

## La glomerulopatia da C3

### Meccanismi immunitari delle glomerulonefriti

**Camillo Carrara**<sup>1, 2</sup>

1 Unità di Nefrologia e Dialisi, Azienda Ospedaliera Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Italia  
2 IRCCS – Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare “Aldo e Cele Daccò”, Ranica



Camillo Carrara

**Corrispondenza a:**

Camillo Carrara  
E-mail: ccarrara@asst-pg23.it

#### ABSTRACT

Il sistema del complemento, braccio fondamentale del sistema immunitario innato, negli ultimi anni ha catalizzato un rinnovato interesse da parte della comunità scientifica. Questo ha portato una rara patologia renale, la glomerulopatia da C3, al centro di una vera e propria rivoluzione che sta mettendo in luce le complesse interazioni tra genotipo, “triggers” ambientali e microambiente renale, che insieme contribuiscono al fenotipo finale della malattia. Al contempo, proliferano le sperimentazioni e gli studi clinici promossi dall’industria farmaceutica con i nuovi inibitori del complemento. È un momento storico molto promettente per i pazienti affetti dalla glomerulopatia da C3, che sino ad oggi non hanno avuto a disposizione farmaci realmente efficaci nell’impedire la progressione verso l’insufficienza renale e l’uremia.

**PAROLE CHIAVE:** glomerulonefrite membranoproliferativa, glomerulopatia da C3, sistema del complemento, via alterna, biopsia renale

La glomerulopatia da C3 (C3G) è una rara malattia che si manifesta tipicamente in età pediatrica o nel giovane adulto, caratterizzata da intensi depositi di C3 alla biopsia renale. Essa è considerata un sottotipo di glomerulonefrite membranoproliferativa (MPGN) [1].

La classificazione storica della MPGN, basata sull'osservazione al microscopio elettronico (EM), prevedeva la seguente suddivisione in MPGN: di tipo I, caratterizzata da depositi elettrondensi subendoteliali; di tipo II, anche chiamata malattia a depositi densi (DDD), con depositi intensamente elettrondensi, in sede intramembranosa; di tipo III, con depositi sia sottoendoteliali che subepiteliali. Tuttavia questa classificazione della MPGN si è dimostrata essere limitata per l'assenza di una chiara connessione con la patogenesi della malattia, con scarsi risvolti clinici per il paziente.

Recentemente, in base al reperto alla immunofluorescenza (IF), Sethi S. e collaboratori hanno proposto un nuovo sistema classificativo della MPGN, che ha portato alla distinzione di due sottotipi [2]. Il primo, nel quale sono evidenziabili alla IF depositi glomerulari di immunoglobuline e complemento, è quello della MPGN mediata da immunocomplessi (IC-MPGN), causata dalla deposizione glomerulare di immunocomplessi o immunoglobuline nel contesto di malattie sistemiche o infettive, con prevalente attivazione della via classica del complemento. Il 20-30% di queste forme non riconosce una causa specifica ed è pertanto idiopatica. Il secondo sottotipo comprende la forma di MPGN mediata dalla disfunzione della via alterna del complemento, chiamata anche C3G, caratterizzata da deposizione glomerulare dominante di C3 (intensità del C3 all'IF di almeno due ordini di grandezza superiore alle altre immunoglobuline). Infine, sulla base dei reperti all'esame EM, la C3G è stata ulteriormente suddivisa in DDD e C3 glomerulonefrite (C3GN).

La presenza di depositi osmiofilici, intensamente elettrondensi e localizzati tipicamente all'interno della membrana basale glomerulare, caratterizza la DDD. Gli esperti di complemento hanno specificato che la C3G è molto eterogenea in quanto oltre ad un "pattern" di tipo membranoproliferativo può mostrare altri fenotipi glomerulari (ad esempio: proliferativo endocapillare, proliferativo mesangiale, necrotizzante ed extracapillare) [3]. Gli studi nell'animale e nell'uomo hanno permesso di identificare le anomalie biochimiche (es. consumo selettivo C3), genetiche (mutazioni nei geni che codificano per le proteine del sistema del complemento: C3, fattore B, fattore H, fattore I, MCP/CD46 e THBD, varianti di suscettibilità etc.) e i fattori acquisiti (C3Nef, C5Nef, anticorpi contro i fattori regolatori del complemento) che caratterizzano la malattia [4].

Va tuttavia sottolineato che alcuni gruppi di ricerca hanno dimostrato che anomalie genetiche a carico dei fattori regolatori della via alterna del complemento e peculiari anomalie biochimiche, quali ad esempio bassi livelli di C3 ed elevati livelli di sC5b9, sono presenti nella stessa proporzione di pazienti affetti da C3G e IC-MPGN idiopatica [5, 6]. Questa osservazione potrebbe mettere in discussione l'attuale classificazione della MPGN e ci induce a considerare queste patologie all'interno di uno spettro di condizioni cliniche, per le quali la via alterna del complemento è il principale meccanismo patogenetico.

Ma come funziona la cascata del complemento? Esistono tre vie di attivazione del sistema del complemento: classica, lectinica ed alterna [7]. La via classica è attivata dall'interazione fra C1q e gli immunocomplessi, mentre la via lectinica necessita di lectine e ficoline leganti gruppi mannosio, per poter identificare molecole di carboidrati che si trovano sulla superficie di una vasta gamma di microrganismi. Il trigger iniziale delle vie classica e lectinica porta alla conseguente attivazione delle componenti C2 e C4 e alla formazione di C3 convertasi, C4bC2a. Al contrario, la via alterna è continuamente attivata dall'idrolisi spontanea del C3 (meccanismo "tickover"), che risulta in un cambio conformazionale tale da consentire il legame del fattore B (CFB). Una volta legato, il fattore B diventa un substrato per una serino proteasi, detta fattore D (CFD). Il clivaggio del fattore B da

parte del fattore D promuove la formazione della C3 convertasi propria della via alterna C3(H<sub>2</sub>O)Bb, che, in modo simile alla C3 convertasi della via classica, può clivare C3 in C3a e C3b. La generazione di C3b permette alla via alterna di essere pienamente attivata con la formazione del "loop" di amplificazione e del complesso C3bBb. Tutte e tre le vie convergono nel momento in cui C3 viene clivato dalla C3 convertasi per produrre il frammento C5a, un importante agente infiammatorio, e C5b, il componente iniziale della via terminale del complemento. Il legame in sequenza di C5b con C6, C7, C8 ed infine C9 risulta nell'assemblaggio di C5b-9 o complesso di attacco di membrana (MAC). La via alterna è fortemente controllata grazie all'esistenza di diversi regolatori che operano ancorati alla membrana oppure in fase fluida. Fra questi ultimi riconosciamo, ad esempio, il fattore I (CFI) ed il fattore H (CFH). Ci si può facilmente rendere conto che se i regolatori non funzionano correttamente, la conseguenza diretta è l'iperattivazione della via alterna. Era noto già dagli anni '70 che esistessero glomerulonefriti ipocomplementemiche con pattern membranoproliferativo. Purtroppo, non abbiamo mai avuto a disposizione farmaci specifici per il trattamento di queste malattie. I comuni immunosoppressori si rivelano spesso scarsamente efficaci, ne consegue che la maggior parte dei pazienti progredisce verso l'uremia.

L'immunosoppressore che sembra consentire migliori risultati è il micofenolato, come mostrato da un'analisi retrospettiva del GLOSEN group spagnolo [8]. Si tratta di dati limitati. Il primo inibitore specifico del complemento ad essere utilizzato nelle C3G è l'eculizumab, un anticorpo monoclonale umanizzato in grado di bloccare il C5 e prevenire la formazione di C5a e del complesso di attacco di membrana. Il rationale per utilizzare il farmaco nell'uomo deriva da studi nel modello animale, topi incapaci di produrre fattore H che sviluppano la glomerulonefrite in modo spontaneo [9]. Provocando la delezione genica del C5 lo stesso animale sviluppa una malattia molto più lieve.

Nel 2012, vengono pubblicati i primi casi aneddotici di giovani pazienti con C3G trattati con eculizumab, che hanno risposte convincenti in termini di riduzione della proteinuria e stabilizzazione della funzionalità renale [10, 11]. Nello stesso anno viene pubblicata la prima "case series" del gruppo di nefrologi della Columbia University [12]. Lo studio sembra suggerire che i pazienti con alti livelli di sC5b9 sono quelli che rispondono meglio all'anticorpo monoclonale. È sulla base di questi risultati che l'Istituto Mario Negri di Bergamo ha disegnato uno studio clinico che ha incluso 10 pazienti con C3G e IC-MPGN [13]. Il protocollo di trattamento prevedeva uno schema on-off-on-off. Nel primo anno di studio i livelli di sC5b9 si sono ridotti rapidamente e si è assistito ad un iniziale miglioramento della proteinuria. Tuttavia, durante il periodo di wash out, è stata osservata un'esacerbazione della malattia con peggioramento dei parametri laboratoristici, che non miglioravano in modo significativo nel successivo anno di trattamento. L'eculizumab è un farmaco molto costoso e che richiede ai pazienti di recarsi in ospedale ogni due settimane per la somministrazione. Inoltre, è un trattamento cronico che non può essere interrotto. Un'osservazione interessante è stata fatta a livello istologico. Nelle biopsie renali dopo due anni di terapia gli infiltrati di leucociti intracapillari sono drasticamente ridotti. A supporto del potente effetto anti infiammatorio dell'eculizumab esiste anche uno studio retrospettivo, che mostra come i pazienti con C3G che ottengono una risposta migliore dalla terapia sono quelli con una presentazione clinica rapidamente progressiva e con una maggior percentuale di semilune floride all'esordio [14].

Negli ultimi anni si è assistito ad un vertiginoso impulso nella ricerca e sperimentazione nel campo dei nuovi inibitori selettivi del complemento. Un caso esemplare riguarda l'inibitore orale del fattore D, danicopan, che blocca l'azione della C3 convertasi e che è stato oggetto di ricerca presso l'Istituto Mario Negri di Bergamo. I dati di questo studio non sono ancora stati pubblicati. Sono state osservate risposte molto variabili con questo farmaco nei pazienti affetti da C3G. In parte, la variabilità delle risposte è dipesa da un problema di tipo farmacocinetico/farmacodinamico. Infatti, il fattore D è molto difficile da inibire. Si pensi che sono sufficienti l'1,8% dei livelli di fattore D per mantenere

attiva la via alterna del complemento. La company in oggetto sta cercando di produrre un inibitore più potente del fattore D, che speriamo essere disponibile a breve. Tuttavia, non sono mancate le sorprese incoraggianti. Vale la pena citare il caso di un giovane di 18 anni affetto da DDD, che all'esordio aveva una sindrome nefrosica con peggioramento della funzione renale. Ebbene, dopo poche settimane di trattamento con danicopan, il C3 plasmatico si è normalizzato, così come la proteinuria e la funzione renale. Dal punto di vista istologico si è assistito ad una regressione delle lesioni infiammatorie.

In conclusione, gli studi con questi nuove molecole sono molto difficili da condurre poiché si tratta di malattie rare, molto eterogenee, con un'importante variabilità nei meccanismi patogenetici tra un soggetto e l'altro. Queste malattie complesse ci insegnano che oggi è sempre più necessario adottare una medicina di precisione. L'analisi di cluster è un metodo biostatistico che potrebbe essere molto utile in tal senso. Questo metodo è stato applicato con successo al registro delle MPGN e C3G del Centro di Ricerca per le Malattie Rare dell'Istituto Mario Negri di Bergamo [15]. Utilizzando i dati di 173 pazienti del registro, è stato possibile identificare 4 clusters di malattia con caratteristiche comuni. Suddividendo i pazienti in clusters si sono ottenuti dei sottogruppi di pazienti omogenei dal punto di vista degli aspetti patogenetici. Rispetto alle curve di sopravvivenza dei pazienti suddivisi per gruppo istologico (IC-MPGN, C3GN, DDD), quelle dei pazienti suddivisi nei 4 clusters hanno una maggior rilevanza e significatività in termini prognostici. L'intento è quello di identificare sottogruppi di soggetti che possano beneficiare di specifiche terapie.

Questo è un momento storico molto promettente per i pazienti affetti da C3G. La comprensione dei meccanismi che generano la malattia e la disponibilità di nuovi farmaci capaci di inibire il sistema complemento a diversi livelli della cascata sta rivoluzionando il panorama di questa condizione. Tuttavia, le sfide aperte sono ancora molteplici. In particolare, tenuto conto dell'estrema variabilità genetica e biochimica della malattia, risulta difficile prevedere quale paziente potrà maggiormente beneficiare di un determinato farmaco. Le nuove tecnologie e i metodi biostatistici, come ad esempio l'analisi di cluster, potranno consentire di addentrarci nel campo di una medicina di precisione, che tenga in conto delle variabilità inter individuale dei pazienti.

## BIBLIOGRAFIA

1. Smith KD, Alpers CE. Pathogenic mechanisms in membranoproliferative glomerulonephritis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005;14(4):396-403. <https://doi.org/1097/01.mnh.0000172729.60122.f9>.
2. Sethi S, Fervenza FC. Membranoproliferative glomerulonephritis – a new look at an old entity. *N Engl J Med* 2012;366(12):1119-31, <https://doi.org/1056/NEJMra1108178>.
3. Pickering MC, D'Agati VD, Nester CM, et al. C3 glomerulopathy: consensus report. *Kidney Int* 2013;84(6):1079-89. <https://doi.org/1038/ki.2013.377>.
4. Zhang Y, Nester CM, Martin B, et al. Defining the complement biomarker profile of C3 glomerulopathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9(11):1876-82. <https://doi.org/2215/CJN.01820214>.
5. Servais A, Noël LH, Roumenina LT, 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. <https://doi.org/1038/ki.2012.63>.
6. Iatropoulos P, Noris M, Mele C, 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. <https://doi.org/1016/j.molimm.2016.01.010>.
7. Fakhouri F, Frémeaux-Bacchi V, Noël LH, et al. C3 glomerulopathy: a new classification. *Nat Rev Nephrol* 2010;6(8):494-9. <https://doi.org/1038/nrneph.2010.85>.
8. Caravaca-Fontán F, Díaz-Encarnación Montserrat M, Lucientes L, et al. Mycophenolate mophetil in C3 glomerulopathy and pathogenic drivers of the disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2020 Sep 7;15(9):1287-1298. <https://doi.org/2215/CJN.15241219>.
9. Pickering MC, Cook HT. Translational mini-review series on complement factor H: renal diseases associated with complement factor H: novel insights from humans and animals. *Clin Exp Immunol* 2008;151(2):210-30. <https://doi.org/1111/j.1365-2249.2007.03574.x>.
10. Daina E, Noris M, Remuzzi G. Eculizumab in a patient with dense-deposit disease. *N Engl J Med* 2012;366(12):1161-3. <https://doi.org/1056/NEJMc1112273>.
11. Radhakrishnan S, Lunn A, Kirschfink M, et al. Eculizumab and refractory membranoproliferative glomerulonephritis. *N Engl J Med* 2012;366(12):1165-6. <https://doi.org/1056/NEJMc1106619>.
12. Bomback AS, Smith RJ, Barile GR, et al. Eculizumab for dense deposit disease and C3 glomerulonephritis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012 7:748–756. <https://doi.org/2215/CJN.12901211>.
13. Ruggenti P, Daina E, Gennarini A, et al. C5 Convertase Blockade in Membranoproliferative Glomerulonephritis: A Single-Arm Clinical Trial. *AJKD*. 2019 Aug;74(2):224-238. <https://doi.org/1053/j.ajkd.2018.12.046>.
14. Le Quintrec M, Lapeyraque AL, Lionet A, et al. Patterns of Clinical Response to Eculizumab in Patients With C3 Glomerulopathy. 2018 Jul;72(1):84-92. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2017.11.019>.
15. Iatropoulos P, Daina E, Curreri M, 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. <https://doi.org/1681/ASN.2017030258>.