir si un determinado factor del complemento está reducido como consecuencia de un aumento en el consumo o una producción deficitaria (41).

Sin embargo, los análisis moleculares del complemento pueden verse alterados por una gran diversidad de factores por lo que es de gran importancia una correcta extracción y procesamiento inicial de la muestra para disminuir la probabilidad de errores. Así, para evitar consumo *in vitro* del complemento tras la extracción de la muestra es preciso un transporte refrigerado de la muestra de sangre, su centrifugación precoz y almacenado a -20 o -70° C (41).

Cuantificación individual de factores del complemento

Los componentes C3 y C4 se determinan de manera rutinaria en todos los laboratorios. Niveles bajos de C3 son detectados en hasta el 40–75% de los pacientes con glomerulonefritis C3 (GNC3), 60% de los casos con EDD, y 30–50% de los pacientes con síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) (47–52). Determinadas mutaciones en C3, FI y FH se asocian con una reducción significativa de los niveles de C3 séricos (53,54).

El factor B es una proteína exclusiva de la vía alternativa y, por tanto, su evaluación ayuda a determinar qué vía es la responsable principal del consumo de C3 (41). Niveles disminuidos del factor B asociados a niveles aumentados

de los fragmentos Bb y Ba reflejan actividad de la vía alternativa del complemento, siendo este patrón característico de la GC3 (41,55).

Por otra parte, cuando existen niveles bajos de FH y FI, suele haber consumo de C3 en plasma. Sin embargo, el test de AH50 resultará falsamente negativo por deficiencia de sus componentes (56).

La properdina es el único factor regulador positivo de la vía alternativa del complemento. Los niveles plasmáticos de properdina están reducidos en pacientes con EDD y GNC3 debido a la activación del complemento (56).

Finalmente, también es posible detectar la activación del complemento a través de la medición de los productos terminales de activación, como los factores C3a, C3d, C5a, o el complejo C5b-9 (41).

Autoanticuerpos frente a proteínas del complemento

Además de las alteraciones genéticas, la desregulación de la vía alternativa del complemento puede producirse como consecuencia de autoanticuerpos dirigidos contra distintos componentes de la vía (57).

Uno de los principales autoanticuerpos descritos es el factor nefrítico C3 (C3Nef). Se trata de un grupo heterogéneo de autoanticuerpos del tipo IgG o IgM con capacidad para unirse a la convertasa de C3, estabilizarla y prolongar su actividad (41,58). El resultado de ello es el consumo masivo de C3 en plasma, y la activación de la vía terminal del complemento (57) (**Figura 1.10**).

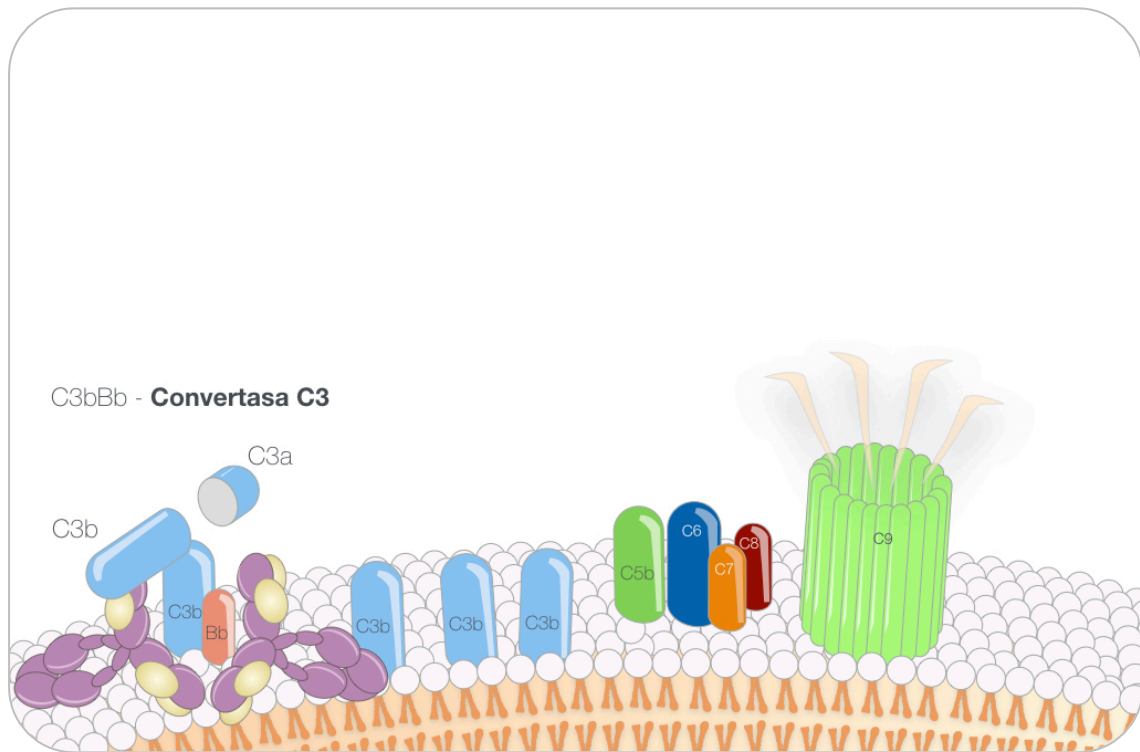


Figura 1.10. Representación del autoanticuerpo C3Nef, con capacidad de estabilizar la convertasa de C3, lo que resulta en un consumo masivo de C3 y a la postre la activación de la vía terminal del complemento.

Debido a la heterogeneidad de los C3Nef, la detección y determinación de sus efectos puede resultar compleja (57). Este autoanticuerpo se dirige contra un neoepítipo de la convertasa C3bBb y no frente a sus componentes individuales (59). C3Nef está presente en más del 80% de casos de EDD y aproximadamente la mitad de pacientes con GNC3 (47,48,60). Sin embargo, en el momento actual se desconoce el verdadero papel patológico de C3Nef (¿causa de la enfermedad, o consecuencia de la misma por la presencia continua de los neoepítipos?), dado que también se han detectado en individuos sanos mediante métodos de electroforesis (61,62).

Además de C3Nef, en todo paciente con GC3 o SHUa debe analizarse la posible presencia de anticuerpos dirigidos, mayoritariamente, frente a FH (41). Se estima que hasta un 10% de los pacientes con SHUa presentan anticuerpos frente a FH (63). Sin embargo, la presencia de anticuerpos frente a FH en GC3

es mucho menos frecuente, siendo necesario descartar la presencia de una gammapatía monoclonal subyacente (64,65), especialmente en pacientes de edad avanzada (66).

Estudios genéticos

Cuando se sospeche una patología mediada por la desregulación de la vía alternativa del complemento será preciso hacer un análisis de posibles mutaciones en genes involucrados en su patogenia. Existen diferentes métodos de laboratorio para su determinación, aunque una de las principales dificultades reside en la interpretación clínica y funcional de las variantes detectadas (41). Por un lado, tan solo un 50% de los pacientes con SHUa presentarán variantes patogénicas (49–52), y este porcentaje se reduce al 25% en el caso de las GNC3 (47,48). Este hecho pone de manifiesto que el conocimiento de la patogenia de estas entidades es incompleto en el momento actual. Así, no es infrecuente encontrar mutaciones “*sin sentido*”, aunque su implicación funcional en la patología no siempre se consigue demostrar (67). Además, la penetrancia de mucha de las variantes es baja, lo que sugiere que son precisos otros factores genéticos o adquiridos para condicionar una expresión fenotípica de la enfermedad (41).

1.2.6 Implicación del complemento en patologías renales

El glomérulo renal es especialmente vulnerable al daño inflamatorio originado por el sistema del complemento, ya sea por su activación in situ, o por el depósito de fragmentos y productos de degradación como consecuencia de su activación sistémica (68).

Las dos principales patologías renales derivadas de una hiperactivación del complemento son el SHUa y la GC3. Sin embargo, en los últimos años se han realizado importantes avances en el conocimiento de la fisiopatología del sistema del complemento, lo que ha permitido descubrir su implicación en gran variedad de patologías renales (68). En la **Tabla 1.2** se resume la evidencia actual de su implicación y el mecanismo fisiopatológico propuesto (10,14,68).

Tabla 1.2. Implicación del complemento en patologías sistémicas y renales.

<i>Patología</i>	<i>Mecanismo fisiopatológico</i>
Síndrome hemolítico urémico atípico	Activación de vía alternativa del complemento por un defecto en su regulación en superficies celulares con desarrollo de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y deterioro de función renal.
Glomerulopatía C3	Activación de la vía alternativa del complemento por un defecto en su regulación tanto en fase fluida como superficies glomerulares, lo que condiciona un depósito masivo de productos de activación y degradación de la vía alternativa.
Vasculitis asociada a ANCA	Moléculas efectoras del complemento (C5a) son capaces de inducir/retroalimentar vías inflamatorias con la consecuente activación de neutrófilos
Nefropatía IgA	El depósito de inmunocomplejos a nivel glomerular activa el complemento causando daño podocitario directo o indirecto estimulando la generación de citocinas proinflamatorias.
Lupus eritematoso sistémico	A través de un mecanismo similar al de la nefropatía IgA. Dependiendo de la localización de los inmunocomplejos la activación del complemento puede contribuir a diferentes clases de nefropatía lúpica.
Nefropatía diabética	El acúmulo de productos de glicación avanzada puede activar vías que en último término activen el complemento. Además, se ha reportado que la hiperglucemia plasmática puede inducir la inhibición del componente CD59 que regula la formación del CAM.
Daño por isquemia-reperfusión	Su implicación se basa en estudios experimentales que mostraron que ratones deficitarios de C3, C5 y C6 no desarrollaban daño por isquemia-reperfusión, poniendo de manifiesto la importancia del CAM en el daño.

1.3 Glomerulopatía C3

En esta sección se realiza una revisión general de la patología en sus diferentes aspectos clínicos, histológicos y pronósticos, resumiendo el estado actual del conocimiento.

1.3.1 Definición

La glomerulopatía C3 es una entidad clínico-patológica secundaria a una desregulación de la vía alternativa del complemento en plasma y el microentorno glomerular, distinguiéndose dos entidades fundamentales, la GNC3 y la EDD (3,69,70).

La primera descripción de esta entidad se realizó en 2007 en una serie de 19 pacientes que mostraban un depósito exclusivo de C3 en la biopsia renal, encontrando mutaciones en genes reguladores del complemento en el 30% de ellos (71). Desde esta descripción se han realizado notables avances en el conocimiento de las bases patogénicas de la enfermedad que se resumen en las siguientes líneas.

La expresión histológica al microscopio óptico más frecuentemente asociada a la GC3 es la lesión membranoproliferativa (3,69,70), cuya clasificación ha evolucionado de forma considerable en los últimos años.

Subtipo GNMP	Depósitos microscopio electrónico
Tipo I	Depósitos mesangiales y subendoteliales
Tipo II	Depósitos mesangiales e intramembranosos
Tipo III	▸ <u>Variante Burkholder</u> : Subendoteliales y subepiteliales
	▸ <u>Variante Strife & Anders</u> : Subendoteliales Subepiteliales Intramembranosos Disrupción de lámina densa

Figura 1.11. Clasificación “clásica” de la glomerulonefritis membranoproliferativa según la localización de los depósitos en el microscopio electrónico

Clásicamente se diferenciaban tres subtipos de glomerulonefritis membranoproliferativa dependiendo de la localización predominante de los depósitos al microscopio electrónico (**Figura 1.11**), pero la reciente implicación del complemento en la patogénesis de la enfermedad llevó a su reclasificación en función de los hallazgos a la inmunofluorescencia (3,72). Así, inicialmente se planteó que si en la inmunofluorescencia se observaba depósito de complemento e inmunoglobulinas, la glomerulopatía estaba mediada por inmunocomplejos y si el depósito era exclusivo de complemento, era éste el único implicado en su patogénesis (72) (**Figura 1.12**).

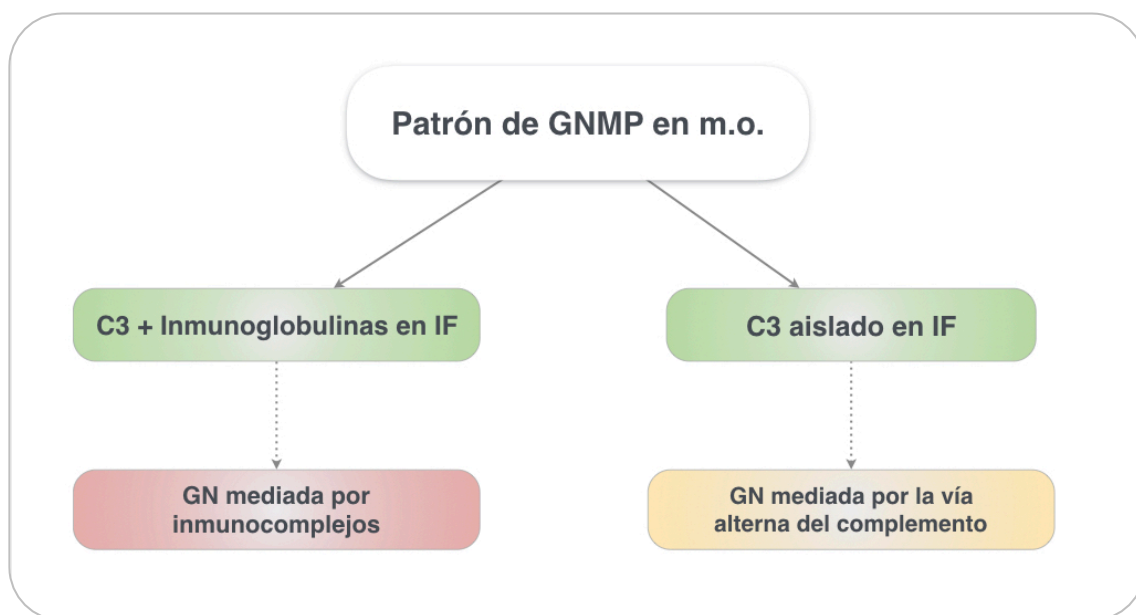


Figura 1.12. Clasificación actual de la glomerulonefritis membranoproliferativa (GNMP); IF: inmunofluorescencia; m.o.: microscopio óptico.

Sin embargo y conforme se fue acumulando experiencia en esta entidad, se propuso que la presencia de trazas de inmunoglobulinas en la inmunofluorescencia no debía invalidar este diagnóstico (73). Así, se propuso como criterio diagnóstico de GC3 la inmunofluorescencia positiva para C3 de forma exclusiva o al menos dos órdenes de intensidad superior al del resto de inmunoglobulinas (73–75).

En cualquier caso, la laxitud relativa de este criterio diagnóstico frente la gran heterogeneidad clínica y patológica de esta entidad ha abierto nuevos debates en los últimos años en cuanto a la mejor manera de identificar y clasificar la

enfermedad (76). Algunos autores consideran que el criterio de dominancia de C3 se estableció usando pacientes con EDD como grupo de referencia y no ha sido validado en una cohorte de pacientes con desregulación conocida del complemento (77). Por otra parte, la correcta distinción entre GNC3 y EDD en ocasiones no es tan clara, y una biopsia posterior puede mostrar criterios compatibles con enfermedad mediada por inmunocomplejos (73,77). Además, otros estudios han mostrado que la frecuencia de mutaciones en genes del complemento es elevada en casos de glomerulonefritis membranoproliferativa idiopática mediada por inmunocomplejos (78).

Así, en 2018, un estudio retrospectivo en una gran cohorte de pacientes con glomerulonefritis membranoproliferativa tipo I y glomerulopatía C3 propuso una reclasificación patogénica de la entidad tras un análisis jerárquico por conglomerados (“clusters”) de acuerdo a las características clínicas, genéticas e histológicas del grupo de estudio (77). En la **Tabla 1.3** se resumen las principales características de cada uno de los *cluster* propuestos.

Tabla 1.3. Características clínicas, analíticas e histológicas de los diferentes clusters de estudio. Adaptado de *Iatropoulos et al.* (77)

CLUSTER 1	<ul style="list-style-type: none"> - Alta prevalencia de mutaciones y C3Nef (75%) - Niveles bajos de C3 sérico - Niveles elevados de C5b–9 en plasma - Edad media de diagnóstico 15 años - Menor porcentaje de proliferación extracapilar - Depósitos mesangiales predominantes
CLUSTER 2	<ul style="list-style-type: none"> - Alta prevalencia de mutaciones y C3Nef (63%) - Niveles bajos de C3 sérico - Niveles elevados de C5b–9 en plasma - Mayor porcentaje de depósitos subendoteliales - Mayor prevalencia de tinción para IgG y C1q - Síndrome nefrótico más frecuente
CLUSTER 3	<ul style="list-style-type: none"> - Alta prevalencia de mutaciones y C3Nef (79%) - Niveles bajos de C3 sérico - Niveles bajos de C5b–9 en plasma - Mayor porcentaje de proliferación extracapilar y depósitos densos intramembranosos
CLUSTER 4	<ul style="list-style-type: none"> - Menor prevalencia de mutaciones y C3Nef (14%) - Niveles elevados de C3 sérico - Edad de diagnóstico más tardía - Mayor grado de glomerulosclerosis y arteriosclerosis - Desarrollo de microangiopatía trombótica en la evolución 80%

Brevemente, los pacientes del primer y segundo grupo presentaban con mayor frecuencia una activación de la vía alternativa en fase fluida, con estabilización de convertasas de C3 y C5 con activación hasta la vía terminal, manifestándose con niveles séricos más elevados de C5b-9, mientras que los pacientes del tercer grupo presentaban activación predominante en fase plasmática con el consecuente depósito de los productos de degradación a nivel glomerular y una mayor frecuencia de EDD. Por otra parte, los pacientes del cuarto grupo presentaban una menor prevalencia de alteraciones genéticas del complemento, la enfermedad se manifestó a edades más avanzadas y un elevado porcentaje desarrolló microangiopatía trombótica (77). Esta clasificación propuesta, frente a la clasificación patológica, podría resultar de mayor utilidad desde el punto de vista clínico dado que los autores observaron una correlación de cada uno de los conglomerados propuestos con el pronóstico renal, aunque aún sería preciso una validación en otras cohortes y abordar sus diversas limitaciones.

1.3.2 Epidemiología

La GC3 es considerada una enfermedad rara. De acuerdo a algunas series, la incidencia estaría en torno a 1-3 casos por millón de población por año (79,80), siendo la GNC3 más frecuente que la EDD (47,78-80).

1.3.3 Patogénesis

El diagnóstico de GC3 se basa en las características morfológicas, inmunológicas e histológicas de la biopsia renal como consecuencia de la alteración en la vía alternativa del complemento en plasma (fase fluida) o a nivel de superficies de las estructuras glomerulares o membrana basal (fase sólida) (3,81). De esta activación deviene en último término el depósito de C3 o de sus productos de degradación a nivel glomerular.

Debido a la gran cantidad de elementos reguladores de la vía alternativa del complemento, existen múltiples mecanismos a través de los cuales se puede

producir la sobreactivación del complemento. En pacientes con GC3 la actividad de la convertasa de C3 puede estar incrementada, entre otras causas, por alteración en la funcionalidad de factor H o generación de autoanticuerpos como C3Nef.

Así, en un modelo de cerdo deficiente de factor H se observó el desarrollo de EDD, pero cuando se administraba factor H recombinante se conseguía frenar la actividad del complemento (82–84). Otro modelo en ratones genéticamente modificados deficientes en factor H mostró que desarrollaban EDD, pero cuando se introducía una mutación en factor B o factor I se evitaba su desarrollo (85,86).

Además de los modelos mecanísticos en animales, también se ha descrito una gran variedad de mutaciones en genes de proteínas relacionadas con factor H (por duplicación interna o por formación de genes híbridos), con capacidad para conformar multímeros y competir con factor H evitando su efecto regulador (**Figura 1.13**) (87–90). En la **Tabla 1.4** se resumen algunas de las proteínas híbridas involucradas en la patogenia de la GC3 reportadas en la literatura.

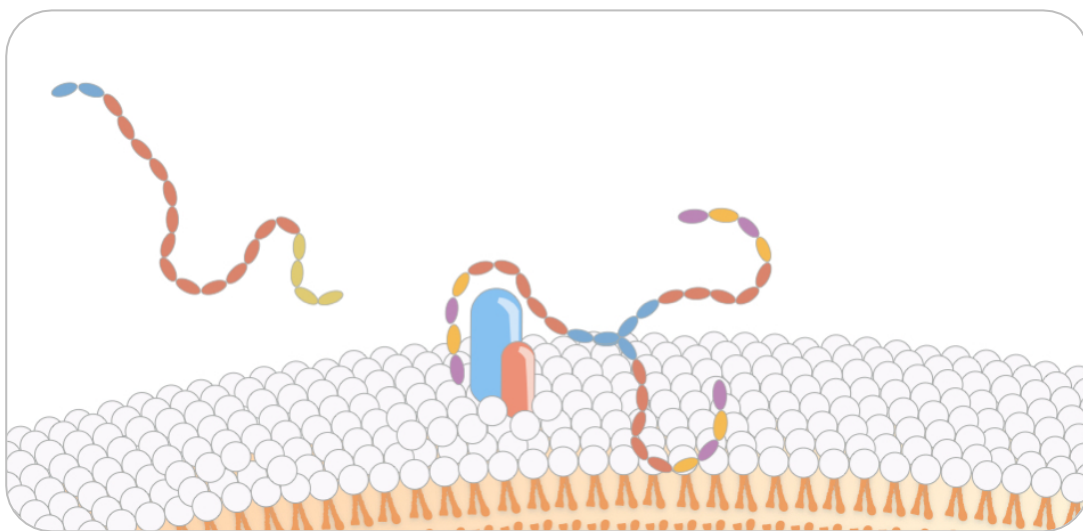


Figura 1.13. Representación de la competición de factor H nativo con la forma oligomérica de proteína relacionada con factor H 5 (FHR-5) mutante como resultado de la duplicación de los dominios N-terminal de esta molécula (87).

Por otra parte, y como se ha comentado en la sección anterior, niveles elevados de C3Nef en algunos pacientes afectos de la enfermedad han puesto de manifiesto su implicación patogénica, aunque también se ha descrito en pacientes con síndrome antifosfolípido o incluso en pacientes sanos (81). Se han reportado unas frecuencias variables dependiendo de la población estudiada y la metodología empleada para su determinación (91–94). Además, también se ha reportado la existencia de factores nefríticos con capacidad para estabilizar la convertasa de C5 (C5Nef) (95).

Tabla 1.4. *Proteínas híbridas relacionadas con factor H involucradas en la patogenia de la glomerulopatía C3.*

<i>Proteína mutante</i>	<i>Patología</i>	<i>Referencia</i>
<i>FHR5–R5</i>	GNC3	Gale et al. (2010) (87)
<i>FHR3–R1</i>	GNC3	Malik et al. (2012) (89)
<i>FHR1–R1</i>	GNC3	Tortajada et al. (2013) (90)
<i>FHR5–R5</i>	GNC3	Medjeral-Thomas et al. (2014) (88)
<i>FHR2–R5</i>	EDD	Chen et al. (2014) (96)
<i>FHR5–R2</i>	GNC3	Xiao et al. (2016) (97)
<i>FHR1–R5</i>	GC3	Togarsimalemath et al. (2017) (98)

La identificación de los factores nefríticos puede persistir positivos durante todo el curso de la enfermedad, aunque sus concentraciones plasmáticas pueden oscilar (47,94,99–101). Sin embargo su presencia casi siempre se asocia con una activación del complemento que se manifiesta por un consumo sérico de C3 e incremento de sus productos de degradación.

La consecuencia última de la desregulación del complemento en la GC3 es el daño renal. No obstante, cuando este daño llega a ser grave y extenso, el pronóstico renal se vuelve independiente del grado de desregulación del

complemento (94). Cuando el daño renal se cronifica, aunque se consiga normalizar la función del complemento, la probabilidad de conseguir una mejoría significativa de la función renal disminuye.

También se ha reportado la presencia de otros autoanticuerpos en la GC3 como aquellos dirigidos frente a FH (dirigidos contra la región N-terminal) (75,94). Por otra parte, los autoanticuerpos frente a factor B se han asociado con el desarrollo de GC3, aunque su papel en la enfermedad no está bien definido (74). Estos autoanticuerpos se describieron en un paciente con EDD sin C3Nef y tendrían capacidad para unirse y estabilizar a la convertasa de C3, favoreciendo el consumo sérico de C3, pero evitando la formación de la convertasa de C5 y el desarrollo de la vía terminal (59).

En conclusión, existen causas genéticas y adquiridas responsables de la enfermedad. Conocer las bases patogénicas de cada caso permite valorar el pronóstico global y evaluar la posible respuesta a las alternativas terapéuticas de las que se dispone actualmente.

1.3.4 Presentación clínica

La GC3 puede afectar tanto a pacientes en edad pediátrica como a pacientes adultos, aunque la EDD afecta de manera predominante a niños o adultos jóvenes (3,48,79,102,103). Cuando esta entidad es diagnosticada en pacientes adultos, es preciso investigar la posible presencia subyacente de una gammapatía monoclonal de significado renal (64,104–106). La distribución por sexos reportada en diferentes series es similar (3,47,74).

Las manifestaciones clínicas desde el punto de vista renal pueden ser variables, desde formas paucisintomáticas con microhematuria o proteinuria aisladas, hasta formas con deterioro de función renal de curso rápidamente progresivo (47,79,80,107). La hipertensión también puede aparecer con frecuencias variables (47,80).

La hipocomplementemia C3 es frecuente, estando presente entre el 45-60% de los casos (47,107), aunque no es imprescindible para su diagnóstico. Este hallazgo resulta menos frecuente en población adulta (80,107,108).

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad pueden ir precedidas de una infección, por lo que es importante hacer un diagnóstico diferencial con la denominada glomerulonefritis postinfecciosa (109). La ausencia de recuperación completa de función renal o la persistencia del consumo de C3 sérico pasadas más de seis semanas del cuadro inicial deberían hacer sospechar la existencia de una GC3 que remedara inicialmente una glomerulonefritis postinfecciosa (109,110).

Además de las manifestaciones renales, la GC3 también se ha relacionado con manifestaciones extrarrenales como el desarrollo de drusas a nivel de la membrana de Bruch retiniana (111,112) (**Figura 1.14**). Aunque se desconoce los mecanismos patogénicos subyacentes se postula que estas manifestaciones podrían compartir patogenia con la GC3 dada la gran similitud de la arquitectura de la membrana basal retiniana con la glomerular (113). Sin embargo, el curso clínico de la patología oftalmológica no parece correlacionarse con el de la patología renal (114).

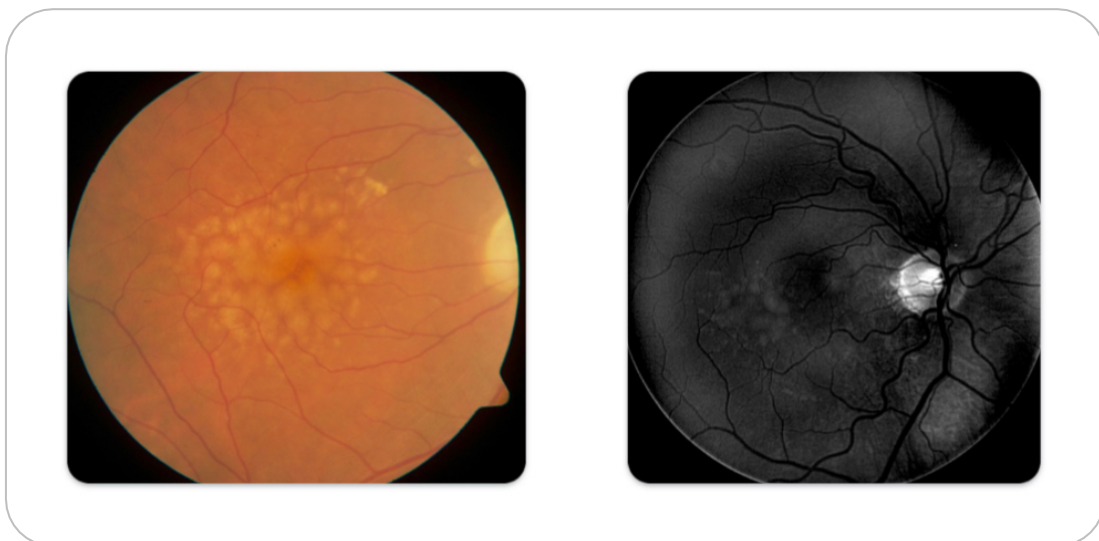


Figura 1.14. Presencia de drusas en la membrana de Bruch (60).

Otra de las complicaciones extrarrenales asociadas a la EDD es la denominada lipodistrofia parcial adquirida, también conocida como síndrome de Barraquer-Simons caracterizada por una pérdida del tejido celular subcutáneo (115). En el momento actual se desconoce el mecanismo patogénico de esta alteración, pero se sospecha que C3Nef podría tener un papel protagonista en relación con la capacidad del adipocito para formar convertasas de C3 e inducir una lisis mediada por el complemento (116).

1.3.5 Características histopatológicas

El diagnóstico de la GC3 se basa en el estudio histopatológico de la biopsia renal. De acuerdo a los hallazgos del microscopio electrónico se distinguen la GNC3 y la EDD, por lo que se abordarán los hallazgos de esta técnica en primer lugar (**Figura 1.15**).

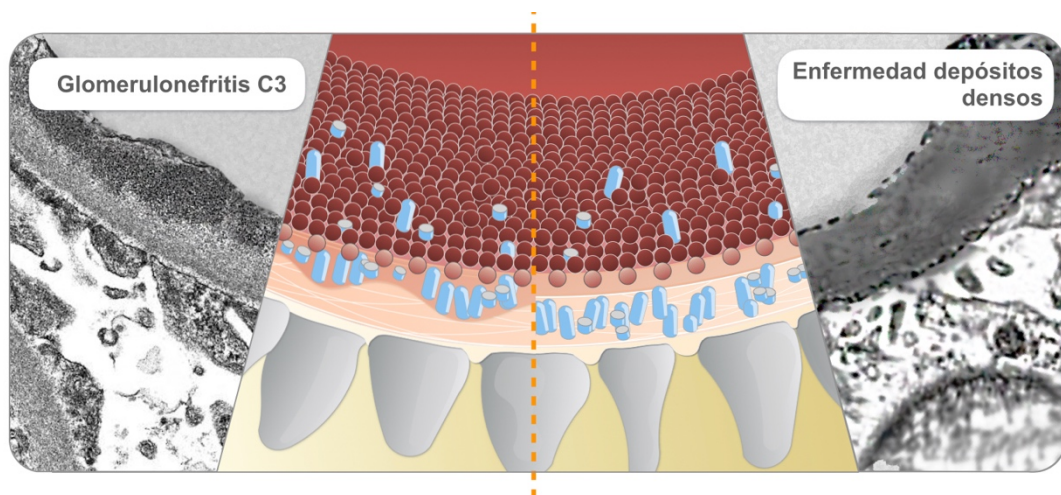


Figura 1.15. Representación de glomerulonefritis C3 con presencia de depósitos predominantes en la vertiente subendotelial de la membrana, y enfermedad por depósitos densos con depósitos intramembranosos.

La EDD se caracteriza por la presencia de depósitos electrodensos a lo largo de la membrana basal glomerular con frecuente engrosamiento de la misma (117). En más de la mitad de los casos también se observan depósitos a nivel de la cápsula de Bowman y membrana basal tubular (118). Sin embargo, aún se desconoce el mecanismo por el que la sobreactivación del complemento tiene como resultado el desarrollo de GNC3 en algunos casos y EDD en otros (117).

En algunos estudios se ha analizado la composición de los depósitos en pacientes con EDD mediante espectrometría de masas, encontrando proteínas de la vía alternativa del complemento (C3, C5), de la vía terminal (C8, C9), FHR-1, FHR-5, y otras proteínas reguladoras como vitronectina o clusterina (119). En un análisis más detallado de los depósitos de C3 se encontró que el producto de degradación C3dg era el predominante (120).

En ocasiones, los depósitos densos no son tan llamativos pudiendo existir discrepancias entre patólogos en cuanto a clasificar el caso como GNC3 o EDD (76,117). Otro hallazgo que puede aparecer en grados variables es la presencia de depósitos en la vertiente subepitelial similares a los encontrados en glomerulonefritis postestreptocócica, que podrían corresponder a episodios de exacerbación del daño glomerular inducido por infecciones (117).

En el estudio al microscopio óptico, no existen hallazgos que resulten característicos de la GC3, aunque el patrón de daño más frecuentemente asociado es el de glomerulonefritis membranoproliferativa (117), con los característicos dobles contornos, engrosamiento de pared capilar e hiper celularidad mesangial (**Figura 1.16**). En ocasiones el infiltrado inflamatorio ocupa de forma extensa la luz de los capilares remediando una glomerulonefritis proliferativa endocapilar (117). Cuando la respuesta inflamatoria es severa además se puede formar proliferación extracapilar.

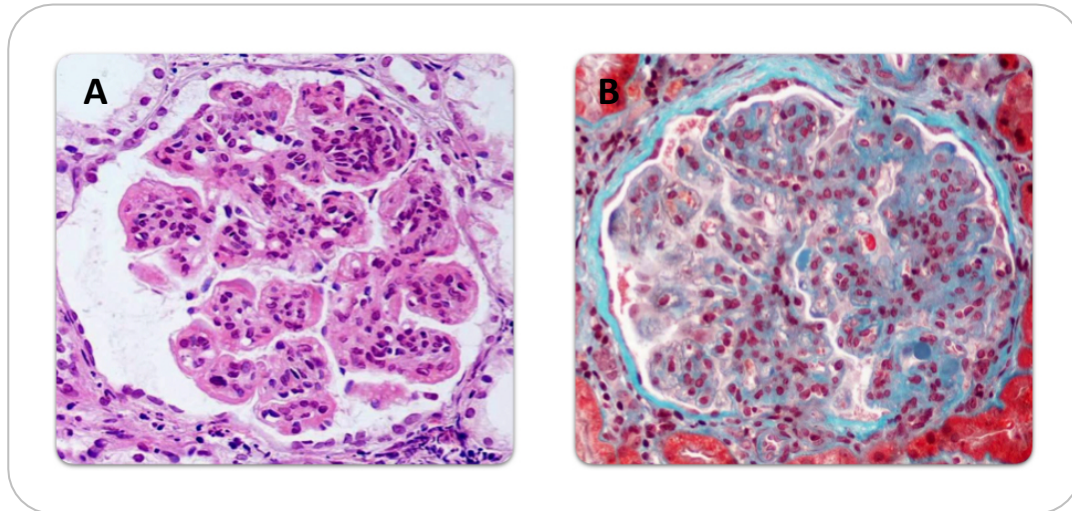


Figura 1.16. A) *Glomerulonefritis membrano proliferativa con proliferación mesangial, engrosamiento de paredes capilares e hiper celularidad endocapilar que confiere al glomérulo un aspecto lobulado.* B) *Tinción de tricrómico de Masson mostrando la hiper celularidad del ovillo con acentuación de la configuración lobular.*

Sin embargo, la GC3 también se ha asociado a otros patrones histológico de daño glomerular como una proliferación mesangial aislada, glomerulonefritis proliferativa endocapilar o crescéntrica (80,121).

La definición de GC3 se establece mediante la inmunofluorescencia que se detecta en la mayor parte de laboratorios empleando anticuerpos contra el fragmento C3c (117). No obstante y como se ha comentado en párrafos previos, la presencia de trazas de inmunoglobulinas no invalidan el diagnóstico de GC3 siempre que el depósito de C3 sea el predominante (**Figura 1.17**). Hay diferentes causas por las que se pueden observar inmunoglobulinas en la GC3, como por ejemplo el acúmulo inespecífico en áreas escleróticas, o la posibilidad de que la enfermedad fuera iniciada o exacerbada en el contexto de un depósito glomerular de inmunocomplejos (117).

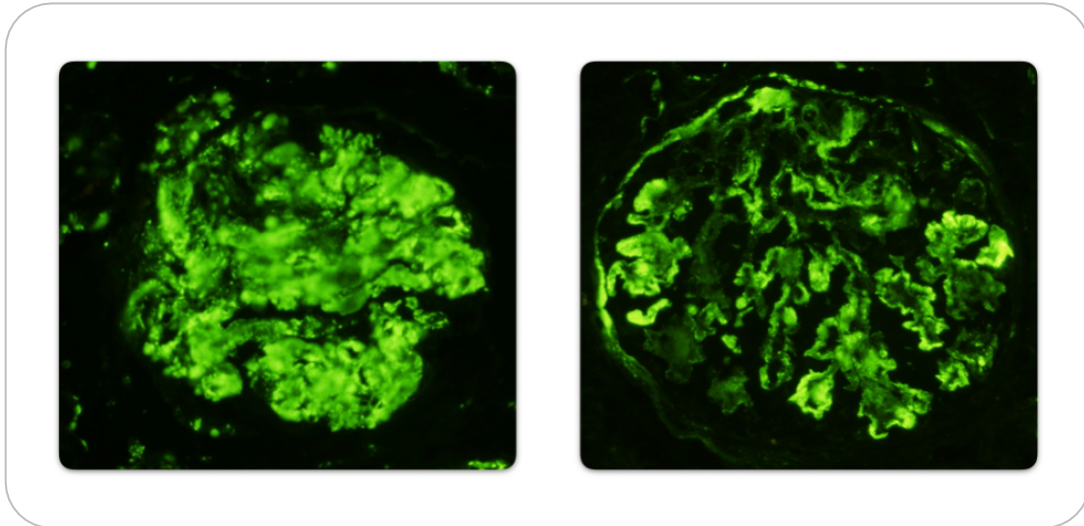


Figura 1.17. *Inmunofluorescencia positiva de C3 (+++) de predominio mesangial en imagen de la izquierda y parietal en imagen de la derecha.*

Por otra parte, también se ha estudiado la posible utilidad de la tinción con C4d para la correcta distinción entre GC3 y aquellas mediadas por inmunocomplejos (122). C4 se activa en la vía clásica y la vía de las lectinas pero no está activada en la GC3. En un estudio, la tinción de C4d resultó negativa en un 80% de casos diagnosticados previamente de GC3, siendo de tan sólo 1+ en el 20% restante (122). Sin embargo, otros autores han encontrado resultados discrepantes comparando la tinción de inmunofluorescencia con la de inmunoperoxidasa (123), por lo que serán necesarios nuevos estudios para la validación de esta técnica.

1.3.6 Diagnóstico genético y molecular

En la evaluación de un paciente con GC3, además del estudio histológico resulta de interés realizar un estudio genético y molecular completo del complemento para determinar su actividad y funcionalidad. Para ello se realiza una medición de niveles de C3 y C4, factores reguladores como factor H, factor I o factor B, medición de anticuerpos C3Nef o anticuerpos contra factor H o factor B (103).

Para el estudio genético se puede emplear un panel multigénico que incluya *C3*, *CD46*, *CFB*, *CFH*, *CFI*, *CFHR1–5*, diacilglicerol quinasa epsilon (*DGKE*), y otros genes de interés (124).

En la **Tabla 1.5** se detalla el locus cromosómico de cada gen codificante de las principales proteínas reguladoras del complemento que se analizan de forma rutinaria.

Tabla 1.5. Principales genes analizados con su correspondiente locus cromosómico (adaptado de Martín et al.) (124)

<i>Gen</i>	<i>Locus cromosómico</i>	<i>Proteína</i>
<i>C3</i>	19p13.3	C3 del complemento
<i>CD46</i>	1q32.2	Proteína cofactor de membrana
<i>CFB</i>	6p21.33	Factor B
<i>CFH</i>	1q31.3	Factor H
<i>CFHR1</i>	1q31.3	Proteína relacionada con factor H 1
<i>CFHR5</i>	1q31.3	Proteína relacionada con factor H 5
<i>CFI</i>	4q25	Factor I
<i>DGKE</i>	17q22	Diacilglicerol quinasa epsilon

Los casos familiares de GC3 son infrecuentes y cuando se identifican habitualmente corresponden a variantes en heterocigosis con una elevada penetrancia afectando a las proteínas relacionadas con factor H 1–5, variantes en homocigosis que condicionan una deficiencia de factor H, o variantes en heterocigosis en C3 que condicionan una ganancia de función (124). Todo ello condiciona una desregulación del complemento en fase fluida o en el microentorno glomerular (125).

En la **Tabla 1.6** se resumen algunas de las variantes genéticas asociadas a GC3 reportadas en la literatura.

Tabla 1.6. Variantes genéticas asociadas a desarrollo de glomerulopatía C3 (adaptado de Xiao et al.) (128)

Gen	Cambio de aminoácido	Variante	Proteína	Patología	Referencia
<i>ADAM19</i>	Gly508Ser	c.1522G > A	p.G508S	EDD	Abrera-Abeleda et al (44)
<i>C3AR1</i>	Leu84Phe	c.250C > T	p.L84F	EDD	Abrera-Abeleda et al (44)
<i>C3</i>	Lys155Gln	c.463A > C	p.K155Q	EDD	Westra et al (126)
	Lys1203Arg	c.3608A > G	p.K1203R	EDD	Abrera-Abeleda et al (44)
		c.2768_2773delACGGTG		EDD	Martínez-Barricarte et al (127)
<i>C8A</i>	Ala221Glu	c.662C > A	p.A221E	EDD	Westra et al (126)
<i>CFD</i>	Ala41Pro	c.121G > C	p.A41P	EDD	Westra et al (126)
<i>CFH</i>	Val143Ile	c.427G > A	p.V143I	EDD	Servais et al (47)
	Arg232Term	c.694C > T	p.R232	EDD	Servais et al (47)
	Cys673Arg	c.2017T > C	p.C673R	EDD	Servais et al (47)
	Val837Ile	c.2509G > A	p.V837I	EDD	Zhang et al (94)
	Glu1145Asp	c.3435G > C	p.E1145D	EDD	Zhang et al (94)
		c.2171delC		GNC3	Sethi et al (48)
<i>CFHR3</i>		incl. ex. 1–3		GC3	Malik et al (89)
<i>CFHR1</i>		ex. 2–5		GC3	Tortajada et al (90)
<i>CFHR5</i>		c.646_647delAAinsTT		GNC3	Sethi et al (48)
		ex. 2–3		GNC3	Goicoechea de Jorge (33)
<i>CFI</i>	Gly261Asp	c.782G > A	p.G261D	GNC3	Servais et al (47)
<i>CR1</i>	Val1222Leu	c.3664G > T	p.V1222L	EDD	Abrera-Abeleda et al (44)
<i>MCP</i>	Val215Met	c.643G > A	p.V215M	GNC3	Servais et al (47)

Cuando en un paciente se detecta una mutación patogénica es interesante realizar el estudio genético también a familiares cercanos para determinar si pudieran ser portadores. Los familiares portadores de una mutación patogénica deberían ser evaluados desde el punto de vista nefrológico para valorar si pudieran presentar manifestaciones de la enfermedad.

Por otra parte y dada la creciente implicación de las gammapatías monoclonales en la patogenia de la enfermedad, es preciso realizar un estudio diagnóstico completo para descartar su presencia (64,105).

En la mayoría de los casos el diagnóstico de gammapatía monoclonal se realiza mediante electroforesis convencional en plasma u orina (106). La presencia de inmunoglobulinas monoclonales se suele identificar por la existencia de un pico alto y delgado en la región beta o gamma, a diferencia del aumento policlonal, que suele producir una banda ancha en la región gamma. Sin embargo, en algunos casos la concentración de la proteína monoclonal en plasma u orina es tan pequeña que la electroforesis no es capaz de detectarla (106). De hecho, algunos casos de afectación renal por gammapatía se diagnostican primariamente por los hallazgos de la biopsia renal sin haberse sospechado este diagnóstico en el momento de la indicación de la biopsia. Además de la electroforesis convencional, se debe realizar en todos los casos una inmunofijación en plasma y orina para identificar el tipo de proteína monoclonal, ya que es más sensible para su detección que la electroforesis (106).

Otro método diagnóstico es la determinación de cadenas ligeras libres en sangre. La concentración de estas proteínas se puede medir mediante inmunoanálisis nefelométricos usando anticuerpos policlonales contra epítopos de cadenas ligeras, los cuales están expuestos cuando la cadena se encuentra libre, pero ocultos cuando la cadena está unida conformando la estructura de la inmunoglobulina (106).

1.3.7 Evolución natural y factores pronósticos

La remisión espontánea en la GC3 es poco probable (102,118,129). Aunque la enfermedad puede permanecer estable durante muchos años a pesar de proteinuria persistente, en algunas ocasiones pueden aparecer fluctuaciones más bruscas en la proteinuria, con episodios de deterioro agudo de función renal sin una clara causa desencadenante (124). Actualmente se considera que la GC3 es una enfermedad crónica susceptible de exacerbaciones (75).

De acuerdo a las diferentes series, casi la mitad de los pacientes alcanza enfermedad renal crónica terminal (ERCT) a los diez años desde el diagnóstico (47,75,79,130), aunque los resultados son muy variables dada la heterogeneidad de esta entidad (107,108).

En algunas series se ha encontrado una peor supervivencia renal en casos de EDD frente a GNC3 (47,80), aunque estos resultados no han sido confirmados en otras cohortes (79) pese a ser diagnosticados a edades más tempranas y con mejor función renal basal. Por otra parte, en una serie se encontró un predominio GNC3 en pacientes latinoamericanos y asiáticos frente a EDD (79), aunque estos resultados no han sido reportados en otras series. Sin embargo, existe consenso en que la edad más avanzada al diagnóstico y los datos de cronicidad de la biopsia renal son determinantes pronósticos independientes de supervivencia renal (47,79,80,107), como también ocurre en otras patologías renales.

Un estudio reciente propuso un índice de puntuación para la valoración de los hallazgos histopatológicos (79), analizando tanto parámetros de actividad como de cronicidad en la biopsia renal. En un análisis multivariable, los autores encuentran que tanto la puntuación de actividad como cronicidad son predictores de supervivencia renal. En la **Tabla 1.7** se resumen los parámetros propuestos para la valoración histopatológica (79).

Tabla 1.7. Índice histopatológico de la glomerulopatía C3 propuesto por la Universidad de Columbia. Cada uno de los parámetros mostrados en la tabla se puntúa entre 0–3 según el porcentaje de afectación respectivo (<10%; 10–25%; 26–50%; >50%).

Puntuación de actividad (0–21)	Puntuación de cronicidad (0–10)
Hiper celularidad mesangial	Glomerulosclerosis
Proliferación endocapilar	Atrofia tubular
Patrón membranoproliferativo	Fibrosis intersticial
Infiltración leucocitaria	Arterio- y arteriolosclerosis (0,1)
Formación de semilunas	
Necrosis fibrinoide	
Inflamación intersticial	

1.3.8 Tratamiento

En el momento actual no existen terapias aprobadas para corregir de manera específica la desregulación de la vía alternativa del complemento que acontece en la GC3.

Así, las alternativas terapéuticas disponibles en el momento actual pueden clasificarse de forma general en: tratamiento de soporte, terapia plasmática, inmunosupresión, y terapia anticomplemento (131).

Tratamiento de soporte

Los objetivos fundamentales se centran en conseguir un adecuado control de cifras tensionales con el fin de enlentecer la velocidad de progresión de la enfermedad renal.

Clásicamente en nefrología se han empleado fármacos bloqueantes del sistema renina-angiotensina por su efecto renoprotector y antiproteinúrico. Sin embargo, un reciente estudio mostró que la renina tendría capacidad para escindir la molécula de C3 en C3a y C3b, acelerando por tanto la activación de la vía alternativa del complemento. El uso de aliskiren, un inhibidor directo de la renina, resultó en una disminución de la activación del complemento, con menor depósito de C3 y C5b-9 en tres pacientes con EDD (132).

Estos resultados, aunque deben ser tratados con cautela, pondrían de manifiesto que el bloqueo del sistema renina-angiotensina en esta entidad no sería adecuado por su capacidad de inducir un aumento de los valores de renina. Sin embargo, esto no ha podido ser probado en otras cohortes (47). En cualquier caso, son necesarios más estudios para analizar este posible mecanismo y comparar el efecto del bloqueo con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o antagonistas de los receptores de angiotensina II frente a aliskiren.

Terapia plasmática

Actualmente no existe evidencia sólida del beneficio de la terapia plasmática en la GC3, habiéndose reportado diferentes casos con resultados variables. Así,

Licht et al. reportaron la eficacia de tratamiento con infusión de plasma en dos pacientes con EDD y deficiencia de CFH (133). Otros autores han reportado una recuperación del daño renal en pacientes con EDD tratados con recambio plasmático (134,135). Sin embargo, el beneficio de la plasmaféresis no ha podido ser demostrado en otros casos a pesar de documentar el aclaramiento de C3Nefs circulantes (136).

Inmunosupresión convencional

En este caso, tampoco existen ensayos clínicos que muestren un beneficio de la inmunosupresión convencional en la GC3, aunque diferentes estudios de observación han mostrado beneficio terapéutico de algunas pautas de inmunosupresión (107,137).

Los datos disponibles sobre los tratamientos inmunosupresores convencionales (esteroides, ciclofosfamida, azatioprina, micofenolato mofetil, rituximab) en la GC3 eran escasos y de muy limitada calidad, por el corto número de pacientes estudiados y la pobreza de datos clínicos. En base a estos datos se consideraba que la inmunosupresión no era eficaz en la GC3 (3,74,101,138).

Sin embargo, un estudio colaborativo del Grupo de Enfermedades Glomerulares de la Sociedad Española de Nefrología (GLOSEN) supuso un llamativo cambio en este concepto. En dicho estudio, en el que participaron 21 servicios de nefrología de todo el país, se logró reunir una importante serie de casos (61 pacientes) de GNC3 demostrada por biopsia renal y que habían sido seguidos por períodos de tiempo prolongados con una monitorización regular (107). El estudio se caracterizó por una sistemática y sólida recogida de datos clínicos, histológicos, evolutivos y terapéuticos de todos los casos utilizando un protocolo común y supuso la primera recogida sistemática de datos acerca de la influencia del tratamiento inmunosupresor en la enfermedad. El hallazgo más destacado del estudio fue que los pacientes tratados con inmunosupresión tuvieron una supervivencia renal y una tasa de remisiones significativamente mayor que la de los pacientes no tratados, y que este efecto favorable era particularmente evidente en aquellos casos que habían sido tratados con esteroides más micofenolato mofetil (MMF) (107).

Este estudio presentaba como principal limitación que el análisis genético del complemento sólo fue realizado en un tercio de los pacientes, así como la determinación de C3Nef. No obstante, datos preliminares de este estudio mostraron que los pacientes C3Nef positivo respondieron más frecuentemente a la inmunosupresión que los pacientes C3Nef negativo, y los pacientes en los que se objetivaron mutaciones genéticas o polimorfismos de riesgo no respondieron a los tratamientos inmunosupresores y evolucionaron a la insuficiencia renal terminal. Así, serían precisos estudios colaborativos con cohortes de mayor tamaño para poder abordar con más detalle las hipótesis de trabajo.

El beneficio de la pauta con micofenolato y esteroides ha podido ser replicada en otra cohorte multiétnica americana (137), cuyos autores identificaron además que proteinuria elevada al inicio de tratamiento y niveles bajos de CAM se asociaba con resistencia al tratamiento.

Sin embargo, un estudio turco no encontró beneficio de esta pauta frente a otros regímenes de inmunosupresión convencional (139), si bien las características basales y seguimiento fueron muy diferentes a las cohortes anteriores.

Otro fármaco que se ha ensayado en la GC3 es rituximab, aunque la experiencia de nuevo se limita a reportes de casos o pequeñas series retrospectivas (140). Por su mecanismo de acción se ha postulado que podría tener un beneficio en pacientes hipocomplementémicos con C3Nef, pero los resultados han sido muy dispares (141,142).

En aquellos casos de GC3 en el seno de una discrasia sanguínea de célula B (gammapatía monoclonal de significado renal), el tratamiento de elección es aquel dirigido a controlar al clon productor de la proteína monoclonal independientemente de que se emplee terapia anticomplemento de manera inicial (105,143,144), aunque algunos reportes recientes apuntan a que en determinadas situaciones en las que la función renal está relativamente preservada y no se observa progresión, se puede manejar de manera más conservadora (145,146).

Terapia anticomplemento

Los resultados terapéuticos tan exitosos mostrados con eculizumab en patologías como la hemoglobinuria paroxística nocturna o síndrome hemolítico urémico atípico generaron expectativas en cuanto al posible beneficio en la GC3. La experiencia reportada en diferentes casos clínicos (136,138,147–150), llevó a realizar un ensayo clínico en fase I incluyendo seis pacientes (3 con EDD, 3 con GNC3, siendo tres de ellos una recurrencia de la enfermedad en el trasplante renal) que recibieron tratamiento con eculizumab durante un año (60,151). Al final del seguimiento, dos pacientes mostraron recuperación significativa de función renal con mejoría de las lesiones de proliferación mesangial y endocapilar, un paciente alcanzó remisión completa del síndrome nefrótico con mejoría de la proliferación mesangial y reabsorción parcial de los depósitos al microscopio electrónico, y un paciente consiguió estabilizar los parámetros analíticos con una mejoría significativa de las lesiones mesangiales y endocapilares de la biopsia. Sin embargo, los dos pacientes restantes mostraron progresión del deterioro de función renal a pesar del tratamiento (60,151). No se reportaron infecciones ni efectos adversos asociados, y los autores observaron que aquellos pacientes con elevación del CAM antes del tratamiento tenían mayor probabilidad de responder a este tratamiento (60). Otro ensayo clínico reciente con un diseño “*off-on-off-on*” evaluó la eficacia de eculizumab sobre la proteinuria en una cohorte de pacientes con GC3 y GNMP por inmunocomplejos “idiopática”, con niveles basales de C5b–9 soluble >1000 ng/ml y proteinuria >3,5 gramos/24h (152). Sólo 3 de 10 alcanzó una reducción significativa de la proteinuria, sugiriendo estos resultados que otras vías dependientes de C3 jueguen un papel más relevante en la patogenia de la enfermedad (152).

En conjunto, estos resultados pusieron de manifiesto que eculizumab no sería la terapia adecuada para todo paciente con GC3. En el momento actual su indicación principal reside en los casos con un curso clínico agresivo, basado en los estudios del grupo francés (153,154), aunque la evidencia es limitada y sujeta a controversia (150,155).

Afortunadamente se están desarrollando nuevas moléculas frente a diferentes dianas de la vía alternativa del complemento, que con altas expectativas

podrían mejorar la eficacia e individualización terapéutica de cada paciente. (156–162).

1.3.9 Recurrencia en el trasplante renal

El trasplante renal es una opción posible en pacientes con GC3, aunque la enfermedad puede recurrir en el injerto renal con mucha frecuencia (163–166). La información acerca de los principales factores de riesgo de recurrencia de la enfermedad en el injerto renal o mejores alternativas terapéuticas en este grupo de pacientes es escasa. Desde la reclasificación de las glomerulonefritis membranoproliferativas en aquellas mediadas por el complemento o por inmunocomplejos se han publicado pocas series de casos analizando esta complicación. Una serie reciente analizó la evolución de 19 pacientes con GC3 (12 GNC3 y 7 EDD) que recibieron trasplante renal, encontrando una tasa de recurrencia superior al 80%, una mala respuesta general al tratamiento inmunosupresor (rituximab, eculizumab, otros), siendo la supervivencia del injerto peor en los casos con EDD (163).

2

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Contenido

2.1 Hipótesis	63
2.2 Objetivos	
Objetivo principal.....	64
Objetivos secundarios	64

2.1 Hipótesis

La GC3 es una enfermedad infrecuente, con mal pronóstico en cuanto a la supervivencia renal, y con bases etiopatogénicas diversas, entre las que se incluyen mutaciones genéticas en componentes del sistema de complemento y autoanticuerpos contra factores del complemento.

La identificación de las bases moleculares y genéticas de la GC3 podría, además de profundizar en el conocimiento de esta enfermedad, adecuar y personalizar la elección de tratamientos más específicos y eficaces.

Aquellos pacientes en los que la patogenia fuera debida principalmente al desarrollo de auto-anticuerpos contra las proteínas reguladoras de la vía alternativa del complemento (C3NeF, anti-FH, anti-FB...) podrían responder mejor al tratamiento inmunosupresor, sobre todo a la combinación de esteroides y micofenolato mofetil (MMF).

Por el contrario, aquellos casos con mutaciones en genes reguladores del complemento podrían mostrarse resistentes a estas terapias, y por tanto podrían ser candidatos a tratamientos más directos sobre la regulación de la activación del complemento como el eculizumab o los nuevos bloqueantes más proximales de la vía alternativa del complemento, actualmente en fase de investigación.

2.2 Objetivos

Debido a la baja incidencia de esta enfermedad, este estudio se realiza con la ayuda colaborativa de un numeroso grupo de servicios de nefrología del país.

2.2.1 Objetivo principal

El objetivo principal es correlacionar la respuesta (supervivencia renal, remisión clínica) a los tratamientos inmunosupresores recibidos por pacientes con C3G con la presencia de autoanticuerpos contra proteínas reguladoras de la vía alternativa del complemento o mutaciones en los genes que regulan su síntesis en una amplia cohorte de pacientes con C3G demostrada por biopsia renal. Esto permitirá conocer mejor el pronóstico de los pacientes y seleccionar a aquellos que se puedan beneficiar de un tratamiento inmunosupresor (evitando así el enorme coste de los tratamientos directos sobre la regulación del complemento) y aquellos en los que el bloqueo de la activación del complemento pudiera ser la mejor opción terapéutica, evitando la exposición innecesaria a inmunosupresores.

2.2.2 Objetivos secundarios

- Analizar los principales factores asociados a la progresión de la enfermedad.
- Establecer una correlación entre las variaciones genéticas y anticuerpos involucrados en la patogénesis de la C3G con la presentación clínica, fases de activación y progresión de la enfermedad.

3

MATERIAL Y MÉTODOS

Contenido

3.1	Diseño del estudio	66
3.2	Población de estudio	66
	3.2.1 Pacientes	66
	3.2.2 Criterios de inclusión y exclusión	66
3.3	Variables de estudio	67
	3.3.1 Demográficas	67
	3.3.2 Clínicas	67
	3.3.3 Analíticas.....	68
	3.3.4 Histológicas.....	68
	3.3.5 Tratamientos	69
3.4	Definiciones y variables resultado	70
	3.4.1 Definiciones.....	70
	3.4.2 Variables resultado.....	72
3.5	Estudio genético y molecular del complemento	73
	3.5.1 Extracción de muestras.....	73
	3.5.2 Análisis genético y molecular	74
3.6	Estudio estadístico	76

3.1 Diseño del estudio

Este es un estudio de observación, de corte transversal, descriptivo y analítico. Se realizó una recogida sistemática de casos de GC3 procedentes de diferentes hospitales del territorio nacional pertenecientes al grupo GLOSEN, marcando como objetivo alcanzar una muestra de al menos 100 pacientes. El estudio recibió la aprobación del Comité Ético del Hospital 12 de Octubre de Madrid.

3.2 Población de estudio

3.2.1 Pacientes

Se incluyeron pacientes con diagnóstico de GC3 establecido por biopsia renal entre enero de 1995 y marzo de 2018. La definición de glomerulopatía se basó en los hallazgos de inmunofluorescencia: presencia de depósitos intensos y aislados de C3 en ausencia de otros reactantes o, cuando existen otros reactantes o, depósitos predominantes de C3, de al menos dos órdenes de magnitud más intensos que los otros reactantes inmunes (73,74).

Teniendo en cuenta que la definición clínico-patológica de GC3 se estableció en 2010, en aquellos pacientes cuyo diagnóstico fue anterior a 2010 se realizó una revisión de la biopsia renal en su hospital por nefropatólogos pertenecientes al grupo GLOSEN para asegurar el cumplimiento de los criterios anteriormente expuestos.

3.2.2 Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico de GC3 independientemente de su edad, fecha de diagnóstico, patrón histológico, perfil evolutivo o función

renal basal. También se incluyeron pacientes en los que la GC3 le hubiera condicionado la necesidad de iniciar diálisis crónica o trasplante renal. Se excluyeron pacientes que no cumplieron la definición de GC3 de acuerdo a su inmunofluorescencia, pacientes con otra enfermedad sistémica de carácter autoinmune concomitante (lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide...) o aquellos con coinfección crónica por virus de la hepatitis (B o C), o virus de la inmunodeficiencia humana. También se excluyeron los casos en los que se produjo una pérdida precoz del seguimiento. Las discrepancias en la información o los valores perdidos fueron revisadas y corregidas de forma individualizada con el nefrólogo responsable de cada centro participante.

3.3 Variables de estudio

3.3.1 Demográficas

Sexo, raza, edad en el momento del diagnóstico o de la biopsia, fecha de inicio de la terapia renal sustitutiva, edad actual, fecha de última valoración motivo del estudio, tiempo de enfermedad o de seguimiento en la valoración objeto del estudio.

3.3.2 Clínicas

Se recogieron posibles antecedentes personales de hipertensión arterial, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica previa, gammapatía monoclonal concomitante o antecedentes familiares de interés.

También se recogió la forma de presentación de la enfermedad, la presencia de algún proceso infeccioso, y la necesidad de realizar diálisis aguda.

3.3.3 Analíticas

Se recogieron valores de creatinina sérica, filtrado glomerular estimado por la fórmula de CKD-EPI (167), albúmina sérica, colesterol total, hemoglobina, proteinuria en 24 horas (g/día), cociente albúmina-creatinina en orina (mg/g). Estos parámetros se obtuvieron en el momento basal y a lo largo de la evolución de los pacientes (1, 3, 6, 12 meses y posteriormente 2, 5 y 10 años en caso de seguimientos más prolongados).

Todos los métodos de laboratorio fueron los convencionales, aunque con las diferencias metodológicas propias de cada hospital participante.

3.3.4 Histológicas

Las biopsias renales fueron revisadas en cada centro participante con un protocolo común que incluyó los siguientes parámetros: número de glomérulos por muestra, número y porcentaje de glomérulos esclerosados, patrón histológico por microscopía óptica (membranoproliferativa, proliferativa endocapilar, proliferativa mesangial y glomerulonefritis esclerosante difusa), tipo e intensidad de depósito por inmunofluorescencia (IgG, IgM, IgA, C3, C1q, kappa, lambda), presencia de trombosis capilar, presencia de necrosis fibrinoide o proliferación extracapilar.

Además, se analizaron los datos de actividad y cronicidad en las biopsias renales siguiendo las definiciones y puntuaciones del Índice Histológico de la Glomerulopatía C3, que se muestra en la **Tabla 3.1**.

Tabla 3.1. Índice Histológico de la Glomerulopatía C3 (adaptado de Bomback et al. (79))

Componente	Definición	Puntuación
<i>Puntuación de actividad (0–21)</i>		
Hiper celularidad mesangial	>3 células mesangiales/área mesangial	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Proliferación endocapilar	% glomérulos con aumento de celularidad en capilares glomerulares	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Morfología membranoproliferativa	% glomérulos con duplicación de membrana basal glomerular	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Infiltración leucocitaria	% glomérulos con infiltración de ≥ 3 neutrófilos o macrófagos	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Proliferación extracapilar	% glomérulos con semilunas celulares o fibrocelulares	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Necrosis fibrinoide	% glomérulos con ≥ 2 de fibrina, cariorrexis o ruptura de membrana basal	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Inflamación intersticial	% inflamación intersticial en corteza renal, en ausencia de área fibrótica	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
<i>Puntuación de cronicidad (0–10)</i>		
Glomerulosclerosis	% glomérulos con esclerosis segmentaria o global	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Atrofia tubular	% afectación tubulointersticial	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Fibrosis intersticial	% fibrosis en área tubulointersticial	0=ausente 1= <25% 2= 26–50% 3= >50%
Arteriosclerosis	Engrosamiento intimal \geq engrosamiento de media	0=ausente 1= presente

Se consideró que los pacientes padecían EDD cuando presentaban depósitos intramembranosos al microscopio electrónico, y GNC3 cuando los depósitos no cumplían este criterio.

3.3.5 Tratamientos

Se recogió detalladamente toda la información sobre los tratamientos recibidos, inmunosupresores y no-inmunosupresores, especificando dosis y duración de los mismos. Las complicaciones ocurridas durante el tratamiento y los efectos secundarios de los fármacos también fueron recogidas.

Las diferentes pautas terapéuticas se categorizaron en cuatro subgrupos: esteroides y MMF, otros inmunosupresores (incluyendo terapia exclusiva con esteroides, ciclofosfamida, azatioprina, tacrolimus, ciclosporina y rituximab), tratamiento con eculizumab, y tratamiento conservador (solo con fármacos inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina o antagonistas de receptores de la angiotensina).

3.4 Definiciones y Variables resultado

3.4.1 Definiciones

- Momento basal: fecha de realización de biopsia renal diagnóstica de GC3.
- Tiempo de seguimiento: tiempo transcurrido desde la biopsia renal hasta la visita actual (corte transversal), o desarrollo de ERCT. En pacientes trasplantados además se midió el tiempo transcurrido entre la realización del trasplante renal y la última visita.
- ERCT: Presencia de filtrado glomerular $< 15 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ (de acuerdo a la fórmula CKD-EPI(167) o la fórmula modificada de Schwartz en pacientes pediátricos(168)), inicio de diálisis (hemodiálisis o diálisis peritoneal), o haber recibido trasplante renal.

- Síndrome nefrótico: proteinuria > 3,5 g/día con hipoalbuminemia <3,5 g/dl.
- Síndrome nefrítico: coexistencia de hematuria (micro o macroscópica), proteinuria no nefrótica, hipertensión y deterioro de función renal.
- Alteraciones urinarias asintomáticas: presencia de proteinuria no nefrótica y/o hematuria microscópica persistente >5 eritrocitos por campo.
- Remisión completa: filtrado glomerular >60 ml/min/1,73 m² (o una variación ±15% del valor basal en aquellos pacientes con eGFR <60 ml/min/1,73 m²) y proteinuria <0,5 g/24 horas.
- Remisión parcial: reducción de proteinuria >50% (con proteinuria <3,5 g/24 horas en pacientes con proteinuria en rango nefrótico en el momento de la biopsia renal) más estabilización (±25%) o mejoría de la función renal basal.
- Recidiva: reaparición de proteinuria en una cuantía similar a la presentada antes del inicio del tratamiento y/o deterioro progresivo de función renal, tras algún tipo de remisión previa.
- La hipertensión arterial se definió como tensión arterial sistólica ≥140 mmHg y/o diastólica ≥90 mmHg, de acuerdo a las guías ESC/ESH de 2018(169).
- La progresión de la insuficiencia renal se midió por la pendiente de la recta de regresión lineal del filtrado glomerular sobre el tiempo individual de seguimiento, expresado como ± ml/min/1.73 m²/año

Además, se realizó un subanálisis de la cohorte clasificando a los pacientes en los cuatro *clusters* propuestos por Iatropoulos *et al* (77), mediante el algoritmo propuesto por los autores.

3.4.2 Variables resultado

- Principal: Desarrollo de remisión (completa o parcial).
- Secundarias: Desarrollo de ERCT y supervivencia renal; desarrollo de recidiva tras una remisión previa; respuesta a tratamiento con esteroides y MMF.

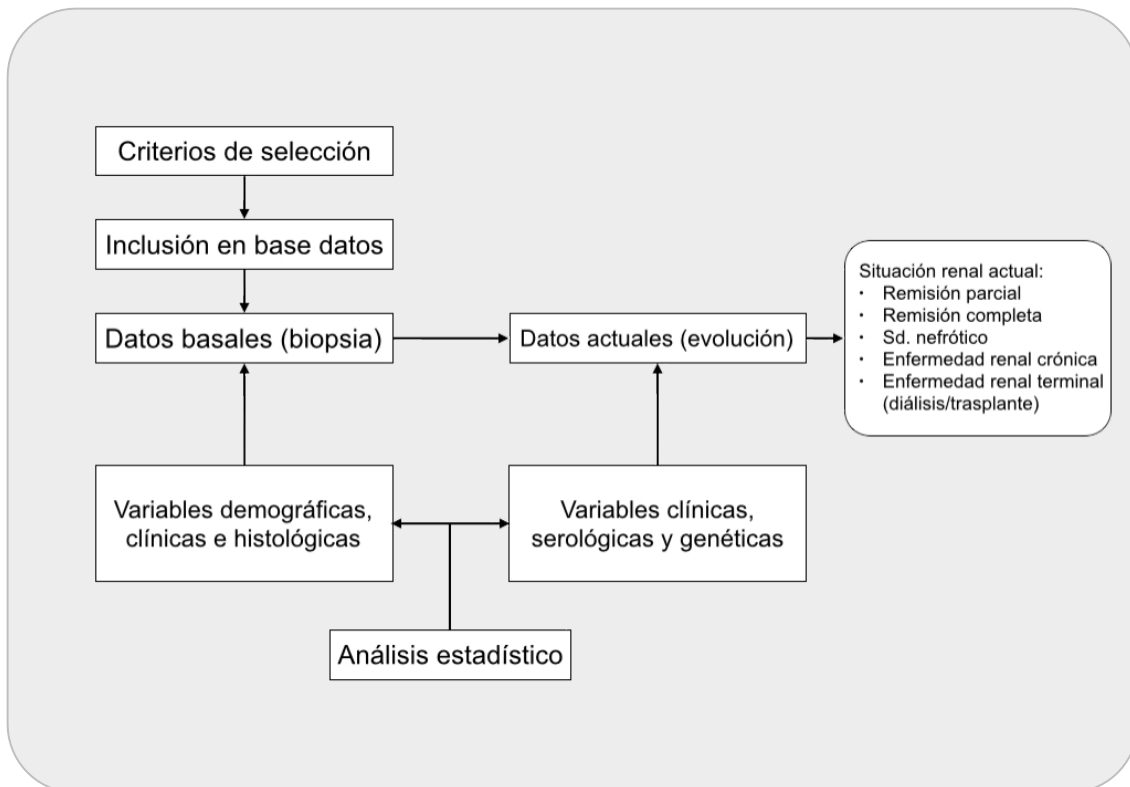


Figura 3.1. Diseño experimental del presente estudio

3.5 Estudio genético y molecular del complemento

3.5.1 Extracción de muestras

Previa firma del consentimiento informado se realizó la extracción de muestras de sangre y orina (en los pacientes que aún conservaban diuresis residual), de cada paciente participante en el estudio.

Dado que las muestras procedían de diferentes hospitales nacionales, su envío y procesamiento inicial se centralizó en el Biobanco de la Red de Investigación Renal (Red Temática de Investigación Cooperativa financiada por el Instituto Carlos III) situado en Alcalá de Henares.

Cada centro participante recibió el material para identificar las muestras con códigos cifrados, material para almacenaje e instrucciones para un correcto procesamiento y preservación de las mismas (**Figura 3.2**).



Figura 3.2. Material entregado a cada centro participante para la extracción y envío de muestras biológicas.

Se realizó la extracción de las siguientes muestras:

- Muestra de plasma: Dos tubos de 10 ml de plasma en tubo Vacutainer K3 o K2
- Muestra de suero: Un tubo de 10 ml de tapón rojo o amarillo
- Muestra de orina: Muestra de 10 ml de orina de primera hora de la mañana

Las muestras se mantuvieron refrigeradas a 4° C hasta la recogida por la empresa de transporte para su envío al Biobanco el mismo día de la extracción.

3.5.2 Análisis genético y molecular

El estudio genético y molecular del complemento de los pacientes incluidos en el estudio se realizó en el Centro de Investigaciones Biológicas perteneciente al Centro Superior de Investigaciones Científicas.

La búsqueda de mutaciones y variantes polimórficas en los genes del complemento se llevó a cabo mediante secuenciación de nueva generación. Para ello se utilizó un protocolo que ha sido desarrollado y optimizado para amplificar 198 exones en 351 amplicones (representando 36 kB de ADN genómico) dirigidos a la secuenciación de la región codificante de 14 genes asociados con SHUa/GC3 (*CFH*, *MCP*, *CFI*, *C3*, *CFB*, *DGKE*, *THBD*, *CFHR1*, *CFHR2*, *CFHR3*, *CFHR4*, *CFHR5*, *CFP* y *ADAMTS13*). El enriquecimiento de la región genómica de interés se realizó a través de la plataforma PCR Ampliseq múltiple. Las bibliotecas se generan utilizando el kit "Ion Xpress Library 4.471.269" y "PGM 200 v2 4.482.006".

Los datos de secuencia se analizaron con la alineación de Burrows-Wheeler y el software Picard, aplicándose los filtros adecuados. Para analizar las variantes genéticas nuevas encontradas se emplearon distintas bases de datos de dominio público: Exoma Variante Server, 1000 Genomas, NCBI dbSNP, base de datos de mutación aHUS (www.fh-hus.org) o la base de datos interno.

Para asignar patogenicidad, se combinaron varios métodos de predicción funcionales, incluyendo el software SIFT y PolyPhen 2. Una variante fue considerada como patogénica cuando existía evidencia experimental de reducción de niveles de la proteína o función alterada, o cuando en al menos 4 de 6 herramientas predictoras bioinformáticas (SIFT, Polyphen, MutTast, MutAss, FATHMM, CADD) indicaban patogenicidad. Una variante fue considerada como benigna cuando los datos funcionales mostraban niveles proteicos y funcionalidad normales, o cuando 4 de 6 predictores la clasificaban como benigna. Cuando no se cumplían los criterios anteriores, se consideró como variante de significado incierto.

Adicionalmente, se empleó la secuenciación por Sanger para cubrir el análisis genético de regiones complicadas, así como para confirmar las mutaciones encontradas.

El análisis del número de copias (CNV) del locus *CFH-CFHR* se llevó a cabo por amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples (MLPA) sobre ADN genómico. Este análisis permite detectar reordenamientos genómicos que hayan podido ocurrir en la región *CFH-CFHR* y que no se pueden detectar a través de la secuenciación.

La cuantificación de los niveles plasmáticos de proteínas del complemento se realizó usando tanto anticuerpos comerciales como propios.

Niveles plasmáticos de FH, FI, FB y C5b-9 soluble se cuantificaron mediante ELISA sándwich estándar. Los niveles séricos de C3 y C4 se cuantificaron por el método de nefelometría.

La detección de anticuerpos anti-factor H y C3Nef se realizaron como se ha descrito anteriormente(57,58).

3.6 Estudio estadístico

Los datos se presentan como media y desviación estándar, o como mediana y rangos intercuartílicos [RI]. Las variables categóricas se expresan como frecuencias o porcentajes.

Para la comparación de variables discretas se utilizó el test chi-cuadrado con corrección continua, o el test exacto de Fisher de acuerdo a las características de la muestra. Para la comparación de dos variables continuas independientes se utilizó el test t de Student para muestras no apareadas, o el test no paramétrico de Mann-Whitney según las características de distribución de las variables. La comparación entre más de 2 variables continuas independientes se analizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA).

Para comparar las diferencias de supervivencia entre variables de interés se utilizaron curvas de Kaplan-Meier, estimándose la significación estadística mediante el método del rango logarítmico de Mantel-Haenszel.

La asociación entre las variables de interés y el desarrollo de ERCT fue determinado mediante modelos de riesgo proporcional de Cox, y se determinaron las relaciones de tasas instantáneas (hazard ratios [HR]), con sus intervalos de confianza del 95% (IC95%). También se empleó regresión logística multivariante para analizar los principales determinantes de remisión.

La elección de las covariables en los modelos multivariantes se realizó de forma automática mediante el proceso de eliminación progresiva condicional hacia atrás. Para evitar sobreajuste en estos modelos de supervivencia, se forzó la entrada de solo aquellas covariables que alcanzaron una mayor significación estadística ($p < 0,01$). La proporcionalidad del riesgo fue comprobada gráficamente (curvas log-log de Kaplan-Meier) en todas las covariables.

Debido al diseño observacional de este estudio los pacientes no fueron aleatorizados a recibir cada pauta de tratamiento. Así, con el objetivo de minimizar el sesgo por indicación se empleó la técnica de emparejamiento por índice de propensión (en inglés "*propensity score matching*"). Se calcularon los

índices de propensión de cada paciente valorando la probabilidad de recibir o no un determinado tratamiento mediante modelos de regresión logística multivariante. Dichos índices se emplearon posteriormente para realizar un emparejamiento calibrado en una proporción 1:1, descartando observaciones a más de 0,2 desviaciones estándar en cada variable para garantizar un correcto balance entre los grupos analizados.

Una $p < 0,05$ fue considerada como estadísticamente significativa. El análisis estadístico se realizó con el programa IBM SPSS versión 22 (IBM Corp. Armonk, EE.UU.) y GraphPad Prism software versión 7 (GraphPad Software Inc., San Diego, EE.UU.). Para el emparejamiento por índice de propensión se usó el programa SPSS R-Menu que emplea el *software* estadístico R versión R3.1.

4

RESULTADOS

Contenido

4.1 Pacientes	79
4.2 Histología	83
4.3 Estudio genético y molecular	86
4.4 Tratamientos	89
4.5 Remisión de la enfermedad	93
4.6 Desarrollo de enfermedad renal crónica terminal	97
4.7 Tratamiento con esteroides y micofenolato mofetil	106
4.8 Recidiva de la enfermedad.....	112

4.1 Pacientes

Se recogió información clínica de hasta 167 pacientes, de los que se excluyeron 70 casos por incumplimiento de criterios de GC3, historia evolutiva compatible con otra entidad, ausencia de muestras para estudio genético, o presencia de gammapatía monoclonal concomitante (**Figura 4.1**).

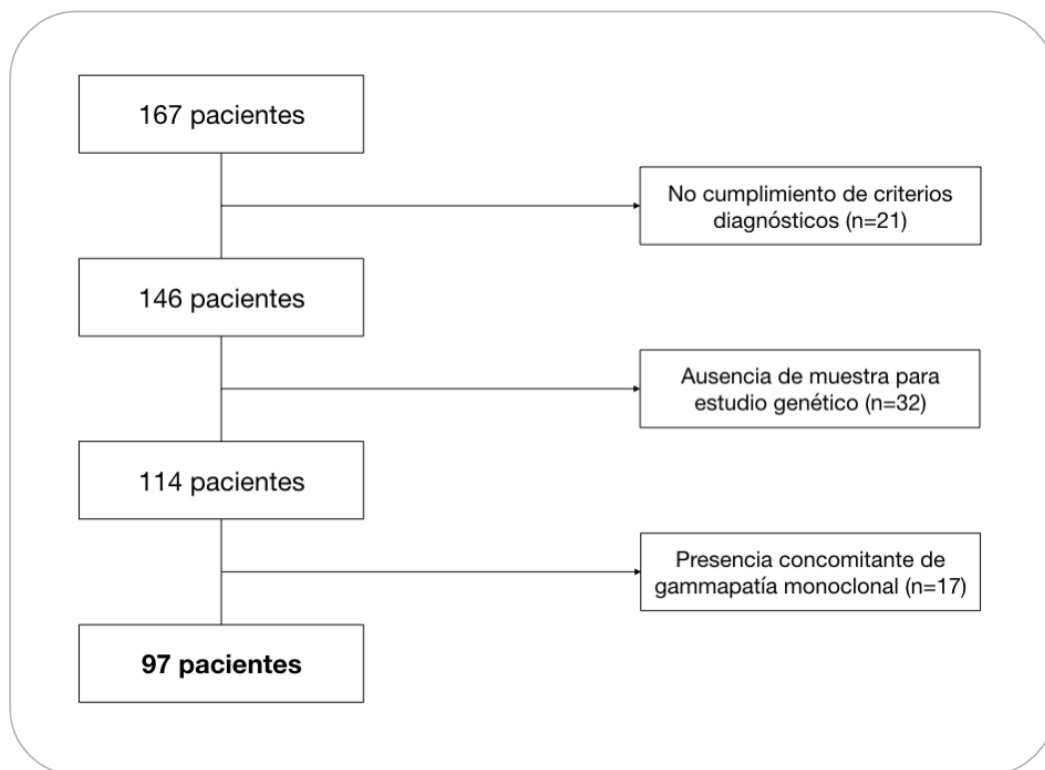


Figura 4.1. Diagrama de flujo de la cohorte estudiada.

Así, el grupo de estudio consistió en 97 pacientes, 81 con GNC3 (84%) y 16 con EDD (16%), cuyas características demográficas, clínicas e histopatológicas se muestran en la **Tabla 4.1**.

Tabla 4.1. Características clínicas basales de los pacientes estudiados según grupos de edad.

Variable	Total	<18 años	18-50 años	>50 años	p
Pacientes, N (%)	97	25 (26)	53 (54)	19 (20)	
Edad al diagnóstico, años	32±21	9±4	30±9	65±10	<0,0001
Sexo, varones (%)	45 (46)	13 (52)	20 (55)	12 (63)	0,745
Raza, N (%)					0,641
Caucásica	89 (92)	24 (96)	46 (87)	19 (100)	
Hispánica	6 (6)	1 (4)	5 (9)	0 (0)	
Asiática	1 (1)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	
Negra	1 (1)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	
Antecedente de infección, N (%)	26 (27)	10 (40)	9 (17)	7 (37)	0,045
Hipertensión al diagnóstico, N (%)	61 (63)	8 (32)	36 (68)	17 (90)	<0,0001
Presentación clínica, N (%)					0,462
Síndrome nefrótico	39 (40)	11 (44)	25 (47)	3 (16)	
Síndrome nefrítico	29 (30)	7 (28)	12 (23)	10 (53)	
Alteraciones urinarias asintomáticas	29 (30)	7 (28)	15 (28)	6 (32)	
Creatinina sérica, mg/dl	1,5 [0,8–3]	0,6 [0,4–0,8]	1,5 [1–3]	3 [1,9–4,5]	<0,0001
Filtrado glomerular, ml/min/1,73m ²	55 [20–120]	114 [100–145]	57 [23–102]	14 [10–36]	<0,0001
Albúmina, g/dl	3±0,8	2,9±0,8	3,1±0,8	3,1±0,9	0,528
C3 sérico, mg/dl	61±40	43±34	59±36	90±43	<0,0001
C4 sérico, mg/dl	24±9	24±10	24±9	26±11	0,517
Proteinuria, g/24h	3 [1,6–6,8]	2 [1,1–3,4]	4 [1,9–8]	2 [0,5–8]	0,018

La edad media de los pacientes estudiados era de 32 ± 21 años, siendo el 54% varones. La mayor parte de los pacientes eran de raza caucásica.

La forma de presentación más frecuente en el conjunto total de pacientes fue la de síndrome nefrótico (40%) seguido de síndrome nefrítico (30%) y alteraciones urinarias aisladas (30%).

Realizando una clasificación por grupos de edad, 25 pacientes (26%) presentaban una edad inferior a 18 años en el momento del diagnóstico, 53 pacientes (54%) una edad entre 18 y 50 años, y 19 casos (20%) una edad superior a 50 años al debut de la enfermedad (Tabla 4.1).

Los pacientes diagnosticados en edad pediátrica presentaban con mayor frecuencia una infección concomitante al debut, una significativa menor incidencia de hipertensión y fracaso renal agudo, así como un significativo mayor consumo sérico de C3 respecto al resto de grupos.

Por otra parte, el grupo de pacientes con edad mayor a 50 años se caracterizó por una mayor frecuencia de hipertensión al debut, mayor deterioro de función renal y menor consumo sérico de C3. En la **Figura 4.2** se representa la media y rangos intercuartílicos de los valores séricos basales de C3 según los grupos de edad ($p < 0.0001$).

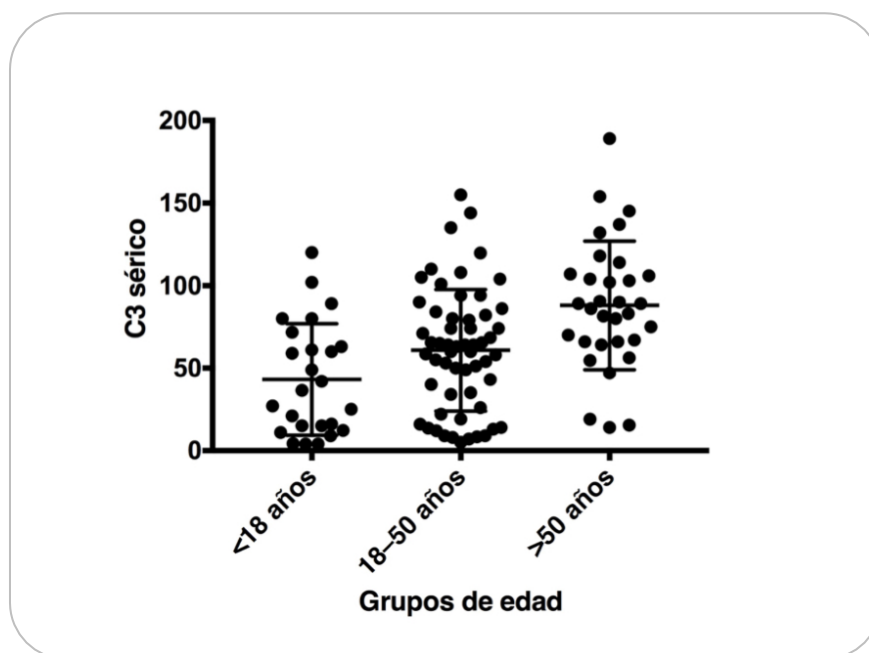


Figura 4.2. Valores séricos basales de C3 según los grupos de edad.

En la **Tabla 4.2** se resumen las principales diferencias basales entre los pacientes con EDD y GNC3.

Los pacientes con EDD eran significativamente más jóvenes que los pacientes con GNC3, habiendo además una menor proporción de pacientes varones. No se observaron diferencias significativas en la forma de presentación clínica entre la GNC3 y la EDD, siendo la forma predominante de presentación la de síndrome nefrótico. Por otra parte, las diferencias en los valores de creatinina basales y filtrado glomerular estimado no alcanzaron la significación estadística, aunque sí se observó una tendencia hacia una mejor función renal basal en los casos de EDD, hallazgo concordante con la mayor proporción de pacientes jóvenes en este grupo.

Tabla 4.2. Características clínicas basales de acuerdo al subtipo histológico de glomerulopatía C3.

Variable	Total (n=97)	GNC3 (n=81)	EDD (n=16)	p
Edad, años	32±21	34±21	22±15	0,015
Sexo, varones (%)	54 (56)	49 (61)	5 (31)	0,031
Antecedente de infección, N (%)	26 (27)	21 (26)	5 (31)	0,660
Hipertensión al diagnóstico, N (%)	61 (63)	49 (61)	12 (75)	0,272
Presentación clínica, N (%)				0,902
Síndrome nefrótico	39 (40)	32 (39)	7 (44)	
Síndrome nefrítico	29 (30)	26 (32)	3 (19)	
Alteraciones urinarias asintomáticas	29 (30)	23 (28)	6 (38)	
Creatinina sérica, mg/dl	1,5 [0,8–3]	1,5 [0,8–3]	1,1 [0,6–3,1]	0,351
Filtrado glomerular, ml/min/1,73m ²	55 [20–120]	53 [20–116]	85 [26–134]	0,180
Albúmina, g/dl	3±0,8	3,1±0,8	3±0,8	0,749
C3 sérico, mg/dl	61±40	63±41	48±35	0,157
C4 sérico, mg/dl	24±9	25±9	23±9	0,435
Proteinuria, g/24h	3 [1,6–6,8]	3 [1,5–6,8]	3,6 [1,8–7,9]	0,445

4.2 Histología

La media de glomérulos estudiado en cada muestra fue de 18 ± 11 , asegurando así examen histológico suficientemente representativo para un correcto diagnóstico.

En la **Tabla 4.3** se resumen las principales características histológicas de los pacientes incluidos según los grupos de edad.

En el conjunto total de pacientes, el patrón de lesión histológica más frecuente al microscopio óptico fue el de membranoproliferativa, seguida de la proliferación mesangial, y de la proliferación endocapilar.

Los pacientes en edad pediátrica presentaban con mayor frecuencia un patrón de daño histológico membranoproliferativo (aunque sin alcanzar la significación estadística), y un menor grado de glomerulosclerosis, fibrosis intersticial, atrofia tubular y arteriosclerosis.

El depósito exclusivo de C3 en la inmunofluorescencia fue observado en aproximadamente un 50% de las biopsias.

Mediante el Índice Histológico de la GC3, no se observaron diferencias significativas en los parámetros de actividad entre los grupos, a excepción de la inflamación intersticial que fue significativamente inferior en el grupo pediátrico. De manera esperable, los parámetros de cronicidad de la biopsia renal fueron significativamente más acentuados en los grupos adultos en comparación con el grupo pediátrico (Tabla 4.3).

En la **Tabla 4.4** se resumen las principales características histológicas de los pacientes según los subtipos de GC3. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos, aunque es destacable la mayor frecuencia de patrón membranoproliferativo en los casos de EDD en comparación con los pacientes con GNC3, que mostraron una mayor variabilidad en los patrones de daño histológico al microscopio óptico.

Del conjunto total de pacientes, aproximadamente el 50% presentaba depósitos exclusivos de C3, más frecuente en la EDD que en la GNC3, aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística.

Tabla 4.3. Características histológicas de los pacientes incluidos según grupos de edad.

Variable	Total	<18 años	18-50 años	>50 años	p
Pacientes, N (%)	97	25 (26)	53 (54)	19 (20)	
Patrón de lesión histológica, N (%)					0,422
Membranoproliferativo	70 (72)	20 (80)	38 (72)	12 (63)	
Proliferación endocapilar difusa	7 (7)	2 (8)	2 (4)	3 (16)	
Proliferación mesangial	15 (15)	2 (8)	9 (17)	4 (21)	
Glomerulonefritis esclerosante difusa	5 (5)	1 (4)	4 (8)	0 (0)	
Glomérulos totales, N	18±11	16±10	19±11	17±12	0,555
Glomérulos esclerosados, %	8 [0–28]	0 [0–6]	11 [0–35]	20 [1–33]	<0,0001
Glomérulos con proliferación extracapilar, %	27 (24)	8 (32)	10 (18)	9 (28)	0,287
Fibrosis intersticial/atrofia tubular, N %					<0,0001
Ausencia	36 (37)	20 (80)	13 (25)	3 (16)	
Leve	32 (33)	3 (12)	21 (40)	8 (42)	
Moderada	19 (20)	1 (4)	13 (25)	5 (26)	
Severa	10 (10)	1 (4)	6 (10)	3 (16)	
Arterio y arteriolosclerosis, %	24 (25)	0 (0)	15 (28)	9 (47)	0,001
Inmunofluorescencia C3 exclusivo, N (%)	47 (48)	14 (56)	21 (40)	12 (63)	0,144
Índice Histológico de la GC3					
<u>Índice de Actividad</u>					
Hiper celularidad mesangial (0–3)	2,5	2,7	2,4	2,4	0,357
Proliferación endocapilar (0–3)	1,1	1,3	1	1,3	0,423
Morfología membranoproliferativa (0–3)	1,9	2,1	1,9	1,9	0,793
Infiltración leucocitaria (0–3)	1,1	1,2	1	1,3	0,349
Proliferación extracapilar (0–3)	0,7	0,7	0,5	0,7	0,870
Necrosis fibrinoide (0–3)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,944
Inflamación intersticial (0–3)	0,6	0,2	0,7	0,8	0,003
Puntuación total actividad (0–21)	8,1	8,4	7,7	8,6	0,422
<u>Índice de Cronicidad</u>					
Glomerulosclerosis (0–3)	0,9	0,4	1	1	0,026
Atrofia tubular (0–3)	1	0,4	1,1	1,6	<0,0001
Fibrosis intersticial (0–3)	1,1	0,3	1,2	1,7	<0,0001
Arteriosclerosis (0–3)	0,3	0	0,5	0,6	<0,0001
Puntuación total cronicidad (0–10)	3,3	1,1	3,8	4,9	<0,0001

Tabla 4.4. Características histológicas de los pacientes de acuerdo al subtipo de glomerulopatía C3.

Variable	GNC3	EDD	p
Pacientes, N (%)	81 (84)	16 (16)	
Diagnóstico en riñones nativos, N (%)	76 (94)	13 (81)	0,095
Patrón de lesión histológica, N (%)			0,028
Membranoproliferativo	55 (68)	15 (94)	
Proliferación endocapilar difusa	7 (9)	0 (0)	
Proliferación mesangial	14 (17)	1 (6)	
Glomerulonefritis esclerosante difusa	5 (6)	0 (0)	
Glomérulos totales, N	18±11	15±8	0,334
Glomérulos esclerosados, %	7 [0–25]	13 [0–42]	0,497
Glomérulos con proliferación extracapilar, %	24 (29)	3 (19)	0,375
Fibrosis intersticial/atrofia tubular, N %			0,458
Ausencia	30 (37)	6 (38)	
Leve	29 (36)	3 (19)	
Moderada	14 (17)	5 (31)	
Severa	8 (10)	2 (13)	
Arterio y arteriolosclerosis, %	19 (24)	5 (31)	0,509
Inmunofluorescencia C3 exclusivo, N (%)	39 (48)	8 (50)	0,892
Índice Histológico de la GC3			
<u>Índice de Actividad</u>			
Hiper celularidad mesangial (0–3)	2,5	2,4	0,612
Proliferación endocapilar (0–3)	1,2	1	0,522
Morfología membranoproliferativa (0–3)	1,9	2	0,772
Infiltración leucocitaria (0–3)	1,2	0,9	0,127
Proliferación extracapilar (0–3)	0,6	0,8	0,508
Necrosis fibrinoide (0–3)	0,2	0,1	0,491
Inflamación intersticial (0–3)	0,6	0,5	0,793
Puntuación total actividad (0–21)	8,2	7,7	0,341
<u>Índice de Cronicidad</u>			
Glomerulosclerosis (0–3)	0,9	1,2	0,205
Atrofia tubular (0–3)	0,9	1,1	0,490
Fibrosis intersticial (0–3)	1,0	1,3	0,316
Arteriosclerosis (0–3)	0,3	0,4	0,487
Puntuación total cronicidad (0–10)	3,1	4	0,233

4.3 Estudio genético-molecular del complemento

El análisis genético de la muestra mediante secuenciación de nueva generación identificó un total de 115 variantes raras con una frecuencia alélica mínima inferior a 0,01.

Además, se identificaron tres reordenamientos genómicos en los genes de *CFHR* mediante amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples (MLPA). Todas las variantes se encontraron en heterocigosis, a excepción de un caso que fue en homocigosis.

De las 118 variantes raras encontradas, 21 se consideraron como patogénicas, 55 como “variantes de significado incierto” y 42 benignas.

Las variantes patogénicas se localizaron en los genes prototípicos: *C3* (7 pacientes, 33%), *CFHR* (4 pacientes, 19%), *CFH* (2 pacientes, 9,5%) y *CFI* (3 pacientes, 14%). Además, se identificaron variantes patogénicas en el gen de la trombomodulina (2 pacientes, 9,5%) y *CFB* (1 paciente, 5%).

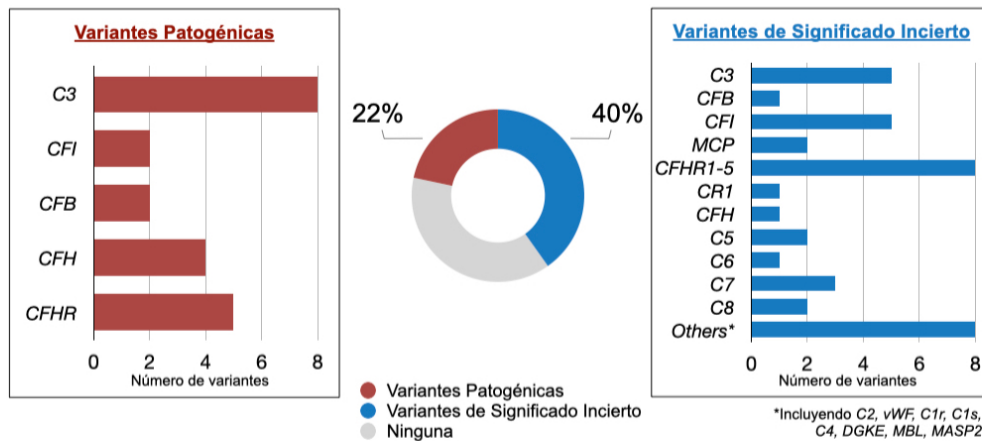
Se encontraron mutaciones combinadas en dos casos (9,5%). Un paciente portaba mutaciones en *C3* y *CFHR5*, mientras que otro portaba mutaciones en *CFH* y *ADAMTS13*.

La mayor parte de las variantes patogénicas se asociaban con niveles reducidos de la proteína (16 variantes, 74%), y en 5 casos se asociaban con función alterada.

Los factores adquiridos se detectaron en 29 pacientes (30%), con 23 pacientes (24%) C3Nef positivos, y 8 casos con anticuerpos contra FH (8%). Dos pacientes presentaban positividad concomitante para los dos tipos de anticuerpos.

La presencia de C3Nef se asoció significativamente con la EDD ($p=0,019$), estando los anticuerpos contra FH distribuidos de manera similar entre los casos de GNC3 y EDD.

La **Figura 4.3** muestra la frecuencia de las alteraciones genéticas encontradas en los pacientes estudiados (variantes patogénicas y variantes de significado incierto).



Paciente	Edad/Sexo	Subtipo	Variante genética
1	22/M	C3GN	C3: c.1656G>C; p.Trp552Cys (Het)
2	19/M	DDD	CFHR1: Duplic(E2-E6) (Het)
3	21/M	C3GN	C3: c.1379T>G; p.Val460Gly (Het)
4	47/M	C3GN	CFI: c.1234G>A; p.Val412Met (Het)
5	9/M	C3GN	C3: c.1269+1G>A (Het)
6	4/M	C3GN	C3: c.2770G>A; p.Gly924Ser (Het)
7	23/F	C3GN	C3: c.2203C>T; p.Arg735Trp (Het)
8	28/M	C3GN	CFI: c.1071T>G; p.Ile357Met (Het)
9	57/M	DDD	CFH: c.328G>T; p. Ala110Ser (Hom)
10	20/M	C3GN	CFHR1: Duplic(PROM-E3) (Het)
11	26/M	DDD	C3: c.1898A>G; Lys633Arg (Het)
12	22/F	C3GN	CFHR5: c.1704T>A; Cys568*
13	26/M	C3GN	THBD: c.127G>A; Ala43Thr (Het)
14	53/M	C3GN	C3: c.4339T>C; p.Tyr1447His (Het)
15	12/M	C3GN	CFH: c.328G>T; p.Ala110Ser (Het)
16	34/M	C3GN	CFH: c.1132G>T; p.Gly378* (Het) ADAMTS13: c.2195C>T; Ala732Val (Het)
17	53/M	DDD	THBD: c.976G>A; p. Val326Met (Het)
18	24/M	C3GN	Gen híbrido CFHR3::CFHR1 (Het)
19	22/F	C3GN	C3: c.C3481A; p.Gln1161Lys (Het) CFHR5: c.479_480insAA; p.Glu163Kfs*10 (Het)
20	22/F	C3GN	CFI: c.1508_1510del; p.Phe503del (Het)
21	20/M	C3GN	CFB: c.724A>C; p.Ile242Leu (Het)

Figura 4.3. Frecuencia de las alteraciones genéticas encontradas y desglose de las principales variantes patogénicas.

Las principales características clínicas según la presencia de alteraciones genéticas o autoanticuerpos se muestran en la **Tabla 4.5**.

No se encontraron diferencias significativas en la presentación clínica, función renal basal o proteinuria entre los diferentes subgrupos. Sin embargo, los pacientes con autoanticuerpos presentaban niveles séricos de C3 significativamente más bajos, junto con niveles séricos más elevados de C5b-9 soluble.

Table 4.5: Características clínicas según la presencia de variantes genéticas en genes del complemento y/o autoanticuerpos contra componentes del complemento*.

Variable	Variantes patogénicas (n=21)	Variantes de significado incierto (n=39)	Sin alteraciones genéticas (n=37)	P	Presencia de autoanticuerpos* (n=29)	Ausencia de autoanticuerpos (n=68)	P
Edad al diagnóstico, años	27±18	36±22	30±20	0,264	31±21	32±20	0,842
Sexo, varones (%)	17 (81)	20 (51)	17 (46)	0,028	13 (45)	41 (60)	0,160
Antecedente de infección, N (%)	8 (38)	7 (18)	11 (30)	0,214	13 (45)	41 (60)	0,160
Hipertensión al diagnóstico, N (%)	11 (52)	26 (67)	24 (65)	0,524	19 (66)	42 (62)	0,726
Presentación clínica, N (%)				0,680			0,655
Síndrome nefrótico	9 (43)	17 (44)	13 (35)		12 (41)	27 (40)	
Síndrome nefrítico	6 (29)	10 (26)	13 (35)		7 (24)	22 (32)	
Alteraciones urinarias asintomáticas	6 (29)	12 (31)	11 (30)		10 (35)	19 (28)	
Creatinina sérica, mg/dl	1,3 [0,8–2,9]	1,5 [0,8–3]	1,8 [0,7–3,3]	0,783	1,2 [0,8–2,5]	1,5 [0,7–3,2]	0,479
Filtrado glomerular, ml/min/1,73m ²	59 [24–119]	56 [18–117]	39 [17–129]	0,890	59 [24–137]	50 [16–117]	0,374
Albúmina, g/dl	3,2±0,8	3±0,8	3,1±0,8	0,621	3±0,9	3,1±0,8	0,847
Proteinuria, g/24h	3 [1,2–7,7]	3 [1,8–5]	3 [1,7–9]	0,681	3,4 [2,4–9,7]	2,7 [1,5–5,3]	0,105
C3 sérico, mg/dl	46±29	67±41	63±43	0,150	49±38	66±40	0,045
C5b–9 sérico, mg/l	430 [220-843]	213 [135-615]	370 [211-1060]	0,136	618 [205-1042]	260 [155-620]	0,023
Presencia concomitante de autoanticuerpos*, N (%)	5 (24)	9 (23)	15 (41)	0,198	–	–	–

* Incluyendo factor nefrítico C3 y anti-factor H.

4.4 Tratamientos

Durante el periodo de seguimiento (mediana de 48 meses, rango intercuartílico 22–111 meses), 80 pacientes (82%) recibieron tratamiento inmunosupresor. Los 17 pacientes (18%) restantes solo fueron tratados con bloqueo del eje renina-angiotensina.

En la **Figura 4.4** se representan las frecuencias con las que se prescribió cada uno de los tratamientos, y en la **Tabla 4.6** se muestran los tratamientos según los grupos de edad.

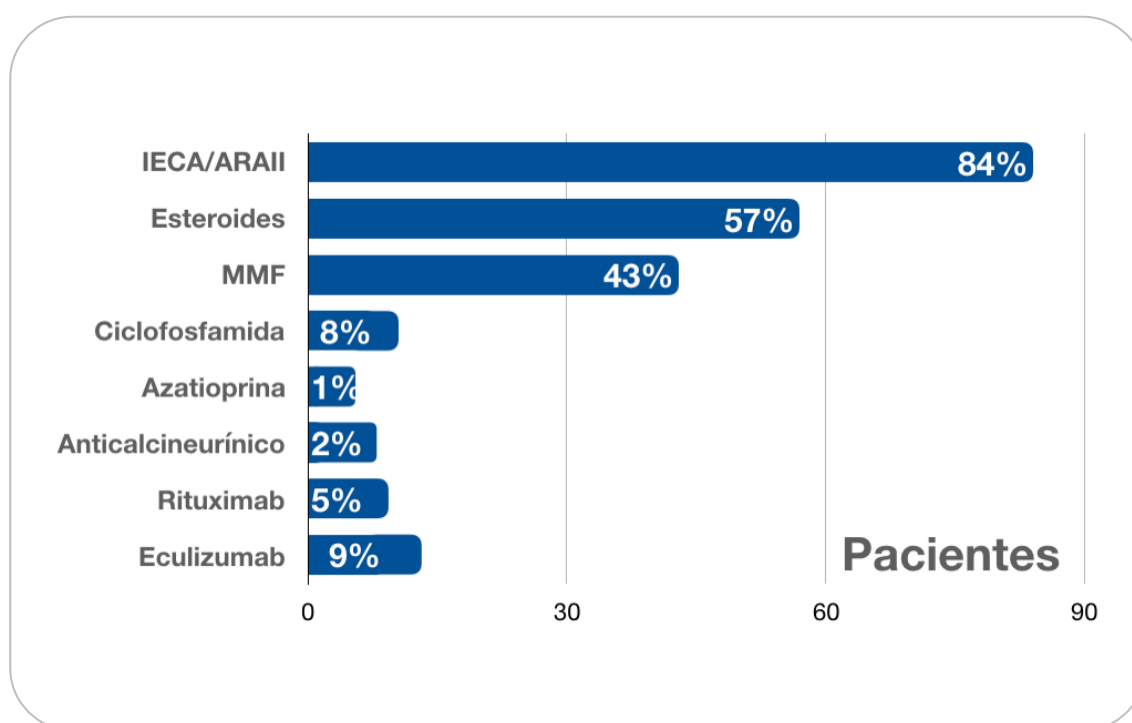


Figura 4.4. Frecuencia con la que fue prescrito cada tratamiento en el conjunto total de pacientes.

Tabla 4.6. Tratamientos según los grupos de edad.

Variable	Total	<18 años	18-50 años	>50 años	p
Pacientes, N (%)	97	25 (26)	53 (54)	19 (20)	
Tratamiento					
IECA/ARA-2, %	82 (84)	19 (76)	48 (91)	15 (79)	0,693
Esteroides, %	55 (57)	20 (80)	26 (49)	9 (47)	0,055
Micofenolato mofetil, %	42 (43)	12 (48)	23 (43)	7 (37)	0,760
Ciclofosfamida, %	8 (8)	0 (0)	5 (9)	3 (16)	0,008
Azatioprina, %	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0,439
Anticalcineurínico, %	2 (2)	1 (4)	1 (2)	0 (0)	0,266
Rituximab, %	5 (5)	2 (8)	3 (6)	0 (0)	0,044
Eculizumab, %	9 (9)	2 (8)	6 (11)	1 (5)	0,818

La mayoría de pacientes (84%) fue tratado con bloqueantes del sistema renina-angiotensina con el objetivo de controlar la presión arterial y proteinuria.

En el grupo de pacientes con edades entre 18-50 años, 11 recibieron tratamiento conservador, frente a 6 en el grupo de edad >50 años.

Un 57% de los pacientes fue tratado con esteroides a una dosis media inicial de 1 mg/kg/día, con posterior descenso paulatino, cumpliendo una mediana de tratamiento de 9 meses (rango 3–18 meses).

A un 43% de los pacientes se añadió MMF a una dosis media inicial de 17 mg/kg/día, cumpliendo una mediana de tratamiento de 14 meses (rango 7–34 meses). La dosis media diaria recibida por paciente fue de 1000 mg/día (rango 720–1500 mg).

A 8 pacientes (8%) se les pautó tratamiento con ciclofosfamida, la mayoría de ellos (55%) en forma de bolos periódicos por vía intravenosa, a una dosis media inicial ajustada de 9 mg/kg. Dicho tratamiento se mantuvo durante una mediana de 5 meses (rango 1–10 meses).

La prescripción de anticalcineurínicos fue menos frecuente en la cohorte de estudio, restringiéndose a 2 casos (2%) (uno ciclosporina y otro tacrolimus). El uso de rituximab se limitó a 5 pacientes (5%), ajustándose la dosis a superficie corporal de acuerdo a la ficha técnica. La mediana de dosis recibidas fue de 3 (rango 2–4).

Eculizumab fue prescrito a 9 pacientes (9%) durante una mediana de 7 meses (4–30 meses), sin diferencias en su frecuencia de prescripción entre los grupos de edad.

En la **Tabla 4.7** se muestran las características clínicas de los pacientes y las principales complicaciones asociados a cada una de las pautas de tratamiento: no-inmunosupresor, MMF y esteroides, otros inmunosupresores, y eculizumab. Los pacientes tratados de forma conservadora tenían una edad significativamente mayor, peor función renal basal, así como valores de albúmina basal más elevados respecto al resto de pacientes.

Los pacientes tratados con eculizumab mostraban una tendencia no significativa a presentar una mayor proporción de variantes patogénicas en los genes del complemento, mientras que la presencia de autoanticuerpos frente a componentes del complemento fue significativamente más frecuente en los pacientes tratados con otros inmunosupresores.

La tolerancia clínica general a las diferentes pautas terapéuticas fue buena. En la Tabla 4.7 se muestran los principales efectos adversos asociados a cada tratamiento. Las complicaciones infecciosas fueron las más frecuentes, constituyendo el 18% de los casos, seguida de los eventos cardiovasculares (10%) y las citopenias (9%).

Las complicaciones infecciosas fueron menos frecuentes en los pacientes tratados con esteroides y MMF, en comparación con el resto de los grupos. No se observaron diferencias significativas en la incidencia de otros efectos adversos.

Tabla 4.7: Características clínicas según el tratamiento recibido.

Variable	CS+MMF (n=42)	Otros IS^a (n=29)	Eculizumab (n=9)	Tratamiento conservador (n=17)	P
Basal					
Edad al diagnóstico, años	30±19	27±22 ^a	28±15	46±19	0,011
Sexo, varones (%)	23 (55)	16 (55)	5 (56)	10 (59)	0,994
Hipertensión al diagnóstico, N (%)	21 (50)	19 (66)	8 (89)	13 (77)	0,071
Presentación clínica, N (%)					0,892
Síndrome nefrótico	18 (43)	12 (41)	4 (44)	5 (29)	
Síndrome nefrítico	11 (26)	9 (31)	2 (22)	7 (41)	
AUA	13 (31)	8 (28)	3 (33)	5 (29)	
Creatinina sérica, mg/dl	1,3 [0,7-2,4]	1,2 [0,8-3,4]	1,5 [0,9-3,7]	3 [1,1-3,8]	0,066
Filtrado glomerular, ml/min/1,73m ²	57 [30-124]	63 [15-132]	47 [19-99]	20 [12-76]	0,047
Albúmina, g/dl	3,1±0,8	2,8±0,7 ^b	3,1±0,9	3,5±0,9	0,044
Proteinuria, g/24h	3 [1,8-4,6]	3 [1,6-9]	3 [2,7-12]	1,8 [0,7-5,3]	0,294
C3 sérico, mg/dl	61±45	56±38	56±33	72±32	0,596
C5b-9 sérico, mg/l	394 (206-849)	396 (153-840)	770 (278-1130)	191 (124-409)	0,111
Variantes genéticas patogénicas, N (%)	6 (14)	9 (31)	4 (44)	2 (12)	0,143
Autoanticuerpos ^b , N (%)	10 (24)	13 (45)	4 (44)	2 (12)	0,044
Efectos adversos al tratamiento					
Complicaciones infecciosas ^c , N (%)	5 (12)	6 (21)	5 (56)	1 (6)	0,003
Diabetes mellitus, N (%)	1 (2)	2 (7)	0 (0)	0 (0)	0,564
Citopenias, N (%)	4 (9)	5 (17)	0 (0)	0 (0)	0,441
Eventos cardiovasculares, N (%)	4 (9)	4 (14)	1 (6)	1 (11)	0,497
Otros efectos adversos ^d , N (%)	4 (9)	2 (7)	0 (0)	0 (0)	0,467
Variables resultado					
Remisión parcial, N (%)	18 (43)	4 (14)	3 (33)	3 (18)	<0,0001
Remisión completa, N (%)	15 (36)	3 (10)	0 (0)	0 (0)	<0,0001
ERCT, N (%)	6 (14)	17 (59)	6 (67)	11 (65)	<0,0001

^a Incluyendo tratamiento exclusivo con esteroides, ciclofosfamida, azatioprina, tacrolimus, ciclosporina y rituximab.

^b Incluyendo factor nefrítico C3 y anticuerpos contra el factor H.

^c Incluyendo neumonía (6), gripe (3), infección urinaria-pielonefritis (3), infección por citomegalovirus (3), sepsis abdominal (1), infección por virus herpes-zoster (1)

^d Incluyendo intolerancia gastrointestinal, cataratas y necrosis avascular de cadera

Abreviaturas: AUA: Alteraciones urinarias asintomáticas; CS: esteroides; IS: inmunosupresores; MMF: micofenolato mofetil

^a p<0,011 Tratamiento conservador vs. Otros inmunosupresores, test Scheffé

^b p<0,044 Tratamiento conservador vs. Otros inmunosupresores, test Scheffé

4.5 Remisión de la enfermedad

Durante un periodo de seguimiento (mediana de 48 meses, rango intercuartílico 22–111 meses), 46 pacientes alcanzaron algún grado de remisión: 18 pacientes (19%) remisión completa, y 28 casos (29%) remisión parcial.

El periodo de tiempo hasta la remisión fue 14 meses (mediana; rango intercuartílico 8–28 meses). La tasa de remisión fue significativamente más elevada en pacientes tratados con esteroides y MMF, en comparación con el resto de tratamientos (Tabla 4.7).

En la **Tabla 4.8** se muestran las características clínicas, histológicas y genético-moleculares de los pacientes según el grado de remisión alcanzado. Los pacientes que alcanzaron remisión eran significativamente más jóvenes, mostraban mejor función renal basal y menor grado de cronicidad en la biopsia renal. Además, aquellos que alcanzaron la remisión completa presentaban un porcentaje menor de variantes patogénicas en los genes del complemento, así como un mayor porcentaje de C3Nef en comparación con los pacientes que solo alcanzaron remisión parcial. No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de variantes de significado incierto ni otros autoanticuerpos.

Mediante regresión logística multivariante, los principales determinantes de remisión (completa o parcial) (**Tabla 4.9**) fueron: sexo femenino (odds ratio [OR]: 0,206; intervalo de confianza [IC] 95%: 0,061–0,700; $p < 0,011$), edad (OR: 0,956; IC 95%: 0,927–0,987; $p < 0,005$), proteinuria (OR: 0,837; IC 95%: 0,713–0,984; $p < 0,031$) y tratamiento con esteroides y MMF (OR: 5,78; IC 95%: 4,608–7,084; $p < 0,0001$).

En la **Figura 4.5** se muestran las curvas de Kaplan-Meier de remisión de la enfermedad según el tratamiento con esteroides y MMF frente a otros tratamientos inmunosupresores.

Tabla 4.8: Características clínicas, histológicas y genético-moleculares de acuerdo al desarrollo de remisión

<i>Variable</i>	<i>Remisión (parcial + completa) (n=46)</i>	<i>Sin remisión (n=51)</i>	<i>p</i>	<i>Remisión parcial (n=28)</i>	<i>Remisión completa (n=18)</i>	<i>p</i>
Basal						
Edad al diagnóstico, años	26±19	37±21	0,011	27±19	25±19	0,751
Sexo, varones (%)	21 (46)	33 (65)	0,059	14 (50)	7 (39)	0,460
GNC3 / EDD, N	42 / 4	39 / 12	0,049	26 / 2	16 / 2	0,513
Antecedente de infección, N (%)	10 (22)	16 (31)	0,285	5 (18)	5 (28)	0,426
Presentación clínica, N (%)			0,401			0,052
Síndrome nefrótico	17 (37)	22 (43)		9 (32)	8 (44)	
Síndrome nefrítico	14 (30)	15 (29)		6 (21)	8 (44)	
AUA	15 (33)	14 (27)		13 (18)	2 (11)	
Creatinina sérica, mg/dl	1 [0,6-2]	2 [1-3,5]	0,002	0,9 [0,7-1,8]	1 [0,6-2,6]	0,822
Albúmina, g/dl	3,2±0,8	3±0,8	0,144	3,3±0,7	3±0,9	0,313
C3 sérico, mg/dl	54±40	67±39	0,101	60±41	45±38	0,225
C4 sérico, mg/dl	23±10	25±9	0,322	24±10	21±9	0,321
Proteinuria, g/24h	2,6 [1,3-4]	4,1 [1,7-9]	0,035	2,2 [1,3-3,8]	2,9 [1,7-4]	0,628
Histopatología						
Glomerulosclerosis global, %	4 [0-8]	20 [0-40]	0,001	2 [0-8]	4 [0-7]	0,877
Fibrosis intersticial/atrofia tubular, N %			0,002			0,114
Ausente	22 (48)	14 (28)		10 (36)	12 (67)	
Leve	19 (41)	13 (26)		14 (50)	5 (28)	
Moderada	3 (7)	16 (31)		3 (11)	0 (0)	
Severa	2 (4)	8 (16)		1 (4)	1 (5)	
Arterio- and arteriolesclerosis, %	6 (13)	18 (35)	0,011	5 (18)	1 (6)	0,227
Análisis genético-molecular del complemento						
Alteraciones en genes complemento, N (%)						
Ausentes	19 (41)	18 (35)	0,543	11 (39)	8 (44)	0,729
Variantes significado incierto	20 (44)	19 (37)	0,532	10 (36)	10 (56)	0,185
Variantes patogénicas	7 (15)	14 (28)	0,144	7 (25)	0 (0)	0,022
Autoanticuerpos, N (%)						
Factor nefrítico C3	11 (24)	12 (24)	0,953	3 (11)	8 (44)	0,013
Anti-factor H	5 (11)	3 (6)	0,373	3 (11)	2 (11)	0,966

Abreviaturas: AUA: alteraciones urinarias asintomáticas; GNC3: glomerulonefritis C3; EDD: enfermedad por depósitos densos

Tabla 4.9: Regresión logística multivariante de los principales determinantes de remisión de la enfermedad*.

Variable	Univariable		Multivariable	
	Odds ratio (95% IC)	P	Odds ratio (95% IC)	P
Sexo (hombre=1; mujer=0)	0,208 (0,046–0,932)	0,040	0,206 (0,061–0,700)	0,011
Edad (por cada incremento de 1 año)	0,908 (0,925–1,001)	0,054	0,956 (0,927–0,987)	0,005
GNC3 / EDD	0,163 (0,023–1,172)	0,071		
Creatinina sérica (por cada incremento de 1 mg/dl)	1,086 (0,793–1,487)	0,609		
Proteinuria (por cada incremento de 1 g/24h)	0,851 (0,723–1,001)	0,051	0,837 (0,713–0,984)	0,031
C3 sérico (por cada incremento de 1 mg/dl)	0,996 (0,979–1,013)	0,634		
Variantes patogénicas complemento (0,1)	0,535 (0,110–2,608)	0,438		
Anticuerpos contra los componentes del complemento (0,1)	1,449 (0,361–5,808)	0,601		
Glomerulosclerosis (por cada incremento en 10%)	0,988 (0,952–1,025)	0,517		
Fibrosis intersticial/atrofia tubular (por cada incremento en 10%)	0,758 (0,359–1,598)	0,467		
Arteriosclerosis (0,1)	0,570 (0,117–2,774)	0,486		
Tratamiento con MMF y esteroides (0,1)	3,260 (1,542–4,660)	0,0001	5,78 (4,608–7,08)	0,0001

*Número de eventos: 46

Abreviaturas: GNC3: glomerulonefritis C3; IC: intervalo de confianza; EDD: enfermedad por depósitos densos; MMF: micofenolato mofetil

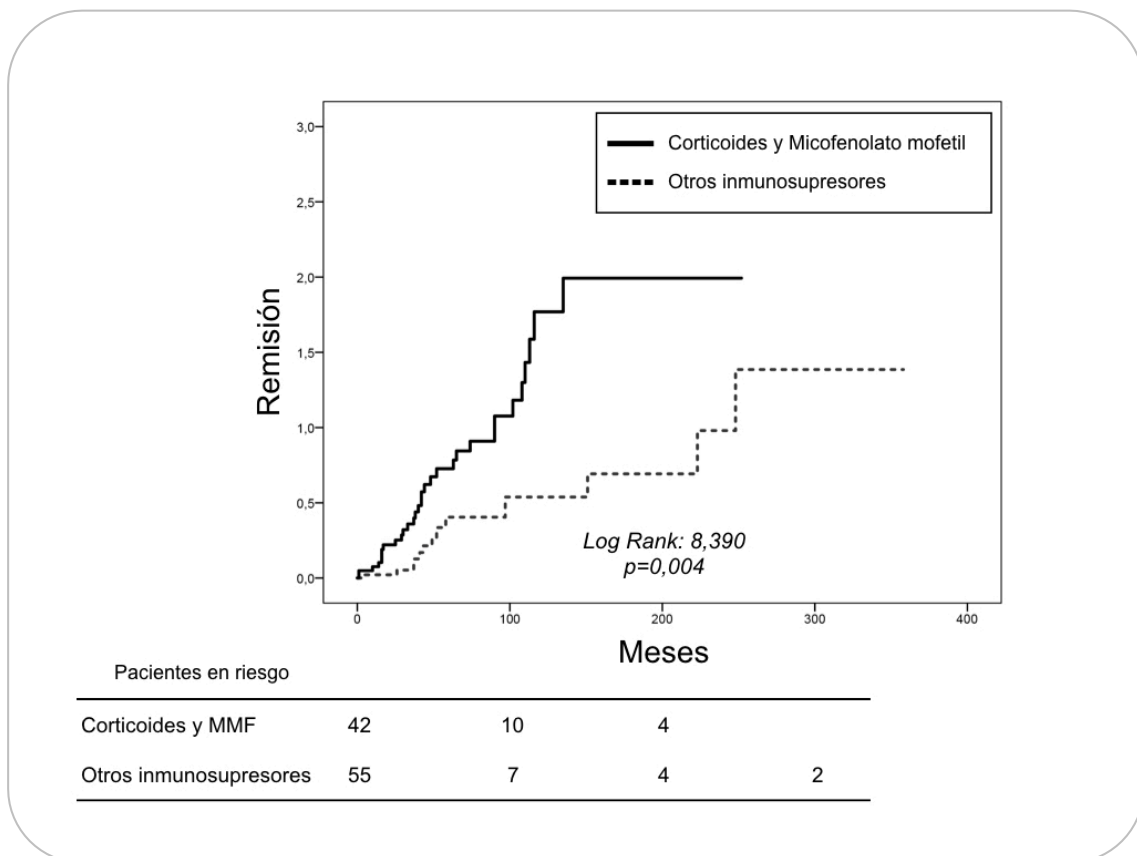


Figura 4.5. Curvas de Kaplan-Meier mostrando el riesgo relativo de remisión de la enfermedad según el tratamiento con esteroides y MMF, frente a otros tratamientos inmunosupresores.

4.6 Desarrollo de enfermedad renal crónica terminal

Durante el periodo de seguimiento, 40 pacientes (41%) desarrollaron ERCT. En 31 de estos pacientes (78%) se disponía de los valores evolutivos de función renal, con una mediana de 5 determinaciones por paciente (rango 3–8). Se calculó la velocidad de progresión hacia la ERCT mediante la pendiente de la recta de regresión lineal del filtrado glomerular entre el tiempo individual de seguimiento con una mediana de pérdida del filtrado glomerular de $-8 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ (rango intercuartílico $-3; -15 \text{ ml/min/1.73 m}^2/\text{año}$). En la **Tabla 4.10** se muestran las principales características clínicas e histopatológicas de acuerdo al desarrollo de ERCT. Las principales características clínicas de los pacientes que desarrollaron ERCT fueron: varones de mayor edad, con hipertensión arterial, peor función renal, mayor proteinuria en el momento del diagnóstico, y mayor grado de glomerulosclerosis y fibrosis intersticial/atrofia tubular en la biopsia renal. El 42% de los pacientes que finalmente desarrollaron ERCT habían sido tratados con inmunosupresores diferentes a esteroides y MMF, mientras que esta evolución negativa se observó en el 28% de los casos en los que no se había prescrito ningún tratamiento inmunosupresor. Sin embargo, la mayor parte de los pacientes que no desarrollaron ERCT durante el seguimiento habían sido tratados con esteroides y MMF (Tabla 4.10).

Durante un periodo de seguimiento de 4 años, el tratamiento con esteroides y MMF redujo el riesgo de desarrollar ERCT un 77% comparado con el resto de tratamientos (riesgo absoluto 14% vs. 62%).

Analizando el desarrollo de ERCT según los grupos de edad, se observó una significativa mejor supervivencia renal en pacientes en edad pediátrica en comparación con el resto de grupos (Log-rank: 12,7; $p < 0,002$) (**Figura 4.6**). Sin

embargo, no se observaron diferencias significativas en la supervivencia renal entre pacientes con GNC3 y EDD (**Figura 4.7**).

Tabla 4.10: Características clínicas e histológicas según el desarrollo de enfermedad renal crónica terminal.

Variable	ERCT	No ERCT	p
Basal			
Pacientes, N (%)	40 (41)	57 (59)	
Edad al diagnóstico, años	36±19	28±21	0,056
Sexo, varones (%)	27 (68)	27 (47)	0,049
GNC3 / EDD, N	30 / 10	51 / 6	0,059
Hipertensión al diagnóstico, N (%)	29 (73)	22 (39)	0,001
Presentación clínica, N (%)			0,626
Síndrome nefrótico	16 (40)	23 (40)	
Síndrome nefrítico	13 (32)	16 (28)	
AUA	11 (28)	18 (32)	
Creatinina sérica, mg/dl	2,8 [1,2–4,3]	1 [0,7–2]	<0,0001
Filtrado glomerular basal, ml/min/1,73m ²	24 [11–60]	100 [34–114]	<0,0001
Albúmina, g/dl	3±0,8	3,1±0,8	0,308
Proteinuria, g/24h	4,4 [1,8–9]	2,7 [1,2–4,2]	0,018
C3 sérico, mg/dl	64±35	59±43	0,526
Variantes patogénicas en genes del complemento, N (%)	11 (28)	10 (18)	0,342
Autoanticuerpos*, N (%)	15 (38)	16 (28)	0,327
Histología			
Patrón histológico, N (%)			0,545
Membranoproliferativo	29 (73)	41 (72)	
Proliferación endocapilar difusa	1 (2)	6 (11)	
Proliferación mesangial	8 (20)	7 (12)	
Esclerosis difusa	2 (5)	3 (5)	
Glomerulosclerosis difusa, %	22 [6–40]	4 [0–8]	<0,0001
Proliferación extracapilar, N (%)	10 (25)	14 (25)	0,961
Fibrosis intersticial/atrofia tubular, N %			<0,0001
Ausente	10 (25)	26 (46)	
Leve	8 (20)	24 (42)	
Moderada	14 (35)	5 (9)	
Severa	8 (20)	2 (4)	
Arterio- and arteriolo-sclerosis, %	13 (33)	11 (19)	0,138
Índice Histológico de la GC3			
<u>Índice de Actividad</u>			
Puntuación total actividad (0–21)	8,8	7,5	0,035
<u>Índice de Cronicidad</u>			
Puntuación total cronicidad (0–10)	5,3	1,9	<0,0001
Tratamiento			
Conservador, N (%)	11 (28)	6 (11)	<0,0001
Esteroides + MMF, N (%)	6 (15)	36 (63)	
Otros inmunosupresores, N (%)	17 (42)	12 (21)	
Eculizumab, N (%)	6 (15)	3 (5)	

* Incluyendo factor nefrítico C3 y anticuerpos contra el factor H

Abreviaturas: AUA: Alteraciones urinarias asintomáticas; EDD: enfermedad por depósitos densos; GC3: glomerulopatía C3; GNC3: glomerulonefritis C3; MMF: micofenolato mofetil

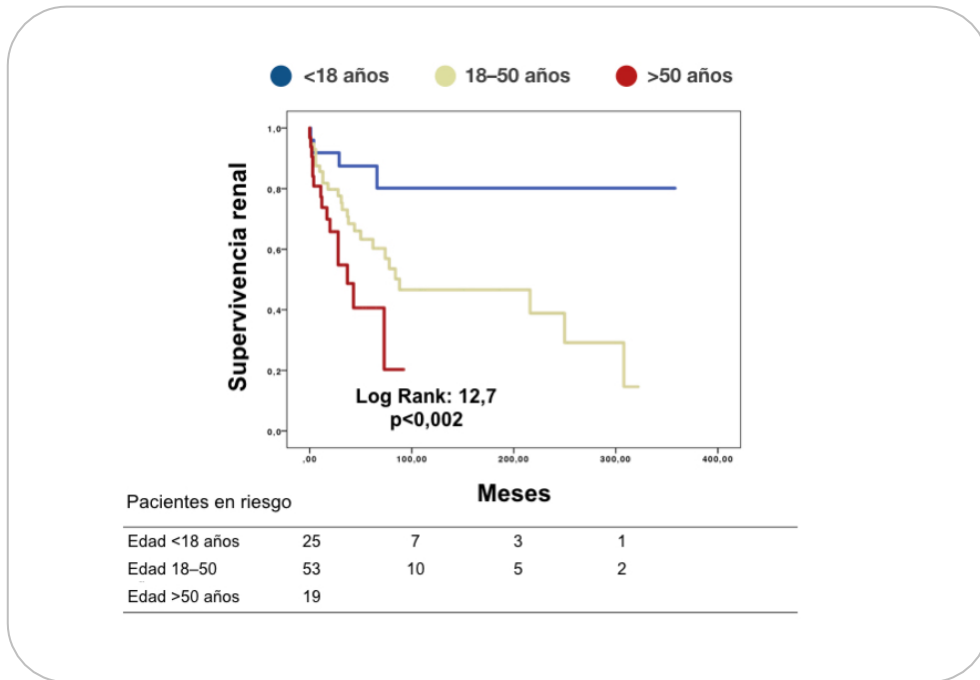


Figura 4.6. Curvas de supervivencia renal de acuerdo a los grupos de edad.

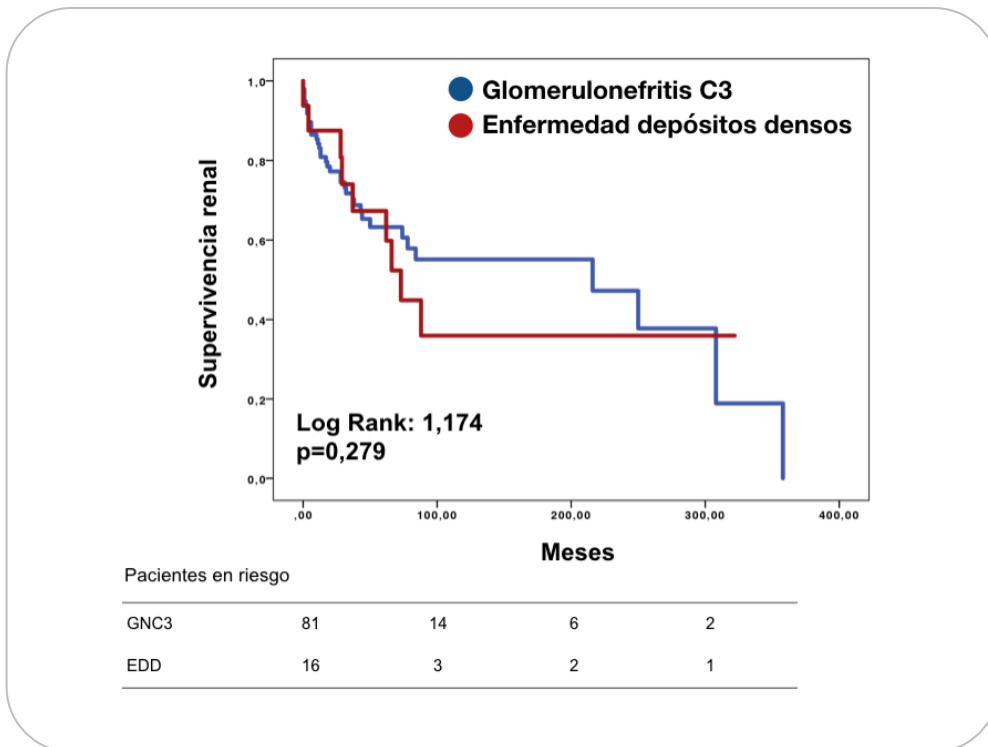


Figura 4.7. Curvas de supervivencia renal en pacientes con GNC3 y EDD.

Mediante regresión de Cox, los principales determinantes de desarrollo de ERCT fueron (**Tabla 4.11**): creatinina basal (hazard ratio [HR]: 1,200; IC 95%: 1,103–1,305; $p < 0,0001$), la puntuación total de cronicidad en la biopsia renal (HR: 1,938; IC 95%: 1,938–2,718; $p < 0,0001$) y el tratamiento con esteroides y MMF (HR: 0,270; IC 95%: 0,110–0,665; $p < 0,004$).

La **Figura 4.8** muestra la supervivencia renal según las diferentes pautas de tratamiento, y la **Figura 4.9** la supervivencia renal según los terciles del índice total de cronicidad.

Tabla 4.11: Análisis univariable y multivariable de los determinantes de desarrollo de enfermedad renal crónica terminal *.

Variable	Univariable		Multivariable	
	Hazard ratio (95% IC)	P	Hazard ratio (95% IC)	P
Sexo, varones	2,203 (0,913–5,314)	0,079		
Edad (por cada incremento de 1 año)	1,015 (0,989–1,041)	0,260		
Antecedente de infección (0,1)	1,089 (0,415–2,858)	0,863		
GNC3 / EDD	2,064 (0,718–5,936)	0,179		
Hipertensión al diagnóstico (0,1)	2,616 (0,855–7,998)	0,092		
Creatinina sérica (por cada incremento de 1 mg/dl)	1,131 (1,002–1,277)	0,046	1,200 (1,103–1,305)	<0,0001
C3 sérico (por cada incremento de 1 mg/dl)	1,003 (0,990–1,016)	0,649		
Proteinuria 24 horas (por cada incremento de 1 g/24h)	1,124 (1,024–1,235)	0,014		
Variantes patogénicas genes complemento (0,1)	1,349 (0,764–2,384)	0,303		
Autoanticuerpos contra los reguladores del complemento (0,1)	1,977 (0,872–4,481)	0,103		
Índice Total de Actividad	1,106 (0,993–1,039)	0,169		
Índice Total de Cronicidad	1,617 (1,021–2,560)	0,040	1,938 (1,382–2,718)	<0,0001
Bloqueo SRA (0,1)	1,313 (0,796–2,165)	0,287		
Esteroides + MMF (0,1)	0,247 (0,084–0,725)	0,011	0,287 (0,117–0,706)	0,007
Otros inmunosupresores (0,1)	0,368 (0,113–1,200)	0,097		
Tratamiento con eculizumab (0,1)	0,425 (0,126–1,430)	0,167		

*Número de eventos: 40

Abreviaturas: GNC3: glomerulonefritis C3; IC: intervalo de confianza; EDD: enfermedad por depósitos densos; MMF: micofenolato mofetil

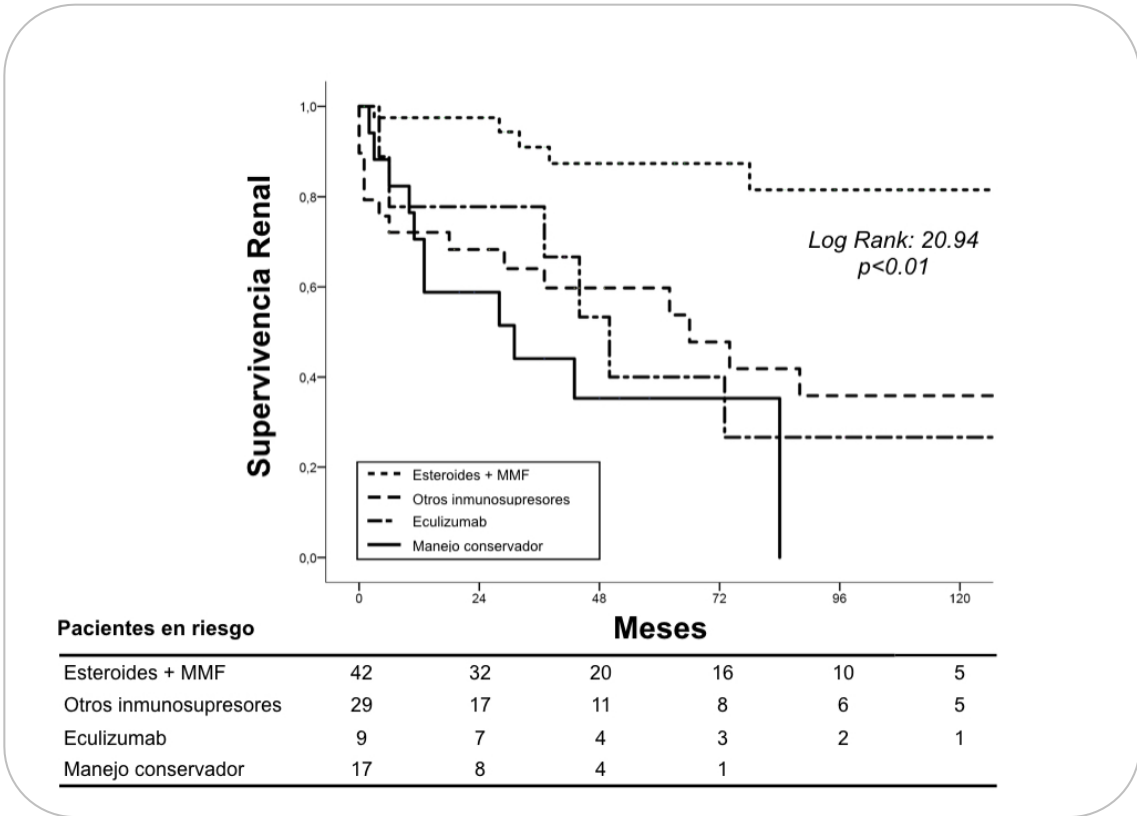


Figura 4.8. Curvas de supervivencia renal de acuerdo a las diferentes pautas terapéuticas prescritas.

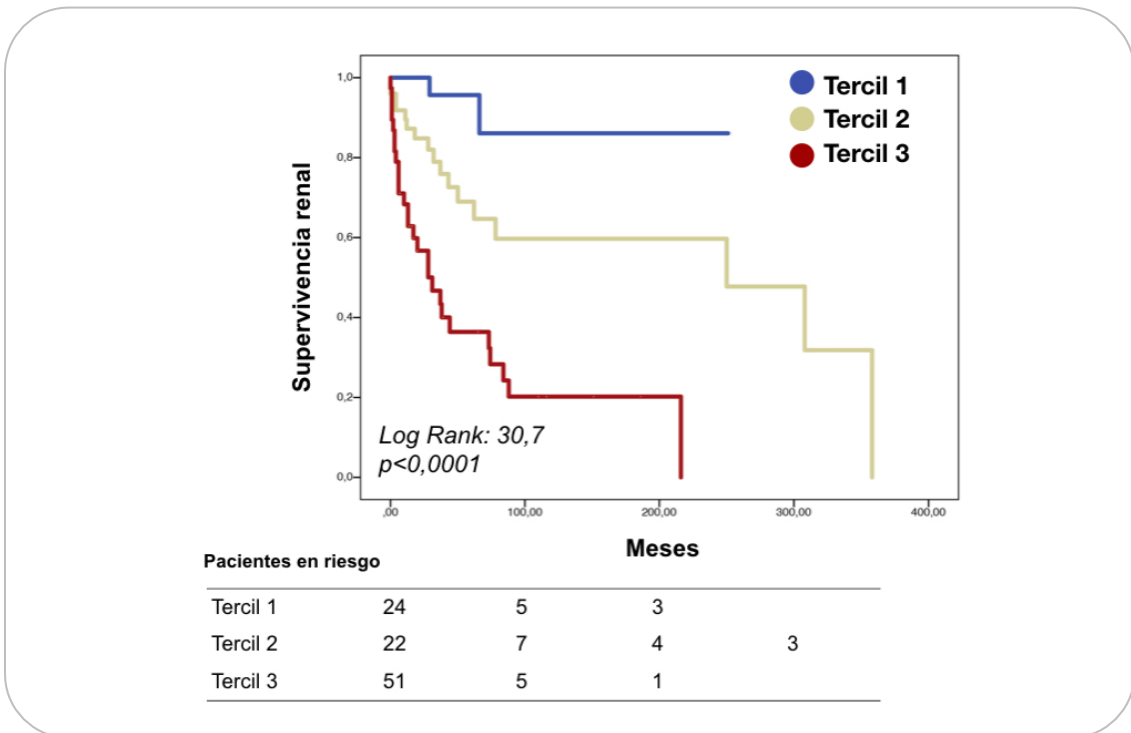


Figura 4.9. Curvas de supervivencia renal de acuerdo a los terciles del índice de cronicidad de la biopsia renal.

Teniendo en cuenta el diseño observacional de este estudio, la asignación de cada pauta de tratamiento no fue aleatorizada. Así, el beneficio terapéutico observado en aquellos pacientes que recibieron MMF y esteroides podría estar bajo un sesgo de indicación. Por este motivo, se completó el análisis mediante un emparejamiento por índice de propensión (EIP), ajustado por las principales variables pronósticas (**Figura 4.10**).

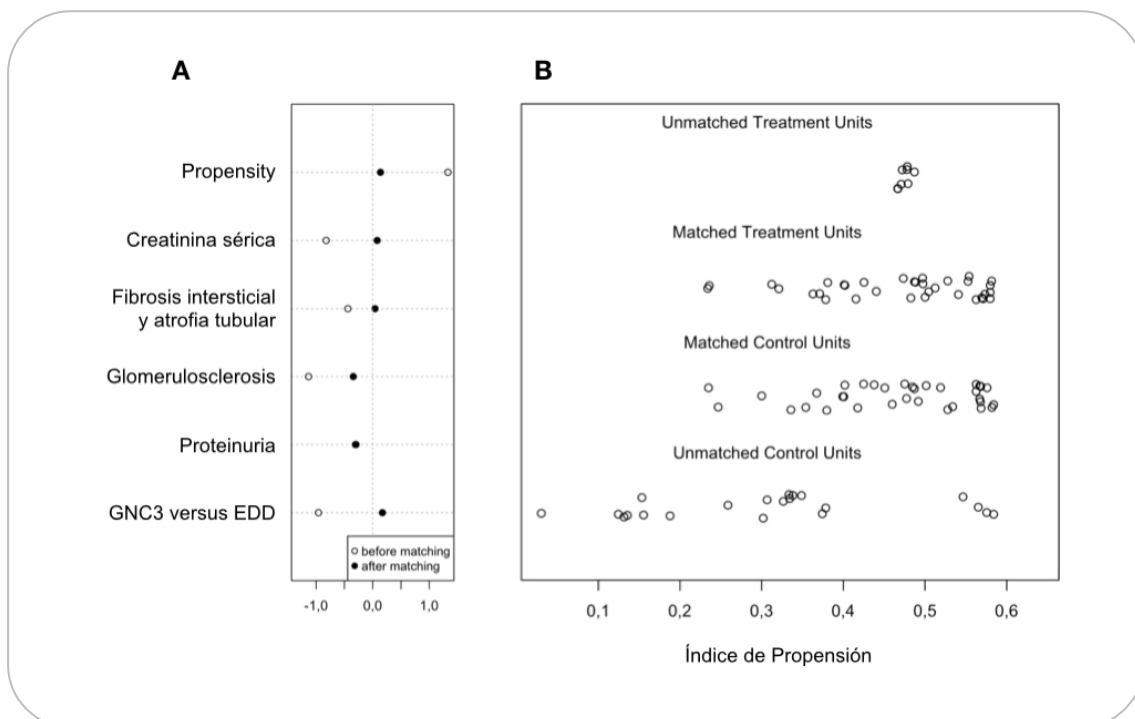


Figura 4.10. A) Diagrama de puntos mostrando la diferencia estandarizada de la media (d de Cohen) para cada covariable antes y después del emparejamiento por índice de propensión. **B)** Diagrama de puntos con los índices de propensión en el grupo tratado o no tratado con MMF, mostrando si fueron emparejados o descartados en el análisis.

En la **Tabla 4.12** se muestran las principales características de los pacientes tratados y no tratados con MMF, antes y después del EIP.

Tabla 4.12. Características clínicas antes y después del emparejamiento por índice de propensión.

Variable	Antes del EIP		p	d*	Después del EIP		p	d*
	MMF (n=42)	No-MMF (n=55)			MMF (n=34)	No-MMF (n=34)		
Basal								
Edad al diagnóstico, años	30±19	33±21	0,563		29±20	30±22	0,755	
Sexo, varones (%)	23 (55)	31 (56)	0,882		17 (50)	19 (56)	0,636	
GNC3 / EDD, N	40 / 2	41 / 14	0,010	-0,96	30 / 4	29 / 5	0,808	0,17
Creatinina sérica, mg/dl	1,3 [0,7-2,4]	1,8 [0,8-3,5]	0,078	-0,67	1 [0,6-2,4]	1,1 [0,7-2,1]	0,753	0,07
Albúmina, g/dl	3,1±0,8	3±0,8	0,654		3,2±0,7	3,1±0,8	0,592	
C3 sérico, mg/dl	61±45	61±36	0,961		62±46	68±38	0,568	
C4 sérico, mg/dl	23±8	25±10	0,298		22±9	25±11	0,266	
Proteinuria, g/24h	3 [1,8-4,6]	2,9 [1,5-8,8]	0,698	-0,31	2,6 [1,5-4]	2,3 [1-6]	0,815	-0,19
Histología								
Patrón histológico, N (%)			0,263				0,593	
Membranoproliferativo	31 (74)	39 (71)			25 (75)	25 (75)		
Proliferación endocapilar	4 (10)	3 (6)			2 (5)	4 (10)		
Proliferación mesangial	6 (14)	9 (16)			2 (5)	5 (15)		
Esclerosis difusa	1 (2)	4 (7)			5 (15)	0 (0)		
Glomerulosclerosis, %	5 [0-9]	20 [0-40]	0,012	-0,61	4 [0-11]	4 [0-21]	0,666	-0,14
Proliferación extracapilar, N (%)	11 (26)	13 (24)	0,772		8 (24)	6 (18)	0,557	
Fibrosis intersticial/Atrofia tubular, N %			0,093	-0,44			0,785	0,04
Ausente	18 (43)	18 (33)			16 (24)	13 (19)		
Leve	17 (41)	15 (27)			11 (32)	13 (19)		
Moderada	4 (10)	15 (27)			4 (12)	7 (10)		
Severa	3 (7)	7 (13)			3 (9)	1 (3)		
Arterio- and arteriolosclerosis, %	7 (17)	17 (31)	0,117		5 (15)	9 (26)	0,232	
Resultados								
Seguimiento, meses	49 [23-97]	45 [12-81]	0,270		38 [16-90]	43 [19-50]	0,727	
Remisión completa, N (%)	15 (36)	3 (6)	<0,001		13 (38)	1 (3)	<0,001	
Remisión (completa+parcial), N (%)	33 (79)	13 (24)	<0,001		28 (82)	9 (27)	<0,001	
ERCT, N (%)	6 (14)	34 (62)	<0,001		4 (12)	18 (53)	<0,001	

*d: diferencia estandarizada de la media de Cohen

Abreviaturas: GNC3: glomerulonefritis C3; EDD: enfermedad por depósitos densos; EIP: emparejamiento por índice de propensión; ERCT: enfermedad renal crónica terminal; MMF: micofenolato mofetil.

Antes del EIP, los pacientes tratados con esteroides y MMF se caracterizaban por una mejor función renal basal, menor porcentaje de glomerulosclerosis, menor grado de cronicidad en la biopsia renal, así como una menor proporción de casos con EDD (Tabla 4.12).

Después del EIP, 34 pacientes tratados con esteroides y MMF fueron comparados con 34 pacientes tratados con otros inmunosupresores: 13 (38%) con esteroides, 8 (23%) con ciclofosfamida, 2 (6%) con anticalcineurínicos, 5 (15%) con rituximab, y 6 (18%) con eculizumab. Las principales variables pronósticas estaban correctamente equilibradas entre los grupos.

Concordante con los resultados de la cohorte total, la supervivencia renal de los pacientes tratados con esteroides y MMF en esta sub-cohorte emparejada fue significativamente superior respecto al resto de pautas terapéuticas. En la **Figura 4.11** se muestran las curvas de supervivencia renal de la cohorte emparejada por índices de propensión según las pautas terapéuticas.

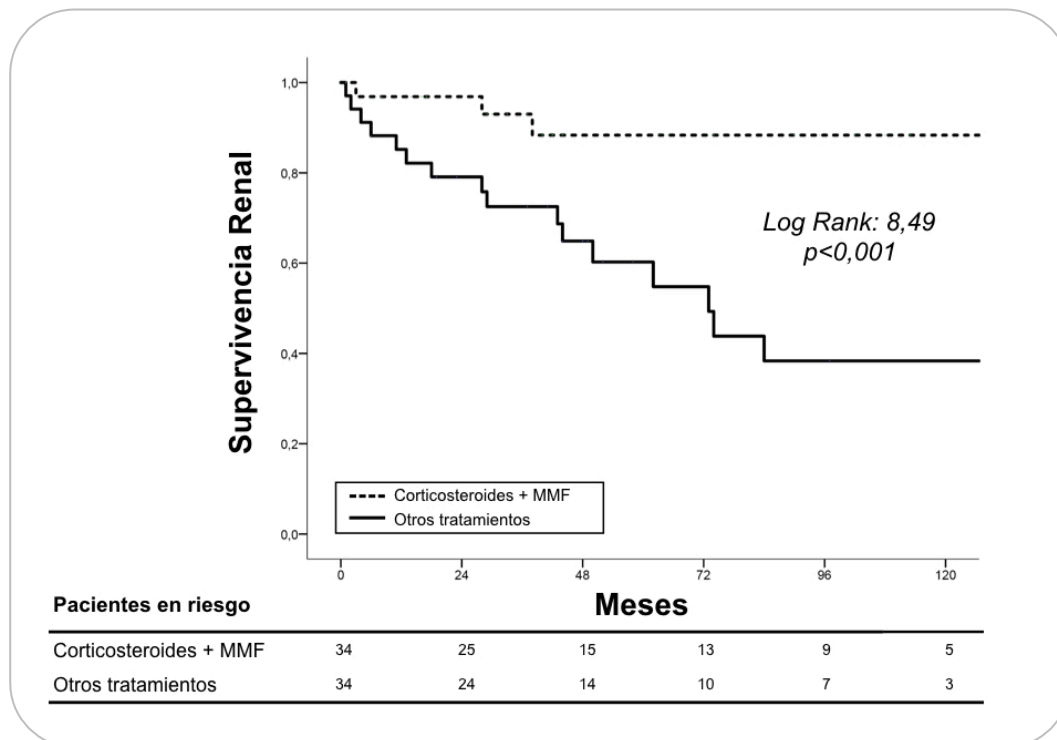


Figura 4.11. Curvas de supervivencia renal de acuerdo a la pauta de inmunosupresión en la cohorte obtenida tras el emparejamiento por índice de propensión

4.7 Tratamiento con esteroides y micofenolato mofetil

El tratamiento con esteroides y micofenolato mofetil se asoció con una mejor supervivencia renal. Este beneficio se observó tanto en pacientes que portaban variantes patogénicas en genes del complemento, como también en aquellos con autoanticuerpos contra componentes del complemento. En las **Figura 4.12** y **Figura 4.13** se muestran las curvas de supervivencia renal en los pacientes con variantes patogénicas en genes del complemento y autoanticuerpos, según fueran tratados con esteroides y MMF u otros inmunosupresores.

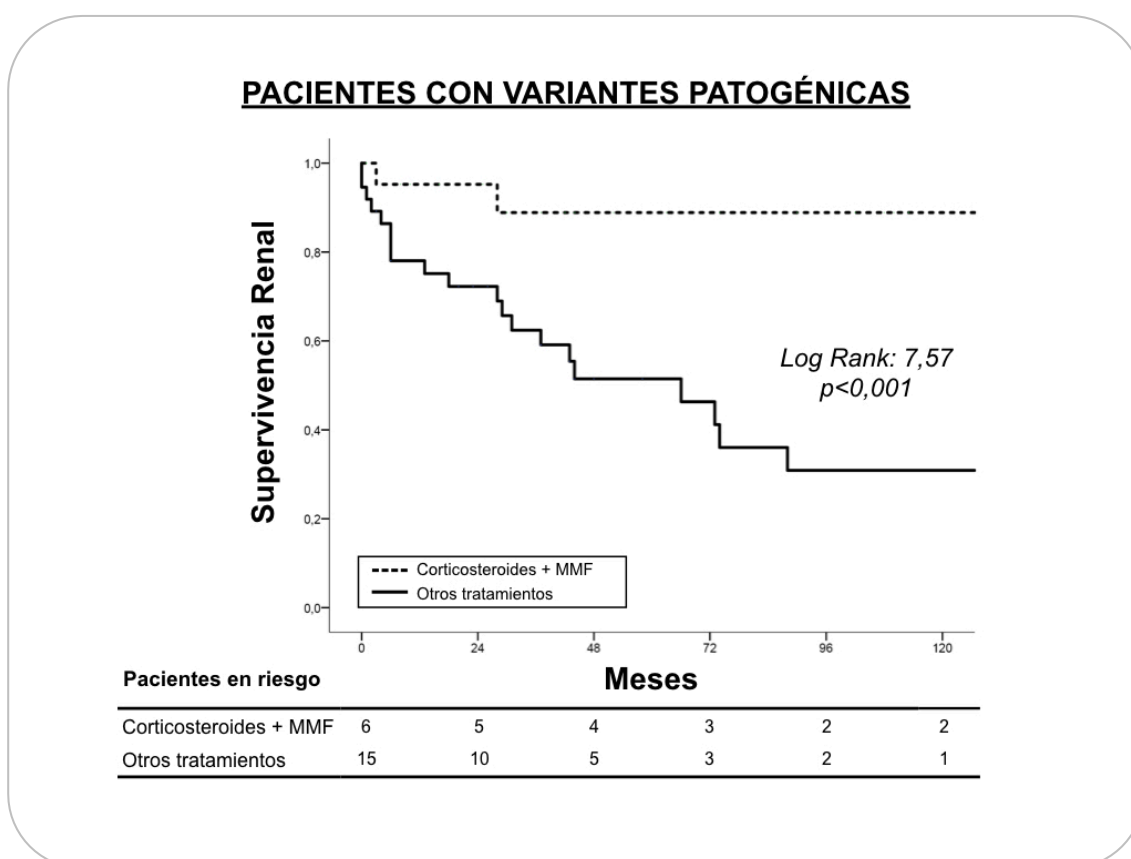


Figura 4.12. Curvas de supervivencia renal de acuerdo según tratamiento inmunosupresor en pacientes con variantes patogénicas en los genes del complemento.

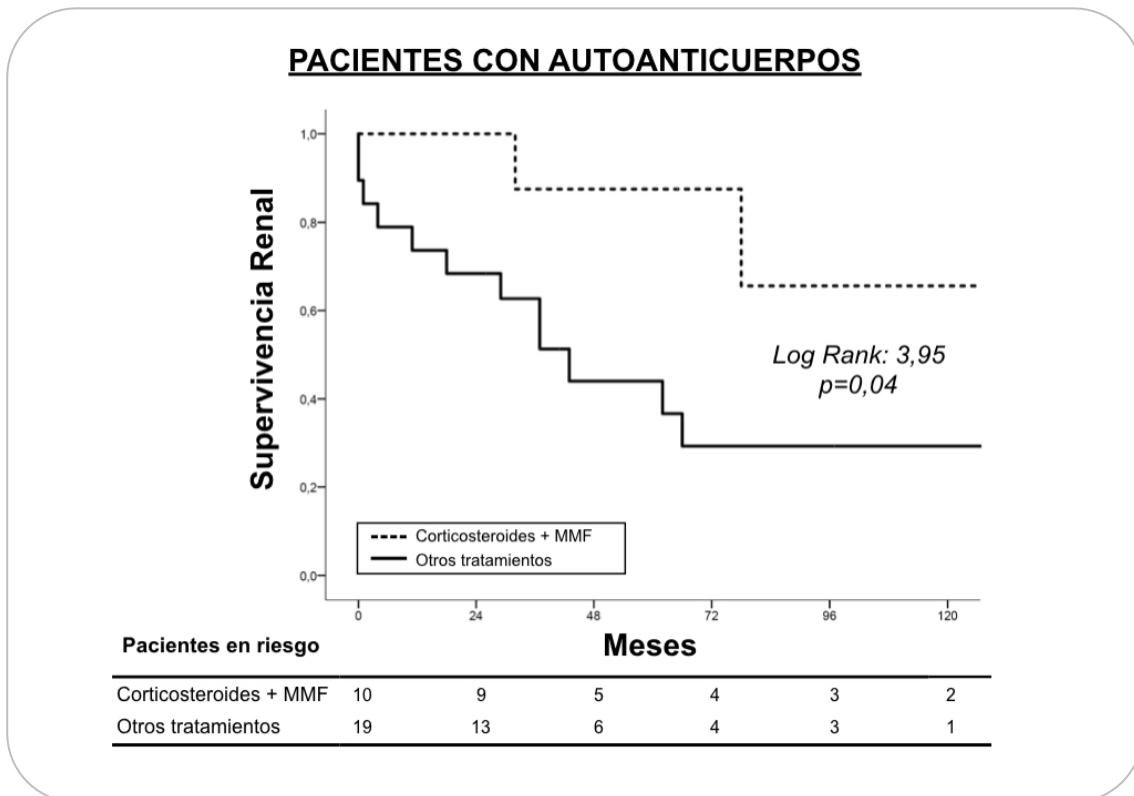


Figura 4.13. Curvas de supervivencia renal según la pauta de inmunosupresión en pacientes con autoanticuerpos contra componentes del complemento.

En la **Tabla 4.13** se muestran las principales características de los pacientes tratados con esta pauta inmunosupresora, según alcanzaran o no remisión de la enfermedad. No se observaron diferencias significativas entre los grupos, excepto en la proteinuria basal, que era más elevada en los pacientes que no respondieron a este tratamiento. La mediana de la dosis prescrita de MMF fue de 1000 mg (rango intercuartílico 750–1000 mg), siendo esta dosis superior en aquellos pacientes que no alcanzaron remisión. La **Figura 4.14** muestra la evolución de los parámetros analíticos según el desarrollo de remisión con MMF.

Mediante regresión de Cox, el principal determinante de una ausencia de respuesta (no remisión) con este tratamiento fue la proteinuria basal (**Tabla 4.14**).

El beneficio de la pauta de esteroides junto con MMF también se analizó clasificando a los pacientes de la cohorte en los cuatro conglomerados (“clusters”) según la propuesta de Iatropoulos *et al* (77). Se observó una supervivencia renal significativamente más prolongada en los cluster 1, 2 y 4, y una tendencia no significativa en el cluster 3 (Figura 4.15).

Tabla 4.13: Características clínicas histológicas y genéticas de los pacientes tratados con esteroides y micofenolato mofetil según alcanzaran o no remisión de la enfermedad.

Variable	Remisión	No remisión	p
Basal			
Pacientes, N (%)	33 (79)	9 (21)	
Edad al diagnóstico, años	30±20	31±15	0,92
Sexo, hombres (%)	16 (49)	7 (78)	0,15
GNC3 / EDD, N	32 / 1	8 / 1	0,39
Presentación clínica, N (%)			0,22
Síndrome nefrótico	11 (33)	7 (78)	
Síndrome nefrítico	11 (33)	0 (0)	
AUA	11 (33)	2 (22)	
Creatinina sérica, mg/dl	1,3 [0,6–2,4]	1,2 [0,9–2,5]	0,78
Albúmina, g/dl	3,2±0,8	2,8±0,6	0,12
Proteinuria, g/24h	2,7 [1,5–4]	5 [3–10]	0,03
C3 sérico, mg/dl	60±43	63±55	0,83
C5b–9 sérico, mg/l	344 (200-792)	681 (268-1298)	0,21
Histopatología			
Glomerulosclerosis, %	4 [0–8]	6 [0–11]	0,45
Fibrosis intersticial/Atrofia tubular, N %			0,47
Ausente	14 (42)	4 (44)	
Leve	15 (46)	2 (22)	
Moderada	2 (6)	2 (22)	
Severa	2 (6)	1 (11)	
Arterio- and arteriolasclerosis, %	5 (15)	2 (22)	0,63
Tratamiento inmunosupresor			
Dosis inicial de prednisona, mg/kg/día	0,9±0,4	0,9±0,2	0,97
Duración de tratamiento con prednisona, meses	15±6	10±7	0,14
Mediana de dosis de MMF, mg/día	1000±500	1500±500	0,01
Duración de tratamiento con MMF, meses	14 [7–37]	18 [9–26]	0,61
Análisis genético-molecular del complemento			
Alteraciones del complemento, N (%)			
Sin alteraciones	15 (46)	4 (44)	0,96
Variantes de significado incierto	14 (42)	3 (33)	0,66
Variantes patogénicas	4 (12)	2 (22)	0,46
Autoanticuerpos, N (%)			
Factor nefrítico C3	6 (18)	2 (22)	0,85
Anticuerpos anti-factor H	5 (15)	0 (0)	0,22

Abreviaturas: AUA: Alteraciones urinarias asintomáticas; EDD: enfermedad por depósitos densos; GC3: glomerulopatía C3; GNC3: glomerulonefritis C3; MMF: micofenolato mofetil

Tabla 4.14: Regresión de Cox de los principales determinantes de ausencia de respuesta al tratamiento con esteroides y micofenolato mofetil*.

Variable	<i>Univariable</i>		<i>Multivariable</i>	
	Hazard ratio (95% CI)	P	Hazard ratio (95% CI)	P
Sexo	29,64 (1,139–71,49)	0,042		
Edad	1,178 (0,982–1,413)	0,077		
GNC3 / EDD	2,558 (0,089–73,84)	0,584		
Creatinina sérica	0,774 (0,328–1,826)	0,558		
Proteinuria/24h	1,325 (1,052–1,669)	0,017	1,259 (1,076–1,472)	0,004
Variantes patogénicas complemento	0,137 (0,016–1,199)	0,073		
Autoanticuerpos contra componentes del complemento	0,013 (0,000–0,668)	0,031		
Glomerulosclerosis	0,9595 (0,844–1,090)	0,524		
Fibrosis intersticial/atrofia tubular	1,956 (0,520–7,362)	0,321		

*Número de eventos: 9

Abreviaturas: GNC3: glomerulonefritis C3; IC: intervalo de confianza; EDD: enfermedad por depósitos densos;

Figura 4.14. Evolución de creatinina, albúmina, niveles séricos de C3 y proteinuria en pacientes tratados con esteroides y micofenolato mofetil, de acuerdo al desarrollo de remisión.

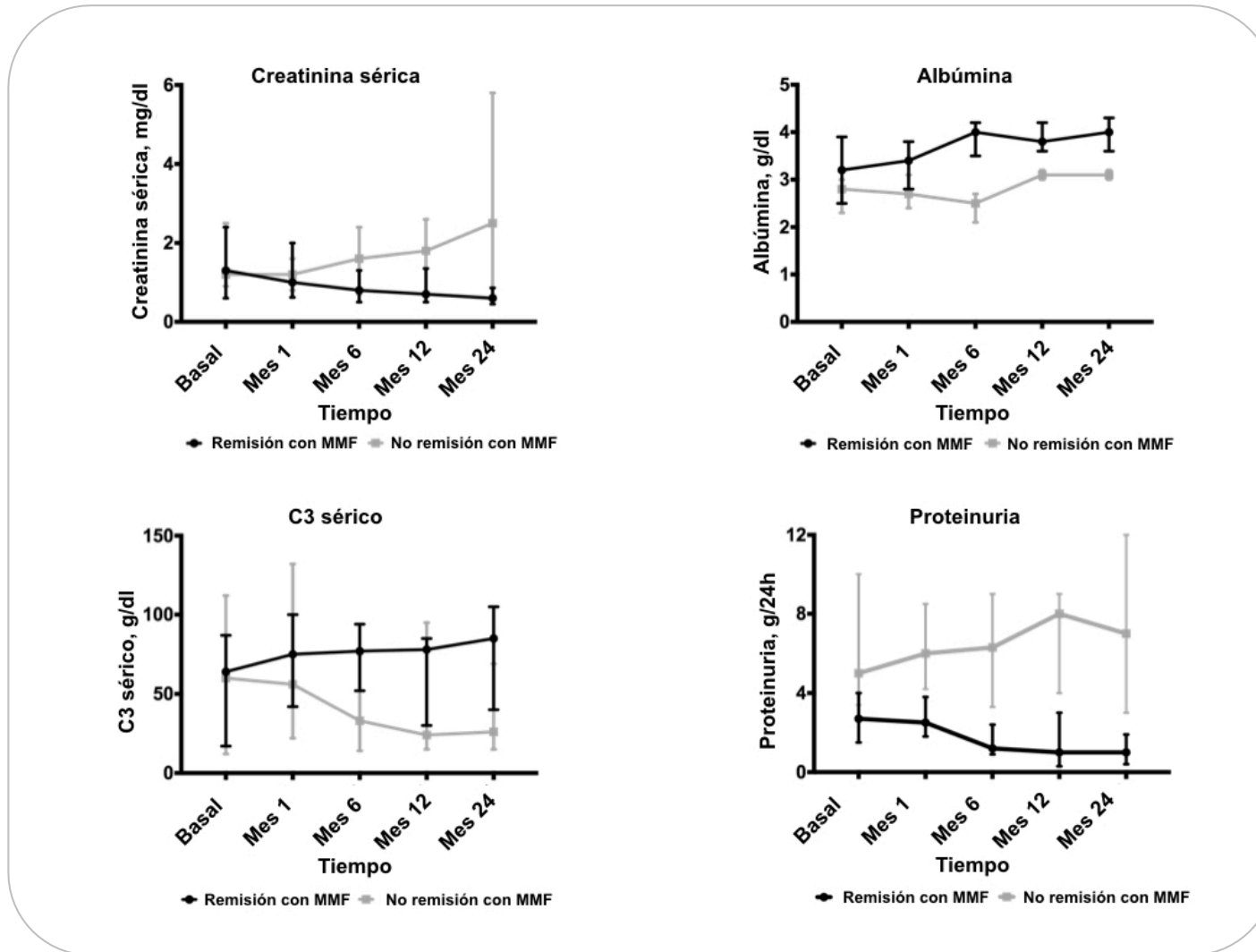
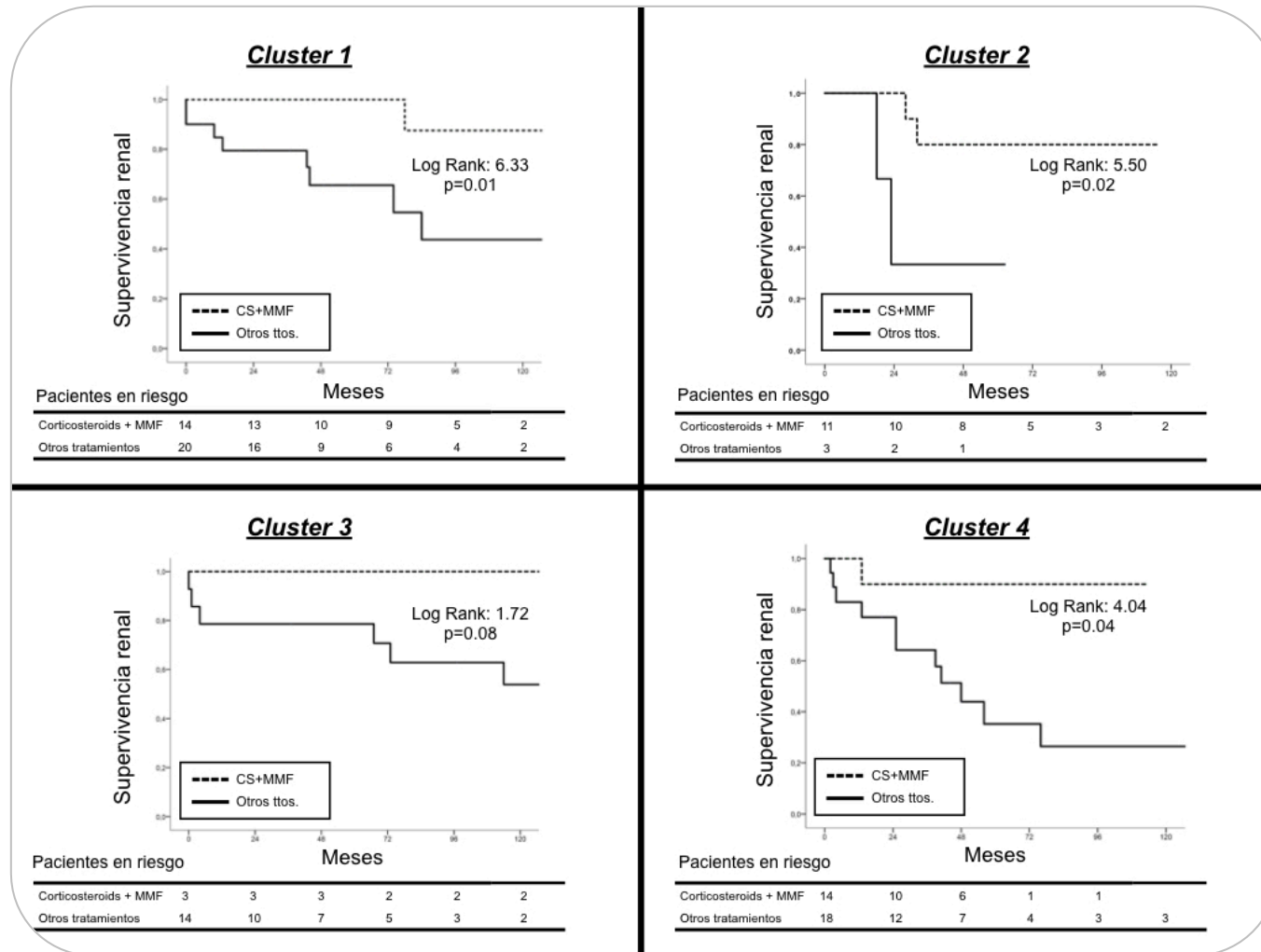


Figura 4.15. Curvas de supervivencia renal en los diferentes “clusters”, de acuerdo al tratamiento con esteroides y micofenolato mofetil u otros tratamientos.



4.8 Recidiva de la enfermedad

En conjunto, 15 pacientes (33%) de los 46 casos que habían alcanzado remisión de la enfermedad presentaron una recidiva en una mediana de 40 meses (rango intercuartílico 16–135 meses). En la **Tabla 4.15** se muestran las principales características de los pacientes de acuerdo al desarrollo o no de recidiva de la enfermedad. En los pacientes que no presentaron recidiva se observó una tendencia no significativa a tener una peor función renal basal, así como un mayor porcentaje de factor nefrítico C3.

El tratamiento prescrito a los pacientes que presentaron recidiva de la enfermedad fue: 11 casos esteroides y MMF, 3 casos otros inmunosupresores incluyendo ciclofosfamida (1), anticalcineurínico (1) y azatioprina (1), y 1 caso eculizumab.

Once pacientes de los 33 (33%) que alcanzaron remisión con la pauta de esteroides y MMF presentaron recidiva de la enfermedad en una mediana de 26 meses (rango intercuartílico 15–79 meses). Como se detalla en la **Tabla 4.16**, los pacientes con recidiva eran más jóvenes y con menor función renal basal. Las dosis medias de esteroides y MMF fueron similares en todos los grupos. Sin embargo, se observó una tendencia no significativa a un menor tiempo de tratamiento inmunosupresor en aquellos pacientes que presentaron recidiva.

Mediante regresión de Cox, un tratamiento más prolongado de MMF se asoció con una menor probabilidad de recidiva de la enfermedad (**Tabla 4.17**).

Tabla 4.15: Características clínicas de los pacientes de acuerdo al desarrollo o no de recidiva de la enfermedad.

<i>Variable</i>	<i>Recidiva de la enfermedad tras remisión previa</i> (n=15)	<i>Sin recidiva de la enfermedad</i> (n=31)	<i>p</i>
Basal			
Edad al diagnóstico, años	19±14	30±20	0,049
Sexo, hombre (%)	7 (47)	14 (45)	0,923
GNC3 / EDD, N	15 / 0	27 / 4	0,145
Presentación clínica, N (%)			0,304
Síndrome nefrótico	8 (53)	9 (29)	
Síndrome nefrítico	4 (27)	10 (32)	
AUA	3 (2)	12 (39)	
Creatinina sérica, mg/dl	0,7 [0,6–1,3]	1 [0,6–1,9]	0,075
Albúmina, g/dl	3,1±0,6	3,3±0,9	0,412
Proteinuria, g/24h	1,9 [1,1–3,4]	3 [2–4,4]	0,354
C3 sérico, mg/dl	44±36	59±42	0,240
C4 sérico, mg/dl	24±12	23±9	0,678
C5b–9 sérico, mg/l	607 [211–1255]	182 [138–474]	0,185
Histopatología			
Glomerulosclerosis, %	0 [0–8]	4 [0–7]	0,691
Fibrosis intersticial/Atrofia tubular, N %			0,216
Ausente	8 (53)	14 (45)	
Leve	7 (47)	12 (39)	
Moderada	0 (0)	3 (10)	
Severa	0 (0)	2 (7)	
Arterio- and arteriolosclerosis, %	2 (13)	4 (13)	0,968
Análisis genético-molecular del complemento			
Alteraciones del complemento, N (%)			
Sin alteraciones	6 (40)	13 (42)	0,901
Variantes de significado incierto	5 (33)	15 (48)	0,334
Variantes patogénicas	4 (27)	3 (10)	0,137
Autoanticuerpos, N (%)			
Factor nefrítico C3	1 (7)	10 (33)	0,062
Anticuerpos anti-factor H	2 (13)	4 (13)	0,968

Abreviaturas: AUA: Alteraciones urinarias asintomáticas; EDD: enfermedad por depósitos densos; GNC3: glomerulonefritis C3.

Tabla 4.16: Características clínicas de los pacientes tratados con esteroides y micofenolato mofetil de acuerdo al desarrollo o no de recidiva de la enfermedad.

<i>Variable</i>	<i>Recidiva de la enfermedad tras remisión previa (n=11)</i>	<i>Sin recidiva de la enfermedad (n=22)</i>	<i>p</i>
Basal			
Edad al diagnóstico, años	20±17	35±20	0,025
Sexo, hombre (%)	5 (46)	11 (50)	0,810
GNC3 / EDD, N	11 / 0	21 / 1	0,480
Presentación clínica, N (%)			0,164
Síndrome nefrótico	6 (55)	5 (23)	
Síndrome nefrítico	3 (27)	8 (36)	
AUA	2 (18)	9 (41)	
Creatinina sérica, mg/dl	0,6 [0,5–1,3]	1,8 [0,8–2,9]	<0,0001
Albúmina, g/dl	3,1±0,6	3,3±0,9	0,565
Proteinuria, g/24h	1,9 [1,1–3,4]	2,9 [1,8–4]	0,265
C3 sérico, mg/dl	42±36	69±44	0,083
C5b-9 sérico, mg/l	600 [220–1549]	295 [182–621]	0,125
Histopatología			
Glomerulosclerosis, %	0 [0–6]	5 [0–11]	0,195
Fibrosis intersticial/Atrofia tubular, N %			0,142
Ausente	6 (55)	8 (36)	
Leve	5 (46)	10 (46)	
Moderada	0 (0)	2 (9)	
Severa	0 (0)	2 (9)	
Análisis genético-molecular del complemento			
Alteraciones del complemento, N (%)			0,720
Sin alteraciones	5 (46)	10 (46)	
Variantes de significado incierto	4 (36)	10 (46)	
Variantes patogénicas	2 (18)	2 (9)	
Autoanticuerpos, N (%)	1 (9)	7 (32)	0,157
Tratamiento			
Media tratamiento inicial esteroides, mg/kg/día	0,9±0,6	0,9±0,3	0,944
Mediana tratamiento inicial esteroides, meses	7 [4–20]	13 [6–18]	0,122
Media tratamiento inicial MMF, mg/día	1110±720	1000±500	0,756
Mediana duración tratamiento MMF, meses	7 [2–17]	11 [7–27]	0,118
Creatinina sérica en remisión, mg/dl	0,7 [0,5–0,8]	0,9 [0,7–1,5]	0,091
C3 sérico en remisión, mg/dl	66±47	81±29	0,442
Albúmina sérica en remisión, g/dl	3,8±0,7	3,9±0,3	0,553
Proteinuria en remisión, g/24h	0,7 [0,2–1,6]	0,9 [0,4–1,5]	0,760

Abreviaturas: AUA: Alteraciones urinarias asintomáticas; EDD: enfermedad por depósitos densos; GNC3: glomerulonefritis C3; MMF: micofenolato mofetil.

Tabla 4.17: Regresión de Cox de los principales determinantes de recidiva en pacientes tratados con esteroides y micofenolato mofetil *

Variable	<i>Univariable</i>		<i>Multivariable</i>	
	Hazard ratio (95% IC)	P	Hazard ratio (95% IC)	P
Edad (por cada incremento de 1 año)	1,013 (0,941–1,087)	0,790		
Sexo (0,1)	3,700 (0,735–8,30)	0,110		
GNC3/EDD	0,990 (0,920–1,090)	0,980		
Creatinina sérica en remisión (por cada incremento de 1 mg/dl)	0,324 (0,012–7,825)	0,480		
Proteinuria de 24 horas (por cada incremento de 1g/24h)	0,230 (0,058–0,975)	0,050		
Duración mediana de tratamiento con esteroides (por cada incremento de 1 mes)	0,990 (0,868–1,140)	0,930		
Duración de tratamiento con MMF (por cada incremento de 1 mes)	0,870 (0,750–0,980)	0,040	0,873 (0,778–0,980)	0,030

*Número de eventos: 11

Abreviaturas: EDD: enfermedad por depósitos densos; GNC3: glomerulonefritis C3; IC: intervalo confianza; MMF: micofenolato mofetil

5

DISCUSIÓN

Contenido

5.1 Características basales y genético-moleculares de la cohorte.....	117
5.2 Factores asociados a progresión de la enfermedad	123
5.3 Respuesta terapéutica	126
5.4 Mecanismo de acción de esteroides y micofenolato mofetil.....	129
5.5 Limitaciones y fortalezas del estudio	130

5.1 Características basales y genético-moleculares de la cohorte

En este estudio se recopiló una gran cohorte de pacientes con GC3, con una caracterización precisa de los diferentes aspectos clínicos, histológicos y terapéuticos que, en conjunto, con el análisis genético y molecular del complemento, permitió analizar los principales determinantes evolutivos y pronósticos de la enfermedad.

La cohorte de estudio incluyó a 97 pacientes procedentes de 35 hospitales españoles, diagnosticados en un periodo de 23 años. La mayor parte de los pacientes incluidos eran de raza caucásica.

Dada la particular patogenia asociada a las formas de GC3 secundarias a gammapatías monoclonales (105), este grupo de pacientes no fue incluido en el estudio.

Aunque el elemento definitorio de la GC3 es el depósito de C3 en la inmunofluorescencia, los resultados de este estudio ponen de manifiesto que se trata de una patología con una gran heterogeneidad, tanto en los hallazgos clínicos y patológicos, como en las alteraciones del complemento o en sus factores desencadenantes.

Concordante con los resultados de otros estudios (79,170), la mayor proporción de pacientes analizados correspondió a GNC3 (84%), frente a EDD que tan sólo representó el 16% de los casos.

Los pacientes con EDD eran significativamente más jóvenes, con mayor frecuencia mujeres, y presentaban una mejor función renal basal, siendo estos resultados coincidentes con los de otros estudios (170). Aunque se observó una tendencia en los pacientes con EDD a tener un mayor consumo sérico de C3 en el momento de la presentación clínica, las diferencias no alcanzaron

significación estadística. Ningún otro elemento distinguió la presentación clínica de los pacientes afectos con GNC3 o EDD.

Con el objetivo de analizar las diferencias en la presentación clínica o la histología según los grupos de edad, los pacientes fueron divididos en tres grupos siguiendo la clasificación realizada en otros estudios (79). Como cabría esperar, la función renal en la presentación clínica fue significativamente peor en los pacientes de mayor edad frente a los pediátricos.

Un hallazgo de interés fue el antecedente de infección previo al diagnóstico de la enfermedad, especialmente en los pacientes en edad pediátrica.

Las infecciones son potentes activadoras del complemento, pudiendo favorecer así su desregulación en pacientes con defectos congénitos o adquiridos en la regulación del complemento (33). Una posible patología con la que es preciso hacer un diagnóstico diferencial en casos de antecedente de infección es la denominada glomerulonefritis postinfecciosa, y cuya presentación clínica puede ser similar a la GC3 (109). Sin embargo, en este estudio no se incluyeron pacientes con deterioros de función renal en el seno de un proceso infeccioso, que presentaran recuperación espontánea de función renal y de C3 tras un periodo de seguimiento.

El patrón de daño histológico más frecuente fue el de glomerulonefritis membranoproliferativa, y tan solo la mitad de los pacientes presentaba depósitos exclusivos de C3 en la inmunofluorescencia, lo que pone de manifiesto la dificultad que en ocasiones puede suponer el diagnóstico de estas patologías en la práctica clínica. Aproximadamente un 25% de las biopsias mostraban proliferación extracapilar.

El estudio histológico de las biopsias renales reveló un menor grado de fibrosis intersticial/atrofia tubular y glomerulosclerosis en los pacientes pediátricos en comparación con el resto de grupos de mayor edad, hallazgos que podrían ser resultado de un diagnóstico más precoz, así como de una mayor reserva funcional renal en los pacientes más jóvenes.

En este estudio, se reprodujo por primera vez el Índice Histopatológico propuesto para la GC3 (79), analizando de forma detallada siete parámetros de actividad y cuatro de cronicidad de la biopsia renal mediante una escala semicuantitativa.

Comparando los hallazgos histológicos por grupos de edad, no se observaron diferencias significativas en los parámetros de actividad, a excepción del grado de inflamación intersticial que era mayor en pacientes adultos. Sin embargo, todos los parámetros de cronicidad mostraron diferencias significativas según estos grupos de edad.

En la comparativa de los parámetros histológicos entre GNC3 y EDD no se observaron diferencias significativas, ni en los parámetros individuales ni en las puntuaciones totales de actividad y cronicidad. Estos resultados son similares a los reportados en el estudio que originalmente propuso este índice (79).

La GC3 es una entidad clínico-patológica secundaria a una desregulación de la vía alternativa del complemento. Los resultados de este estudio muestran que en un porcentaje significativo de casos existían alteraciones genéticas en genes del complemento o autoanticuerpos contra componentes del mismo.

El estudio genético mediante secuenciación de nueva generación identificó hasta 115 variantes raras y tres reordenamientos genómicos en los genes de las proteínas relacionadas con factor H. Del conjunto de variantes, un 18% se consideraron patogénicas, un 46% de significado incierto y un 36% benignas. La incidencia de las alteraciones genéticas fue similar a la reportada en otras cohortes de GC3 (47,77,79,170). La mayor parte de las variantes patogénicas condicionaban niveles reducidos de la proteína y se localizaban en los genes prototípicos (*C3*, *CFH*, *CFI*). Los pacientes con variantes patogénicas fueron diagnosticados a una edad más temprana, aunque las diferencias no alcanzaron la significación estadística.

El porcentaje de autoanticuerpos detectado en este estudio fue ligeramente inferior al reportado en otros estudios (47,78,79,170). Esta discrepancia en la

frecuencia detectada de autoanticuerpos en nuestro estudio podría ser debido a diferentes causas. Por un lado, tan solo se realizó determinación de C3Nef y anticuerpos contra FH al ser los más frecuentemente asociados a la GC3 (70). Además, algunos pacientes habían iniciado tratamiento inmunosupresor en el momento de la extracción de la muestra para estudio, lo que también podría explicar esta discordancia. Sin embargo, aunque algunos estudios han analizado el efecto de la plasmaféresis y la inmunosupresión sobre los C3Nef, no se ha demostrado una clara correlación entre los niveles séricos de C3Nef y el curso de la enfermedad (58,171).

La presencia de C3Nef se asoció significativamente con la EDD, hallazgos concordantes con lo descrito en la literatura (3,47,48).

Otro resultado de interés fue la presencia concomitante de autoanticuerpos en aproximadamente una cuarta parte de los pacientes con variantes patogénicas o variantes de significado incierto, poniendo así de manifiesto la implicación en algunos casos de más de una vía patogénica en el desarrollo de la enfermedad.

Aunque no se encontraron diferencias significativas en la presentación clínica entre los pacientes con variantes genéticas o autoanticuerpos, estos últimos presentaban un mayor consumo sérico de C3 y C5b-9, hallazgo en probable relación con una activación masiva del complemento inducido por el C3Nef.

La ausencia de detección de alteraciones genéticas o autoanticuerpos en casi un 40% de los pacientes es un hallazgo de difícil interpretación, aunque se podría especular con la posible contribución de otros factores inmunológicos en el desarrollo de la enfermedad (172), u otros anticuerpos o factores adquiridos desconocidos. En el momento actual se desconoce qué factores genéticos o adquiridos condicionan el desarrollo de un determinado subtipo histológico de la GC3 (173).

Las pautas terapéuticas prescritas fueron diversas. Una gran proporción de pacientes fueron tratados con una pauta consistente en un ciclo de esteroides

con descenso progresivo durante un periodo aproximado de 3–6 meses, en combinación con MMF durante un periodo variable de aproximadamente un año.

Otro gran grupo de pacientes fue tratado con otros inmunosupresores, entre los que se incluían sólo esteroides, ciclofosfamida, azatioprina, inhibidores de la calcineurina, o rituximab. De forma más infrecuente se empleó eculizumab, o tratamiento conservador sin inmunosupresión.

Las pautas terapéuticas no fueron homogéneas, existiendo importante variabilidad en la prescripción según el criterio del médico responsable y de los efectos adversos desarrollados en cada tratamiento.

Pese al diseño retrospectivo de este estudio se pudo obtener la información sobre los principales efectos adversos asociados al tratamiento, aunque en general la tolerancia clínica fue satisfactoria.

Una importante proporción de complicaciones fueron de etiología infecciosa, que resultaron notablemente más frecuentes en el grupo de pacientes tratados con eculizumab.

El riesgo de infecciones en pacientes con eculizumab está bien documentado, siendo la enfermedad meningocócica diseminada la más temida (174). Por este motivo, es precisa una profilaxis antibiótica (con un derivado penicilínico o quinolona) según las recomendaciones de la ficha técnica y agencias reguladoras del medicamento, así como actualizar la vacunación frente a bacterias encapsulados. La mayor parte de complicaciones infecciosas en estos pacientes fueron procesos respiratorios (neumonía o gripe), seguido de infecciones urinarias. Otra de las complicaciones infecciosas reportadas en pacientes con eculizumab es la enfermedad gonocócica (175), aunque en este estudio no se presentó ningún caso.

Las citopenias constituyeron otra de las complicaciones más frecuentes en los pacientes tratados con inmunosupresión convencional.

Los efectos adversos asociados al MMF fueron similares a los reportados en otras series que evaluaron este tratamiento en la GC3 (139).

5.2 Factores asociados a progresión y remisión de la enfermedad

Durante el periodo de seguimiento, aproximadamente un 40% de los pacientes progresó hacia la ERCT, siendo esta evolución similar a la reportada en otros estudios (47,77,79,80,170).

La tasa de pérdida de función renal fue muy elevada, con una mediana de -8 ml/min/1,73m²/año. El fenotipo clínico de los pacientes que alcanzaron ERCT se caracterizó por un mayor grado de deterioro de función renal en el momento del diagnóstico, así como mayor proteinuria y cronicidad en la biopsia renal, siendo estos hallazgos comunes a otras enfermedades glomerulares o procesos patológicos sistémicos.

Las manifestaciones clínicas iniciales de la GC3 pueden ser poco expresivas, por lo que, en ocasiones su diagnóstico puede verse retrasado. En este estudio no se incluyó la demora diagnóstica al no disponer de este dato en todos los pacientes.

En el análisis multivariable, los principales determinantes de desarrollo de ERCT fueron la función renal basal expresada con la creatinina sérica, el grado total de cronicidad en la biopsia renal y el tratamiento con una pauta diferente a los esteroides y MMF.

De forma característica, no se observaron diferencias en la supervivencia renal entre los pacientes con GNC3 y EDD. Aunque en las primeras series de casos de GC3 se describía una significativa peor evolución de los pacientes con EDD (47), estudios posteriores no han podido confirmar estos resultados en cuanto a la supervivencia renal (79,80).

La proteinuria, reconocido factor pronóstico en diferentes patologías glomerulares, tampoco entró a formar parte de los mejores determinantes de desarrollo de ERCT, siendo estos hallazgos concordantes con lo encontrado en otros estudios (79,80).

La presencia de variantes patogénicas en genes del complemento o de autoanticuerpos contra los reguladores del complemento tampoco tuvieron una influencia pronóstica independiente en la supervivencia renal.

Un mayor grado de actividad y menor cronicidad en la biopsia renal en el momento del diagnóstico podría sugerir una mayor probabilidad de respuesta terapéutica. Sin embargo, en este estudio, aunque la puntuación total de cronicidad mostró ser un determinante pronóstico independiente, la puntuación total de actividad no entró a formar parte de los mejores determinantes en el análisis multivariable. En el estudio de Bomback *et al.* ambos índices fueron determinantes pronósticos independientes en uno de los modelos (79), aunque el tratamiento inmunosupresor fue introducido en el modelo multivariable como variable categórica (sin clasificar por grupos terapéuticos), lo que en parte podría haber enmascarado el posible beneficio terapéutico de alguna de las pautas.

Como se detalla en la siguiente sección, el tratamiento con una pauta diferente al de esteroides y MMF se asoció de forma independiente con el desarrollo de ERCT.

Un estudio de la Universidad de Columbia que analizó la efectividad de la pauta de esteroides y MMF en esta entidad, encontró que los pacientes que respondieron al tratamiento presentaban niveles séricos basales más elevados de C5b-9 soluble (137). Los autores especulaban con una mayor probabilidad de respuesta a esta pauta en aquellos casos con una mayor actividad de la vía alternativa del complemento (137). La principal limitación de este estudio es que dicho subanálisis se realizó en un grupo de tan solo 13 pacientes. En nuestro estudio no pudimos reproducir dichos hallazgos, aunque existían

importantes diferencias en las características de los pacientes incluidos. Aunque la edad de los pacientes era similar al del mencionado estudio, su cohorte era multiétnica, presentaban una mejor función renal basal, el tiempo de seguimiento era inferior, y tan sólo un pequeño porcentaje de casos tenían estudio genético del complemento.

Durante el periodo de estudio, aproximadamente un 47% de los pacientes alcanzó algún tipo de remisión de la enfermedad, la mayor parte de ellos parcial (29%), en una mediana de aproximadamente un año desde el diagnóstico de la enfermedad. Esta tasa de remisión fue superior en los pacientes tratados con la pauta de esteroides y MMF, respecto al resto de tratamientos.

Otros determinantes asociados al desarrollo de remisión fueron una edad más joven al diagnóstico y la proteinuria basal. Aunque los pacientes que no alcanzaron remisión presentaban valores de creatinina sérica basal más elevada, este parámetro no entró a formar parte de los mejores determinantes. En este sentido, se podría especular con la posible mejoría de la inflamación glomerular e intersticial responsable de la elevación de productos nitrogenados tras el inicio del tratamiento con esteroides y MMF.

Las alteraciones genético-moleculares subyacentes tuvieron una influencia relevante en esta variable resultado. Mientras que los pacientes portadores de variantes patogénicas en genes del complemento alcanzaron con mayor frecuencia remisión parcial de la enfermedad, los pacientes con autoanticuerpos presentaron con mayor frecuencia remisión completa. Estos hallazgos son originales de este estudio, aunque tendrán que ser confirmados en otros estudios. La principal limitación de los estudios de cohortes de GC3 publicados hasta la fecha y que han analizado el efecto de determinadas pautas terapéuticas sobre la evolución renal de pacientes, es que tan sólo un pequeño porcentaje de casos disponían de estudio genético y molecular del complemento (79,137,139,170).

5.3 Respuesta terapéutica

Los resultados de este estudio confirman la eficacia terapéutica de la pauta de esteroides y MMF en esta entidad.

El tratamiento con esteroides y MMF se asoció con un mayor porcentaje de remisiones de la enfermedad, en comparación con otras pautas terapéuticas. Además, la probabilidad de desarrollar ERCT fue significativamente más baja con esta pauta de inmunosupresión. En los análisis multivariantes, el tratamiento con esteroides y MMF se asoció de forma independiente con el desarrollo de remisión de la enfermedad, así como un menor riesgo de desarrollo de ERCT.

Los pacientes tratados con esta pauta terapéutica partían de una mejor función renal basal y menor grado de cronicidad (menor fibrosis intersticial/atrofia tubular y glomerulosclerosis) en la biopsia renal. Para compensar el posible sesgo de indicación en estos pacientes, se empleó el emparejamiento por índice de propensión, comparando un subgrupo de pacientes tratados con esteroides y MMF con otro subgrupo tratados con otras terapias, tras equilibrar la proporción de las principales variables pronósticas entre los grupos. En este subanálisis se volvió a encontrar una superioridad terapéutica de la pauta de esteroides y MMF.

Otro hallazgo destacable de este estudio fue que el beneficio terapéutico de esta pauta fue independiente de los principales factores patogénicos de la enfermedad. Tanto la supervivencia renal como la remisión fueron superiores en los pacientes con variantes patogénicas en genes del complemento o autoanticuerpos, tratados con esteroides y MMF.

Con el fin de valorar el posible beneficio terapéutico de esta pauta según la reciente clasificación por *clusters* (77), se dividió a los pacientes de la cohorte

en cuatro subgrupos (conglomerados) empleando el algoritmo propuesto por los autores. La supervivencia renal fue superior en los pacientes tratados con esteroides y MMF, en comparación con el resto de inmunosupresores, independientemente del *cluster* analizado.

En conjunto, estos hallazgos sugieren que este esquema terapéutico tendría un efecto pronóstico favorable, independientemente del mecanismo patogénico y su presentación histológica.

El grado de proteinuria fue el único factor significativamente asociado a una falta de respuesta terapéutica a la pauta de esteroides y MMF. Estos hallazgos son concordantes con los publicados en otro estudio (137), pese a las diferencias basales en los pacientes estudiados, como se ha mencionado en párrafos previos.

Otros dos estudios publicados con anterioridad no pudieron demostrar una superioridad terapéutica de esteroides y MMF frente a otras terapias (139,170). Sin embargo, en ninguno de los dos estudios se excluyeron a pacientes con antecedentes de gammapatía monoclonal, y en uno de ellos (170) se incluyeron, además, pacientes con resultados positivos para otros anticuerpos como anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilo (ANCA), antinucleares (ANA), anti-estreptolisina-O (ASLO) y con consumo sérico adicional de C4. Estos hallazgos podrían poner en cuestión el diagnóstico verdadero de una GC3, sugiriendo más bien el diagnóstico alternativo de otras patologías como vasculitis, lupus eritematoso sistémico o glomerulonefritis postinfecciosa, con activación secundaria del complemento. Otras diferencias incluyeron una edad media al diagnóstico más elevada, un menor porcentaje de EDD, un menor tiempo de seguimiento y, sobre todo, un menor número de pacientes tratados (139,170).

La dosis inicial de MMF prescrita en los pacientes que alcanzaron remisión fue de 1000 mg/día, aunque esta dosis fue ajustada durante el seguimiento según el criterio del médico tratante, en función de la tolerancia y/o aparición de

efectos adversos. La dosis objetivo prescrita en otras series publicadas fue de 2000 mg/día, aunque esta dosis fue ajustada de manera individual y su dosis real administrada tampoco se reporta (137,139).

Comparando esta dosis de MMF con las dosis objetivo pautadas en otras patologías autoinmunes sistémicas como la nefritis lúpica (176,177), resulta ciertamente inferior. Sin embargo, el curso clínico de la GC3 puede ser más variable que en el caso de la nefritis lúpica y, en cualquier caso, el diseño del presente estudio tampoco permite definir la dosis óptima de este tratamiento para esta enfermedad.

Los hallazgos de este estudio sugieren que una duración más prolongada del tratamiento inmunosupresor con MMF podría inducir mejores resultados, por lo que, en determinados casos podría plantearse como terapia de mantenimiento. Las recidivas de la enfermedad fueron significativamente más frecuentes en pacientes que recibieron MMF durante menos tiempo y la experiencia clínica en el trasplante renal han mostrado que este tratamiento se puede administrar de forma prolongada con un adecuado perfil de seguridad.

5.4 Mecanismo de acción de esteroides y micofenolato mofetil

El MMF constituye un profármaco del ácido micofenólico, con capacidad para inhibir la enzima inosin-monofosfato deshidrogenasa, bloqueando así la síntesis de purinas en los linfocitos B y T (178).

El MMF se prescribe con frecuencia en diferentes patologías autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico, donde importantes ensayos clínicos han mostrado una elevada eficacia y tolerancia (176,179).

Aunque sus propiedades terapéuticas residen en la capacidad para inhibir la proliferación de linfocitos, se han descrito otras propiedades farmacológicas tanto en estudios *in vivo* como *in vitro* (178). Por ejemplo, el MMF inhibe la expresión de glucoproteínas y moléculas de adhesión a nivel endotelial, dificultando así el reclutamiento leucocitario al lugar de inflamación (180–182). Además, se ha descrito la capacidad de inhibir la maduración de las células dendríticas (183), la proliferación de células mesangiales (184), así como la hipertrofia y apoptosis de los podocitos (185).

El MMF también ha mostrado tener propiedades anti-fibróticas a través de la inhibición de la proliferación fibroblástica (186), y la regulación al alza de la endopeptidasa neutral, encargada de la degradación de la angiotensina II (187).

En la GC3, la activación descontrolada de la vía alternativa del complemento induce inflamación a nivel endotelial y mesangial, que en último término desencadena el reclutamiento leucocitario (neutrófilos, macrófagos...) en el microentorno glomerular (188–191), y el daño y disfunción podocitaria (192). En este sentido, el MMF podría reducir la inflamación en el microentorno glomerular de forma inespecífica, impidiendo además el desarrollo de fibrosis.

5.5 Limitaciones y fortalezas del estudio

Este trabajo presenta importantes limitaciones que se muestran a continuación:

- 1) Debido al diseño retrospectivo y de observación, no se pudieron establecer relaciones causales firmes.
- 2) Los pacientes no fueron asignados de manera aleatoria a recibir cada uno de los grupos de tratamiento, aunque se intentó compensar el posible sesgo de indicación a través del emparejamiento por índice de propensión.
- 3) La detección de anticuerpos se limitó al factor nefrítico C3 y anti-factor H, y no en todos los pacientes pudo realizarse su determinación en el debut de la enfermedad.
- 4) El predominio de pacientes de raza caucásica y la mayor proporción de GNC3 frente a EDD podría limitar la generalización de alguno de los resultados.

A pesar de estas limitaciones, el estudio tiene importantes fortalezas: Se recopiló una amplia serie de casos de una patología muy infrecuente como es la GC3, con una recogida detallada de las características clínicas, histológicas y terapéuticas a lo largo de la evolución, lo que permitió analizar los principales determinantes pronósticos. Además, todos los pacientes tenían estudio genético y molecular del complemento.

6

CONCLUSIONES

- 1) La GC3 es una entidad clínico-patológica con una gran heterogeneidad tanto en su presentación clínica como en sus hallazgos histológicos.
- 2) De acuerdo a los resultados de este estudio, es posible encontrar variantes patogénicas en genes del complemento en aproximadamente un 22% de los casos, mientras que la presencia de autoanticuerpos frente a componentes del complemento está presente en un 30% de los pacientes. Aunque la presencia de variantes genéticas en los genes del complemento es poco frecuente en pacientes con GC3, probablemente resulte determinante para el desarrollo de la enfermedad cuando concurren otros factores desencadenantes como las infecciones.
- 3) El estudio exhaustivo de la biopsia renal mediante el Índice Histopatológico de la GC3 aporta información pronóstica de gran importancia.
- 4) En un periodo de seguimiento aproximado de cuatro años, un 47% de los pacientes alcanzó algún tipo de remisión (29% parcial vs. 19% completa). Los principales determinantes de desarrollo de remisión fueron el sexo femenino, una edad más temprana, menor grado de proteinuria, y tratamiento inmunosupresor con esteroides y MMF.
- 5) Durante un periodo de seguimiento aproximado de cuatro años, un 41% de los pacientes desarrolló ERCT. Los principales determinantes de desarrollo de ERCT fueron la creatinina basal, el índice de cronicidad de la biopsia renal, y el tratamiento inmunosupresor diferente a esteroides y MMF.

- 6) Los resultados de este estudio confirman el beneficio terapéutico de la pauta de esteroides y MMF en esta entidad, tanto en la probabilidad de alcanzar remisión de la enfermedad como en la de no desarrollar ERCT. Esta superioridad terapéutica persistió tras el emparejamiento por índice de propensión ajustado por las principales variables pronósticas (creatinina basal, fibrosis intersticial/atrofia tubular, glomerulosclerosis y proteinuria).
- 7) Este beneficio terapéutico sería independiente a la presencia de alteraciones genéticas o autoanticuerpos contra componentes del complemento, postulándose un mecanismo antiinflamatorio y antifibrótico inespecífico del MMF a nivel glomerular e intersticial.
- 8) Los pacientes con variantes patogénicas en los genes del complemento tan solo alcanzarían remisión parcial de la enfermedad, mientras que la remisión completa fue más frecuente en las formas mediadas por autoanticuerpos.
- 9) Una proteinuria más elevada en el momento del diagnóstico se asoció con una menor probabilidad de respuesta a esta pauta terapéutica.
- 10) Aproximadamente un tercio de los pacientes que alcanzaron algún tipo de remisión de la enfermedad pueden presentar una recidiva. Un tratamiento más prolongado de MMF se asoció con una menor probabilidad de recidiva de la enfermedad a lo largo de la evolución.

Bibliografía

1. Richard Kitching A, Hutton HL. The players: Cells involved in glomerular disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016;11(9):1664–74.
2. Thurman JM, Nester CM. All things complement. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016;11(10):1856–66.
3. Bomback AS, Appel GB. Pathogenesis of the C3 glomerulopathies and reclassification of MPGN. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(11):634–42.
4. Medzhitov R, Janeway CAJ. Innate immunity: Minireview the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*. 1997;91(3):295–8.
5. Hoffmann J, Akira S. Innate immunity. *Curr Opin Immunol*. 2013;25(1):1–3.
6. Hato T, Dagher PC. How the innate immune system senses trouble and causes trouble. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(8):1459–69.
7. Yatim KM, Lakkis FG. A brief journey through the immune system. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(7):1274–81.
8. Dranoff G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(1):11–22.
9. Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement system part I - molecular mechanisms of activation and regulation. *Front Immunol*. 2015;6(JUN):1–30.
10. Noris M, Remuzzi G. Overview of complement activation and regulation.

- Semin Nephrol. 2013;33(6):479–92.
11. Klos A, Tenner AJ, Johswich KO, Ager RR, Reis ES, Köhl J. The role of the anaphylatoxins in health and disease. *Mol Immunol.* 2009;46(14):2753–66.
 12. Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement system part II: Role in immunity. *Front Immunol.* 2015;6(MAY):1–26.
 13. Coulthard LG, Woodruff TM. Is the Complement Activation Product C3a a Proinflammatory Molecule? Re-evaluating the Evidence and the Myth. *J Immunol.* 2015;194(8):3542–8.
 14. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: A key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol.* 2010;11(9):785–97.
 15. Morgan BP, Harris CL. Complement, a target for therapy in inflammatory and degenerative diseases. Vol. 14, *Nature Reviews Drug Discovery.* 2015. p. 857–77.
 16. Pangburn MK, Schreiber RD M-EH. Formation of the initial C3 convertase of the alternative complement pathway. Acquisition of C3b-like activities by spontaneous hydrolysis of the putative thioester in native C3. *J Exp Med.* 1981;154(September):856–67.
 17. Janssen BJC, Huizinga EG, Raaijmakers HCA, Roos A, Daha MR, Nilsson-Ekdahl K, et al. Structures of complement component C3 provide insights into the function and evolution of immunity. *Nature.* 2005;437(7058):505–11.

18. Nishida N, Walz T, Springer TA. Structural transitions of complement component C3 and its activation products. *Proc Natl Acad Sci.* 2006;103(52):19737–42.
19. Rodriguez E, Nan R, Li K, Gor J, Perkins SJ. A revised mechanism for the activation of complement C3 to C3b: A molecular explanation of a disease-associated polymorphism. *J Biol Chem.* 2015;290(4):2334–50.
20. Law SKA, Dodds AW. The internal thioester and the covalent binding properties of the complement proteins C3 and C4. *Protein Sci.* 2008;6(2):263–74.
21. Goligorsky MS, Patschan D, Kuo MC. Weibel-Palade bodies: sentinels of acute stress. *Nat Rev Nephrol.* 2009;5(7):423–6.
22. Morigi M, Galbusera M, Gastoldi S, Locatelli M, Buelli S, Pezzotta A, et al. Alternative Pathway Activation of Complement by Shiga Toxin Promotes Exuberant C3a Formation That Triggers Microvascular Thrombosis. *J Immunol.* 2011;187(1):172–80.
23. Fearon DT, Austen KF. Properdin: binding to C3b and stabilization of the C3b-dependent C3 convertase. *J Exp Med.* 1975;142(4):856–63.
24. Camous L, Roumenina L, Bigot S, Brachemi S, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L, et al. Complement alternative pathway acts as a positive feedback amplification of neutrophil activation. Complement alternative pathway acts as a positive feedback amplification of neutrophil activation. *Blood.* 2011;117(4):1340–9.
25. O’Flynn J, Dixon KO, Faber Krol MC, Daha MR, Van Kooten C. Myeloperoxidase directs properdin-mediated complement activation. *J*

- Innate Immun. 2014;6(4):417–25.
26. Pawluczko AW, Lindorfer MA, Waitumbi JN, Taylor RP. Hematin Promotes Complement Alternative Pathway-Mediated Deposition of C3 Activation Fragments on Human Erythrocytes: Potential Implications for the Pathogenesis of Anemia in Malaria. *J Immunol.* 2007;179(8):5543–52.
 27. Frimat M, Tabarin F, Dimitrov JD, Poitou C, Halbwachs-mecarelli L, Fremeaux-bacchi V, et al. Complement activation by heme as a secondary hit for atypical hemolytic uremic syndrome Complement activation by heme as a secondary hit for atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood.* 2013;122(2):282–92.
 28. Schwaeble W, Huemer HP, Möst J, Dierich MP, Ströbel M, Claus C, et al. Expression of properdin in human monocytes. *Eur J Biochem.* 1994;219(3):759–64.
 29. Stover CM, Luckett JC, Echtenacher B, Dupont A, Figgitt SE, Brown J, et al. Properdin Plays a Protective Role in Polymicrobial Septic Peritonitis. *J Immunol.* 2008;180(5):3313–8.
 30. Rodríguez De Córdoba S, Esparza-Gordillo J, Goicoechea De Jorge E, Lopez-Trascasa M, Sánchez-Corral P. The human complement factor H: Functional roles, genetic variations and disease associations. *Mol Immunol.* 2004;41(4):355–67.
 31. Perkins SJ, Nan R, Li K, Khan S, Miller A. Complement Factor H-ligand interactions: Self-association, multivalency and dissociation constants. *Immunobiology.* 2012;217(2):281–97.
 32. Józsi M, Tortajada A, Uzonyi B, Goicoechea de Jorge E, Rodríguez de

- Córdoba S. Factor H-related proteins determine complement-activating surfaces. *Trends Immunol.* 2015;36(6):374–84.
33. Goicoechea de Jorge E, Caesar JJE, Malik TH, Patel M, Colledge M, Johnson S, et al. Dimerization of complement factor H-related proteins modulates complement activation in vivo. *Proc Natl Acad Sci.* 2013;110(12):4685–90.
34. Lambris JD, Lao Z, Oglesby TJ, Atkinson JP, Hack CE, Becherer JD. Dissection of CR1, factor H, membrane cofactor protein, and factor B binding and functional sites in the third complement component. *J Immunol.* 1996;156(12):4821–32.
35. Liszewski MK, Leung M, Cui W, Subramanian VB, Parkinson J, Barlow PN, et al. Dissecting sites important for complement regulatory activity in membrane cofactor protein (MCP; CD46). *J Biol Chem.* 2000;275(48):37692–701.
36. Kim DD, Song WC. Membrane complement regulatory proteins. *Clin Immunol.* 2006;118(2–3):127–36.
37. Khera R, Das N. Complement Receptor 1: Disease associations and therapeutic implications. *Mol Immunol.* 2009;46(5):761–72.
38. Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, Esmon CT, Esmon NL, Ferrell G, et al. Thrombomodulin Mutations in Atypical Hemolytic–Uremic Syndrome. *N Engl J Med.* 2009;361(4):345–57.
39. Conway EM. Thrombomodulin and its role in inflammation. *Semin Immunopathol.* 2012;34(1):107–25.
40. Campbell WD, Lazoura E, Okada N, Okada H. Inactivation of C3a and

- C5a Octapeptides by Carboxypeptidase R and Carboxypeptidase N. *Microbiol Immunol.* 2002;46(2):131–4.
41. Angioi A, Fervenza FC, Sethi S, Zhang Y, Smith RJ, Murray D, et al. Diagnosis of complement alternative pathway disorders. *Kidney Int.* 2016;89(2):278–88.
 42. Noris M, Galbusera M, Gastoldi S, Macor P, Banterla F, Bresin E, et al. Dynamics of complement activation in aHUS and how to monitor eculizumab therapy. *Blood.* 2014 Sep 11;124(11):1715–26.
 43. Sethi S, Smith RJH, Dillon JJ, Fervenza FC. C3 Glomerulonephritis Associated With Complement Factor B Mutation. *Am J Kidney Dis.* 2015 Mar;65(3):520–1.
 44. Abrera-Abeleda MA, Nishimura C, Frees K, Jones M, Maga T, Katz LM, et al. Allelic Variants of Complement Genes Associated with Dense Deposit Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(8):1551–9.
 45. Grumach AS, Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol.* 2014;61(2):110–7.
 46. Sánchez-Corral P, González-Rubio C, Rodríguez De Córdoba S, López-Trascasa M. Functional analysis in serum from atypical Hemolytic Uremic Syndrome patients reveals impaired protection of host cells associated with mutations in factor H. *Mol Immunol.* 2004;41(1):81–4.
 47. Servais A, Noël LH, Roumenina LT, Le Quintrec M, Ngo S, Dragon-Durey MA, et al. Acquired and genetic complement abnormalities play a critical role in dense deposit disease and other C3 glomerulopathies. *Kidney Int.*

2012;82(4):454–64.

48. Sethi S, Fervenza FC, Zhang Y, Zand L, Vrana JA, Nasr SH, et al. C3 glomerulonephritis: Clinicopathological findings, complement abnormalities, glomerular proteomic profile, treatment, and follow-up. *Kidney Int.* 2012;82(4):465–73.
49. Caprioli Jessica, Noris Marina , Brioschi Simona PG. Genetics of HUS : The impact of MCP , CFH , and IF mutations on clinical presentation , response to treatment , and outcome. 2013;108(December):1267–80.
50. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(10):1844–59.
51. Geerdink LM, Westra D, Van Wijk JAE, Dorresteijn EM, Lilién MR, Davin JC, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome in children: Complement mutations and clinical characteristics. *Pediatr Nephrol.* 2012;27(8):1283–91.
52. Bresin E, Rurali E, Caprioli J, Sanchez-Corral P, Fremeaux-Bacchi V, Rodriguez de Cordoba S, et al. Combined Complement Gene Mutations in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Influence Clinical Phenotype. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24(3):475–86.
53. S. Reis E, Falcão DA, Isaac L. Clinical aspects and molecular basis of primary deficiencies of complement component C3 and its regulatory proteins factor I and factor H. *Scand J Immunol.* 2006;63(3):155–68.
54. Mollnes TE, Jokiranta TS, Truedsson L, Nilsson B, Rodriguez de Cordoba

- S, Kirschfink M. Complement analysis in the 21st century. *Mol Immunol*. 2007;44(16):3838–49.
55. Zhang Y, Nester CM, Martin B, Skjoedt MO, Meyer NC, Shao D, et al. Defining the complement biomarker profile of C3 glomerulopathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(11):1876–82.
56. Naked GM, Florido MPC, Ferreira De Paula P, Vinet AM, Inostroza JS, Isaac L. Deficiency of human complement factor I associated with lowered factor H. *Clin Immunol*. 2000;96(2):162–7.
57. Nozal P, López-Trascasa M. Autoanticuerpos frente a proteínas de la vía alternativa del complemento en enfermedad renal. *Nefrología*. 2016;36(5):489–95.
58. Corvillo F, Okrój M, Nozal P, Melgosa M, Sánchez-Corral P, López-Trascasa M. Nephritic Factors: An Overview of Classification, Diagnostic Tools and Clinical Associations. *Front Immunol*. 2019 Apr 24;10(APR).
59. Strobel S, Zimmering M, Papp K, Prechl J, Józsi M. Anti-factor B autoantibody in dense deposit disease. *Mol Immunol*. 2010;47(7–8):1476–83.
60. Bomback AS, Smith RJ, Barile GR, Zhang Y, Heher EC, Herlitz L, et al. Eculizumab for dense deposit disease and C3 glomerulonephritis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(5):748–56.
61. Spitzer RE, Stitzel AE, Tsokos GC. Evidence that production of autoantibody to the alternative pathway C3 convertase is a normal physiologic event. *J Pediatr*. 1990 May;116(5):S103-8.
62. Gewurz AT, Imherr SM, Strauss S, Gewurz H, Mold C. C3 nephritic factor

- and hypocomplementaemia in a clinically healthy individual. *Clin Exp Immunol.* 1983;54(1):253–8.
63. Dragon-Durey MA, Blanc C, Garnier A, Hofer J, Sethi SK, Zimmerhackl LB. Anti-factor H autoantibody - Associated hemolytic uremic syndrome: Review of literature of the autoimmune form of HUS. *Semin Thromb Hemost.* 2010;36(6):633–40.
64. Bridoux F, Desport E, Frémeaux-Bacchi V, Chong CF, Gombert JM, Lacombe C, et al. Glomerulonephritis with isolated C3 deposits and monoclonal gammopathy: A fortuitous association? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(9):2165–74.
65. Meri S, Koistinen V, Miettinen A, Törnroth T, Seppälä IJ. Activation of the alternative pathway of complement by monoclonal lambda light chains in membranoproliferative glomerulonephritis. *J Exp Med.* 1992 Apr 1;175(4):939–50.
66. Sethi S, Sukov WR, Zhang Y, Fervenza FC, Lager DJ, Miller D V., et al. Dense deposit disease associated with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Am J Kidney Dis.* 2010;56(5):977–82.
67. Tortajada A, Pinto S, Martínez-Ara J, López-Trascasa M, Sánchez-Corral P, De Córdoba SR. Complement factor H variants I890 and L1007 while commonly associated with atypical hemolytic uremic syndrome are polymorphisms with no functional significance. *Kidney Int.* 2012;81(1):56–63.
68. Cook HT. Complement and kidney disease. Vol. 22, *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 2013. p. 295–301.

69. Fakhouri F, Frémeaux-Bacchi V, Noël LH, Cook HT, Pickering MC. C3 glomerulopathy: A new classification. Vol. 6, Nature Reviews Nephrology. Nature Publishing Group; 2010. p. 494–9.
70. Smith RJH, Appel GB, Blom AM, Cook HT, D’Agati VD, Fakhouri F, et al. C3 glomerulopathy — understanding a rare complement-driven renal disease. *Nat Rev Nephrol*. 2019 Mar 28;15(3):129–43.
71. Servais A, Frémeaux-Bacchi V, Lequintrec M, Salomon R, Blouin J, Knebelmann B, et al. Primary glomerulonephritis with isolated C3 deposits: A new entity which shares common genetic risk factors with haemolytic uraemic syndrome. *J Med Genet*. 2007;44(3):193–9.
72. Sethi S, Fervenza FC. Membranoproliferative Glomerulonephritis — A New Look at an Old Entity. *N Engl J Med*. 2012;366(12):1119–31.
73. Hou J, Markowitz GS, Bomback AS, Appel GB, Herlitz LC, Barry Stokes M, et al. Toward a working definition of C3 glomerulopathy by immunofluorescence. *Kidney Int*. 2014;85(2):450–6.
74. Pickering MC, D’agati VD, Nester CM, Smith RJ, Haas M, Appel GB, et al. C3 glomerulopathy: Consensus report. *Kidney Int*. 2013;84(6):1079–89.
75. Goodship THJ, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Frémeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: conclusions from a “Kidney Disease: Improving Global Outcomes” (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int*. 2017;91(3):539–51.
76. Cook HT. Evolving complexity of complement-related diseases: C3

- glomerulopathy and atypical haemolytic uremic syndrome. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2018;27(3):165–70.
77. Iatropoulos P, Daina E, Curreri M, Piras R, Valoti E, Mele C, et al. Cluster Analysis Identifies Distinct Pathogenetic Patterns in C3 Glomerulopathies/Immune Complex–Mediated Membranoproliferative GN. *J Am Soc Nephrol*. 2018 Jan;29(1):283–94.
78. Iatropoulos P, Noris M, Mele C, Piras R, Valoti E, Bresin E, et al. Complement gene variants determine the risk of immunoglobulin-associated MPGN and C3 glomerulopathy and predict long-term renal outcome. *Mol Immunol*. 2016;71:131–42.
79. Bomback AS, Santoriello D, Avasare RS, Regunathan-Shenk R, Canetta PA, Ahn W, et al. C3 glomerulonephritis and dense deposit disease share a similar disease course in a large United States cohort of patients with C3 glomerulopathy. *Kidney Int*. 2018;93(4):977–85.
80. Medjeral-Thomas NR, O’Shaughnessy MM, O’Regan JA, Traynor C, Flanagan M, Wong L, et al. C3 glomerulopathy: Clinicopathologic features and predictors of outcome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(1):46–53.
81. Zipfel PF, Skerka C, Chen Q, Wiech T, Goodship T, Johnson S, et al. The role of complement in C3 glomerulopathy. *Mol Immunol*. 2015;67(1):21–30.
82. Jansen JH, Hogasen K, Mollnes TE. Extensive complement activation in hereditary porcine membranoproliferative glomerulonephritis type II (porcine dense deposit disease). *Am J Pathol*. 1993;143(5):1356–65.
83. Hoøgåsen K, Jansen JH, Mollnes TE, Hovdenes J, Harboe M. Hereditary

- porcine membranoproliferative glomerulonephritis type II is caused by factor H deficiency. *J Clin Invest.* 1995;95(3):1054–61.
84. Hegasy GA, Manuelian T, Hogasen K, Jansen JH, Zipfel PF. The molecular basis for hereditary porcine membranoproliferative glomerulonephritis type II: Point mutations in the factor H coding sequence block protein secretion. *Am J Pathol.* 2002;161(6):2027–34.
85. Pickering MC, Cook HT, Warren J, Bygrave AE, Moss J, Walport MJ, et al. Uncontrolled c3 activation causes membranoproliferative glomerulonephritis in mice deficient in complement factor h. *Nat Genet.* 2002;31(4):424–8.
86. Rose KL, Paixao-Cavalcante D, Fish J, Manderson AP, Malik TH, Bygrave AE, et al. Factor I is required for the development of membranoproliferative glomerulonephritis in factor H-deficient mice. *J Clin Invest.* 2008;118(2):608–18.
87. Gale DP, De Jorge EG, Cook HT, Martinez-Barricarte R, Hadjisavvas A, McLean AG, et al. Identification of a mutation in complement factor H-related protein 5 in patients of Cypriot origin with glomerulonephritis. *Lancet.* 2010;376(9743):794–801.
88. Medjeral-Thomas N, Malik TH, Patel MP, Toth T, Terence Cook H, Tomson C, et al. A novel CFHR5 fusion protein causes C3 glomerulopathy in a family without Cypriot ancestry. *Kidney Int.* 2014;85(4):933–7.
89. Malik TH, Lavin PJ, Goicoechea de Jorge E, Vernon KA, Rose KL, Patel MP, et al. A Hybrid CFHR3-1 Gene Causes Familial C3 Glomerulopathy.

- J Am Soc Nephrol. 2012;23(7):1155–60.
90. Tortajada A, Llorca O, De SR, Tortajada A, Yébenes H, Abarategui-garrido C, et al. alters FHR oligomerization and complement regulation
Find the latest version : mutation alters FHR oligomerization and complement regulation. 2013;123(6).
 91. Frémeaux-Bacchi V, Weiss L, Brun P, Kazatchkine MD. Selective disappearance of C3NeF IgG autoantibody in the plasma of a patient with membranoproliferative glomerulonephritis following renal transplantation. Nephrol Dial Transplant. 1994;9(7):811–4.
 92. Jelezarova E, Schlumberger M, Sadallah S, Späth PJ, Schifferli JA, Lutz HU. A C3 convertase assay for nephritic factor functional activity. J Immunol Methods. 2001;251(1–2):45–52.
 93. Ohi H, Watanabe S, Fujita T, Seki M, Hatano M. Detection of C3bBb-stabilizing activity (C3 nephritic factor) in the serum from patients with membranoproliferative glomerulonephritis. J Immunol Methods. 1990;131(1):71–6.
 94. Zhang Y, Meyer NC, Wang K, Nishimura C, Frees K, Jones M, et al. Causes of alternative pathway dysregulation in dense deposit disease. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(2):265–74.
 95. Marinozzi MC, Chauvet S, Le Quintrec M, Mignotet M, Petitprez F, Legendre C, et al. C5 nephritic factors drive the biological phenotype of C3 glomerulopathies. Kidney Int. 2017;92(5):1232–41.
 96. Chen Q, Wiesener M, Eberhardt HU, Hartmann A, Uzonyi B, Kirschfink M, et al. Complement factor H-related hybrid protein deregulates

- complement in dense deposit disease. *J Clin Invest*. 2014;124(1):145–55.
97. Xiao X, Ghossein C, Tortajada A, Zhang Y, Meyer N, Jones M, et al. Familial C3 glomerulonephritis caused by a novel CFHR5-CFHR2 fusion gene. *Mol Immunol*. 2016;77:89–96.
98. Togarsimalemath SK, Sethi SK, Duggal R, Le Quintrec M, Jha P, Daniel R, et al. A novel CFHR1-CFHR5 hybrid leads to a familial dominant C3 glomerulopathy. *Kidney Int*. 2017;92(4):876–87.
99. Schwertz R, Rother U, Anders D, Gretz N, Schärer K, Kirschfink M. Complement analysis in children with idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis: a long-term follow-up. *Pediatr Allergy Immunol*. 2001 Jun;12(3):166–72.
100. Paixão-Cavalcante D, López-Trascasa M, Skattum L, Giclas PC, Goodship TH, De Córdoba SR, et al. Sensitive and specific assays for C3 nephritic factors clarify mechanisms underlying complement dysregulation. *Kidney Int*. 2012;82(10):1084–92.
101. Appel GB, Cook HT, Hageman G, Jennette JC, Kashgarian M, Kirschfink M, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis type II (dense deposit disease): an update. *J Am Soc Nephrol*. 2005 May;16(5):1392–403.
102. Cameron JS, Turner DR, Heaton J, Williams DG, Ogg CS, Chantler C, et al. Idiopathic mesangiocapillary glomerulonephritis. Comparison of types I and II in children and adults and long-term prognosis. *Am J Med*. 1983;74(2):175–92.
103. Riedl M, Thorner P, Licht C. C3 Glomerulopathy. *Pediatr Nephrol*. 2017;32(1):43–57.

104. Zand L, Kattah A, Fervenza FC, Smith RJH, Nasr SH, Zhang Y, et al. C3 glomerulonephritis associated with monoclonal gammopathy: A case series. *Am J Kidney Dis.* 2013;62(3):506–14.
105. Ravindran A, Fervenza FC, Smith RJH, Sethi S. C3 glomerulopathy associated with monoclonal Ig is a distinct subtype. *Kidney Int.* 2018;19–22.
106. Caravaca-Fontán F, Gutiérrez E, Delgado Lillo R, Praga M. Gammopatías monoclonales de significado renal. *Nefrología.* 2017;37(5):465–77.
107. Rabasco C, Cavero T, Román E, Rojas-Rivera J, Olea T, Espinosa M, et al. Effectiveness of mycophenolate mofetil in C3 glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2015;88(5):1153–60.
108. Nasr SH, Valeri AM, Appel GB, Sherwinter J, Stokes MB, Said SM, et al. Dense deposit disease: Clinicopathologic study of 32 pediatric and adult patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(1):22–32.
109. Sethi S, Fervenza FC, Zhang Y, Zand L, Meyer NC, Borsa N, et al. Atypical postinfectious glomerulonephritis is associated with abnormalities in the alternative pathway of complement. *Kidney Int.* 2013;83(2):293–9.
110. Khalighi MA, Wang S, Henriksen KJ, Bock M, Keswani M, Meehan SM, et al. Revisiting post-infectious glomerulonephritis in the emerging era of C3 glomerulopathy. *Clin Kidney J.* 2016;9(3):397–402.
111. Duvall-Young J, MacDonald MK, McKechnie NM. Fundus changes in (type II) mesangiocapillary glomerulonephritis simulating drusen: A histopathological report. *Br J Ophthalmol.* 1989;73(4):297–302.
112. Savige J, Amos L, Ierino F, Mack HG, Symons RCA, Hughes P, et al.

- Retinal disease in the C3 glomerulopathies and the risk of impaired vision. *Ophthalmic Genet.* 2016;37(4):369–76.
113. D'souza YB, Jones CJP, Short CD, Roberts ISD, Bonshek RE. Oligosaccharide composition is similar in drusen and dense deposits in membranoproliferative glomerulonephritis type II. *Kidney Int.* 2009;75(8):824–7.
114. McAvoy CE, Silvestri G. Retinal changes associated with type 2 glomerulonephritis. *Eye.* 2005;19(9):985–9.
115. Misra A, Peethambaram A, Garg A. Clinical Features and Metabolic and Autoimmune Derangements in Acquired Partial Lipodystrophy: Report of 35 Cases and Review of the Literature. *Medicine (Baltimore).* 2004;83(1):18–34.
116. Corvillo F, López-Trascasa M. Lipodistrofia parcial adquirida y glomerulopatía C3: la desregulación del sistema del complemento como mecanismo común. *Nefrología.* 2018;38:258–66.
117. Cook HT, Pickering MC. Histopathology of MPGN and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol.* 2015;11(1):14–22.
118. Habib R, Gubler MC, Loirat C, Mäiz HB, Levy M. Dense deposit disease: a variant of membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int.* 1975;7(4):204–15.
119. Sethi S, Gamez JD, Vrana JA, Theis JD, Bergen HR, Zipfel PF, et al. Glomeruli of Dense Deposit Disease contain components of the alternative and terminal complement pathway. *Kidney Int.* 2009;75(9):952–60.

120. Sethi S, Vrana JA, Fervenza FC, Theis JD, Sethi A, Kurtin PJ, et al. Characterization of C3 in C3 glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32(3):459–65.
121. Walker PD, Ferrario F, Joh K, Bonsib SM. Dense deposit disease is not a membranoproliferative glomerulonephritis. *Mod Pathol*. 2007;20(6):605–16.
122. Sethi S, Nasr SH, De Vriese AS, Fervenza FC. C4d as a Diagnostic Tool in Proliferative GN. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(11):2852–9.
123. Bouatou Y, Kers J, Chevalier-Florquin MSN, Claessen N, Nguyen TQ, Damman J, et al. Diagnostic accuracy of immunofluorescence versus immunoperoxidase staining to distinguish immune complex-mediated glomerulonephritis and C3 dominant glomerulopathy. *Histopathology*. 2018 Mar;72(4):601–8.
124. Martín B, Smith RJ. C3 Glomerulopathy. Vol. 4, *GeneReviews*®. 2018. 1–7 p.
125. Noris M, Remuzzi G. Genetics of Immune-Mediated Glomerular Diseases: Focus on Complement. *Semin Nephrol*. 2017;37(5):447–63.
126. Westra D, van der Deure J, Volokhina EB, van den Heuvel LPWJ V, NCAJ de K. Several genetic aberrations in different complement genes in a patient with dense deposit disease. *Mol Immunol*. 2011;48(14):1682.
127. Martínez-Barricarte R, Heurich M, Valdes-Cañedo F, Vazquez-Martul E, Torreira E, Montes T, et al. Human C3 mutation reveals a mechanism of dense deposit disease pathogenesis and provides insights into complement activation and regulation. *J Clin Invest*. 2010 Oct

- 1;120(10):3702–12.
128. Xiao X, Pickering MC, Smith RJH. C3 glomerulopathy: The genetic and clinical findings in dense deposit disease and c3 glomerulonephritis. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40(4):465–71.
 129. Marks SD, Rees L. Spontaneous clinical improvement in dense deposit disease. *Pediatr Nephrol.* 2000 Apr;14(4):322–4.
 130. Nester CM, Smith RJH. Complement inhibition in C3 glomerulopathy. *Semin Immunol.* 2016;28(3):241–9.
 131. Nester CM, Smith RJ. Treatment options for C3 glomerulopathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2013;22(2):231–7.
 132. Békássy ZD, Kristoffersson AC, Rebetz J, Tati R, Olin AI, Karpman D. Aliskiren inhibits renin-mediated complement activation. *Kidney Int.* 2018;94(4):689–700.
 133. Licht C, Heinen S, Józsi M, Löschmann I, Saunders RE, Perkins SJ, et al. Deletion of Lys224 in regulatory domain 4 of Factor H reveals a novel pathomechanism for dense deposit disease (MPGN II). *Kidney Int.* 2006;70(1):42–50.
 134. Krmar RT, Holtbäck U, Linné T, Berg UB, Celsi G, Söderberg MP, et al. Acute renal failure in dense deposit disease: complete recovery after combination therapy with immunosuppressant and plasma exchange. *Clin Nephrol.* 2011 Feb;75 Suppl 1:4–10.
 135. Banks RA, May S, Wallington T. Acute renal failure in dense deposit disease: recovery after plasmapheresis. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1982;284(6332):1874–5.

136. McCaughan JA, O'Rourke DM, Courtney AE. Recurrent dense deposit disease after renal transplantation: An emerging role for complementary therapies. *Am J Transplant*. 2012;12(4):1046–51.
137. Avasare RS, Canetta PA, Bomback AS, Marasa M, Caliskan Y, Ozluk Y, et al. Mycophenolate mofetil in combination with steroids for treatment of C3 glomerulopathy: A case series. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(3):406–13.
138. Daina E, Noris M, Remuzzi G. Eculizumab in a patient with dense-deposit disease. *N Engl J Med*. 2012;366(12):1161–3.
139. Caliskan Y, Torun ES, Tiryaki TO, Oruc A, Ozluk Y, Akgul SU, et al. Immunosuppressive Treatment in C3 Glomerulopathy: Is it Really Effective? *Am J Nephrol*. 2017;46(2):96–107.
140. Rudnicki M. Rituximab for Treatment of Membranoproliferative Glomerulonephritis and C3 Glomerulopathies. *Biomed Res Int*. 2017;2017.
141. Giaime P, Daniel L, Burtey S. Remission of C3 glomerulopathy with rituximab as only immunosuppressive therapy. *Clin Nephrol*. 2015;83(2015)(01):57–60.
142. Rousset-Rouvière C, Cailliez M, Garaix F, Bruno D, Laurent D, Tsimaratos M. Rituximab fails where eculizumab restores renal function in C3nef-related DDD. *Pediatr Nephrol*. 2014;29(6):1107–11.
143. Ciocchini M, Musso CG. Which should be the correct treatment for monoclonal gammopathy of renal significance with complement alternative pathway dysregulation (C3 glomerulopathy and atypical

hemolytic uremic syndrome): clone-directed or anticomplement therapy?

Int Urol Nephrol. 2018;50(7):1365–6.

144. Chauvet S, Frémeaux-Bacchi V, Petitprez F, Karras A, Daniel L, Burtey S, et al. Treatment of B-cell disorder improves renal outcome of patients with monoclonal gammopathy-associated C3 glomerulopathy. *Blood*. 2017;129(11):1437–47.
145. Timmermans SAMEG, van Paassen P. Conservative treatment for C3 glomerulopathy and monoclonal Ig. *Kidney Int*. 2018;94(3):632.
146. Sathick IJ, Zand L, Nasr SH, Leung N. Corticosteroid therapy alone for the treatment of C3 glomerulonephritis in association with monoclonal gammopathy . *Clin Nephrol*. 2018 Nov 26;
147. Radhakrishnan S, Lunn A, Kirschfink M, Thorner P, Hebert D, Langlois V, et al. Eculizumab and refractory membranoproliferative glomerulonephritis. *N Engl J Med*. 2012;366(12):1165–6.
148. Vivarelli M, Pasini A, Emma F. Eculizumab for the Treatment of Dense-Deposit Disease. *N Engl J Med*. 2012;366(12):1163–5.
149. Kerns E, Rozansky D, Troxell ML. Evolution of immunoglobulin deposition in C3-dominant membranoproliferative glomerulopathy. *Pediatr Nephrol*. 2013;28(11):2227–31.
150. Gurkan S, Fyfe B, Weiss L, Xiao X, Zhang Y, Smith RJ. Eculizumab and recurrent C3 glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol*. 2013;28(10):1975–81.
151. Herlitz LC, Bomback AS, Markowitz GS, Stokes MB, Smith RN, Colvin RB, et al. Pathology after Eculizumab in Dense Deposit Disease and C3 GN. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(7):1229–37.

152. Ruggenenti P, Daina E, Gennarini A, Carrara C, Gamba S, Noris M, et al. C5 Convertase Blockade in Membranoproliferative Glomerulonephritis: A Single-Arm Clinical Trial. *Am J Kidney Dis.* 2019 Aug;74(2):224–38.
153. Le Quintrec M, Lionet A, Kandel C, Bourdon F, Gnemmi V, Colombat M, et al. Eculizumab for treatment of rapidly progressive C3 glomerulopathy. *Am J Kidney Dis.* 2015;65(3):484–9.
154. Le Quintrec M, Lapeyraque AL, Lionet A, Sellier-Leclerc AL, Delmas Y, Baudouin V, et al. Patterns of Clinical Response to Eculizumab in Patients With C3 Glomerulopathy. *Am J Kidney Dis.* 2018;72(1):84–92.
155. Duineveld C, van de Kar NCAJ, Wetzels JFM. Benefit of Eculizumab Compared to Standard of Care Still Unproven in C3 Glomerulopathy. *Am J Kidney Dis.* 2018;72(6):906.
156. Ricklin D, Mastellos DC, Reis ES, Lambris JD. The renaissance of complement therapeutics. *Nat Rev Nephrol.* 2017;14(1):26–47.
157. Wang X, Van Lookeren Campagne M, Katschke KJ, Gullipalli D, Miwa T, Ueda Y, et al. Prevention of Fatal C3 Glomerulopathy by Recombinant Complement Receptor of the Ig Superfamily. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29(8):2053–9.
158. Yang Y, Denton H, Davies OR, Smith-Jackson K, Kerr H, Herbert AP, et al. An Engineered Complement Factor H Construct for Treatment of C3 Glomerulopathy. *J Am Soc Nephrol.* 2018;ASN.2017091006.
159. Nichols EM, Barbour TD, Pappworth IY, Wong EKS, Palmer JM, Sheerin NS, et al. An extended mini-complement factor H molecule ameliorates experimental C3 glomerulopathy. *Kidney Int.* 2015;88(6):1314–22.

160. Michelfelder S, Parsons J, Bohlender LL, Hoernstein SNW, Niederkrüger H, Busch A, et al. Moss-Produced, Glycosylation-Optimized Human Factor H for Therapeutic Application in Complement Disorders. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(5):1462–74.
161. Michelfelder S, Fischer F, Wäldin A, Hörle K V., Pohl M, Parsons J, et al. The MFHR1 Fusion Protein Is a Novel Synthetic Multitarget Complement Inhibitor with Therapeutic Potential. *J Am Soc Nephrol.* 2018;ASN.2017070738.
162. Fakhouri F, De Jorge EG, Brune F, Azam P, Cook HT, Pickering MC. Treatment with human complement factor H rapidly reverses renal complement deposition in factor H-deficient mice. *Kidney Int.* 2010;78(3):279–86.
163. Regunathan-Shenk R, Avasare RS, Ahn W, Canetta PA, Cohen DJ, Appel GB, et al. Kidney Transplantation in C3 Glomerulopathy: A Case Series. *Am J Kidney Dis.* 2018;1–8.
164. Lorenz EC, Sethi S, Leung N, Dispenzieri A, Fervenza FC, Cosio FG. Recurrent membranoproliferative glomerulonephritis after kidney transplantation. *Kidney Int.* 2010;77(8):721–8.
165. Wong L, Moran S, Lavin PJ, Dorman AM, Conlon PJ. Kidney transplant outcomes in familial C3 glomerulopathy. *Clin Kidney J.* 2016;9(3):403–7.
166. Andresdottir MB, Assmann KJM, Hoitsma AJ, Koene RAP, Wetzels JFM. Renal transplantation in patients with dense deposit disease: Morphological characteristics of recurrent disease and clinical outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14(7):1723–31.

167. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009 May 5;150(9):604–12.
168. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2009 Mar;20(3):629–37.
169. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018 Sep 1;39(33):3021–104.
170. Ravindran A, Fervenza FC, Smith RJH, De Vriese AS, Sethi S. C3 Glomerulopathy: Ten Years' Experience at Mayo Clinic. *Mayo Clin Proc*. 2018 Aug 1;93(8):991–1008.
171. Häffner K, Michelfelder S, Pohl M. Successful therapy of C3Nef-positive C3 glomerulopathy with plasma therapy and immunosuppression. *Pediatr Nephrol*. 2015 Nov 19;30(11):1951–9.
172. Levine AP, Chan MMY, Sadeghi-Alavijeh O, Wong EKS, Cook HT, Ashford S, et al. Large-Scale Whole-Genome Sequencing Reveals the Genetic Architecture of Primary Membranoproliferative GN and C3 Glomerulopathy. *J Am Soc Nephrol*. 2020 Jan 9;ASN.2019040433.
173. Appel GB. C3 Glomerulopathy: A New Disease Comes of Age. *Mayo Clin Proc*. 2018 Aug;93(8):968–9.
174. Benamu E, Montoya JG. Infections associated with the use of eculizumab. *Curr Opin Infect Dis*. 2016 Aug;29(4):319–29.
175. Crew PE, Abara WE, McCulley L, Waldron PE, Kirkcaldy RD, Weston EJ,

- et al. Disseminated Gonococcal Infections in Patients Receiving Eculizumab: A Case Series. *Clin Infect Dis*. 2019 Aug 1;69(4):596–600.
176. Dooley MA, Jayne D, Ginzler EM, Isenberg D, Olsen NJ, Wofsy D, et al. Mycophenolate versus Azathioprine as Maintenance Therapy for Lupus Nephritis. *N Engl J Med*. 2011 Nov 17;365(20):1886–95.
177. Heinlen L, Chakravarty EF. Lupus Nephritis: Duration of Therapy and Possibility of Withdrawal. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2019;26(5):387–92.
178. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology*. 2000;47(2–3):85–118.
179. Mok CC. Mycophenolate mofetil for lupus nephritis: an update. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015 Dec 2;11(12):1353–64.
180. Blaheta R., Leckel K, Wittig B, Zenker D, Oppermann E, Harder S, et al. Mycophenolate mofetil impairs transendothelial migration of allogeneic CD4 and CD8 T-cells. *Transplant Proc*. 1999 Feb;31(1–2):1250–2.
181. Laurent AF, Dumont S, Poindron P, Muller CD. Mycophenolic acid suppresses protein N-linked glycosylation in human monocytes and their adhesion to endothelial cells and to some substrates. *Exp Hematol*. 1996 Jan;24(1):59–67.
182. Glomsda BA, Blaheta RA, Hailer NP. Inhibition of monocyte/endothelial cell interactions and monocyte adhesion molecule expression by the immunosuppressant mycophenolate mofetil. *Spinal Cord*. 2003 Nov 21;41(11):610–9.
183. Faugaret D, Lemoine R, Baron C, Lebranchu Y, Velge-Roussel F. Mycophenolic acid differentially affects dendritic cell maturation induced

- by tumor necrosis factor- α and lipopolysaccharide through a different modulation of MAPK signaling. *Mol Immunol*. 2010 May;47(9):1848–59.
184. Hauser IA, Renders L, Radeke HH, Sterzel RB, Goppelt-Struebe M. Mycophenolate mofetil inhibits rat and human mesangial cell proliferation by guanosine depletion. *Nephrol Dial Transplant*. 1999 Jan 1;14(1):58–63.
185. Lv W, Lou J, Zhang Y, Lian P, Qi D, Wang J. Mycophenolate mofetil inhibits hypertrophy and apoptosis of podocyte in vivo and in vitro. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(10):19781–90.
186. Morath C, Reuter H, Simon V, Krautkramer E, Muranyi W, Schwenger V, et al. Effects of Mycophenolic Acid on Human Fibroblast Proliferation, Migration and Adhesion In Vitro and In Vivo. *Am J Transplant*. 2008 Sep;8(9):1786–97.
187. Dell'Oglio MP, Zaza G, Rossini M, Divella C, Pontrelli P, Verrienti R, et al. The anti-fibrotic effect of mycophenolic acid-induced neutral endopeptidase. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(12):2157–68.
188. Bossi F, Rizzi L, Bulla R, Debeus A, Tripodo C, Picotti P, et al. C7 is expressed on endothelial cells as a trap for the assembling terminal complement complex and may exert anti-inflammatory function. *Blood*. 2009 Apr 9;113(15):3640–8.
189. Bossi F, Fischetti F, Pellis V, Bulla R, Ferrero E, Mollnes TE, et al. Platelet-Activating Factor and Kinin-Dependent Vascular Leakage as a Novel Functional Activity of the Soluble Terminal Complement Complex. *J Immunol*. 2004 Dec 1;173(11):6921–7.

190. Dobrina A. Cytolytically inactive terminal complement complex causes transendothelial migration of polymorphonuclear leukocytes in vitro and in vivo. *Blood*. 2002 Jan 1;99(1):185–92.
191. Fogo AB. Talking back: the podocytes and endothelial cells duke it out. *Kidney Int*. 2016 Dec;90(6):1157–9.
192. Noris M, Mele C, Remuzzi G. Podocyte dysfunction in atypical haemolytic uraemic syndrome. *Nat Rev Nephrol*. 2015 Apr 20;11(4):245–52.