

Revisión

Contribución de variantes funcionales y cuantitativas del Factor H y las proteínas FHRs (Factor H-Related proteins) del Complemento en patología renal

Irene Gómez Delgado^a y Pilar Sánchez-Corral^{a,b,*}

^a Grupo de Investigación en Complemento, Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ), Madrid, España

^b Centro de Investigación en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 27 de mayo de 2021

Aceptado el 12 de julio de 2021

Palabras clave:

Complemento

Factor H

SHUa

GC3

NIgA

R E S U M E N

El sistema del Complemento protege al organismo frente a procesos infecciosos, tumorales y autoinmunes, y requiere una regulación muy estricta para evitar una activación excesiva e inespecífica. Entre los componentes reguladores del Complemento destaca el factor H (FH), que controla su activación en plasma y sobre la superficie de las células y tejidos propios. FH está relacionado evolutiva y estructuralmente con un conjunto de proteínas plasmáticas denominadas FHRs (*FH-Related proteins*), que podrían actuar como antagonistas funcionales de FH. Numerosos estudios realizados en pacientes de Síndrome Hemolítico-Urémico atípico (SHUa), glomerulopatía C3 (GC3), y nefropatía por IgA (NIgA) han identificado variantes genéticas raras que alteran sustancialmente la función del FH y las proteínas FHRs, y contribuyen de forma muy relevante a la predisposición genética a estas patologías. Estos pacientes presentan también una mayor frecuencia de determinados polimorfismos cuya repercusión en el mecanismo patogénico se está empezando a dilucidar. En los últimos años, la disponibilidad de reactivos específicos para cuantificar las proteínas FHRs de forma fiable en controles y pacientes, ha mostrado que algunos de los polimorfismos asociados a SHUa, GC3 o NIgA determinan cambios en los niveles plasmáticos de FH y proteínas FHRs, que podrían repercutir en la correcta regulación de la activación del Complemento y contribuir así al desarrollo de estas patologías.

© 2021 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: pilar.sanchez-corral@idipaz.es (P. Sánchez-Corral).

<https://doi.org/10.1016/j.nefro.2021.07.003>

0211-6995/© 2021 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Contribution of functional and quantitative genetic variants of Complement Factor H and Factor H-Related (FHR) proteins on renal pathology

ABSTRACT

Keywords:

Complement
Factor H
aHUS
C3G
IgAN

The complement system is a first line of defence against infectious, tumoral or autoimmune processes, and it is constitutively regulated to avoid excessive or unspecific activation. Factor H (FH), a most relevant complement regulator, controls complement activation in plasma and on the cellular surfaces of autologous tissues. FH shares evolutionary origin and structural features with a group of plasma proteins known as FH-Related Proteins (FHRs), which could act as FH functional antagonists. Studies in patient cohorts of atypical Haemolytic-Uraemic Syndrome (aHUS), C3 Glomerulopathy (C3G), and IgA nephropathy (IgAN), have identified rare genetic variants that give rise to severe FH and FHRs dysfunctions, and are major genetic predisposing factors. These patients also have a higher frequency of a few polymorphisms whose relevance as disease risk factors is incompletely understood. In the last years, the availability of specific reagents has allowed a more precise quantitation of FH and FHRs in plasma samples from patients and controls. These studies have revealed that some aHUS, C3G or IgAN risk polymorphisms determine mild changes in FH or FHRs levels that could somehow perturb complement regulation and favour disease pathogenesis.

© 2021 Sociedad Española de Nefrología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Activación y regulación del Complemento

El Sistema del Complemento es esencial para la respuesta inmune innata, y modula también la inmunidad adaptativa porque favorece la generación de anticuerpos y la memoria inmunológica. Además de proteger al organismo de forma inmediata frente a una gran variedad de patógenos, el Complemento juega un papel clave en la eliminación de los inmunocomplejos y células propias dañadas, que podrían provocar daño tisular y favorecer procesos autoinmunes¹.

El Complemento lo integran más de 30 proteínas plasmáticas o de membrana sintetizadas constitutivamente, que ejercen una función efectora o una función reguladora intrínsecas a la homeostasis del sistema. Todo el funcionamiento del Complemento pivota alrededor del proceso de activación del componente C3, una de las proteínas plasmáticas más abundantes (fig. 1). La activación del C3 es una reacción proteolítica por la que la molécula de C3 se escinde en los fragmentos C3b y C3a, y a la que se puede llegar a través de 3 vías en las que participan distintos componentes: la Vía Clásica (VC), la Vía Alternativa (VA), y la Vía de las Lectinas (VL). La generación de C3b, a su vez, conduce a la etapa final de activación del Complemento, conocida como Vía Lítica².

Las características bioquímicas del proceso de activación del Complemento lo convierten en una herramienta sumamente rápida y eficaz en la defensa frente a patógenos, pero también pueden resultar perjudiciales para el huésped. Así, una activación excesiva puede llevar a un rápido consumo de componentes que facilita una nueva invasión por patógenos, y provocar una respuesta inflamatoria exacerbada. Por otro lado, los productos de activación del Complemento pueden depositarse sobre las células propias y dañarlas. En situaciones

fisiológicas, estas consecuencias adversas se evitan gracias a que todas y cada una de las distintas etapas del proceso de activación del Complemento están controladas por componentes reguladores, algunos presentes en plasma y otros localizados en la superficie de la mayoría de las células y tejidos propios. En consecuencia, para que el Complemento sea eficaz y específico, y no genere daño autólogo, el equilibrio entre su activación y regulación es fundamental³.

La regulación de la VA del Complemento es especialmente relevante. Esta vía de activación, evolutivamente la más antigua, está permanentemente activada en el plasma debido a la hidrólisis espontánea de un enlace tioéster interno en algunas moléculas de C3. Normalmente, esta activación basal de la VA no supera un umbral perjudicial, gracias a la existencia de componentes del Complemento que la regulan. Por este motivo, cualquier situación, genética o adquirida, que altera la regulación de la VA puede provocar daño autólogo por el Complemento, siendo el riñón uno de los órganos más vulnerables⁴. Las patologías renales comúnmente asociadas a la desregulación de la VA del Complemento son el Síndrome Hemolítico-Urémico atípico (SHUa), la glomerulopatía C3 (GC3) y la nefropatía por IgA (NigA). Muchos de estos pacientes tienen variantes genéticas patogénicas o autoanticuerpos circulantes que afectan al normal funcionamiento del Factor H (FH), principal regulador de la VA del Complemento, y que es capaz de controlar la activación de C3 tanto en plasma como sobre las superficies celulares propias; no menos relevante es la existencia de variantes genéticas comunes (i.e. polimorfismos) en el gen del FH que también contribuyen al desarrollo y/o expresividad clínica de estas patologías⁵. En la primera parte de esta revisión recapitularemos las variantes patogénicas y los polimorfismos que afectan a la regulación de la VA del Complemento dependiente de FH, para posteriormente centrarnos en la repercusión que los niveles de FH y

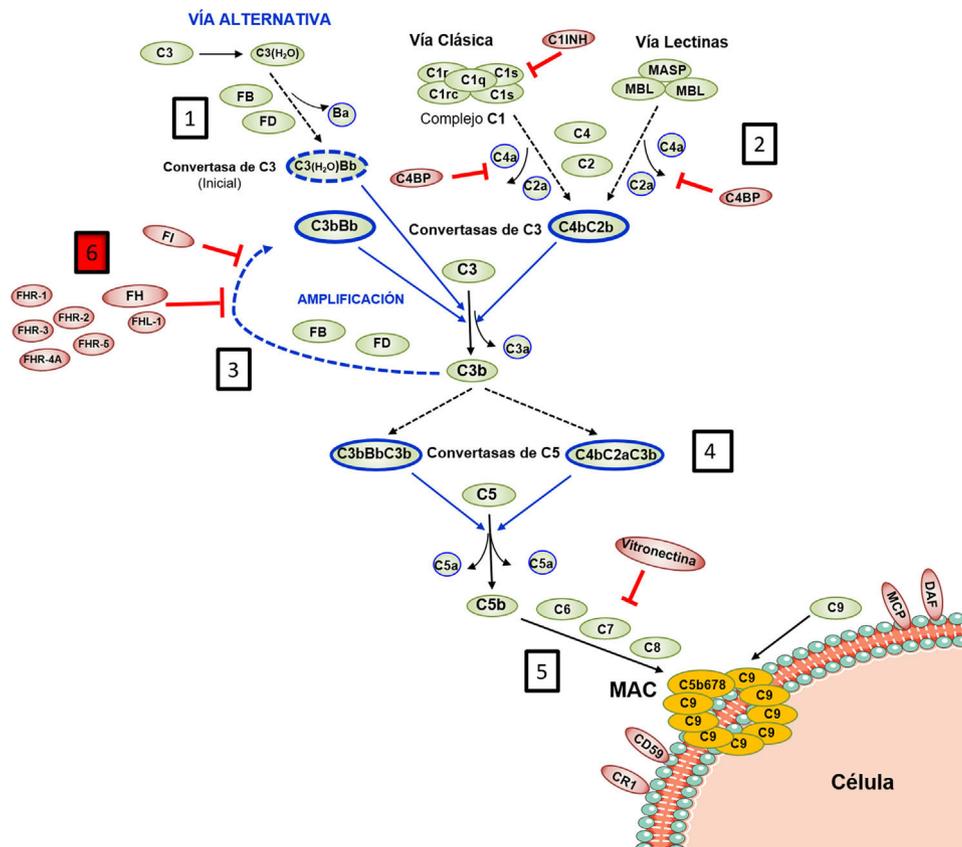


Figura 1 – Activación y Regulación del Complemento

El Complemento es un sistema autorregulado cuya piedra angular es la activación proteolítica del componente C3. 1) La hidrólisis espontánea de algunas moléculas de C3 conduce a la activación basal de la Vía Alternativa (VA). 2) El Complemento puede activarse de forma más intensa a través de la Vía Clásica (VC) y de la Vía de las Lectinas (VL), cuando los componentes C1q o MBL/Ficolinas reconocen complejos antígeno-anticuerpo solubles, o moléculas de carbohidratos presentes en determinadas superficies (células propias dañadas o microorganismos). Esta activación conduce a la formación de una Convertasa de C3 (C4bC2b), que escinde el C3 en los fragmentos C3b y C3a. 3) La generación de C3b da lugar a otra Convertasa de C3 (C3bBb) y a la amplificación de la activación basal de la VA, que se convierte entonces en el mecanismo más eficaz de activación del Complemento. 4) El siguiente paso es la activación del componente C5, generando los fragmentos C5b y C5a. 5) La última etapa es la denominada Vía Lítica, que da lugar a la formación de un complejo multimolecular (MAC, Membrane Attack Complex) que se inserta en la membrana de la superficie activadora y forma poros que la lisan por desequilibrio osmótico. 6) El proceso de activación del Complemento está regulado en todas sus etapas por múltiples proteínas (representadas en color rojo) que evitan que se active sobre nuestras propias células y tejidos; la regulación de la VA depende en gran medida del regulador Factor H y de su isoforma FHL-1. El rol preciso de las proteínas FHR (homólogas estructurales de FH) en el proceso de activación-regulación del Complemento no se conoce en detalle. Para la nomenclatura del Complemento ver las referencias^{49,50}.

de sus proteínas homólogas, Factor H-Related Proteins (FHRs), pueden tener en patología renal.

Familia de proteínas FH y FHRs

FH es una glicoproteína plasmática de 150kDa, formada por 20 dominios estructurales denominados SCRs (Short Consensus Repeats) o CCPs (Complement Control Proteins). En la molécula de FH se distinguen dos regiones funcionalmente muy relevantes: la región N-terminal (SCRs 1-4), donde reside su capacidad para regular la activación del Complemento en plasma, y la

región C-terminal (SCRs 19-20), que permite a FH unirse transitoriamente a las superficies celulares propias y protegerlas del daño indiscriminado por el Complemento⁶.

FH está codificado por el gen *CFH*, que genera también una variante de *splicing* alternativo denominada Factor H-like protein 1 (FHL-1). La proteína FHL-1 contiene únicamente los dominios SCRs 1-7 de FH, seguidos de una cola de 4 aminoácidos; como consecuencia, FHL-1 puede regular el Complemento como FH, pero no puede unirse a las superficies celulares propias⁷. Junto al gen *CFH*, en el agrupamiento génico *Regulators of Complement Activation* (RCA) del cromosoma 1, se encuentran los 5 genes *CFHRs*, que codifican las 5 proteínas homólogas a FH

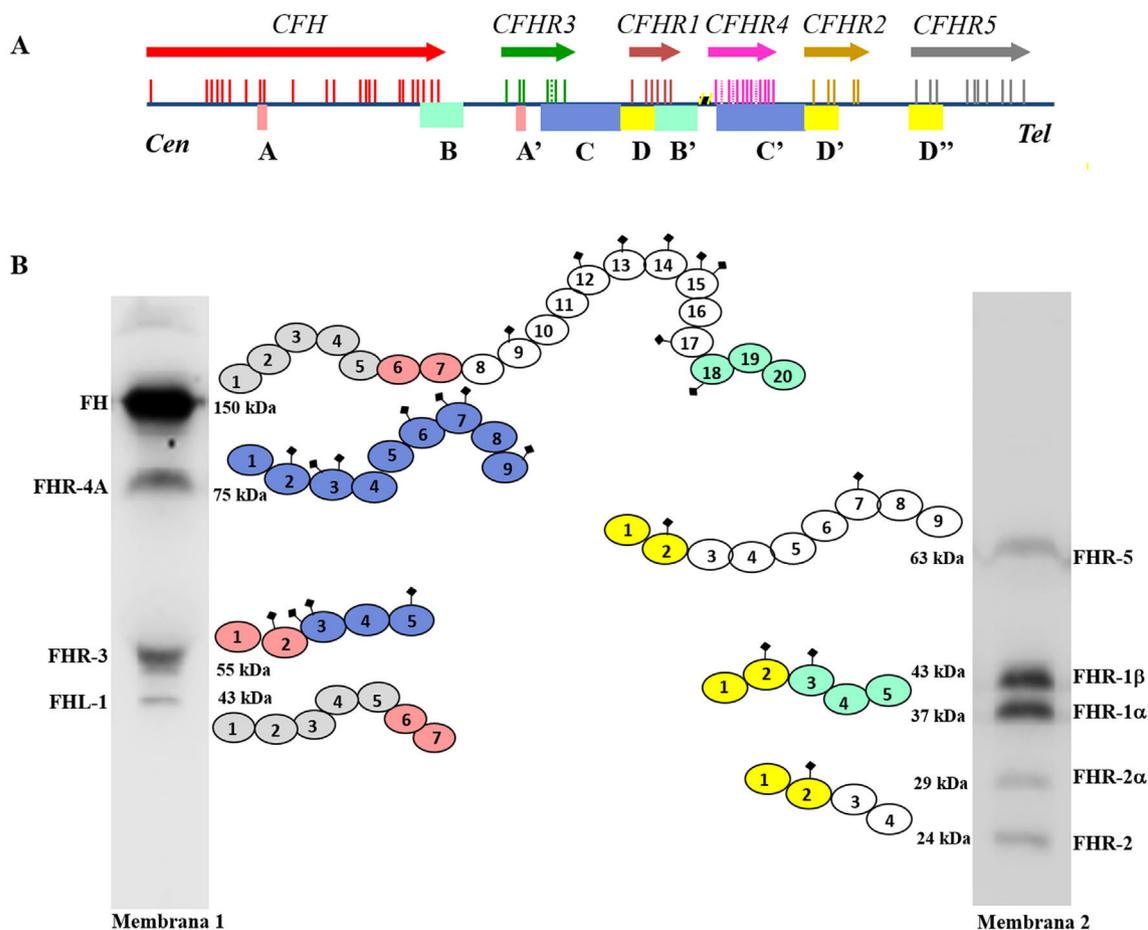


Figura 2 – Familia de factor H y proteínas FHRs

A) Región del agrupamiento génico RGA (Regulator of Complement Activation, 1q32-33) que contiene el gen *CFH* y los 5 genes *CFHRs*. Todos los genes tienen la misma orientación 5'-3'. Las letras A, B, C y D denotan grupos exón-intrón homólogos entre sí. B) Identificación de FH, FHL-1 y las 5 proteínas FHRs de un suero humano normal mediante análisis de Western-blot con 2 preparaciones de anticuerpos con distinta especificidad. Todas las proteínas están formadas por 4-20 dominios globulares homólogos; los dominios con el mismo color son los más similares entre sí, y están codificados por las duplicaciones A, B, C o D de los genes respectivos.

denominadas colectivamente FHRs⁸. Los genes *CFH*-*CFHRs* tienen regiones exónicas e intrónicas muy similares, que reflejan una historia evolutiva compartida, y caracterizada por una sucesión de eventos de duplicación génica (fig. 2a). Este origen común explica la elevada similitud estructural de FH y las proteínas FHRs, que también están formadas enteramente por dominios SCRs, algunos de los cuales alcanzan el 100% de identidad de aminoácidos con los dominios homólogos en FH. El distinto tamaño molecular de FH y las proteínas FHRs permite que todas ellas se puedan identificar fácilmente mediante un análisis de Western-blot en una muestra de plasma o suero del paciente (fig. 2b).

Las proteínas FHRs pueden interactuar con C3b y unirse a ligandos de FH localizados en la superficie celular. Sin embargo, ninguna proteína FHR tiene dominios SCRs homólogos a la región N-terminal del FH, por lo que no pueden regular la activación del Complemento en plasma de la misma manera, ni proteger a las superficies celulares propias frente

al Complemento autógeno. Estas características llevaron a proponer que las proteínas FHRs actuaban como desreguladores del FH⁹, pero su función precisa no está bien caracterizada y es objeto de controversia¹⁰. En este sentido, no se puede descartar que algunas proteínas FHRs tengan cierta actividad reguladora del Complemento^{11,12}, pero también se ha demostrado que pueden actuar como activadores del mismo. Es el caso de las proteínas FHR-1, FHR-4 y FHR-5, que pueden unirse a C3b, promover la formación de la Convertasa de C3 y activar la VA, y también pueden activar la VC a través de su unión a las pentraxinas PTX3 y Proteína C reactiva¹³⁻¹⁷.

Puesto que las proteínas FHRs desregulan el FH y/o potencian directamente la activación de la VA del Complemento, su función fisiológica es antagónica a la del FH. Por tanto, las variantes genéticas que alteran la función de FH y las proteínas FHRs, o que producen cambios en sus niveles plasmáticos, pueden desregular la VA y predisponer al desarrollo de patología renal.

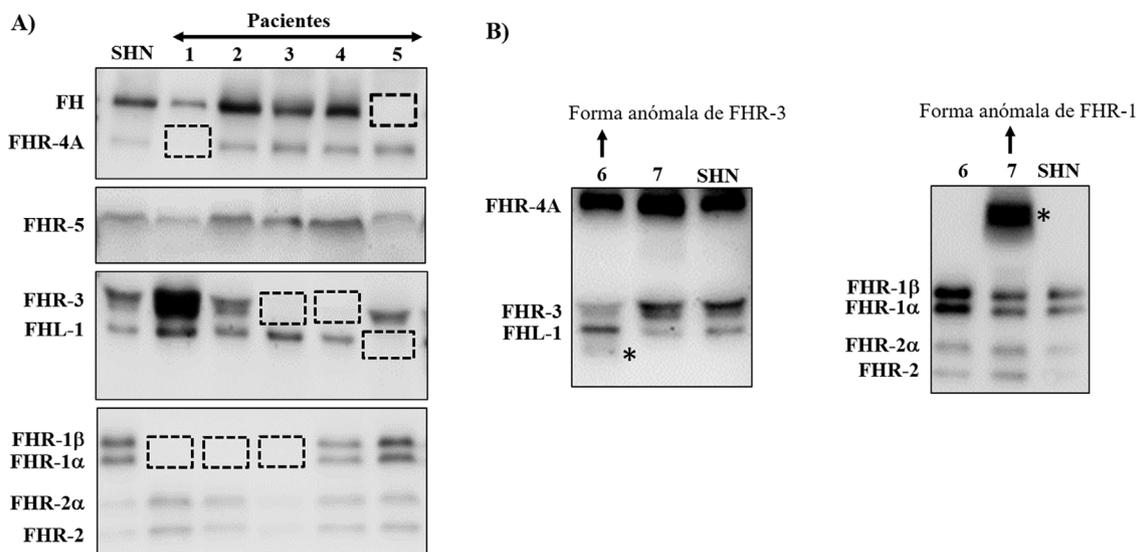


Figura 3 – Screening de deficiencias y formas anómalas de FH y proteínas FHRs en pacientes de SHUa y GC3 mediante Western-blot

A) Patrones de FH y FHRs en un individuo sano (SHN) y en 5 pacientes de SHUa y GC3 que tienen deficiencia completa de 1 o 2 proteínas; los cuadrados en línea discontinua señalan la posición de la proteína que falta. Las diferencias en la intensidad de otras bandas reflejan que existe una importante variabilidad interindividual en los niveles de FH y proteínas FHRs, cuya relevancia fisiopatológica no está suficientemente clara.

B) Patrones de FH y FHRs en 2 pacientes que presentan bandas anómalas (señaladas con un asterisco), cuyo tamaño no se corresponde con el de ninguna proteína nativa. Análisis de WB adicionales y estudios genéticos identificaron que la banda anómala del paciente 6 corresponde a una isoforma corta de FHR-3, y la del paciente 7 a una forma de FHR-1 parcialmente duplicada.

Variantes genéticas CFH/CFHRs en SHUa, GC3 y NigA

Como se ha mencionado, el equilibrio funcional entre el FH y las proteínas FHRs contribuye a mantener la homeostasis de la VA del Complemento y evitar el desarrollo de patologías renales como el SHUa, la GC3 o la NigA. Los estudios realizados en distintas cohortes de pacientes de SHUa y GC3 han identificado variantes patogénicas de FH y proteínas FHRs que perturban la regulación de la VA, y que se detallan en revisiones recientes^{18,19}. También se han descrito algunas variantes patogénicas en pacientes de NigA^{20,21}.

Muchas de estas variantes patogénicas resultan de la existencia de duplicaciones exón-intrón en la región CFH-CFHRs, que la hacen muy propensa a eventos de conversión génica y recombinación homóloga desigual que originan mutaciones, duplicaciones, deleciones o genes híbridos. La mayoría de estos reordenamientos anómalos no pueden detectarse mediante secuenciación estándar del ADN, por lo que se precisan técnicas capaces de determinar el número de copias de la región que se sospecha pueda estar duplicada o ausente, o incluso técnicas mucho más específicas que sólo se realizan en algunos laboratorios de investigación y requieren mucho tiempo. Algunos de estos reordenamientos anómalos provocan la deficiencia total de una o varias proteínas, mientras que otros generan proteínas que tienen un tamaño molecular diferente de las proteínas nativas; estas 2 situaciones se detectan rápidamente mediante un sencillo análisis de Western-blot

(fig. 3) que, además, proporciona una información valiosa para diseñar estrategias genéticas específicas para caracterizar el defecto genético subyacente.

Además de variantes patogénicas raras, la región CFH-CFHRs contiene multitud de polimorfismos (i.e. variantes genéticas con una frecuencia en la población mayor del 1%), algunos de los cuales se asocian a patología renal (tabla 1). Entre estos polimorfismos destaca la deleción de los genes CFHR3 y CFHR1 (Δ CFHR3-CFHR1), que cuando se encuentra en homocigosis se asocia con riesgo a SHUa²² y protección frente a NigA²³. Un 80% de los pacientes de SHUa que desarrollan autoanticuerpos anti-FH son homocigotos para la variante Δ CFHR3-CFHR1 y, por consiguiente, carecen de las proteínas FHR-3 y FHR-1.

El gen CFH contiene varios polimorfismos de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) que se encuentran en desequilibrio de ligamiento y definen diferentes haplotipos, siendo los más frecuentes CFH(H1), CFH(H2), CFH(H3) y CFH(H4). El haplotipo CFH(H1), que contiene la variante FH^{His402}, se asocia con riesgo a GC3, mientras que el haplotipo CFH(H2), que incluye la variante FH^{Val62}, se considera un factor de protección frente a SHUa y GC3²⁴. El haplotipo CFH(H3) se asocia con riesgo a SHUa y con menores niveles de FH²⁵. Finalmente, el haplotipo CFH(H4) está en desequilibrio de ligamiento con la deleción Δ CFHR3-CFHR1, y es más frecuente en los pacientes de SHUa con autoanticuerpos anti-FH.

Los genes CFHR1 y CFHR3 también tienen varios SNPs en desequilibrio de ligamiento que configuran 2 alelos mayori-

Tabla 1 – Variantes genéticas comunes en la región CFH-CFHRs y patología renal

| Variante | Consecuencia funcional | Asociación | Referencia |
|------------------------|--|-----------------------|------------|
| CFH(H1) | Contiene la variante His402, que disminuye la unión de FH a diferentes carbohidratos de membrana | Riesgo GC3 | 24 |
| CFH(H2) | Contiene la variante Ile62 que incrementa la actividad reguladora de FH. | Protección SHUa y GC3 | 24 |
| CFH(H3) | Se asocia con niveles más bajos de FH | Riesgo SHUa | 25 |
| CFH(H4) | Se asocia con la variante Δ CFHR3-CFHR1 | Riesgo SHUa (HOM) | 46 |
| Δ CFHR3-CFHR1 | Niveles de FH más altos | | |
| | Se asocia con autoanticuerpos anti-FH | Riesgo SHUa (HOM) | 26 |
| | La deficiencia de FHR-1 favorece la regulación de FH | Protección IgAN | 23 |
| CFHR3*B | Se asocia con niveles más elevados de FHR-3 | Riesgo SHUa | 27 |
| CFHR1*B | Contiene la secuencia Tyr157-Val159-Gln175, que podría aumentar la competencia de FHR-1 con FH. | Riesgo SHUa | 26 |
| CFHR4*B | Contiene la variante Pro405, pero se desconoce su repercusión funcional. | Riesgo SHUa | 28 |
| CFHR5 ^{Ser62} | Afecta a la interacción de FHR-5 con C3b y podría influir en la activación del complemento | Riesgo GC3 | 29 |

tarios: CFHR1*A/CFHR1*B²⁶ y CFHR3*A/CFHR3*B²⁵. Los alelos CFHR1*B y CFHR3*B se asocian con riesgo a SHUa. El alelo CFHR3*B determina mayores niveles de la proteína FHR-3²⁷, mientras que el alelo CFHR1*B no parece tener relación con los niveles de la proteína FHR-1; en este caso, su asociación con SHUa se debe probablemente a que presenta una mayor identidad de aminoácidos con FH y por tanto podría competir más eficazmente por la unión a los mismos ligandos.

Es interesante que el haplotipo de riesgo a SHUa CFH(H3) se presente mayoritariamente en el mismo cromosoma que los alelos CFHR3*B y CFHR1*B, dando lugar a un haplotipo extendido CFH(H3)-CFHR3*B-CFHR1*B que probablemente determina un aumento en los niveles relativos FHR-3/FH que podría favorecer el desarrollo del SHUa. El haplotipo CFH(H1), por su parte, se presenta habitualmente con los alelos CFHR3*A y CFHR1*A, formando el haplotipo extendido CFH(H1)-CFHR3*A-CFHR1*A, que es mayoritario en la población control sana.

En el gen CFHR4 también se ha descrito un polimorfismo aparentemente asociado con SHUa, y que no parece estar relacionado con los niveles de la proteína FHR-4A²⁸, y el gen CFHR5 contiene varios polimorfismos que se asocian con mayor riesgo a GC3²⁹.

En los pacientes de NIGa, la región CFH-CFHRs no se ha caracterizado con el mismo detalle que en los pacientes de SHUa y GC3. Por este motivo, no puede descartarse que haya otros polimorfismos asociados a NIGa, aparte de la ya mencionada delección Δ CFHR3-CFHR1.

Niveles de FH y proteínas FHRs en controles y pacientes

La actividad de la VA del Complemento también puede verse afectada por cambios en los niveles fisiológicos de FH y proteínas FHRs, como demuestran los trabajos que comentaremos en este apartado, en el que analizaremos además los polimorfismos en la región CFH-CFHRs que afectan a los niveles de proteína. Es importante señalar que la mayoría de estos estudios expresan los niveles de proteína en μ g/ml; puesto que el tamaño molecular de FH (150 kDa) es mayor que el de cualquiera de las proteínas FHRs (entre 24kDa y 75 kDa),

para poder interpretar correctamente los cambios en los niveles plasmáticos de FH y proteínas FHRs es preciso comparar las concentraciones de todas ellas en base molar (fig. 4).

FH es una proteína relativamente abundante en plasma, con un rango de concentración amplio (116-562 μ g/ml) que está determinado genéticamente en un 62%, aumenta ligeramente con la edad, y disminuye por el consumo de tabaco³⁰. Los valores medios en controles adultos son aproximadamente 250 μ g/ml^{21,31-35}, similares a los observados en controles pediátricos³⁶ y mayores que en neonatos³⁷. Los niveles de FHL-1 (la isoforma corta de FH), por su parte, son entre 3 y 40 veces menores que los de FH, en base molar^{7,38}.

La elevada similitud entre FH y las proteínas FHRs ha supuesto un hándicap a la hora de generar anticuerpos específicos para cuantificar cada una de estas proteínas mediante ensayos ELISA. Por este motivo, se han utilizado otras técnicas (Western-blot semicuantitativo, espectrometría de masas) que han proporcionado resultados muy dispares¹⁰. En los últimos años, varios grupos de investigación han generado anticuerpos específicos para todas las proteínas FHRs, lo que está permitiendo determinar su concentración plasmática de forma más fiable. Actualmente existen anticuerpos comerciales para todas las proteínas FHRs, excepto la proteína FHR-3, de manera que es posible diseñar ensayos ELISA específicos para cuantificarlas. No obstante, el hecho de que no haya un protocolo común, y la falta de reactivos de referencia hace que los niveles obtenidos en estos ensayos sean a veces muy diferentes. Una complicación añadida es la capacidad de FHR-1, FHR-2 y FHR-5 para formar complejos diméricos. Esta peculiaridad se debe a que los dominios SCR1-SCR2 de estas 3 proteínas son muy similares entre sí y contienen aminoácidos que les permiten formar homodímeros y heterodímeros que tienen mayor capacidad para competir con FH³⁹; la cuantificación de todas estas formas se ha abordado en un estudio realizado en controles holandeses, según el cual no habría formas monoméricas de estas proteínas circulando en plasma⁴⁰.

Los niveles de las proteínas FHR-1 y FHR-3 están determinados, en primer lugar, por la existencia de la variante genética Δ CFHR3-CFHR1, ya que los individuos homocigotos para esta variante no tienen ninguna copia de los genes CFHR1 y CFHR3, y los individuos heterocigotos sólo tienen una. Como

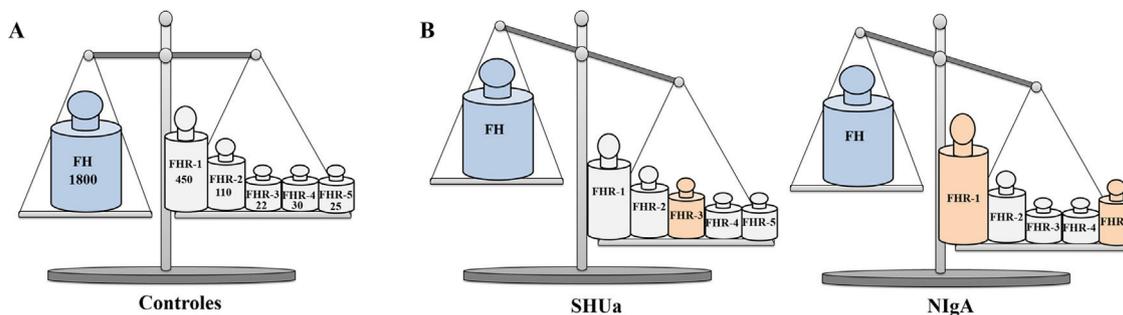


Figura 4 – Relevancia fisiopatológica de los niveles plasmáticos de FH y proteínas FHRs

Representación gráfica de los niveles de FH y proteínas FHRs en Controles, pacientes de SHUa y pacientes de NíG. A) En controles sanos, los niveles de FH y los de las proteínas FHRs están en equilibrio funcional. Los números debajo del nombre de cada proteína expresan su concentración media en base nanomolar^{33,40,43}, por lo que equivalen al número de moléculas que hay de cada una de ellas en un determinado volumen de plasma. B) Pequeños aumentos en la concentración de alguna proteína FHR pueden desequilibrar la regulación de la VA del Complemento por el FH, y favorecer el desarrollo de patologías renales; en algunos pacientes de SHUa aumentan los niveles de FHR-3,²⁷ mientras que en algunos pacientes de NíG aumentan los niveles de FHR-1 y FHR-5.^{21,34}

la frecuencia de la variante genética Δ CFHR3-CFHR1 varía mucho entre poblaciones, se trata de un rasgo genético muy relevante cuando se quieren comparar los niveles de FHR-1 y FHR-3 entre distintas cohortes de controles sanos, o entre controles y pacientes de etnias diferentes. Así, un 5% de los individuos europeos caucasoides no tiene ninguna copia de los genes *CFHR1* y *CFHR3*, pero esta frecuencia se eleva al 33% en individuos de Nigeria, mientras que en japoneses y sudamericanos es prácticamente cero⁴¹. En este apartado nos referiremos a los datos obtenidos en poblaciones caucasoides.

Los niveles de FHR-1 en individuos con una sola copia del gen *CFHR1* (i.e. heterocigotos para la variante Δ CFHR3-CFHR1) son aproximadamente la mitad que en los que tienen dos copias del mismo (61 μ g/ml vs 122 μ g/ml)²¹. Estos resultados coinciden bastante bien con los niveles de 95 μ g/ml observados en otra población control europea, en la que no se tuvo en cuenta el número de copias de la variante Δ CFHR3-CFHR1³⁴. Sin embargo, el estudio en controles holandeses, que además discrimina entre homodímeros FHR-1/1 y heterodímeros FHR-1/2, obtiene unos valores totales de FHR-1 unas 10 veces menores⁴⁰. Los niveles plasmáticos de la proteína FHR-3 son bastante inferiores a los de FH y FHR-1, pero, como cabría esperar, también son aproximadamente el doble en los controles adultos que tienen 2 copias del gen *CFHR3* que en los que sólo tienen una (0.83 μ g/ml vs 0.38 μ g/ml)³³. En la cuantificación de FHR-3, no obstante, hay que tener en cuenta un componente genético adicional, ya que el alelo *CFHR3**B da lugar a mayores niveles de proteína que el alelo *CFHR3**A²⁷; por tanto, los niveles de FHR-3 en plasma van a depender en última instancia del número de copias de los alelos *CFHR3**A y *CFHR3**B que tenga cada individuo, lo que explica la gran variabilidad de niveles de FHR-3 (entre 0.14 y 1.16 μ g/ml) observada en una pequeña cohorte control española en la que se caracterizaron las variantes Δ CFHR3-CFHR1, *CFHR3**A y *CFHR3**B²⁷. En controles pediátricos, los niveles de FHR-1 son ligeramente inferiores a los de adultos, mientras que en los de FHR-3 no se observan diferencias³⁶.

La concentración media de la proteína FHR-2 en el plasma de controles adultos es de unos 6 μ g/ml, que corresponden mayoritariamente a heterodímeros FHR-1/2 (5.2 μ g/ml) y en mucha menor proporción (0.8 μ g/ml) a homodímeros FHR-2/2⁴⁰. Los niveles de FHR-2 en controles pediátricos son muy similares a los observados en adultos³⁶. No se han descrito polimorfismos del gen *CFHR2* que afecten a los niveles de expresión de la proteína.

La proteína FHR-4A es la isoforma mayoritaria del gen *CFHR4*, que origina también un producto de *splicing* alternativo denominado FHR-4B, de menor tamaño que la isoforma FHR-4A⁴². Las primeras cuantificaciones no distinguían las isoformas FHR-4A y FHR-4B, y estimaban unos niveles medios de proteína de 25.4 μ g/ml¹⁴. El desarrollo de anticuerpos específicos ha permitido cuantificar las 2 isoformas de forma individual⁴³; los resultados muestran que los niveles de la isoforma FHR-4A son 2.55 μ g/ml (10 veces menores de los estimados anteriormente), mientras que la isoforma FHR-4B no se detecta en plasma, lo que suscita dudas razonables sobre si realmente se secreta. Los niveles de FHR-4A no parecen estar asociados con la edad, pero sí son ligeramente menores en controles pediátricos que en adultos³⁶. Recientemente se ha descrito un polimorfismo en el intrón 1 del gen *CFHR4* que se asocia con niveles más elevados de la isoforma FHR-4A³⁵.

La proteína FHR-5, al igual que FHR-1 y FHR-2, también tiene 2 dominios de dimerización, pero aparentemente sólo circula en plasma en forma de homodímeros FHR-5/5. Los niveles medios de FHR-5 en controles adultos holandeses son 1.66 μ g/ml⁴⁰, algo inferiores a los reportados anteriormente en otras cohortes, que oscilan entre 2.5 y 5.5 μ g/ml^{34,44,45}. Los niveles de FHR-5 son más bajos en niños menores de 3 años, edad a la que alcanzan prácticamente los mismos valores que en adultos³⁶.

¿Cómo varían los niveles de FH y proteínas FHRs en pacientes de SHUa, NíG y GC3? Como mencionamos anteriormente, algunos polimorfismos que inciden directamente en los niveles de proteína tienen frecuencias diferentes en pacientes y

en controles. Es el caso del haplotipo *CFH(H3)*, que se asocia con menores niveles de FH y mayores niveles de FHR-3²⁵, del haplotipo *CFH(H4)*, que se asocia con mayores niveles de esta proteína⁴⁶, o de la delección Δ *CFHR3-CFHR1*, que genera deficiencia de FHR-1 y FHR-3.

Por otro lado, varios estudios en pacientes de SHUa y NigA sugieren que los niveles de FH y proteínas FHRs cambian también durante el curso de la enfermedad. Así, los niveles de FHR-1 y FHR-5, y las ratios FHR-1/FH y FHR-5/FH, son mayores en pacientes de NigA que en las correspondientes poblaciones control, y hay una correlación directa entre los niveles de FHR-5 y la progresión de la enfermedad^{21,34,45}. En el mismo sentido, algunos pacientes de NigA tienen un mayor depósito de FHR-5 en los glomérulos, que correlaciona con el daño histológico y sirve de marcador pronóstico⁴⁷. También se han observado cambios en los niveles de FHR-5 en algunos pacientes de SHUa asociado a infección con *Streptococcus pneumoniae*, que presentan niveles mayores de esta proteína en las muestras de plasma obtenidas en los primeros días del proceso infeccioso que en las muestras en remisión⁴⁸. Esta probable influencia de la evolución clínica en los niveles de FH y proteínas FHRs explicaría también por qué los niveles de FHR-3 en pacientes de la cohorte española de SHUa son mayores que en los individuos sanos que tienen el mismo genotipo de *CFHR3*²⁷. Para abordar estos interrogantes, habrá que comparar los niveles de FH y proteínas FHRs en muestras seriadas de los pacientes, obtenidas al debut y en remisión. No hay publicaciones que documenten cambios en los niveles de FH y proteínas FHRs en pacientes de GC3; no obstante, resultados preliminares de nuestro grupo muestran que la mayoría de los pacientes tienen niveles elevados de algunas proteínas FHRs, y probablemente esta situación se da también en otras cohortes de GC3.

Otra cuestión que nos parece relevante es que en la mayoría de los estudios realizados en controles y pacientes se han comparado los niveles absolutos de FH y proteínas FHRs, pero sólo en algunos se han calculado los niveles relativos de las mismas, como las ratios FHR-1/FH o FHR-5/FH. El aumento en los niveles de una determinada proteína FHR puede ser relevante en un individuo con niveles constitutivamente bajos de FH, mientras que en un individuo con una concentración elevada de FH ese mismo aumento puede no ser significativo. En nuestra opinión, los cambios en las concentraciones relativas de FH y proteínas FHRs pueden ser tanto o más informativos que los cambios en los niveles absolutos de las mismas.

En resumen, aunque la cuantificación de las proteínas FHRs no se ha podido llevar a cabo de forma fiable hasta hace unos años, se sabe que los niveles de algunas de ellas, en particular FHR-1 y FHR-3, están determinados en gran medida por polimorfismos en la región *CFH-CFHRs*. Por otro lado, los datos obtenidos en pacientes de SHUa y NigA revelan que los niveles de algunas proteínas FHRs y la ratio FH/FHRs se alteran durante el curso clínico de la enfermedad. Estos datos sugieren una contribución relevante de los niveles de FH y FHRs en la patogenia de enfermedades relacionadas con la desregulación de la VA del Complemento, que se irá perfilando a medida que mejore nuestra comprensión de la actividad funcional de estas proteínas y de los mecanismos que determinan sus niveles de expresión.

Puntos destacados

- El Factor H (FH) regula la vía alternativa del Complemento y evita que se active inespecíficamente sobre nuestras propias células y tejidos.
- Las proteínas FHRs son muy similares estructuralmente al FH, pero es probable que se comporten como antagonistas funcionales del FH y potencien la activación del Complemento.
- Los niveles de FH y proteínas FHRs están determinados parcialmente por polimorfismos en la región *CFH-CFHRs* cuya frecuencia varía entre poblaciones diferentes.
- Pequeños cambios en los niveles de FH y proteínas FHRs pueden desequilibrar la regulación del Complemento a nivel local o sistémico, y favorecer el desarrollo de patologías renales como el SHUa, las GC3 o la NigA.

Financiación

IGD tiene un contrato financiado por la Comunidad Autónoma de Madrid (Complement II-CM; S2017/BMD-3673) y por la Fundación Senefro (<http://www.senefro.org/>; Ayudas de Investigación 2018). El trabajo ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (proyecto PI19/00970 a PS-C).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Margarita López Trascasa y al Dr. Fernando Corvillo, miembros del Grupo de Investigación en Complemento del IdiPAZ, la lectura del manuscrito y sus comentarios sobre el mismo.

REFERENCIAS

1. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol.* 2010;11:785-97, <http://dx.doi.org/10.1038/ni.1923>.
2. Bajic G, Degn SE, Thiel S, Andersen GR. Complement activation, regulation, and molecular basis for complement-related diseases. *EMBO J.* 2015;34:2735-57, <http://dx.doi.org/10.15252/embj.201591881>.
3. Schmidt CQ, Lambris JD, Ricklin D. Protection of host cells by complement regulators. *Immunol Rev.* 2016;274:152-71, <http://dx.doi.org/10.1111/imr.12475>.
4. Vernon KA, Cook HT. Complement in glomerular disease. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2012;19:84-92, <http://dx.doi.org/10.1053/j.ackd.2012.02.015>.

5. Goicoechea de Jorge E, López Lera A, Bayarri-Olmos R, Yebenes H, Lopez-Trascasa M, Rodríguez de Córdoba S. Common and rare genetic variants of complement components in human disease. *Mol Immunol*. 2018;102:42–57, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2018.06.011>.
6. Meri S. Self-nonsel self discrimination by the complement system. *FEBS Lett*. 2016;590:2418–34, <http://dx.doi.org/10.1002/1873-3468.12284>.
7. Dopler A, Guntau L, Harder MJ, Palmer A, Höchsmann B, Schrezenmeier H, et al. Self versus Nonsel self Discrimination by the Soluble Complement Regulators Factor H and FHL-1. *J Immunol*. 2019 Apr 1;202:2082–94, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1801545>.
8. 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;41:355–67, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2004.02.005>.
9. 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;36:374–84, <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2015.04.008>.
10. Poppelaars F, Goicoechea de Jorge E, Jongerius I, Baeumner AJ, Steiner MS, Józsi M, et al. A Family Affair: Addressing the Challenges of Factor H and the Related Proteins. *Front Immunol*. 2021 Mar 30;12:660194, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2021.660194>.
11. Heinen S, Hartmann A, Lauer N, Wiehl U, Dahse HM, Schirmer S, et al. Factor H-related protein 1 (CFHR-1) inhibits complement C5 convertase activity and terminal complex formation. *Blood*. 2009 Sep 17;114:2439–47, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2009-02-205641>.
12. Eberhardt HU, Buhlmann D, Hortschansky P, Chen Q, Böhm S, Kemper MJ, et al. Human factor H-related protein 2 (CFHR2) regulates complement activation. *PLoS One*. 2013 Nov 18;8:e78617, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0078617>.
13. Mihlan M, Hebecker M, Dahse HM, Hälbich S, Huber-Lang M, Dahse R, et al. Human complement factor H-related protein 4 binds and recruits native pentameric C-reactive protein to necrotic cells. *Mol Immunol*. 2009 Jan;46:335–44, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2008.10.029>.
14. Hebecker M, Józsi M. Factor H-related protein 4 activates complement by serving as a platform for the assembly of alternative pathway C3 convertase via its interaction with C3b protein. *J Biol Chem*. 2012;287:19528–36, <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M112.364471>.
15. Csincsi ÁI, Kopp A, Zöldi M, Bánlaki Z, Uzonyi B, Hebecker M, et al. Factor H-related protein 5 interacts with pentraxin 3 and the extracellular matrix and modulates complement activation. *J Immunol*. 2015 May 15;194:4963–73, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1403121>.
16. Csincsi ÁI, Szabó Z, Bánlaki Z, Uzonyi B, Cserhalmi M, Kárpáti É, et al. FHR-1 Binds to C-Reactive Protein and Enhances Rather than Inhibits Complement Activation. *J Immunol*. 2017 Jul 1;199:292–303, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1600483>.
17. Martín Merinero H, Subías M, Pereda A, Gomez-Rubio E, Juana-Lopez L, Fernandez Rivera C, et al. The molecular bases for the association of FHR-1 with atypical hemolytic uremic syndrome and other diseases. *Blood*. 2021 Mar 2, <http://dx.doi.org/10.1182/blood.2020010069>, blood.2020010069.
18. Sánchez-Corral P, Pouw RB, López-Trascasa M, Józsi M. Self-Damage Caused by Dysregulation of the Complement Alternative Pathway: Relevance of the Factor H Protein Family. *Front Immunol*. 2018 Jul 12;9:1607, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.01607>.
19. Zipfel PF, Wiech T, Stea ED, Skerka C. CFHR Gene Variations Provide Insights in the Pathogenesis of the Kidney Diseases Atypical Hemolytic Uremic Syndrome and C3 Glomerulopathy. *J Am Soc Nephrol*. 2020 Feb;31:241–56, <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2019050515>.
20. Zhai YL, Meng SJ, Zhu L, Shi SF, Wang SX, Liu LJ, et al. Rare Variants in the Complement Factor H-Related Protein 5 Gene Contribute to Genetic Susceptibility to IgA Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2016 Sep;27:2894–905, <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2015010012>.
21. Tortajada A, Gutiérrez E, Goicoechea de Jorge E, Anter J, Segarra A, Espinosa M, et al. Elevated factor H-related protein 1 and factor H pathogenic variants decrease complement regulation in IgA nephropathy. *Kidney Int*. 2017 Oct;92:953–63, <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2017.03.041>.
22. Zipfel PF, Edey M, Heinen S, Józsi M, Richter H, Misselwitz J, et al. Deletion of complement factor H-related genes CFHR1 and CFHR3 is associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *PLoS Genet*. 2007 Mar 16;3:e41, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.0030041>.
23. Gharavi AG, Kiryluk K, Choi M, Li Y, Hou P, Xie J, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for IgA nephropathy. *Nat Genet*. 2011 Mar 13;43:321–7, <http://dx.doi.org/10.1038/ng.787>.
24. de Córdoba SR, de Jorge EG. Translational mini-review series on complement factor H: genetics and disease associations of human complement factor H. *Clin Exp Immunol*. 2008 Jan;151:1–13, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2007.03552.x>.
25. Bernabéu-Herrero ME, Jiménez-Alcázar M, Anter J, Pinto S, Sánchez Chinchilla D, Garrido S, et al. Complement factor H FHR-3 and FHR-1 variants associate in an extended haplotype conferring increased risk of atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol*. 2015 Oct;67 2 Pt B:276–86, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2015.06.021>.
26. Abarategui-Garrido C, Martínez-Barricarte R, López-Trascasa M, de Córdoba SR, Sánchez-Corral P. Characterization of complement factor H-related (CFHR) proteins in plasma reveals novel genetic variations of CFHR1 associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*. 2009 Nov 5;114:4261–71, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2009-05-223834>.
27. Pouw RB, Gómez Delgado I, López Lera A, Rodríguez de Córdoba S, Wouters D, Kuijpers TW, et al. High Complement Factor H-Related (FHR)-3 Levels Are Associated With the Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome-Risk Allele CFHR3*B. *Front Immunol*. 2018 Apr 24;9:848, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.00848>.
28. Gómez I, Vélez C, Sánchez-Corral P. Quantitative Western-blot profiles of factor H and factor H-related proteins in atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathy. *Molecular Immunology*. 2017 Sep 1;89:181 (Abstract).
29. Abrera-Abeleda MA, Nishimura C, Smith JL, Sethi S, McRae JL, Murphy BF, et al. Variations in the complement regulatory genes factor H (CFH) and factor H related 5 (CFHR5) are associated with membranoproliferative glomerulonephritis type II (dense deposit disease). *J Med Genet*. 2006 Jul;43:582–9, <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2005.038315>.
30. Esparza-Gordillo J, Soria JM, Buil A, Almsay L, Blangero J, Fontcuberta J, et al. Genetic and environmental factors influencing the human factor H plasma levels. *Immunogenetics*. 2004 May;56:77–82, <http://dx.doi.org/10.1007/s00251-004-0660-7>.
31. Hakobyan S, Harris CL, Tortajada A, Goicoechea de Jorge E, García-Layana A, Fernández-Robredo P, et al. Measurement of factor H variants in plasma using variant-specific monoclonal antibodies: application to assessing risk of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 May;49:1983–90, <http://dx.doi.org/10.1167/iovs.07-1523>.

32. Ansari M, McKeigue PM, Skerka C, Hayward C, Rudan I, Vitart V, et al. Genetic influences on plasma CFH and CFHR1 concentrations and their role in susceptibility to age-related macular degeneration. *Hum Mol Genet.* 2013 Dec 1;22:4857–69, <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddt336>.
33. Pouw RB, Brouwer MC, Geissler J, van Herpen LV, Zeerleder SS, Willemin WA, et al. Complement Factor H-Related Protein 3 Serum Levels Are Low Compared to Factor H and Mainly Determined by Gene Copy Number Variation in CFHR3. *PLoS One.* 2016 Mar 23;11:e0152164, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0152164>.
34. Medjeral-Thomas NR, Lomax-Browne HJ, Beckwith H, Willicombe M, McLean AG, Brookes P, et al. Circulating complement factor H-related proteins 1 and 5 correlate with disease activity in IgA nephropathy. *Kidney Int.* 2017 Oct;92:942–52, <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2017.03.043>.
35. Cipriani V, Lorés-Motta L, He F, Fathalla D, Tilakaratna V, McHarg S, et al. Increased circulating levels of Factor H-Related Protein 4 are strongly associated with age-related macular degeneration. *Nat Commun.* 2020 Feb 7;11:778, <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-14499-3>.
36. van Beek AE, Kamp A, Kruihof S, Nieuwenhuys EJ, Wouters D, Jongerius I, et al. Reference Intervals of Factor H and Factor H-Related Proteins in Healthy Children. *Front Immunol.* 2018 Aug 2;9:1727, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.01727>.
37. Grumach AS, Ceccon ME, Rutz R, Fertig A, Kirschfink M. Complement profile in neonates of different gestational ages. *Scand J Immunol.* 2014 Apr;79:276–81, <http://dx.doi.org/10.1111/sji.12154>.
38. Friese MA, Hellwage J, Jokiranta TS, Meri S, Müller-Quernheim HJ, Peter HH, et al. Different regulation of factor H and FHL-1/reconectin by inflammatory mediators and expression of the two proteins in rheumatoid arthritis (RA). *Clin Exp Immunol.* 2000 Aug;121:406–15, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2249.2000.01285.x>.
39. Goicoechea de Jorge E, Caesar JJ, 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 U S A.* 2013 Mar 19;110:4685–90, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1219260110>.
40. van Beek AE, Pouw RB, Brouwer MC, van Mierlo G, Geissler J, Ooijevaar-de Heer P, et al. Factor H-Related (FHR)-1 and FHR-2 Form Homo- and Heterodimers, while FHR-5 Circulates Only As Homodimer in Human Plasma. *Front Immunol.* 2017 Oct 18;8:1328, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2017.01328>.
41. Holmes LV, Strain L, Staniforth SJ, Moore I, Marchbank K, Kavanagh D, et al. Determining the population frequency of the CFHR3/CFHR1 deletion at 1q32. *PLoS One.* 2013 Apr 16;8:e60352, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0060352>.
42. Józsi M, Richter H, Löschmann I, Skerka C, Buck F, Beisiegel U, et al. FHR-4A: a new factor H-related protein is encoded by the human FHR-4 gene. *Eur J Hum Genet.* 2005 Mar;13:321–9, <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201324>.
43. Pouw RB, Brouwer MC, van Beek AE, Józsi M, Wouters D, Kuijpers TW. Complement Factor H-Related Protein 4A Is the Dominant Circulating Splice Variant of CFHR4. *Front Immunol.* 2018 Apr 17;9:729, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.00729>.
44. Vernon KA, Goicoechea de Jorge E, Hall AE, Fremaux-Bacchi V, Aitman TJ, Cook HT, et al. Acute presentation and persistent glomerulonephritis following streptococcal infection in a patient with heterozygous complement factor H-related protein 5 deficiency. *Am J Kidney Dis.* 2012 Jul;60:121–5, <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2012.02.329>.
45. Zhu L, Guo WY, Shi SF, Liu LJ, Lv JC, Medjeral-Thomas NR, et al. Circulating complement factor H-related protein 5 levels contribute to development and progression of IgA nephropathy. *Kidney Int.* 2018 Jul;94:150–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2018.02.023>.
46. Zhu L, Zhai YL, Wang FM, Hou P, Lv JC, Xu DM, et al. Variants in Complement Factor H and Complement Factor H-Related Protein Genes, CFHR3 and CFHR1 Affect Complement Activation in IgA Nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2015 May;26:1195–204, <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2014010096>.
47. Guo WY, Sun LJ, Dong HR, Wang GQ, Xu XY, Zhao ZR, et al. Glomerular Complement Factor H-Related Protein 5 is Associated with Histologic Injury in Immunoglobulin A Nephropathy. *Kidney Int Rep.* 2020 Nov 21;6:404–13, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ekir.2020.11.019>.
48. Gómez Delgado I, Corvillo F, Nozal P, Arjona E, Madrid Á, Melgosa M, et al. Complement Genetic Variants and FH Desialylation in *S. pneumoniae*-Haemolytic Uraemic Syndrome. *Front Immunol.* 2021 Mar 11;12:641656, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2021.641656>.
49. Kemper C, Pangburn MK, Fishelson Z. Complement nomenclature 2014. *Mol Immunol.* 2014 Oct;61:56–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2014.07.004>.
50. Bohlson SS, Garred P, Kemper C, Tenner AJ. Complement Nomenclature-Deconvoluted. *Front Immunol.* 2019 Jun 7;10:1308, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2019.01308>.