

Complemento

Storia e scoperta del Complemento

Il Complemento fu scoperto nel 1894 da Jules Bordet il quale osservò che:

-Siero fresco contenente anticorpi verso un batterio (siero immune) + batteri = lisi dei batteri

-Siero immune vecchio (o riscaldato a 56°) + batteri = nessuna lisi

-Siero immune riscaldato a 56° + siero fresco normale, non immune + batteri = lisi

Bordet ottenne il Premio Nobel nel 1919.



Il Complemento (C) :

-è tra le forme di difesa più primitive contro le infezioni

essendo conservato attraverso l'evoluzione: è infatti il sistema di difesa filogeneticamente più antico;

-è uno dei primi sistemi attivati in risposta ad una infezione;

-è un costituente importante che fa parte dell'immunità innata e agisce anche in concerto con gli Ab nell'immunità acquisita;

-è costituito da circa 30 proteine circolanti o legate alla membrana di cui molte con attività proteasica, presenti in tutti i liquidi organici. Molte di esse sono poco stabili e termolabili.

Il sistema del C è caratterizzato da un meccanismo di attivazione “a cascata” estremamente potente, attentamente regolato e possiede molte importanti funzioni biologiche .

Funzioni del Complemento

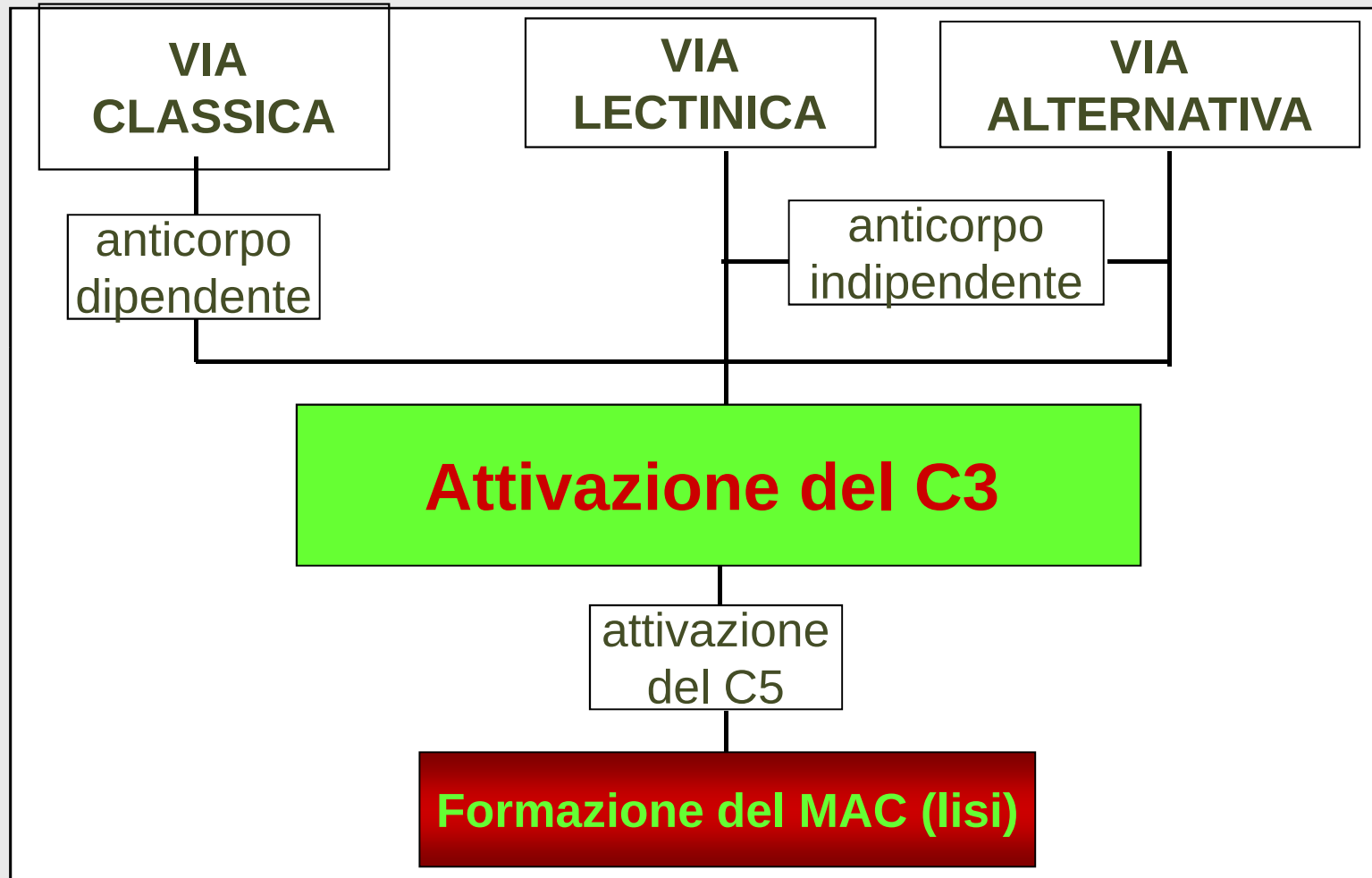
BENEFICHE

- Lisi dei batteri e delle cellule alterate
- Opsonizzazione che aumenta la fagocitosi
- Attivazione e chemiotassi dei fagociti
- Clearance degli immunocomplessi
- Clearance delle cellule apoptotiche

DANNOSE

- Infiammazione ed anafilassi

Vie di attivazione del complemento



Proteine del sistema del complemento (nomenclatura)

- ✓ **Via classica**
complesso C1 (C1q C1r C1s) C4 C2 C3
- ✓ **Via alternativa**
D C3 B
- ✓ **Via lectinica**
MBL MASP-1 MASP-2 C3
- ✓ **Complesso di attacco alla membrana (MAC)**
C5 C6 C7 C8 C9
- ✓ **Proteine regolatrici di membrana**
DAF (CD55) MCP (CD46) MIRL (CD59)

✓ Proteine regolatrici solubili

❖ *Regolazione positiva*

Properdina

❖ *Regolazione negativa*

C1-INH C4BP Fattore H Fattore I
proteina S

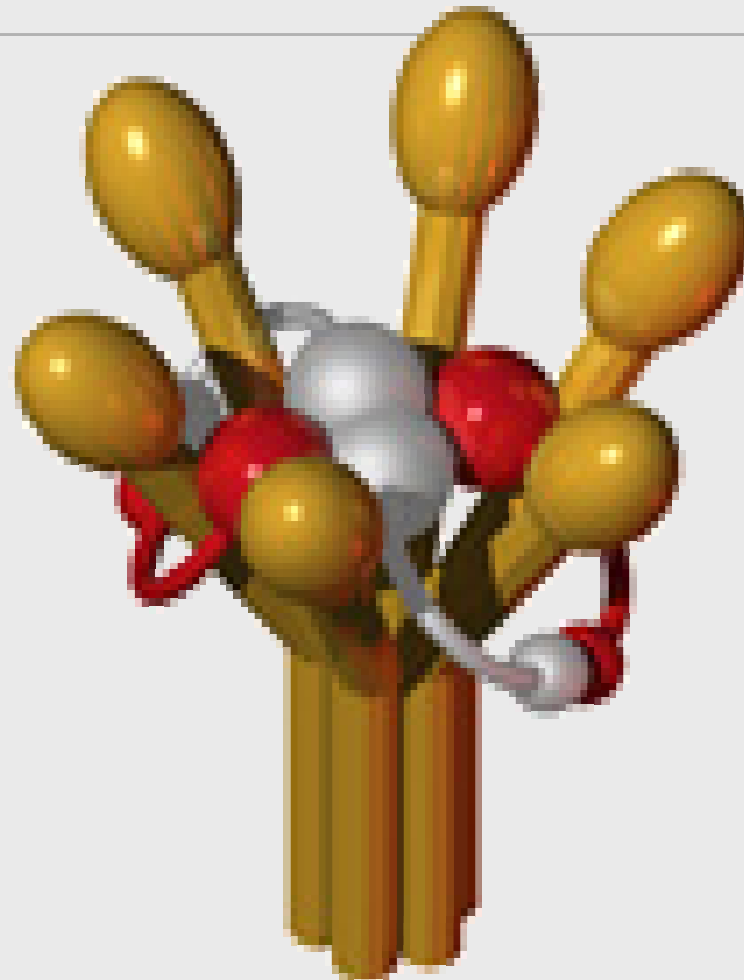
Attivazione dei prodotti del complemento (nomenclatura)

Il componente attivato è contrassegnato con una linea al di sopra: es. C1 $\overline{q}$ rs

Quando un componente viene attivato, la parte più grande, si lega al complesso già attivato o alla membrana, mentre il peptide più piccolo viene rilasciato in circolo

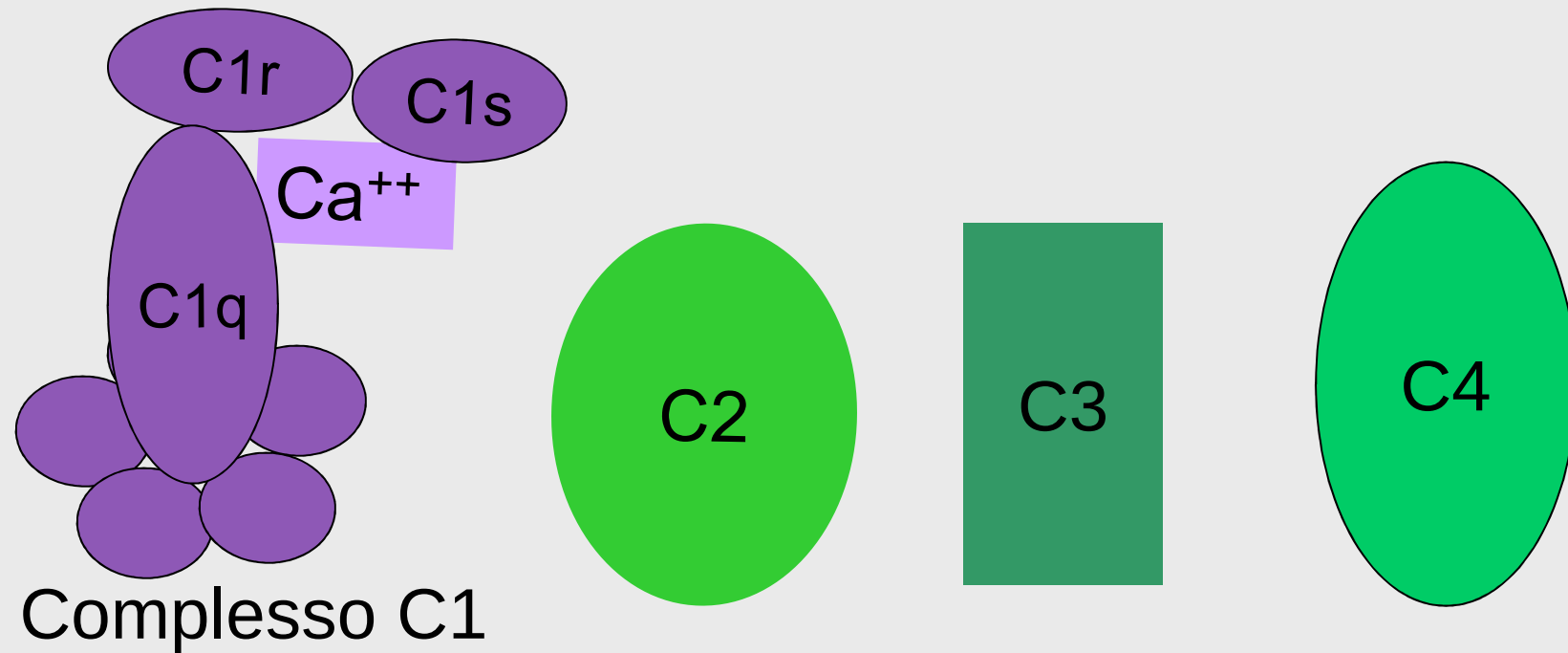
La lettera “b” indica normalmente il frammento più grosso, la lettera “a” il peptide più piccolo (es., C3b/C3a, C4b/C4a, C5b/C5a). **IN ALCUNI TESTI per il C2** il più grande è C2a e quello più piccolo è C2b.

Via classica



Complesso C1qrs

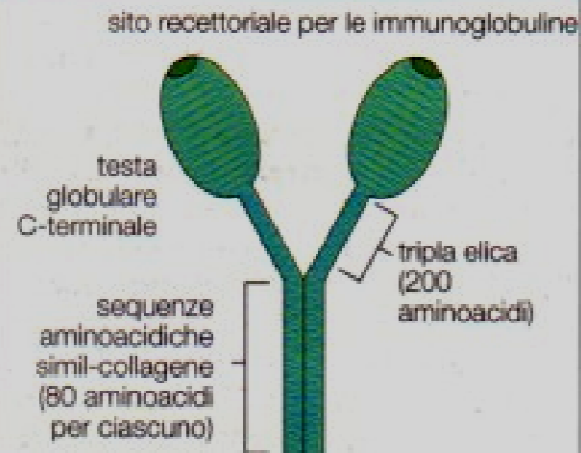
Componenti della Via Classica



Struttura di C1

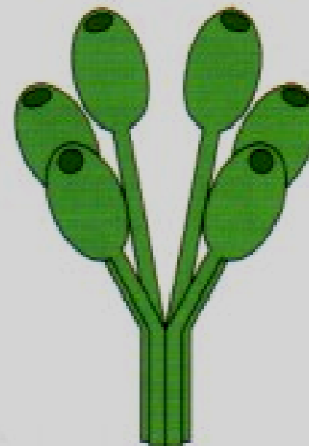
1

subunità C1q

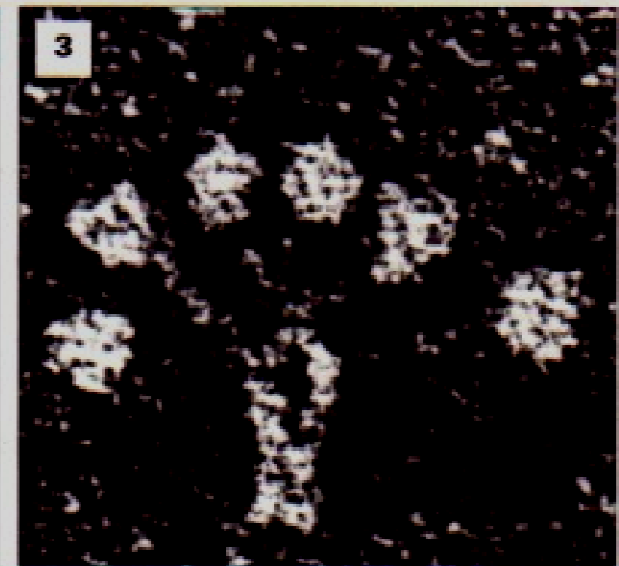


2

C1q intatto

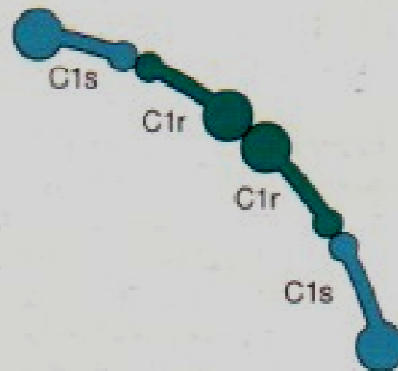


3

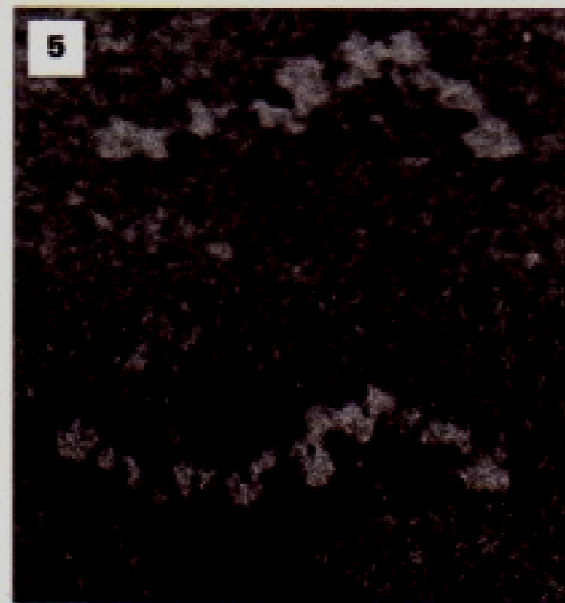


4

unità C1r₂C1s₂

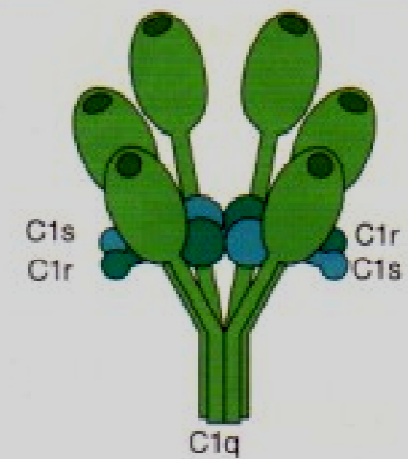


5



6

C1 Intatto

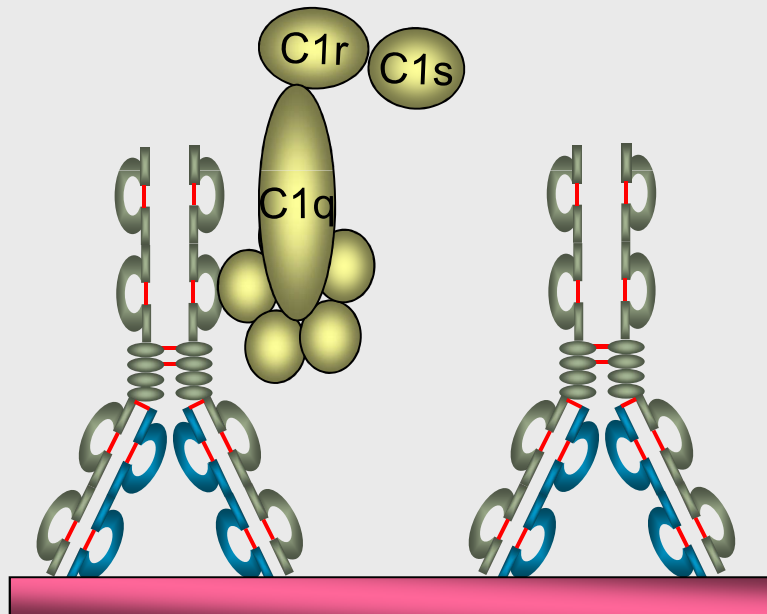


Attivatori del complemento

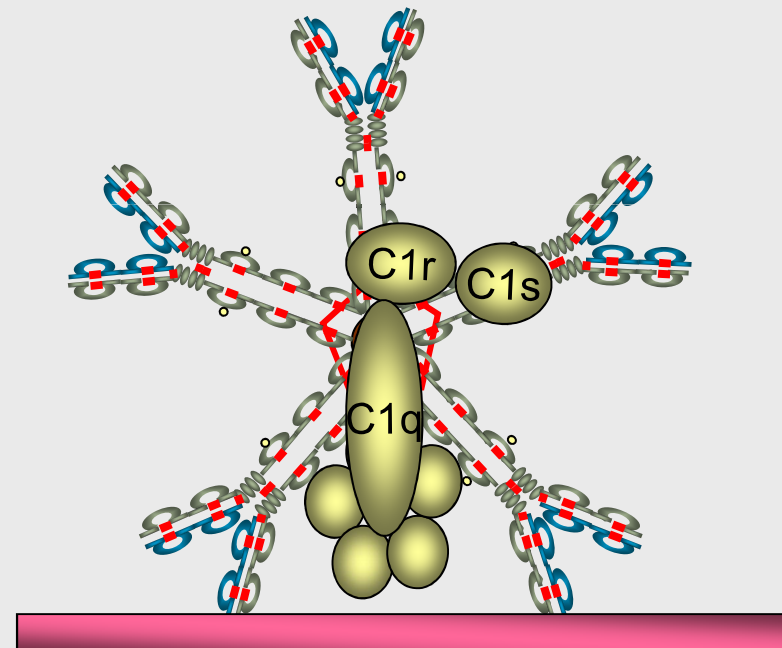
Via classica

- ✓ Immunocomplessi (IgM-Ag)
- ✓ Immunocomplessi (IgG-Ag)
- ✓ Lectina di tipo C dei pneumococchi (SIGN-R1)

Fissazione del complesso C1qrs agli Abs IgG e IgM



Nessuna attivazione



Attivazione

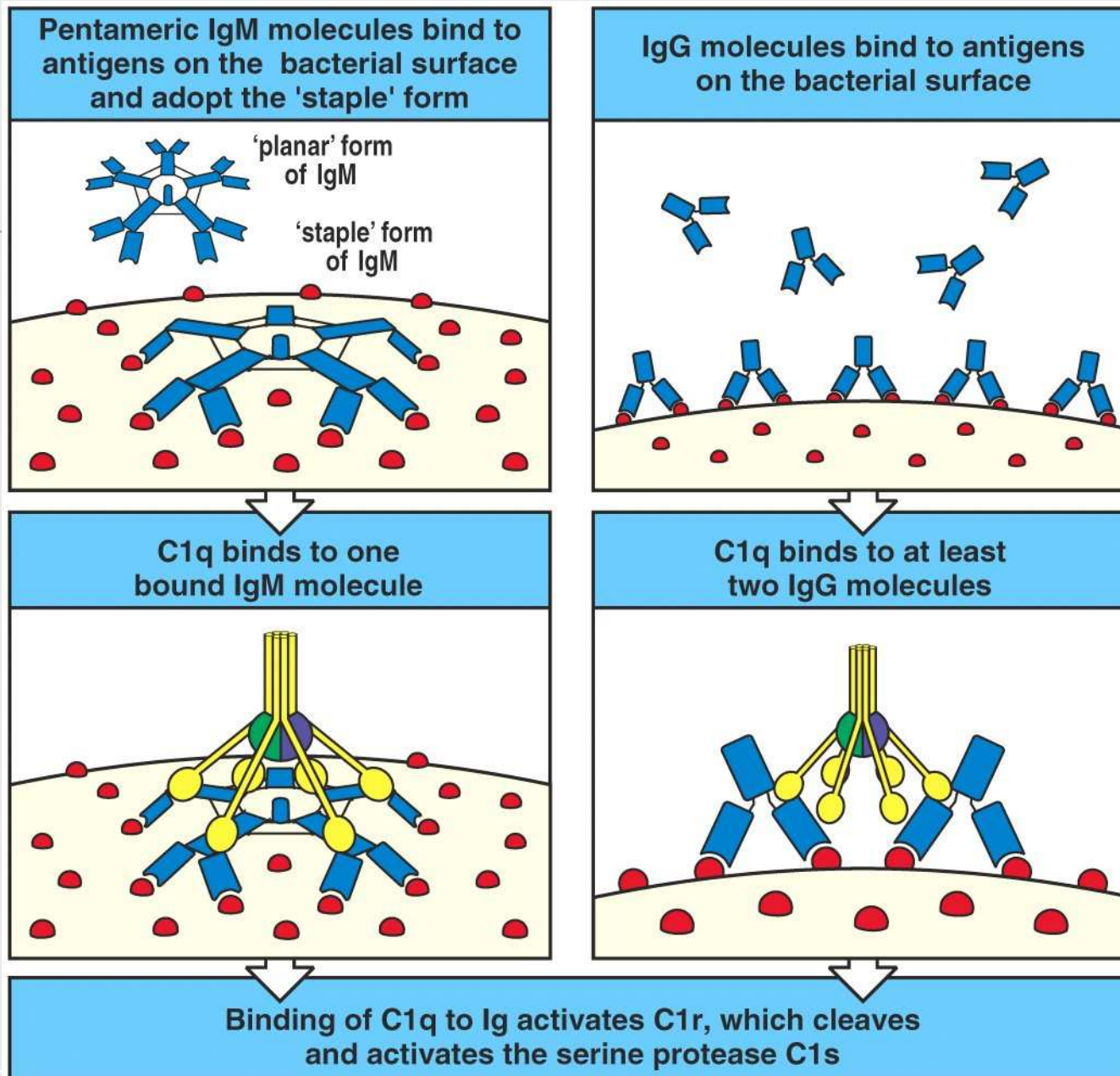
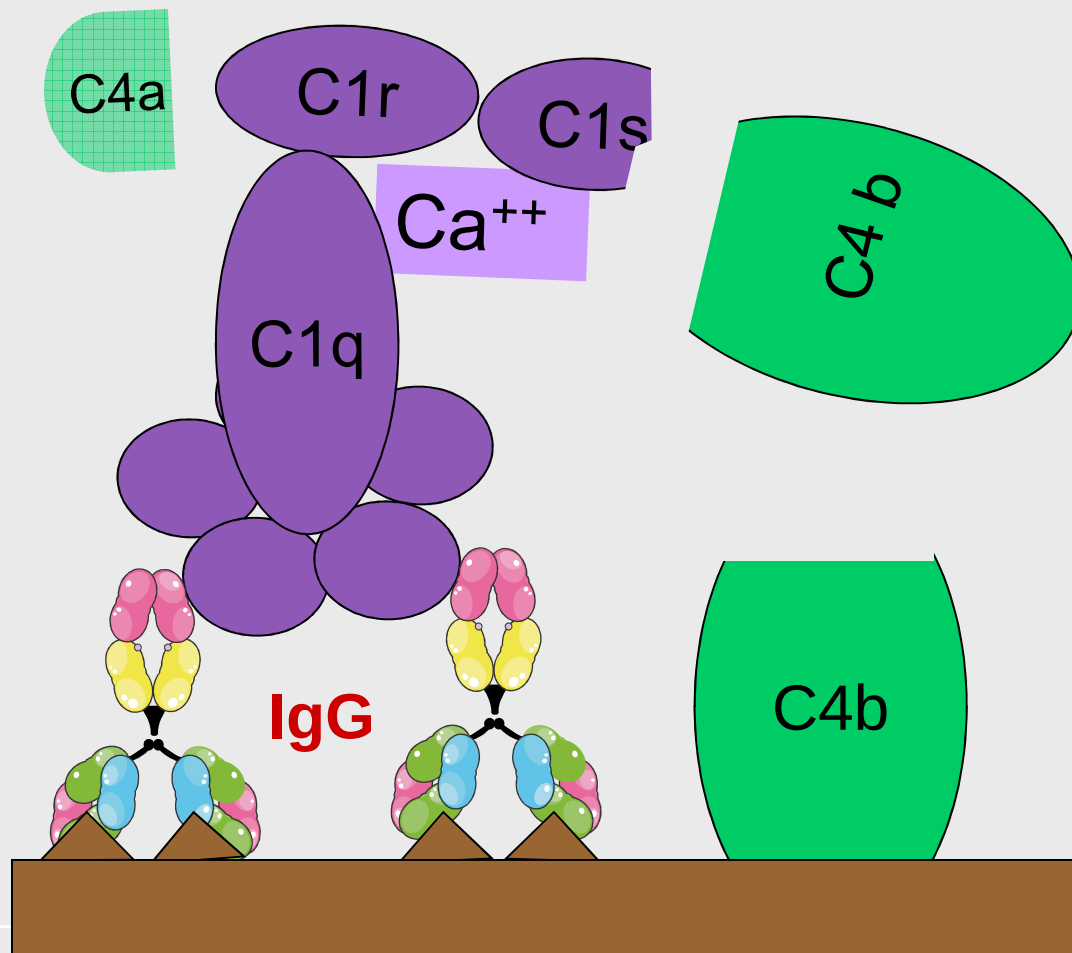


Figure 9-28 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Via Classica

Formazione della C3-convertasi



**Il taglio proteolitico e
l'esposizione di un
legame tioesterico
permette al C4b
di legarsi alle superfici
bersaglio!**

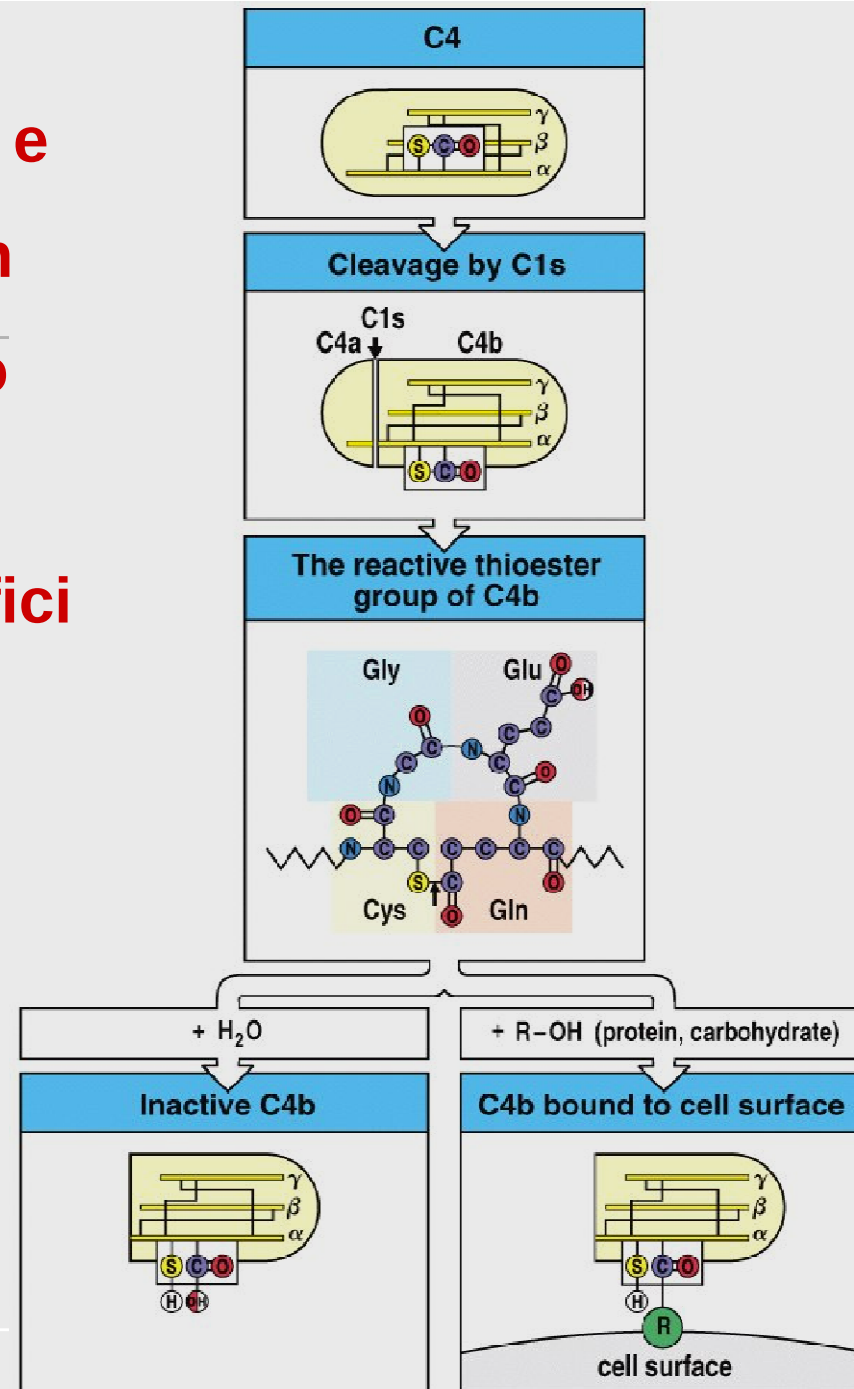
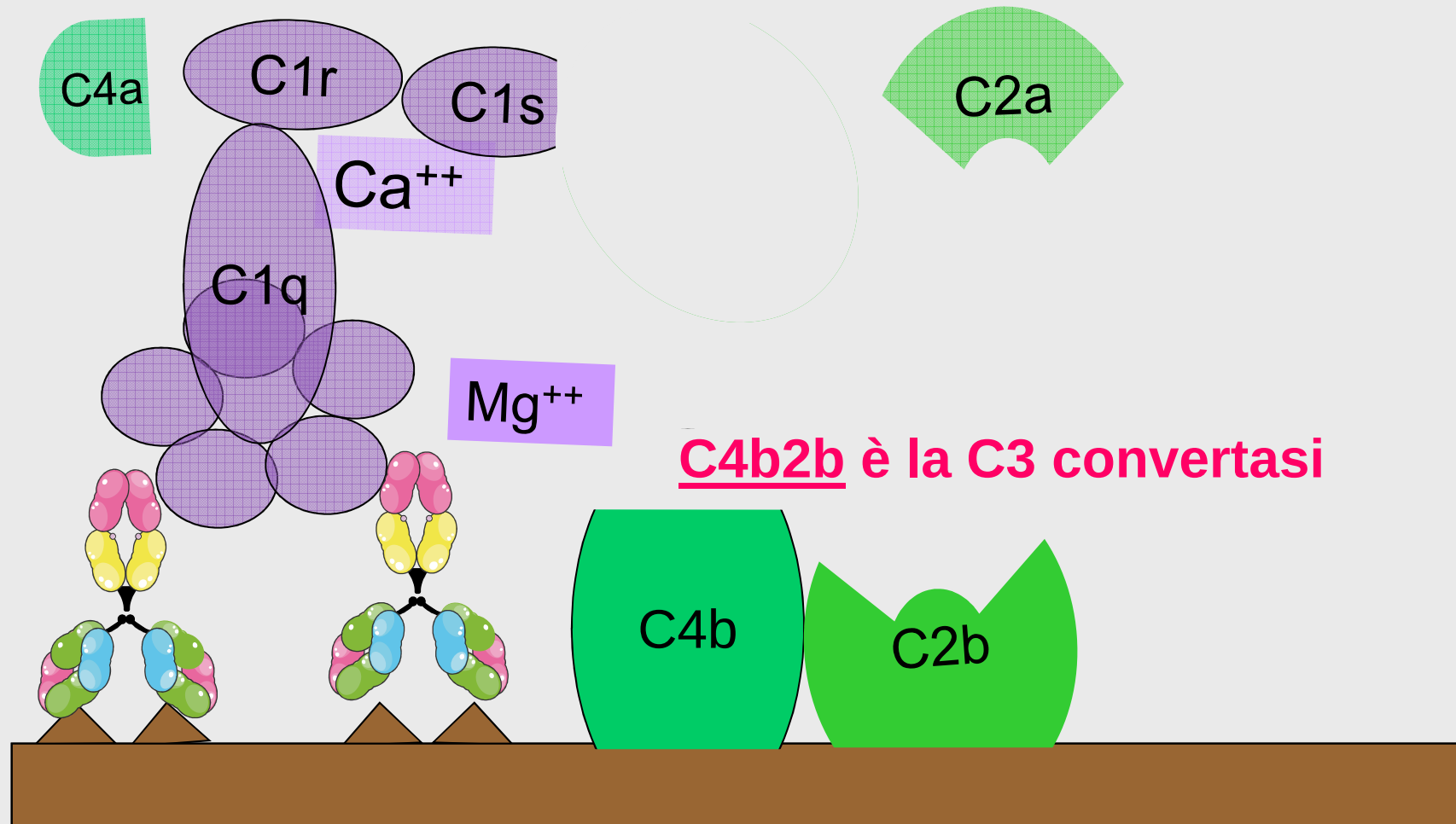


Figure 2-25 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

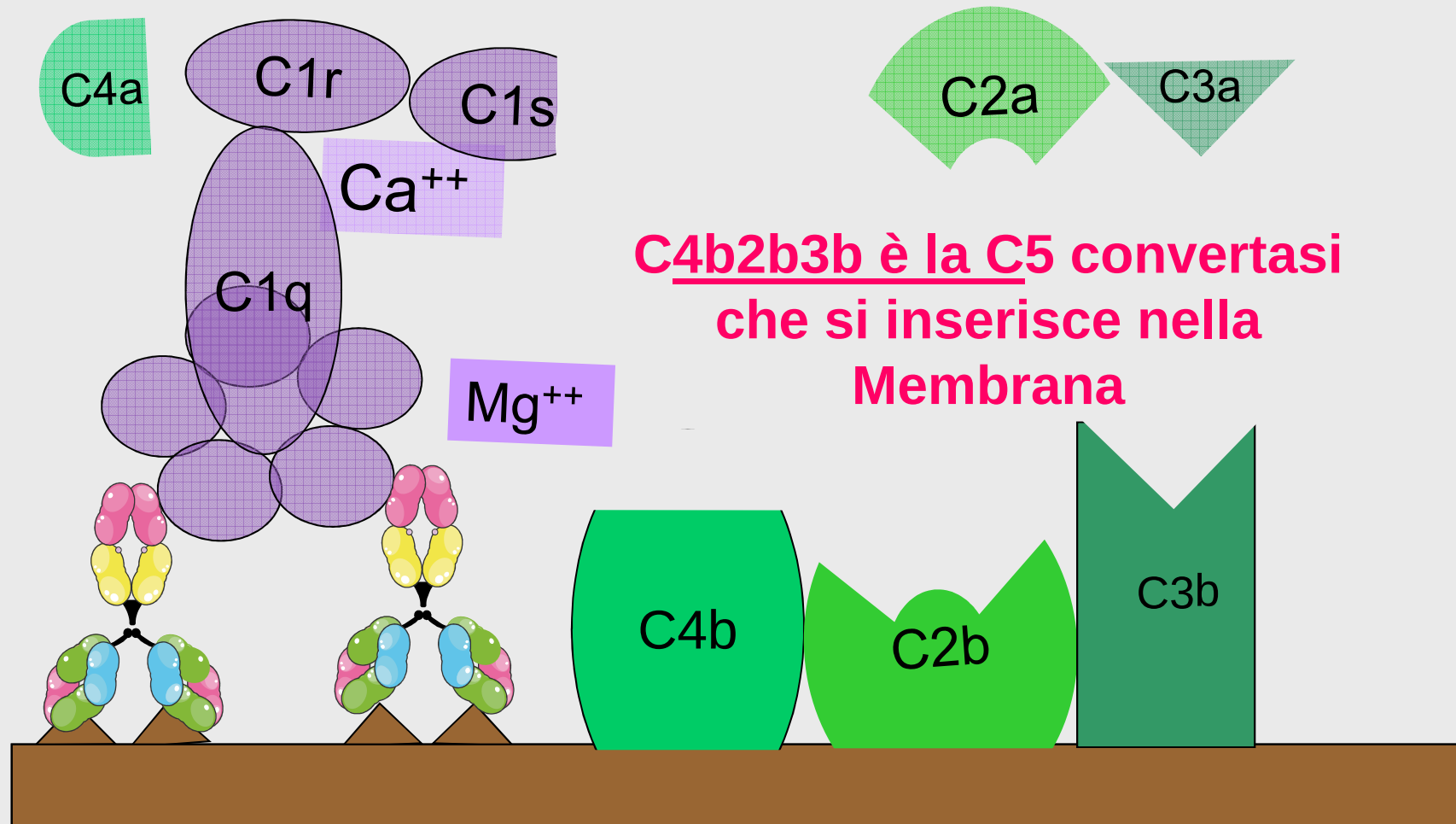
Via Classica

Formazione della C3-convertasi



Via Classica

Formazione della C5-convertasi



Proteine della via classica di attivazione del complemento

Componenti nativi	Forma attiva	Funzioni della forma attiva
C1 (C1q; C1r ₂ :C1s ₂)	C1q	Si lega direttamente alla superficie del patogeno o indirettamente agli anticorpi legati ai patogeni, permettendo autoattivazione di C1r
	C1r	Taglia C1s a proteasi attiva
	C1s	Taglia C4 e C2
C4	C4b	Lega covalentemente il patogeno e lo opsonizza. Lega C2 per il taglio mediato da C1s
	C4a	Mediatore peptidico di infiammazione (debole attività)
C2	C2b	Enzima attivo della via classica convertasi C3/C5: taglia C3 e C5
	C2a	Precursore della chinina vasoattiva C2
C3	C3b	Molte molecole di C3b legano la superficie del patogeno e agiscono come opsonine. Inizia amplificazione mediante la via alternativa. Lega C5 per il taglio mediato da C2b
	C3a	Mediatore peptidico di infiammazione (attività intermedia)

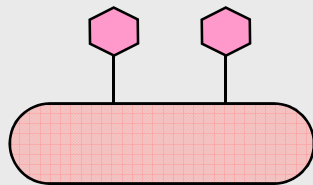
Via lectinica

Attivatori del complemento

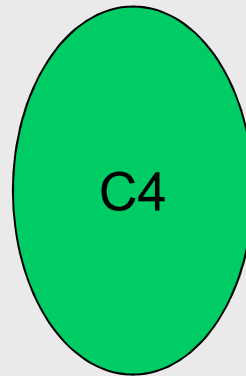
Via Lectinica

Zuccheri semplici ripetuti (mannosio)

Componenti della Via Lectinica



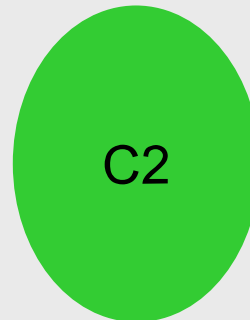
**Batterio con
mannosio**



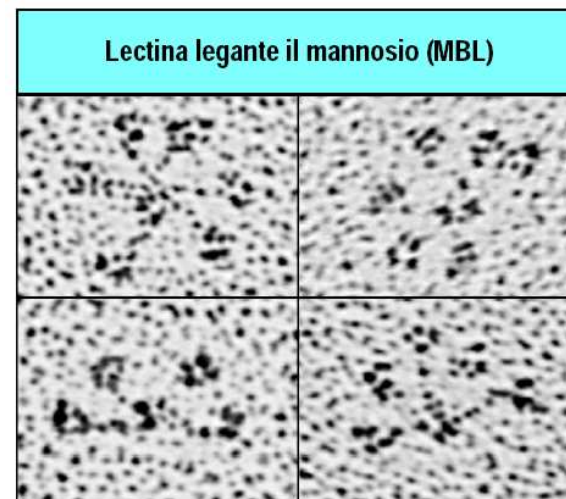
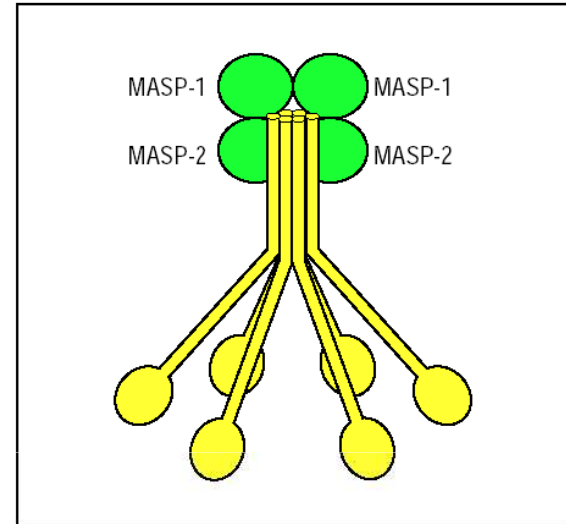
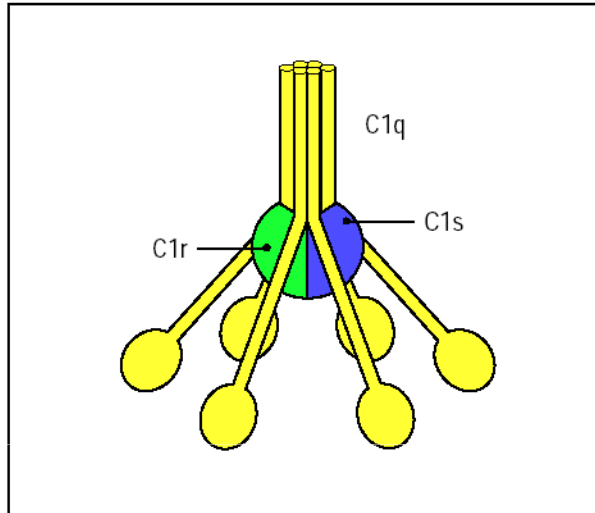
**Serino-proteasi
associate a MBL**

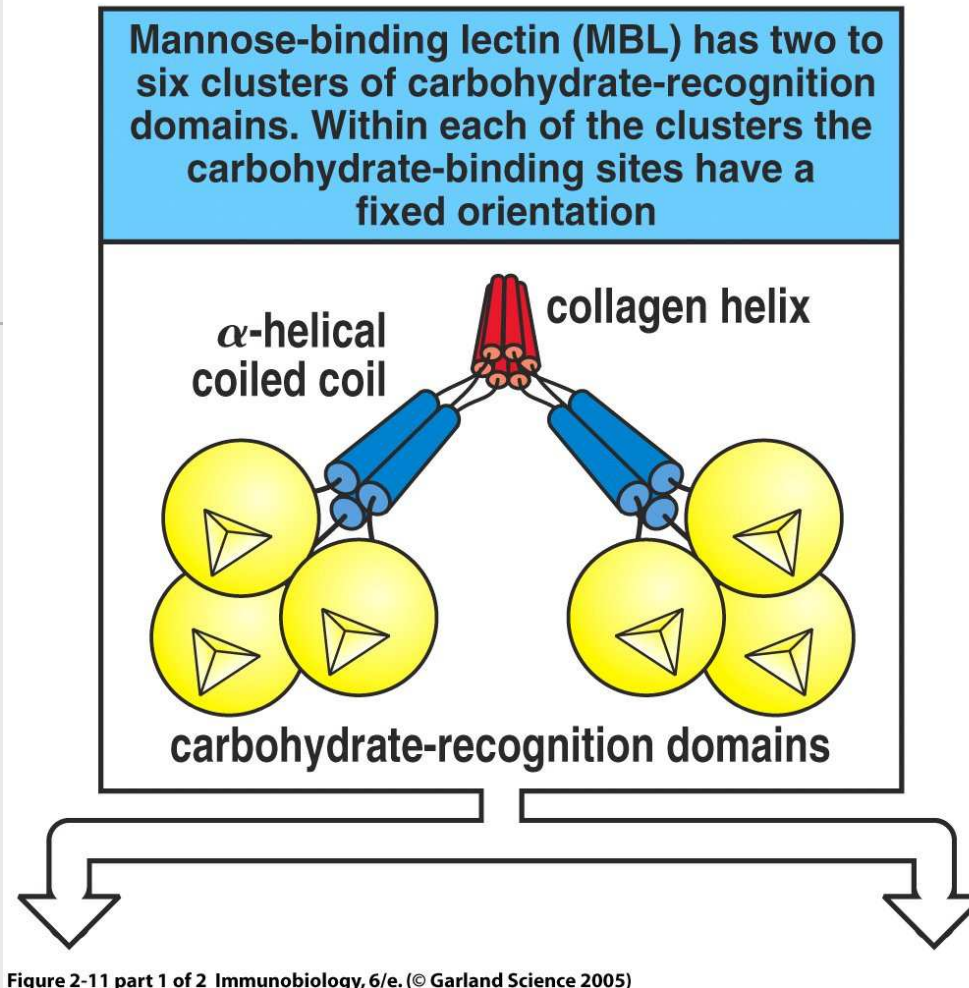


**Proteina legante il
mannosio**



Il C1 e l'MBL hanno una struttura simile

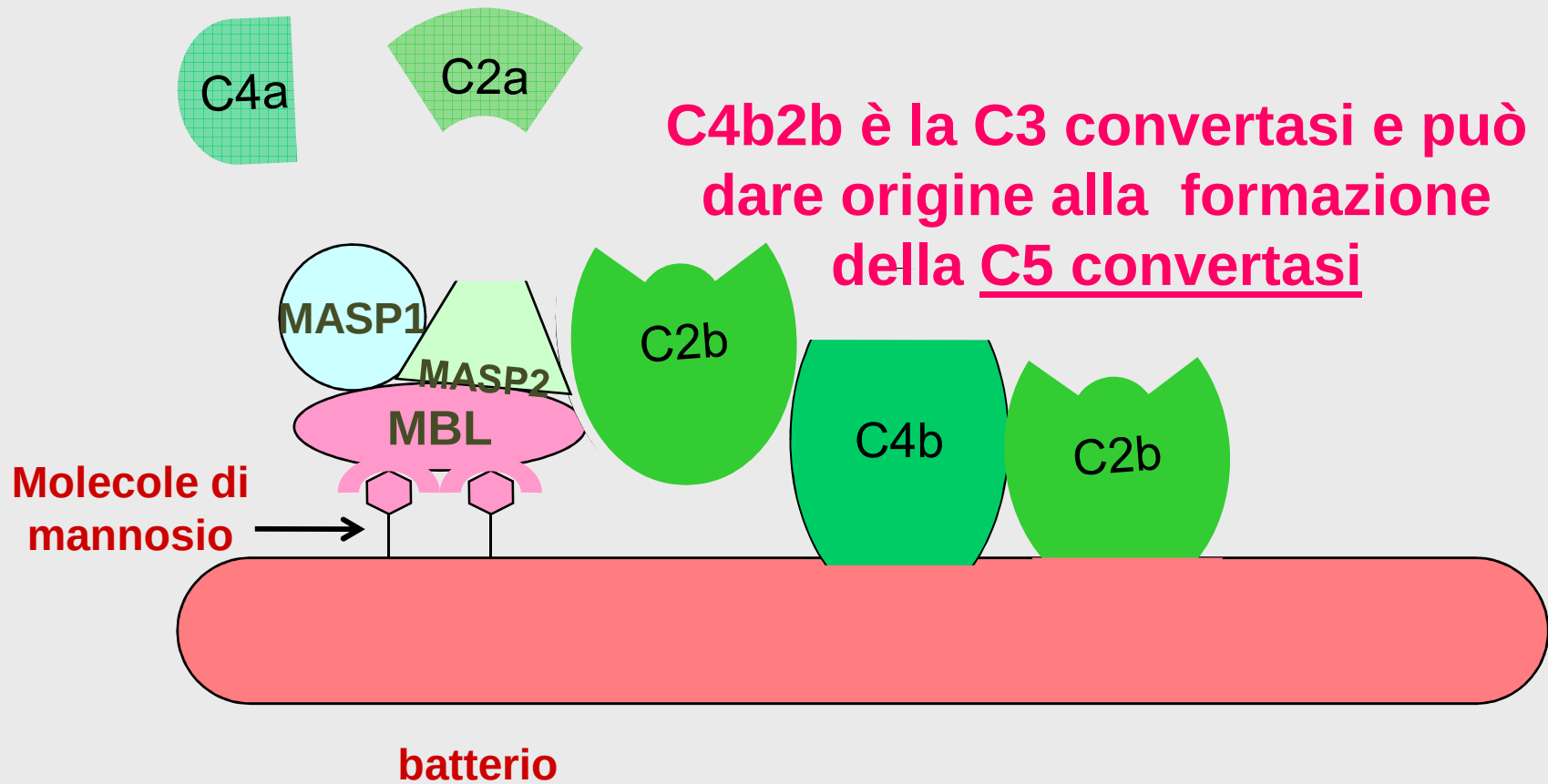




La MBL è strutturalmente correlata al C1q e fa parte della famiglia delle proteine *collettine*, insieme alle proteine Surfactanti A e D del polmonare.

E' stato recentemente scoperto un secondo gruppo di proteine lectiniche chiamate ficoline, la L-ficolina, M-ficolina e la H-ficolina, che legano oltre il mannosio, l'N-acetilglucosamina.

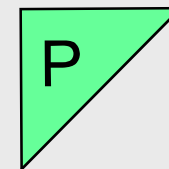
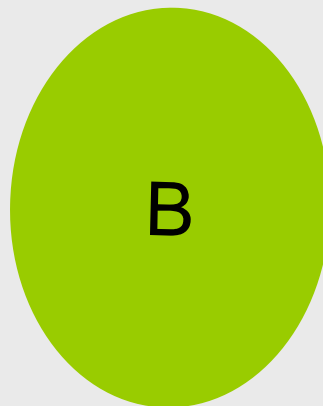
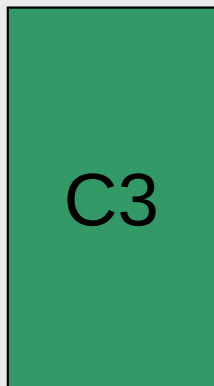
Via Lectinica





Via alternativa

Componenti della Via Alternativa



ATTIVATORI DEL COMPLEMENTO

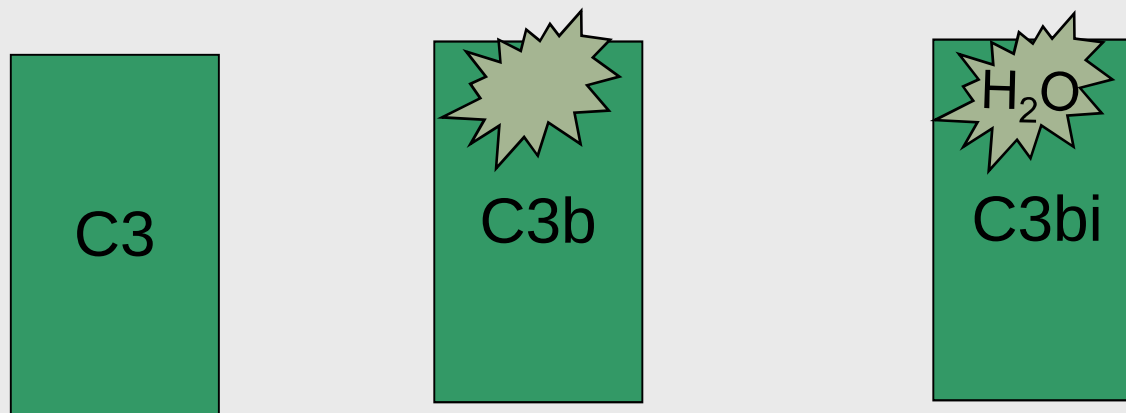
Via alternativa

- Molti ceppi di batteri gram-positivi e gram-negativi
- Il Lipopolisaccaride dei batteri gram-
- L'acido teicoico della parete dei gram+
- Funghi e la parete dei lieviti (zymosan)
- Alcuni virus e cellule infettate da virus
- Alcune cellule tumorali
- Parassiti (tripanosomi)

C3

*ha un ruolo centrale
nell'attivazione
della via alternativa*

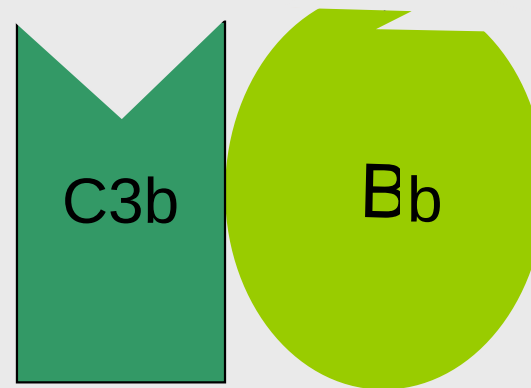
Attivazione spontanea del C3



Il C3b ha un'emivita molto breve e se non si lega ad una superficie cellulare viene idrolizzato

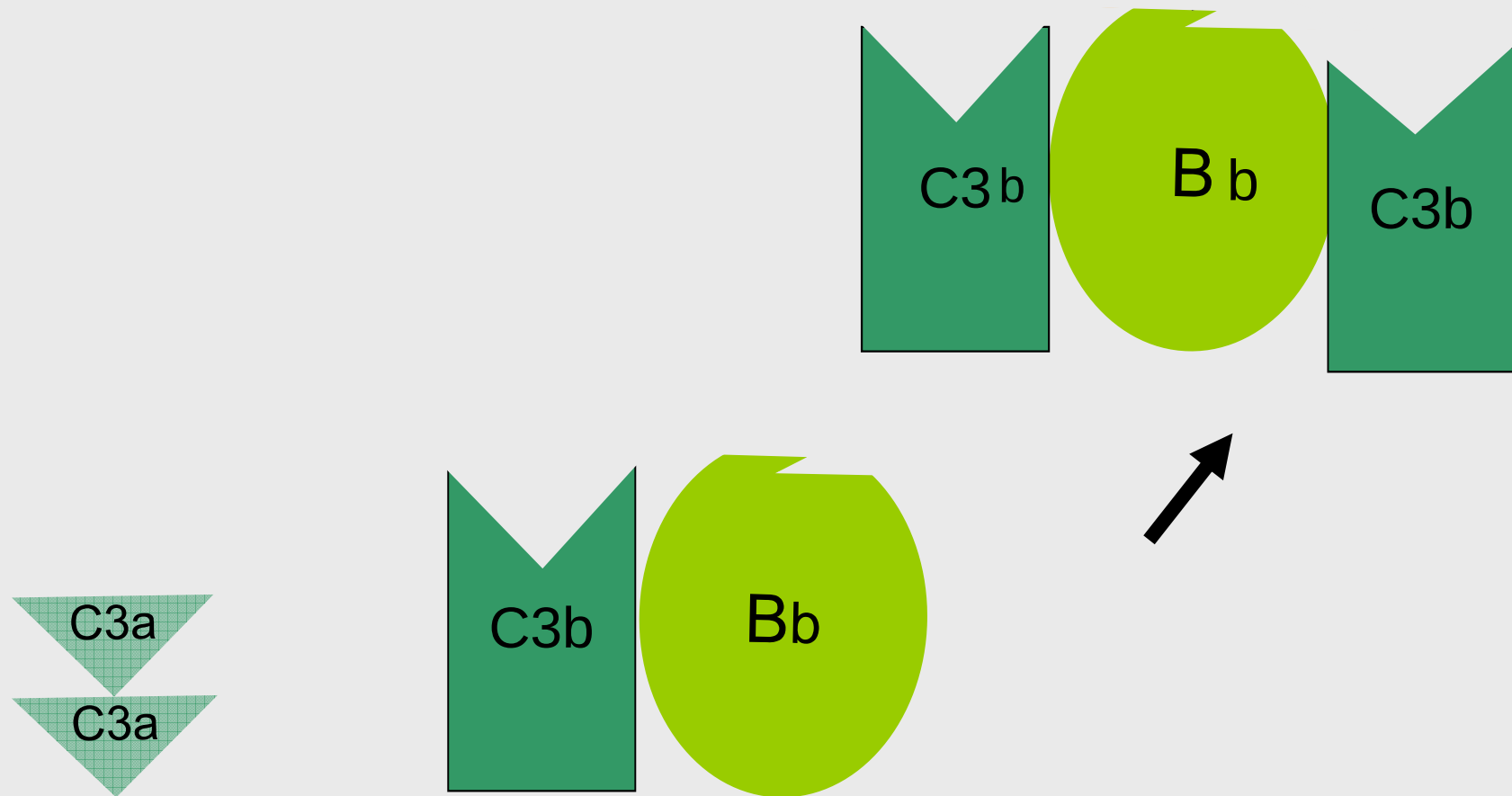
Circuito di amplificazione dell'attivazione del C3

Se il C3b formatosi spontaneamente non si degrada espone un sito di legame per il fattore B che viene clivato dal fattore D e può clivare molte molecole C3

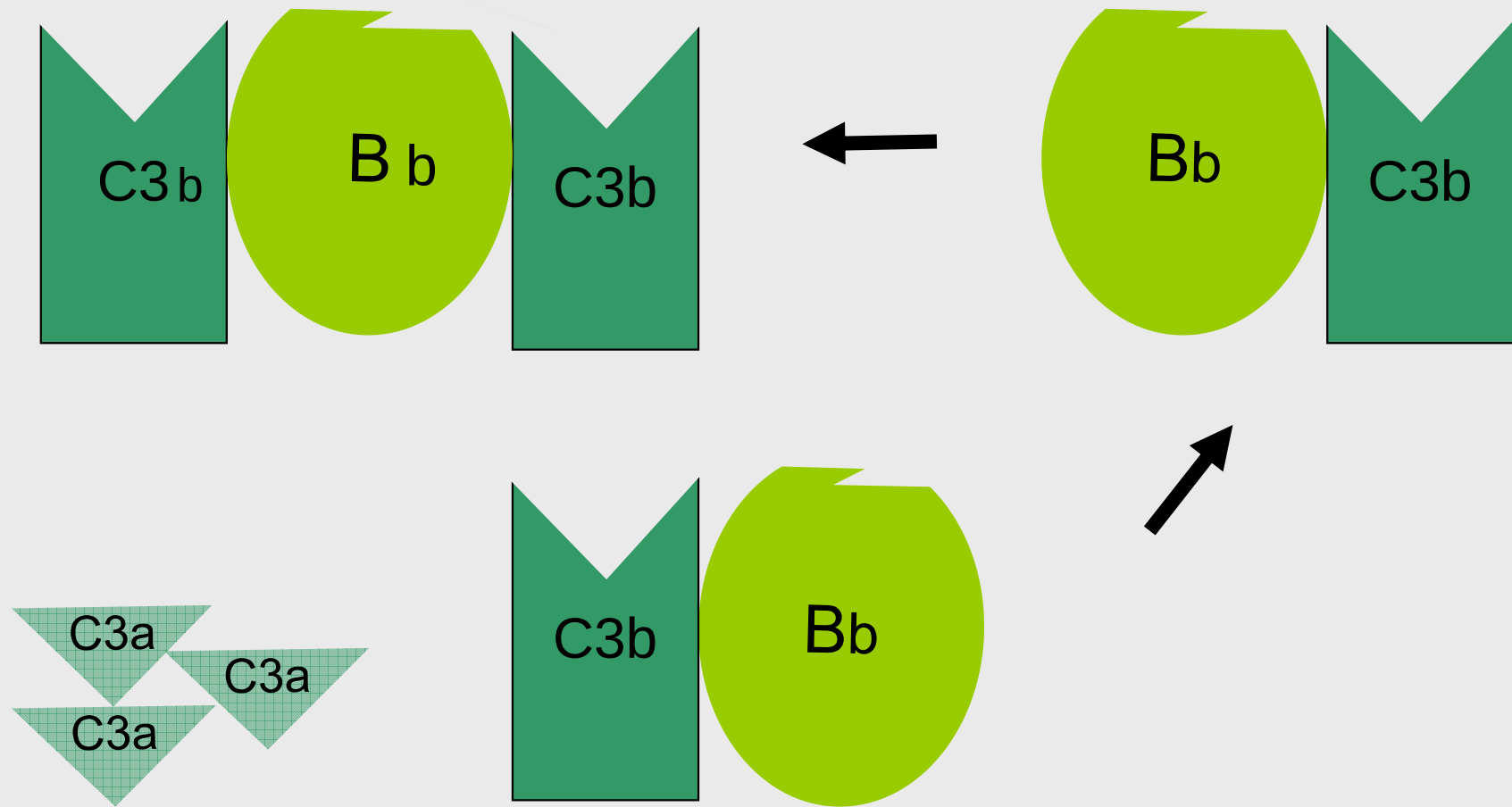


**C3
convertasi
solubile**

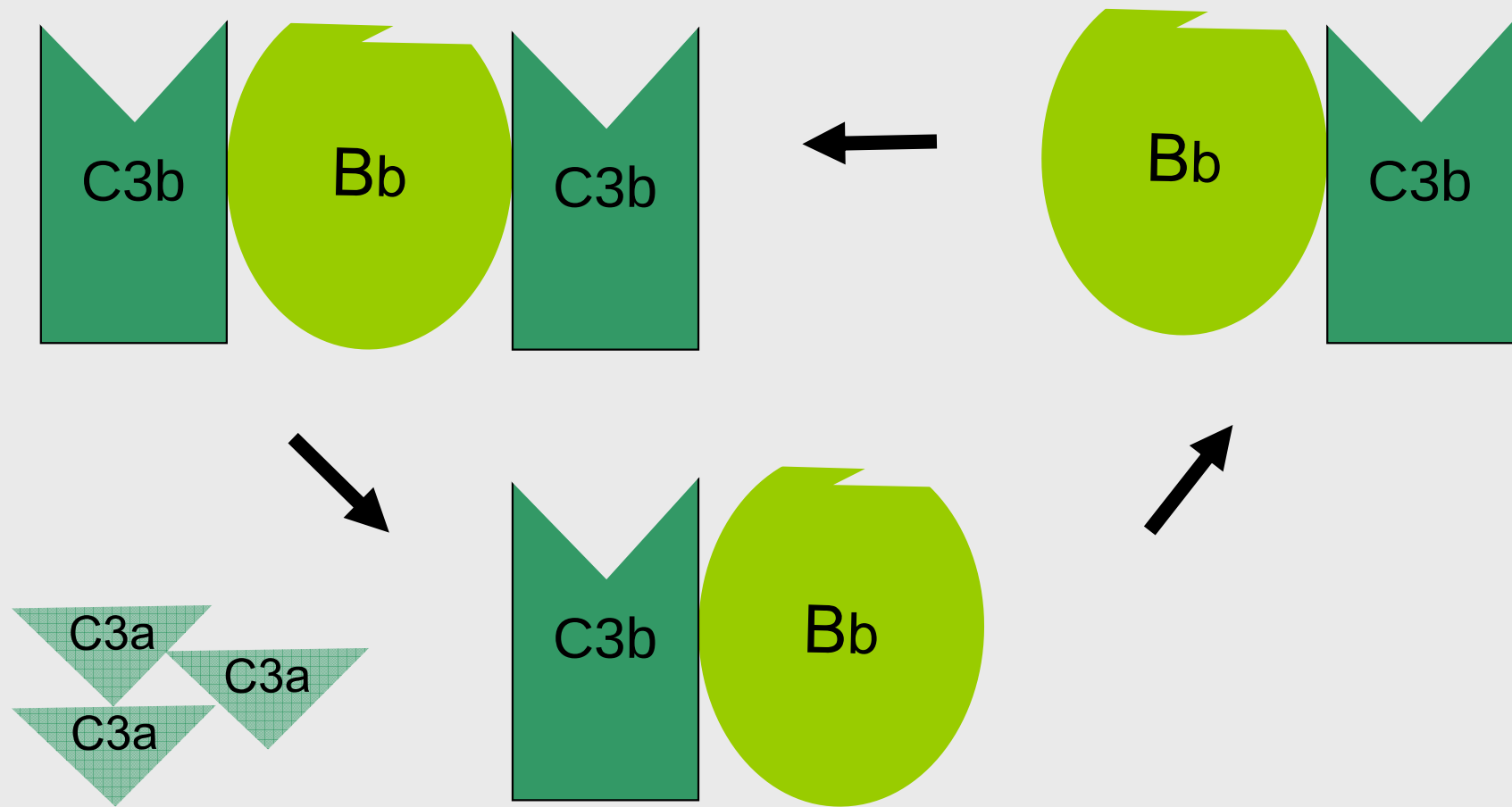
Circuito di amplificazione dell'attivazione del C3



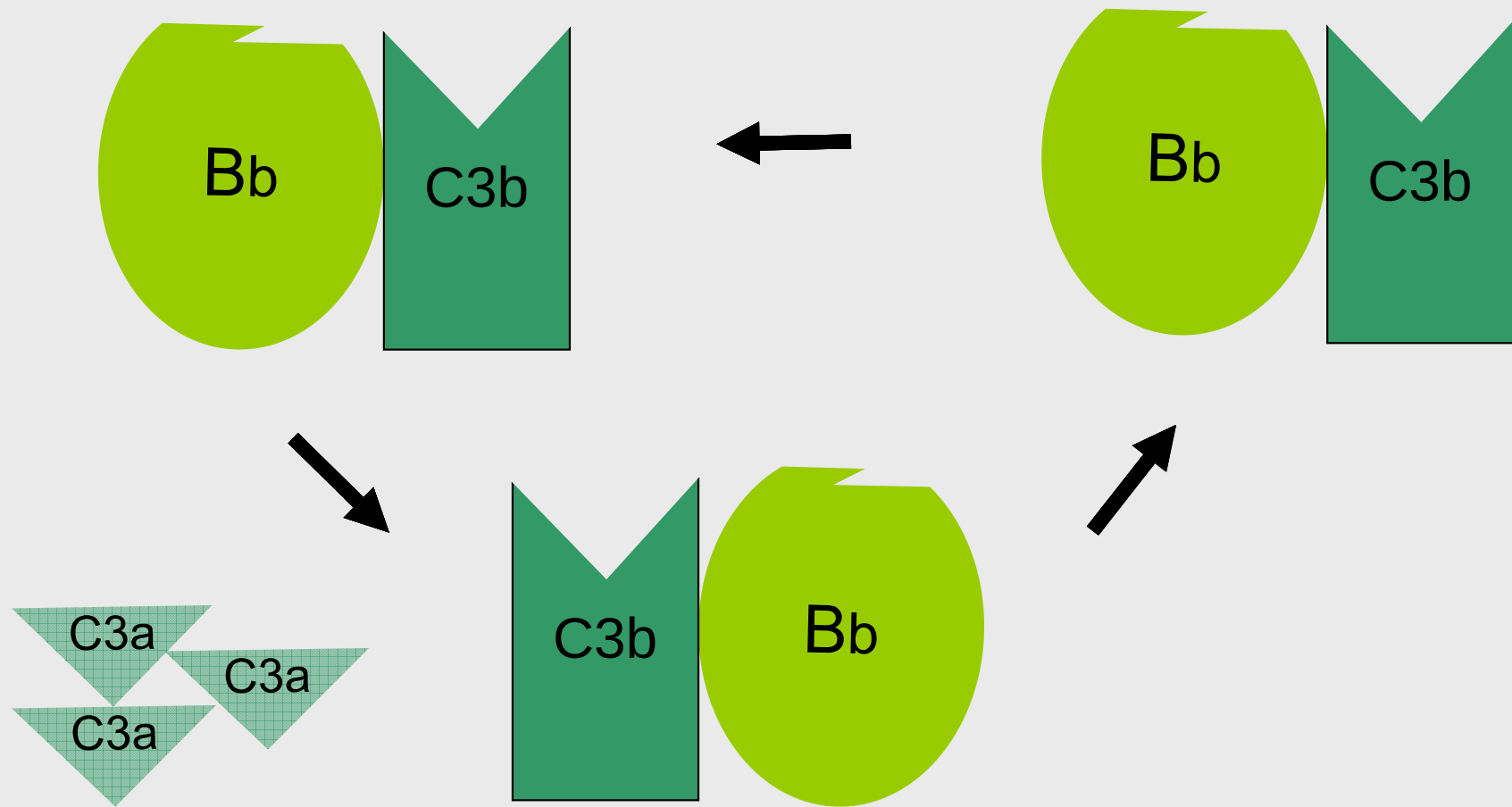
Circuito di amplificazione dell'attivazione del C3



Circuito di amplificazione dell'attivazione del C3



Circuito di amplificazione dell'attivazione del C3

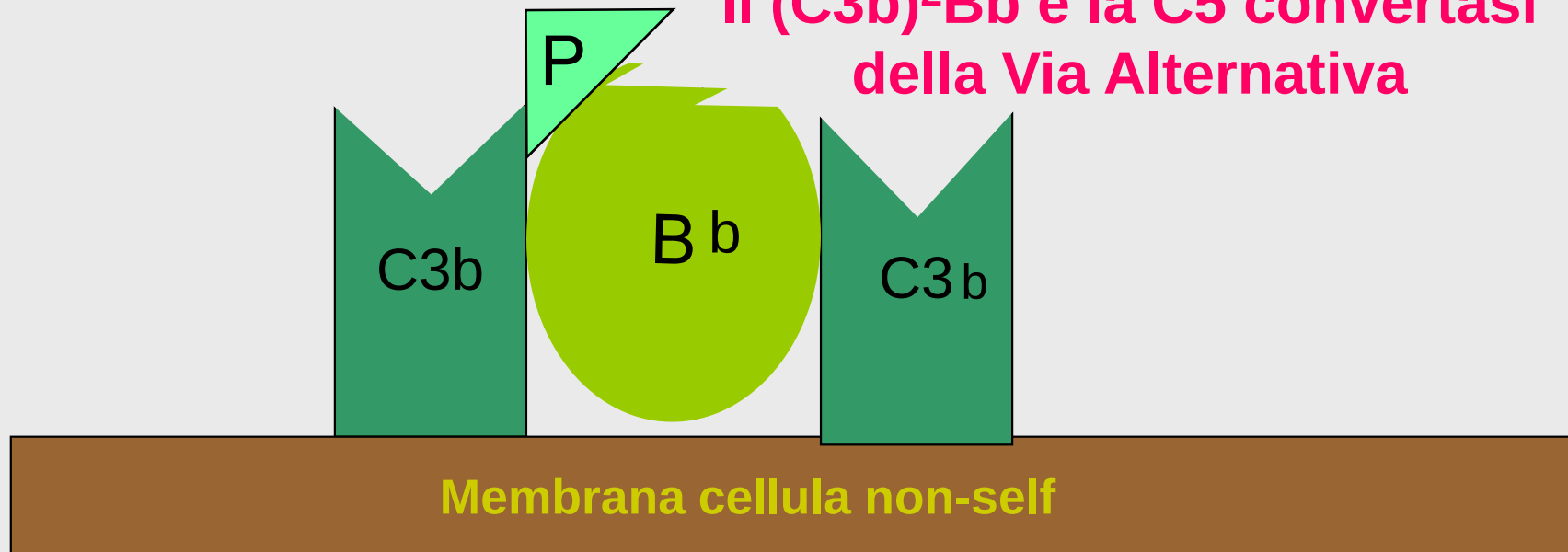


Stabilizzazione del C3b e attivazione del C5

C3a

Il C3b legato alla
membrana non-self

Il $(C3b)^2Bb$ è la C5 convertasi
della Via Alternativa

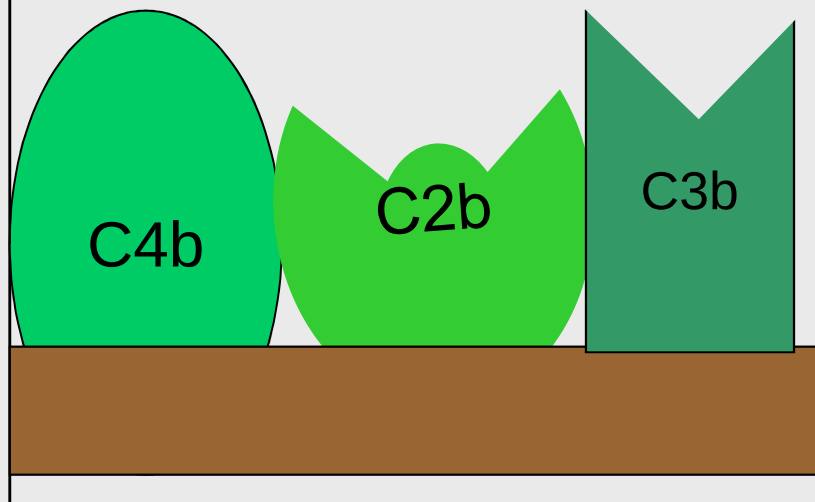


Proteine della via alternativa di attivazione del complemento

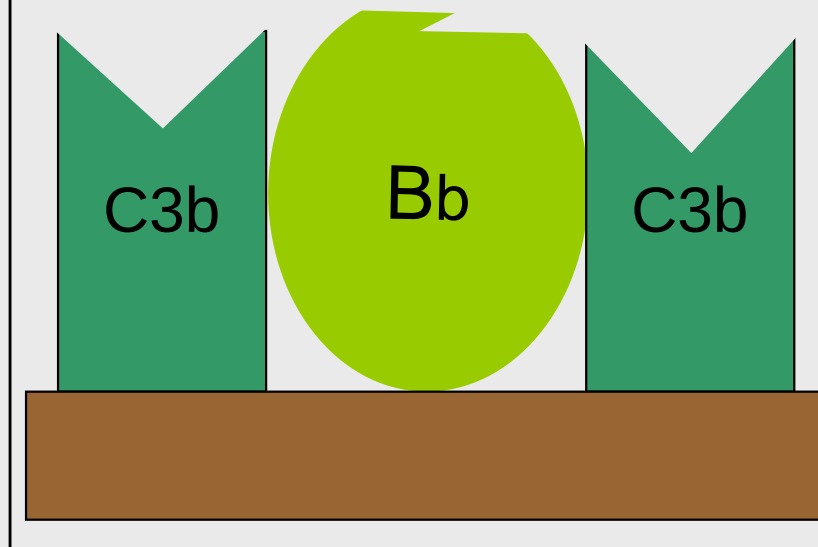
Componente nativo	Frammenti attivi	Funzioni
C3	C3b	Lega la superficie dei patogeni, e B per il taglio mediato da D, C3b,Bb:C3 convertasi e C3b ₂ ,Bb:C5 convertasi
Fattore B (B)	Ba	Piccolo frammento di B, funzione sconosciuta
	Bb	Bb: enzima attivo della convertasi C3, C3b,Bb e della C5 convertasi C3b ₂ ,Bb
Fattore D (D)	D	Serina proteasi plasmatica, taglia B a Ba e Bb quando questo lega C3b
Fattore P (properdina)	P	Proteina plasmatica con affinità per la convertasi C3b,Bb sulle cellule batteriche

Le C5-convertasi delle tre Vie

La C5-convertasi della
Via Classica e Lectina



La C5-convertasi della
Via Alternativa

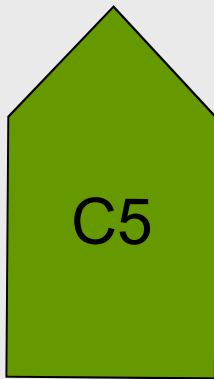


Via Litica

La formazione della C5
convertasi porta all'attivazione
della

**Via Litica o Complesso
d'attacco alla membrana
(MAC)**

Componenti della Via Litica



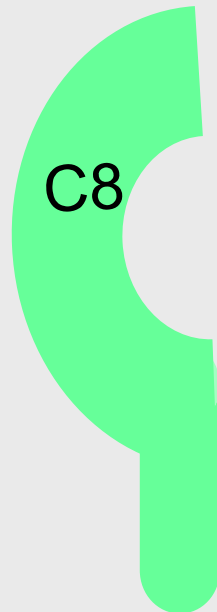
C5



C6



C7



C8

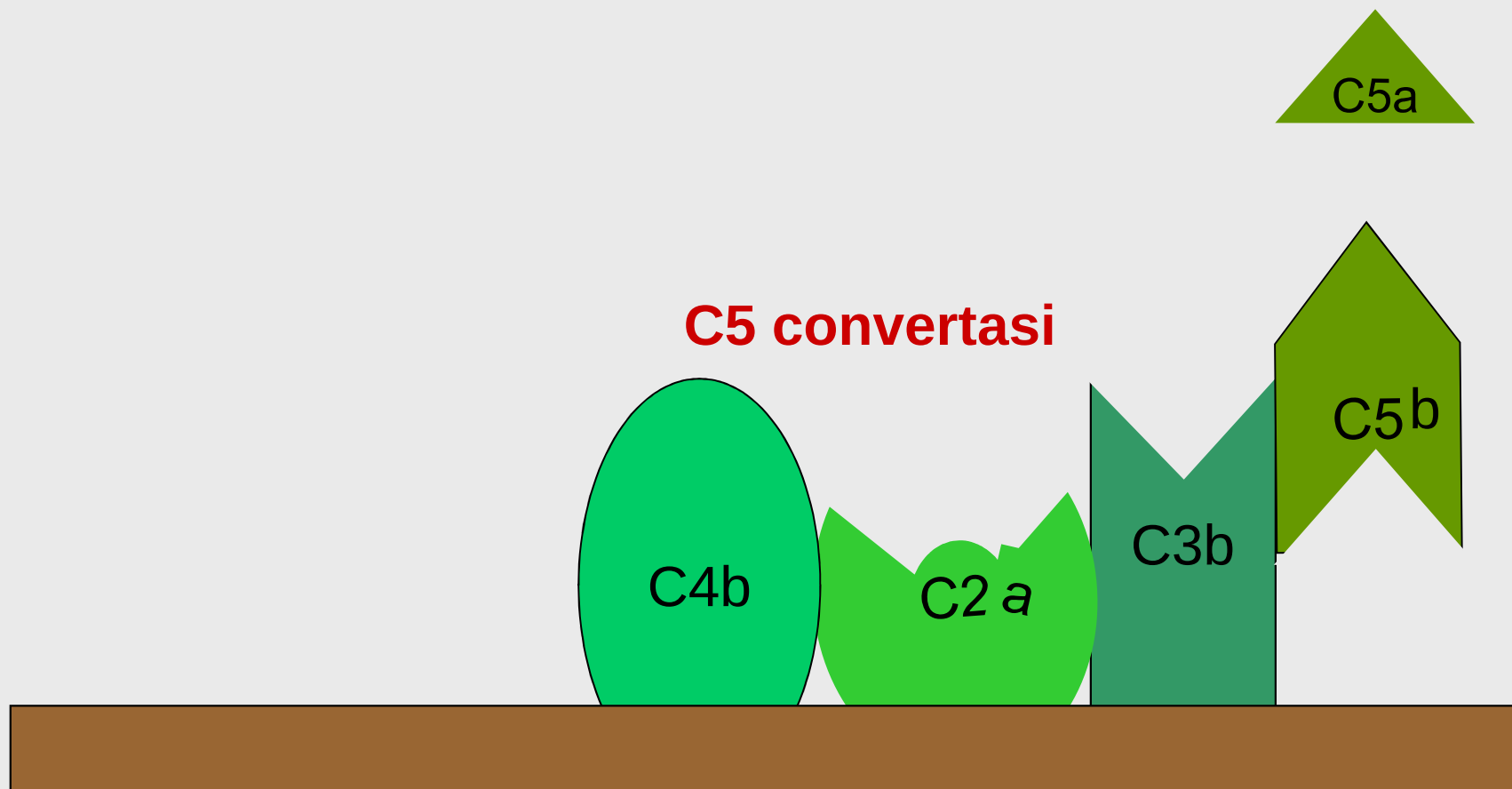


C9

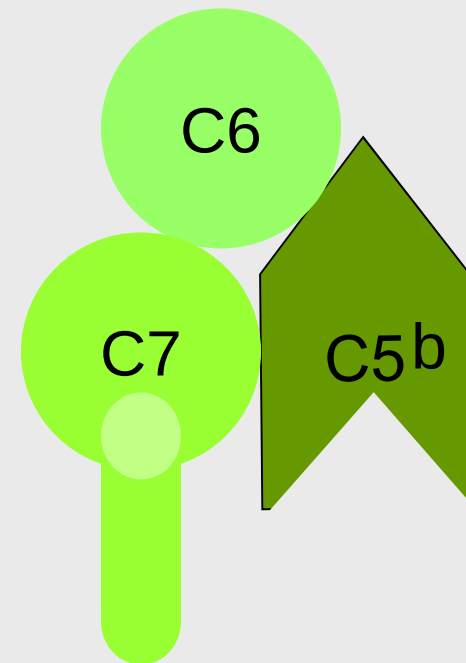
Componenti terminali del complemento che formano il complesso di attacco alla membrana

Proteina nativa	Componente attivo	Funzione
C5	C5a	Piccolo peptide mediatore di infiammazione (elevata affinità)
	C5b	Inizia l'assemblaggio del sistema di attacco alla membrana
C6	C6	Lega C5b, forma gli accettori per C7
C7	C7	Lega C5b,6, il complesso anfifilico si inserisce nel bilayer lipidico
C8	C8	Lega C5b,6,7, inizia polimerizzazione di C9
C9	C9 _n	Polimerizza con C5b,6,7,8 per formare un canale trans-membrana che rompe la cellula

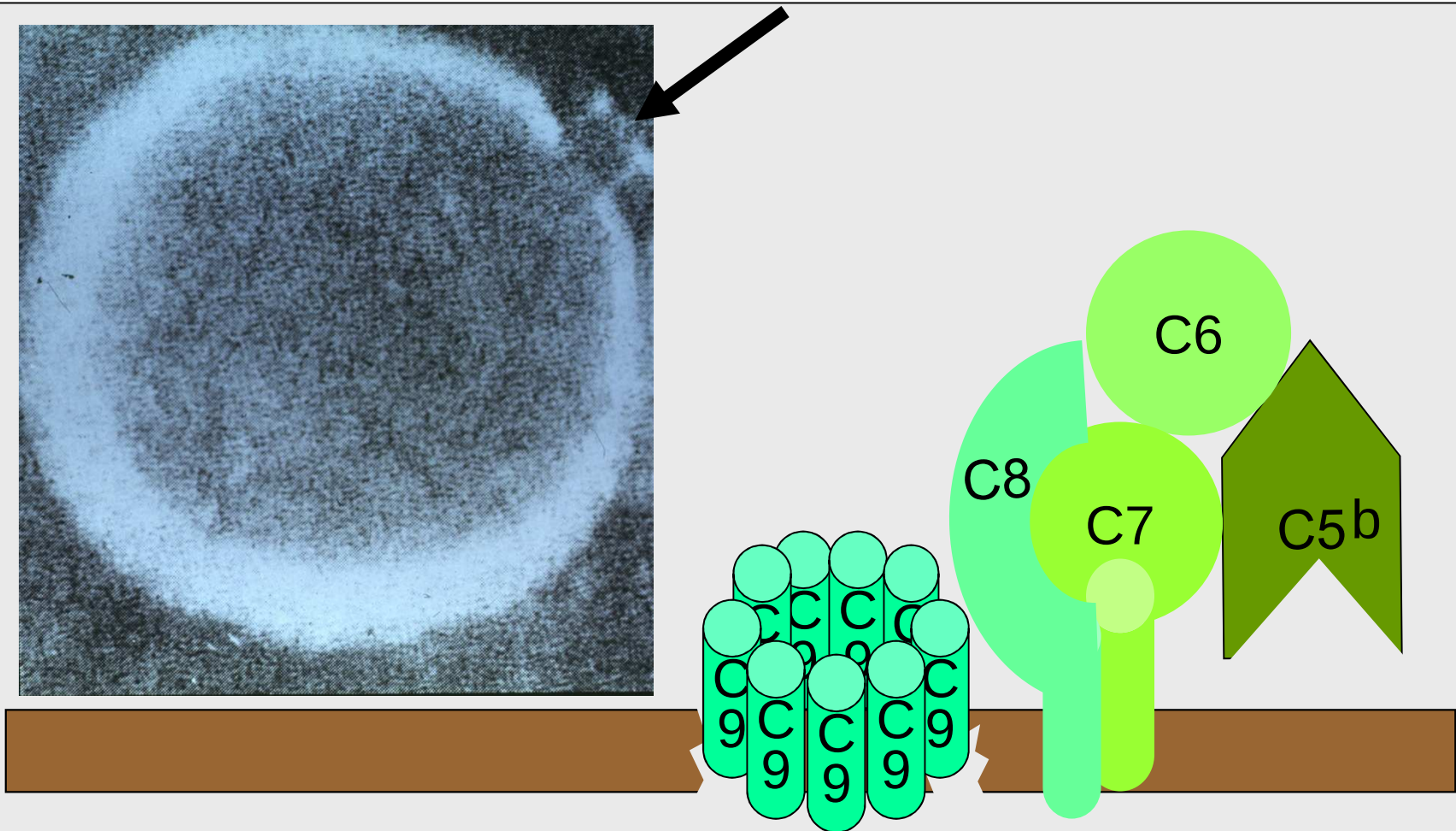
Attivazione del C5



Assemblaggio dei componenti litici



Via litica:
inserzione del complesso litico nella membrana
cellulare



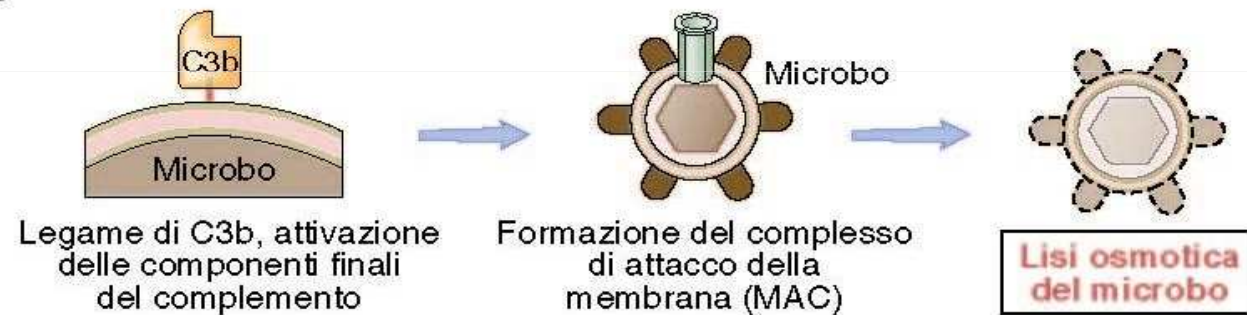


Funzioni del complemento

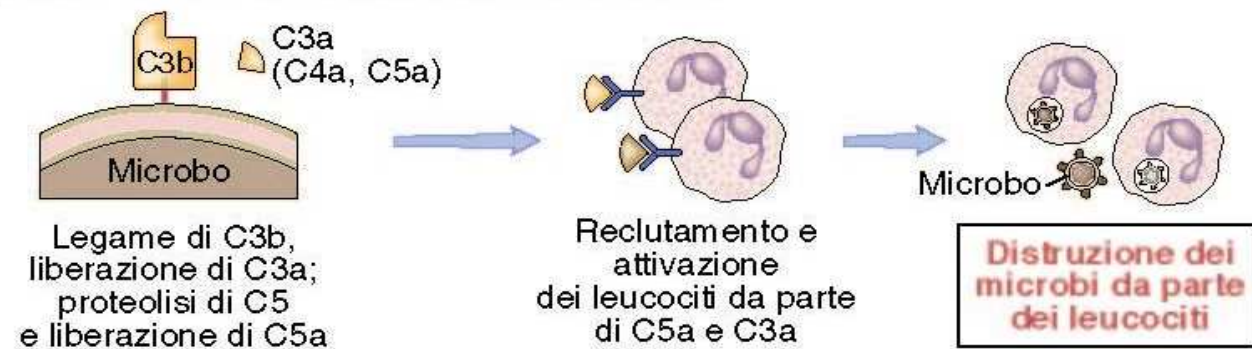
A Opsonizzazione e fagocitosi



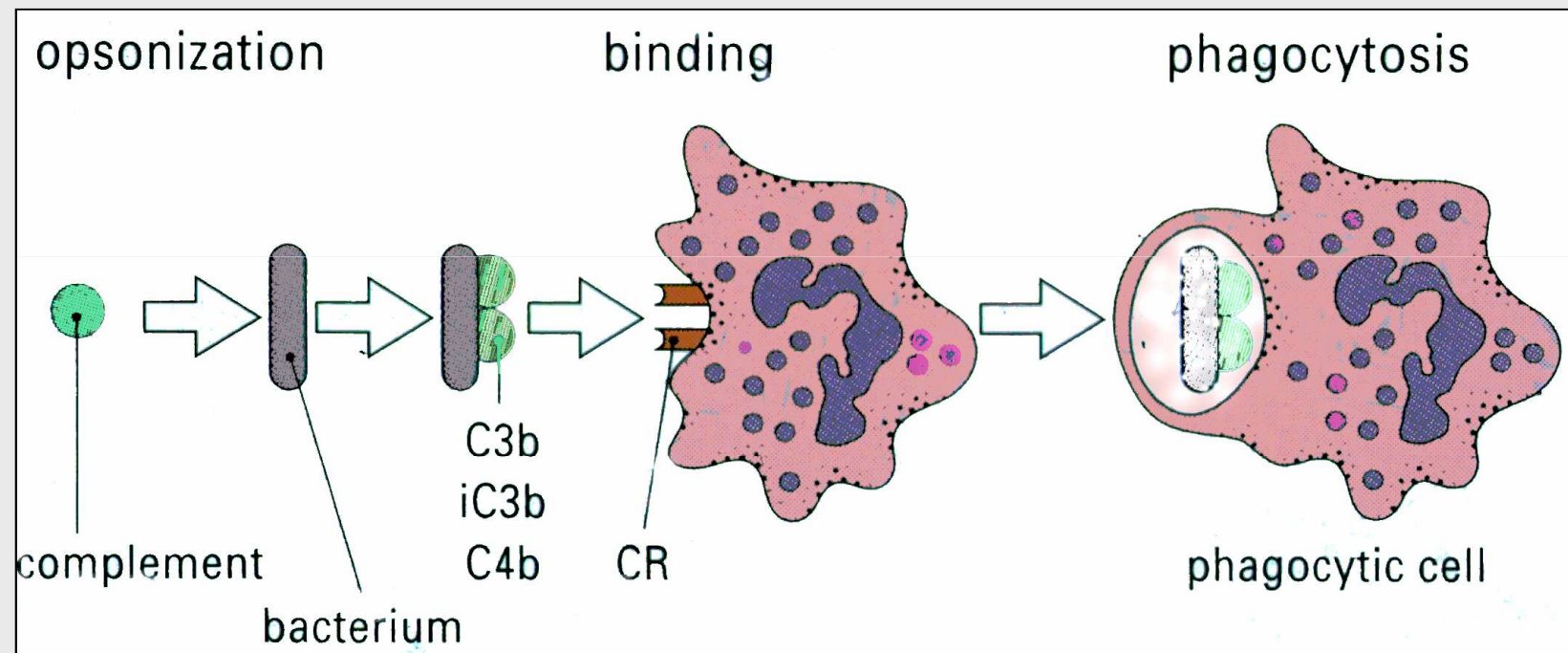
B Citolisi



C Stimolazione della reazione infiammatoria



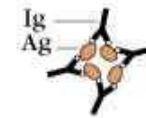
Opsonizzazione e fagocitosi mediate dal C3b



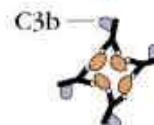
Ruolo del complemento nella clearance degli immunocomplessi

**Immunocomplessi
solubili**

Sangue

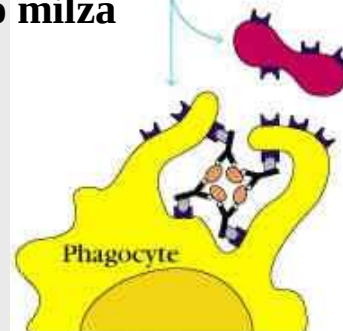


**Attivazione del
complemento**

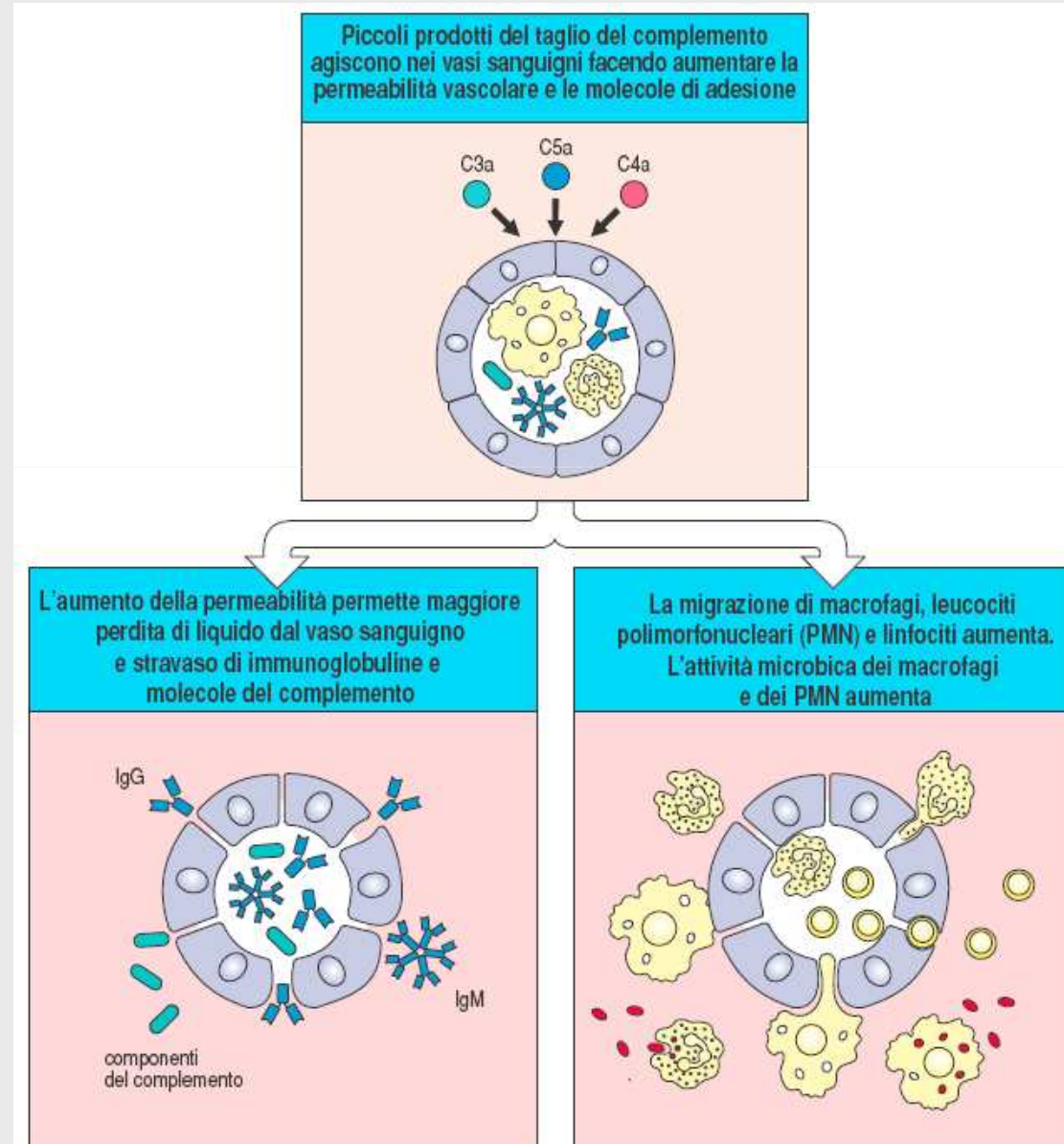


Eritrociti

Fegato o milza



Effetti biologici del C3a, C4a, C5a



DIFETTI DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Deficit di C2, C3 e C4

Associati a malattie autoimmuni (come LES), forse per l'impossibilità di eliminare gli immuno-complessi che si formano (il complemento legandosi ai complessi immuni ne promuove la solubilizzazione e la rimozione da parte delle cellule fagocitiche).

Deficit di C3 e del fattore D

Gravi infezioni ricorrenti da batteri piogeni che possono essere spesso fatali

DIFETTI DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Deficit C6-9

Deficit della formazione MAC; associato ad una maggiore suscettibilità alle infezioni da Neisseria

Recettori del complemento

Recettore	Specificità	Funzioni	Tipi cellulari
CR1 (CD35)	C3b, C4bi C3b	Promuove degrado C3b e C4b Stimola fagocitosi Trasporto eritrocitico di immunocomplessi	Eritrociti, macrofagi, monociti, leucociti polimorfonucleati, Cellule B, FDC
CR2 (CD21)	C3d, iC3b, C3dg Epstein– Barr virus	Parte del corecettore per cellule B Recettore virus Epstein-Barr	Cellule B, FDC
CR3 (Mac-1) (CD11b/ CD18)	iC3b	Stimola fagocitosi	Macrofagi, monociti, leucociti polimorfonucleati, FDC
CR4 (gp150, 95) (CD11c/ CD18)	iC3b	Stimola fagocitosi	Macrofagi, monociti, leucociti polimorfonucleati, FDC
Recettore C5a	C5a	Il legame di C5a attiva la proteina G	Cellule endoteliali, mastociti, fagociti
Recettore C3a	C3a	Il legame di C5a attiva la proteina G	Cellule endoteliali, mastociti, fagociti

Regolatori dell'attivazione del complemento

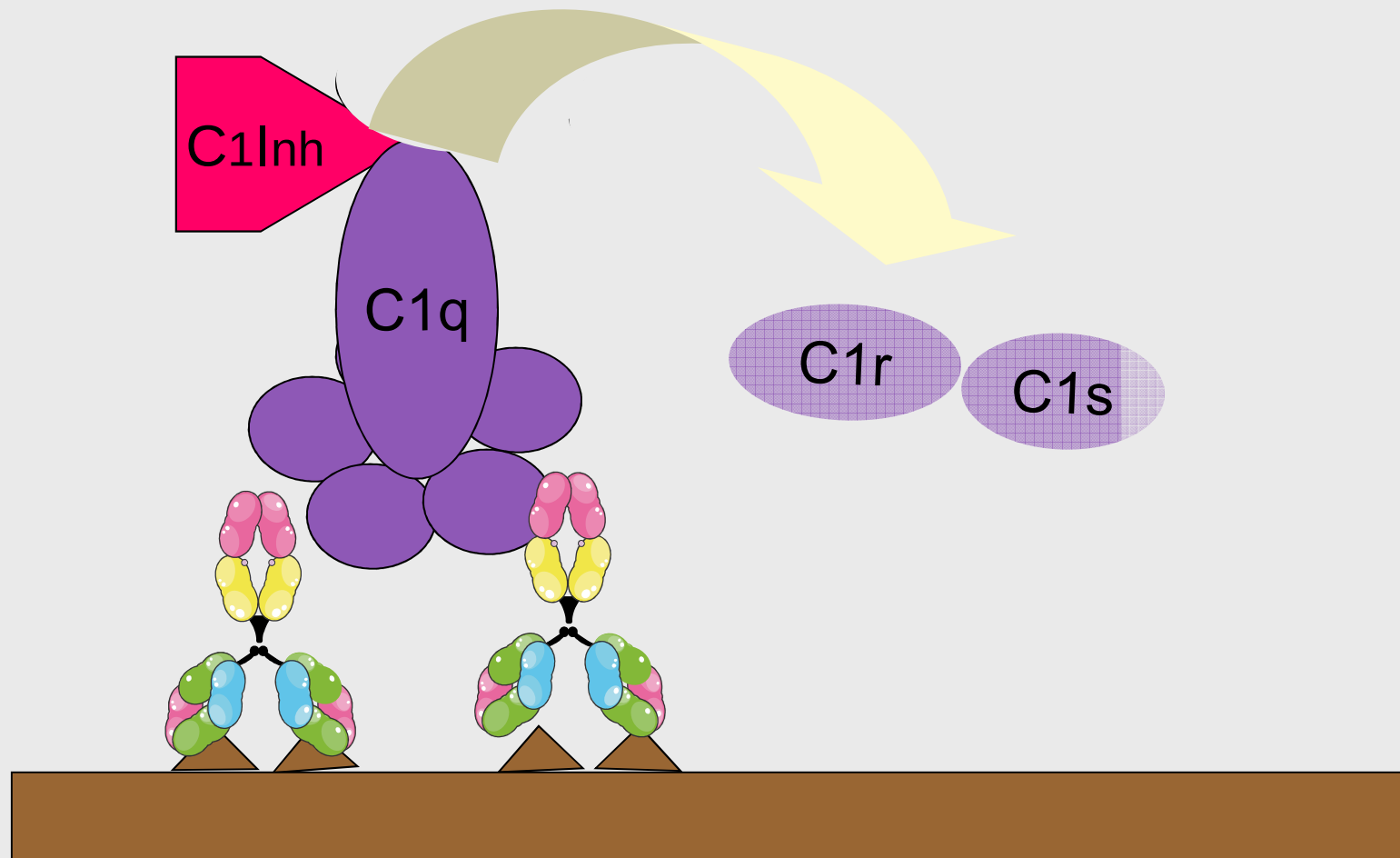
© Proteine plasmatiche

Proteina	Conc. sierica (µg/ml)	Funzione
C1 INH	200	Inibisce l'attività delle proteasi seriniche C1r e C1s
Fattore I	35	Cliva C3b e C4b
Fattore H	480	Causa la dissociazione delle subunità della C3 convertasi della via alternativa Cofattore per il clivaggio di C3b mediato dal Fattore I
C4bp	300	Causa la dissociazione delle subunità della C3 convertasi della via classica Cofattore per il clivaggio di C4b mediato dal Fattore I

Proteine di membrana

Proteina	Distribuzione	Funzione
MCP (CD46)	Leucociti, cellule epiteliali, cellule endoteliali	Cofattore per il clivaggio di C3b e C4b mediato dal Fattore I
DAF	Cellule ematiche, cellule endoteliali, cellule epiteliali	Causa la dissociazione delle subunità della C3 convertasi
CD59	Cellule ematiche, cellule endoteliali, cellule epiteliali	Blocca il legame di C9 e previene la formazione di MAC
CR1 (CD35)	Fagociti mononucleati, neutrofili, linfociti B e T, eritrociti, eosinofili, FDC	Causa dissociazione delle subunità delle C3 convertasi Cofattore per il clivaggio di C3b e C4b mediato dal Fattore I

Inattivazione del componente C1qrs via C1Inh



Angioedema Ereditario (AEE)

Edema Angioneurotico Ereditario

DEFINIZIONE

**E' una malattia rara con un'incidenza di 1:50.000
trasmessa con carattere autosomico dominante,
caratterizzata da angioedemi ricorrenti,
causata dalla carenza dell'inibitore della C1 esterasi (C1
inibitore, C1 INH).**

Quadro Clinico dell'Angioedema Ereditario

- Le manifestazioni cliniche sono caratterizzate da angioedemi recidivanti
- Insorgono entro la seconda decade di vita
- Durano mediamente 3-4 giorni e ricorrono con frequenza molto variabile da soggetto a soggetto e nello stesso soggetto da periodo a periodo
- Possono interessare:

Il tessuto sottocutaneo

La mucosa dell'apparato gastrointestinale

La mucosa orofaringea

ANGIOEDEMA DEL PIEDE



ANGIOEDEMA ARTO SUPERIORE



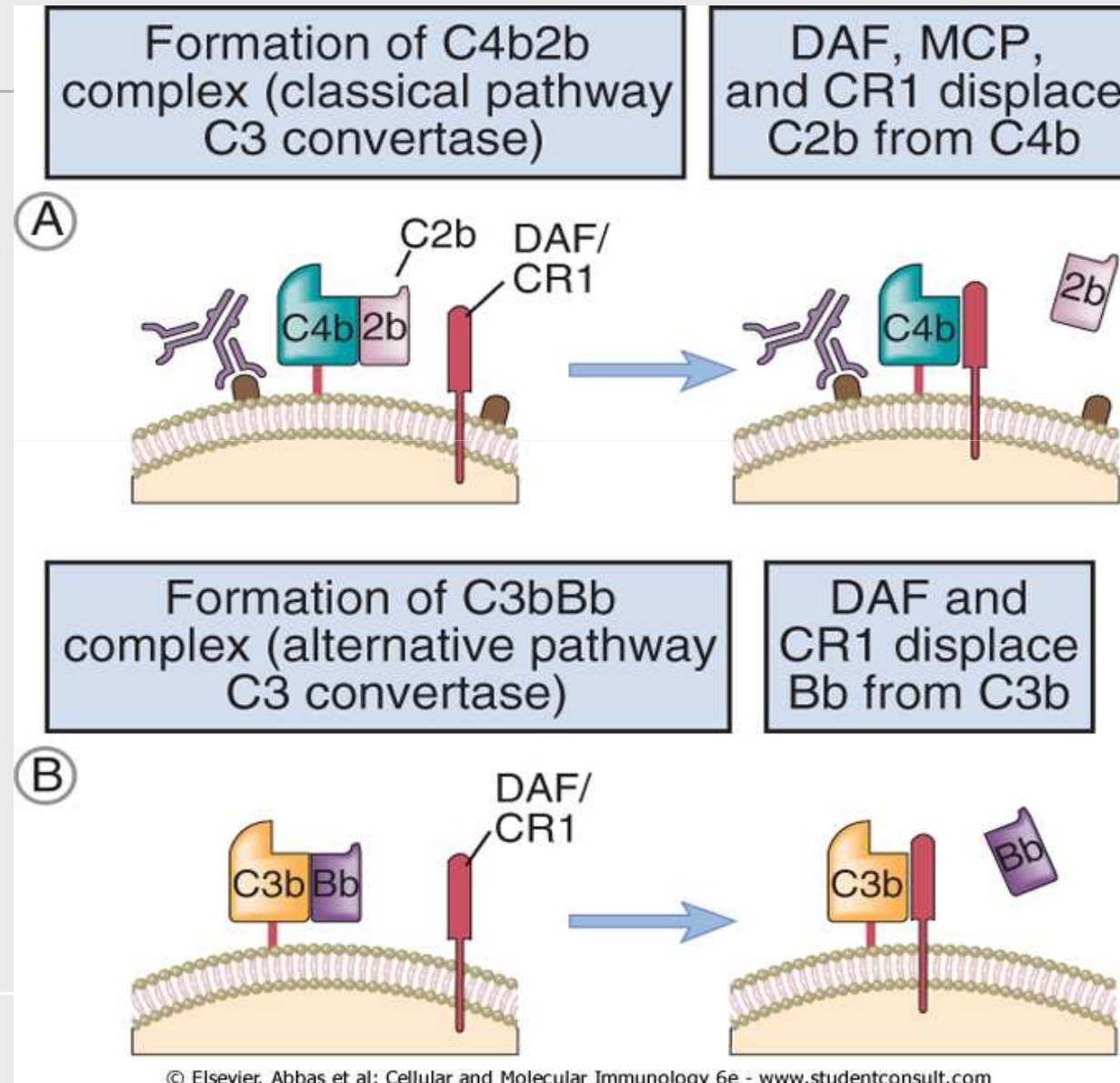
ANGIOEDEMA DEL VOLTO



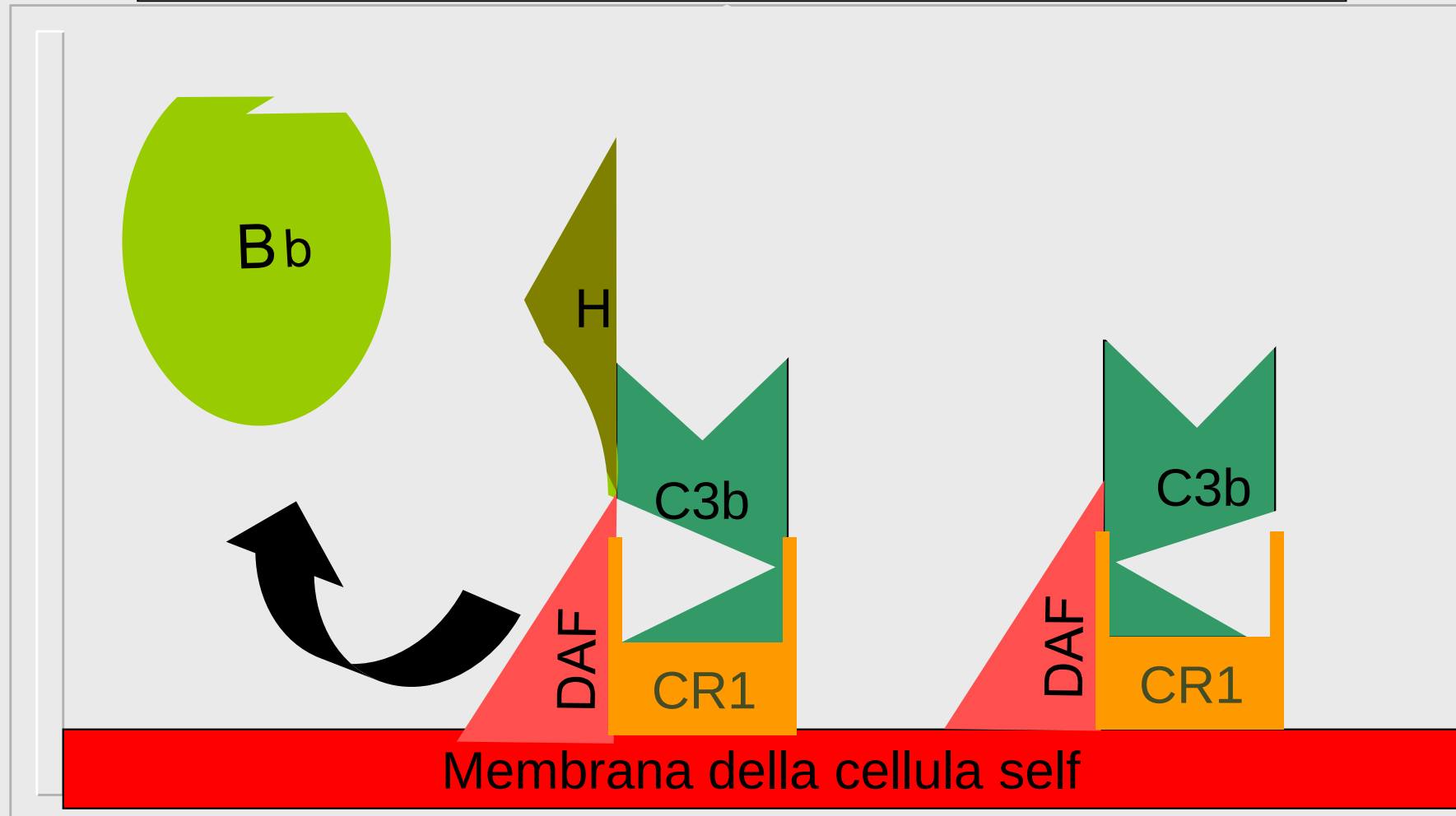
ANGIOEDEMA DELLA LINGUA



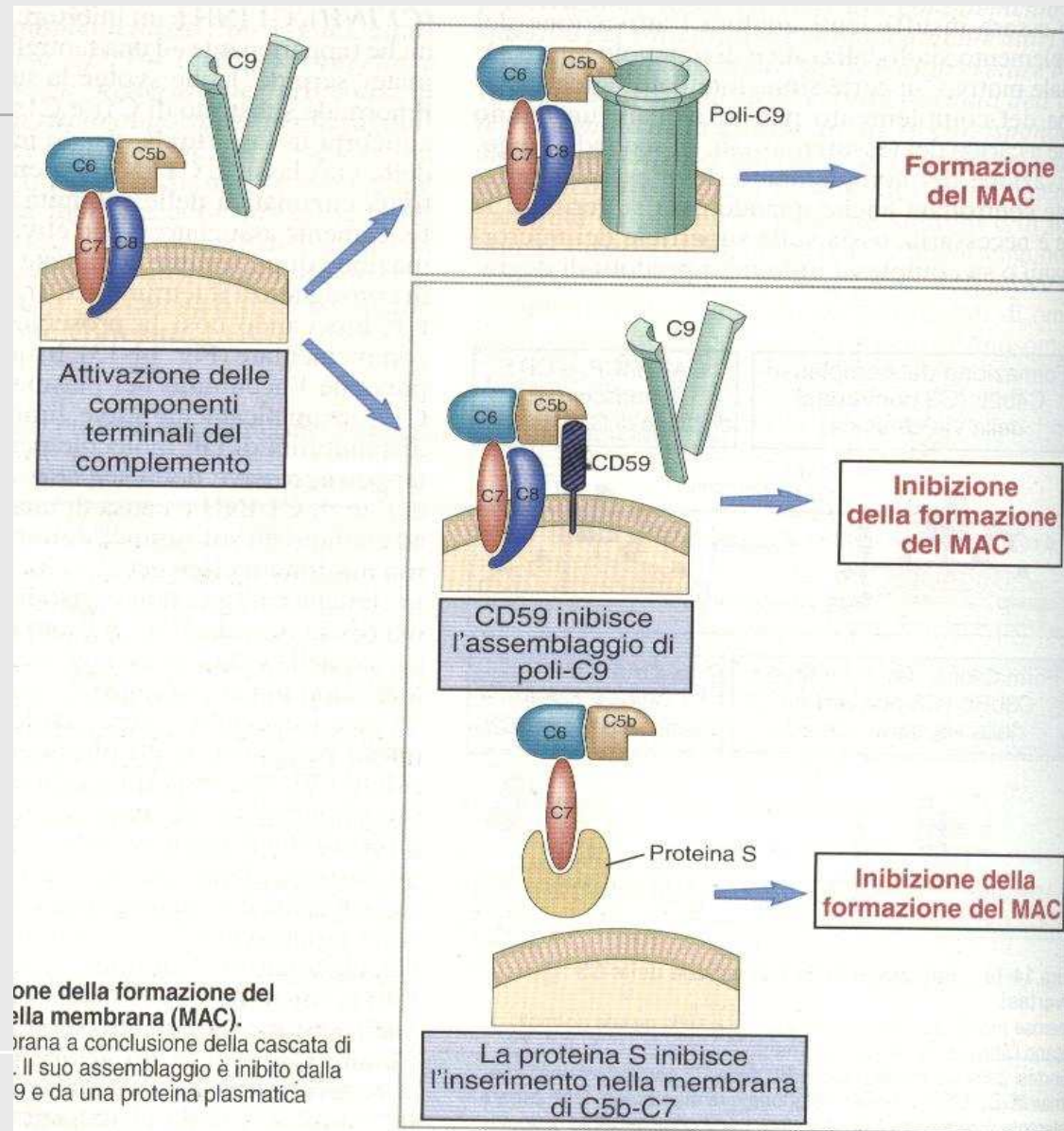
Controllo della formazione della C3 convertasi via DAF e MCP



Controllo del C3b via CR1 dei fattori I ed H



Regolazione della formazione del MAC



DEFICIT DI DAF E DI CD59

EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA

ANEMIA ACCOMPAGNATA DALL'EMISSIONE RICORRENTE DI URINE SCUERE (ELIMINAZIONE DI EMOGLOBINA PER VIA RENALE).

EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA

Il termine “parossistica” si riferisce al diverso grado di emolisi che si riscontra in tempi diversi in un paziente; le urine possono inoltre apparire più scure di notte , ma l'emoglobinuria può anche manifestarsi durante il resto della giornata

Il termine "notturno" si riferisce alla credenza che l'emolisi fosse scatenata dall'acidosi che durante il sonno può attivare il complemento ad emolizzare una membrana eritrocitaria non protetta ed anomala. Questa osservazione è stata poi, comunque, confutata.

EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA

- **La emoglobinuria parossistica notturna si osserva frequentemente in soggetti giovani e esordisce con i segni dell'anemia (pallore, astenia) associati a emissione di urine scure alla notte (emoglobinuria) insieme a fenomeni trombotici di varia entità**

Proprietà biologiche dei prodotti d'attivazione del C

Prodotti	Effetti biologici	Regolazione
C2b (prokinin)	edema	C1-INH
C3a (anafilatossina)	Degranulazione mastcellule; aumento permeabilità vascolare; anafilassi	carboxy- peptidase- B (C3-INa)

Proprietà biologiche dei prodotti d'attivazione del C

Prodotti	Effetti Biologici	Regolazione
C3b (opsonina)	opsonizzazione; attivazione fagocitosi	fattori H; I
C4a (anafilatossina)	Come il C3a ma meno potente	(C3-INa)
C4b (opsonina)	opsonizzazione; fagocitosi	C4-BP, fattore I

Proprietà biologiche dei prodotti d'attivazione del C

Prodotti	Effetti Biologici	Regolazione
C5a (fattore chemotattico, anafilattico)	Anafilattico come il C3a, ma meno potente; attrae ed attiva i PMN, ne causa l'aggregazione, stimola il metabolismo ossidativo e il rilascio dei leucotrieni	carboxy-peptidase-C (C3-INa)
C5b67	chemotassi, si attacca alle altre membrane	proteina-S