9. Il complemento

III edizione ebook

Luigi Barbieri

(vedi singoli sotto-capitoli)

9. Il complemento.....261
9.1. Generalia sul complemento 263
9.1.1. Le tre maggiori attività biologiche del sistema complementare.....264
9.2. Attivazione del sistema del complemento 265
9.2.1. Attivatori del complemento.....265
9.2.2. Confronto tra la via classica e la via alternativa del complemento.....266
9.2.3. Azioni simili della via classica, della via classica-lectinica e della via alternativa.....267
9.2.4. La via litica.....268
9.3. Effetti biologici del sistema del complemento 269
9.3.1. Recettori cellulari per il complemento.....269
9.3.2. Opsonizzazione e fagocitosi.....270
9.3.3. Effetti del complemento e suo ruolo nella flogosi acuta.....271
9.3.4. Il complemento e gli immuno-complessi.....273
9.3.5. Genetica e biosintesi delle proteine complementari.....275
9.3.6. Regolazione del complemento.....276
9.4. Malattie legate al sistema del complemento 277
9.4.1. Deficit di un componente.....277
9.4.2. Attivazione impropria del complemento.....278
9.5. Principali fonti utilizzate 279

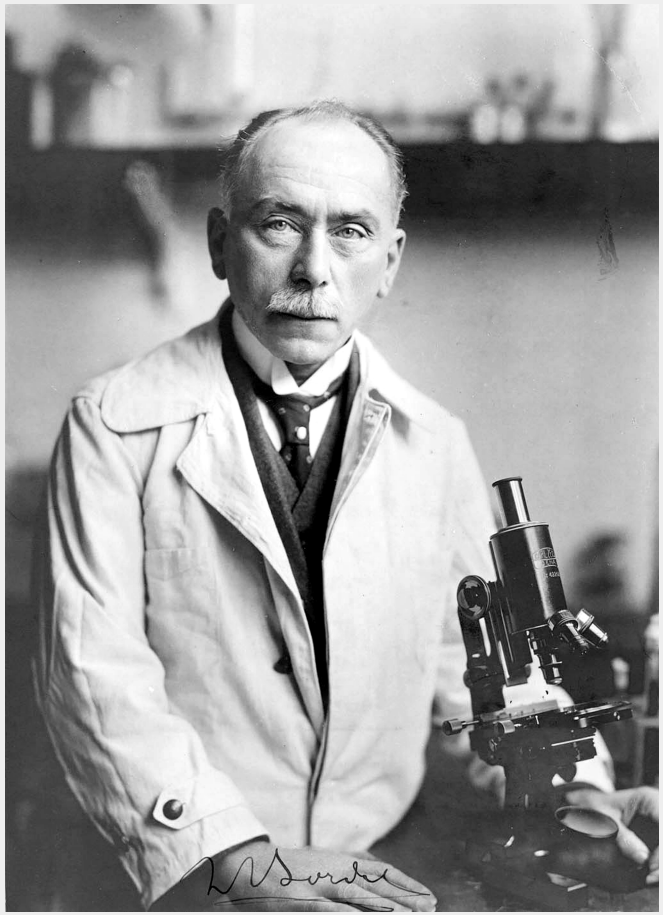


Figura 9.1. J Bordet

Il termine complemento fu usato per la prima volta nel 1898 da J. Bordet

Egli aveva notato che incubando una miscela di batteri con siero contenente anticorpi rivolti contro i batteri stessi, questi venivano lisati

Quando invece il siero veniva preventivamente riscaldato ad una temperatura di 56° per 30 min la lisi non avveniva

Essendo già noto che gli anticorpi resistevano al riscaldamento, Bordet ipotizzò la presenza nel siero di un componente termolabile che completava l'azione degli anticorpi battezzandolo complemento

9.1. Generalia *sul complemento*

Definizione del sistema del complemento

Il sistema del complemento è costituito da una dozzina di proteine circolanti, per lo più prodotte dal fegato, e dai loro recettori di membrana, capaci di interagire reciprocamente e con le membrane cellulari

☞
- Il sistema del complemento fa parte delle cascate di proteasi plasmatiche (C seguito da un numero arabo in sigla)
- Altri componenti attivi sono rappresentati dai recettori cellulari (CR in sigla)
- Il complemento è al crocevia tra infiammazione ed immunità

9.1.1. Le tre maggiori attività biologiche del sistema complementare

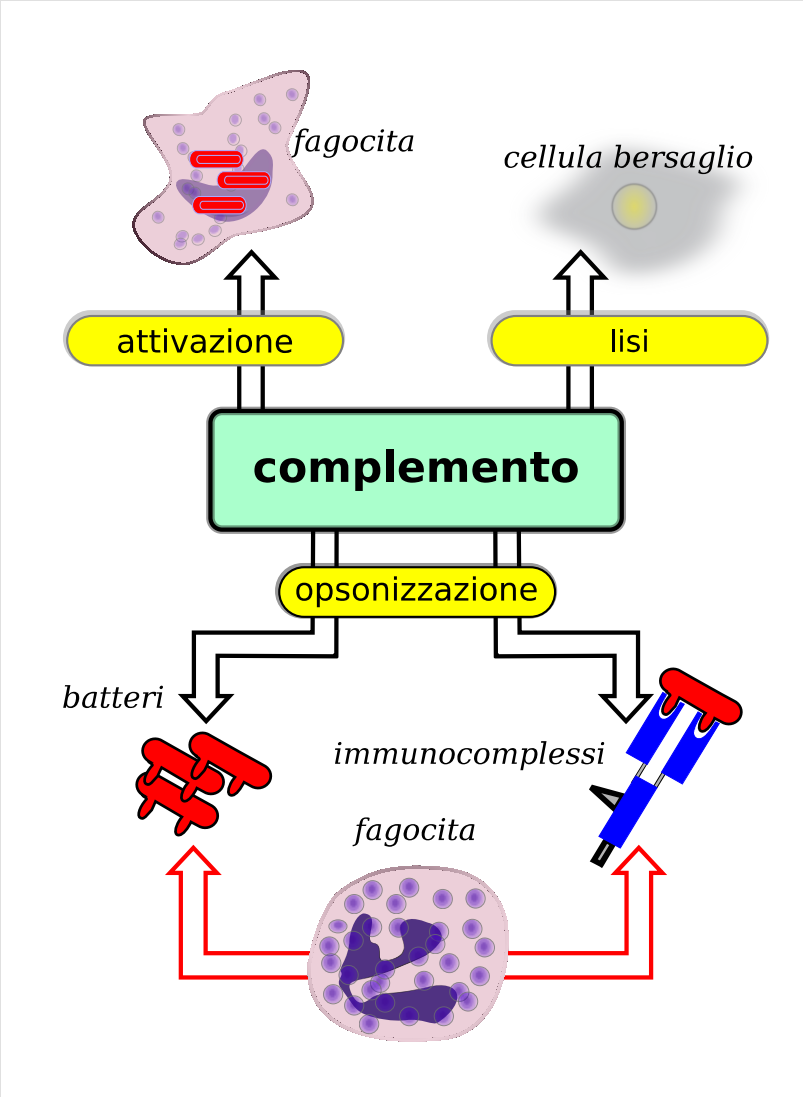


Figura 9.2. Le tre maggiori attività biologiche del complemento. Liberamente tratto da Roitt (1993)

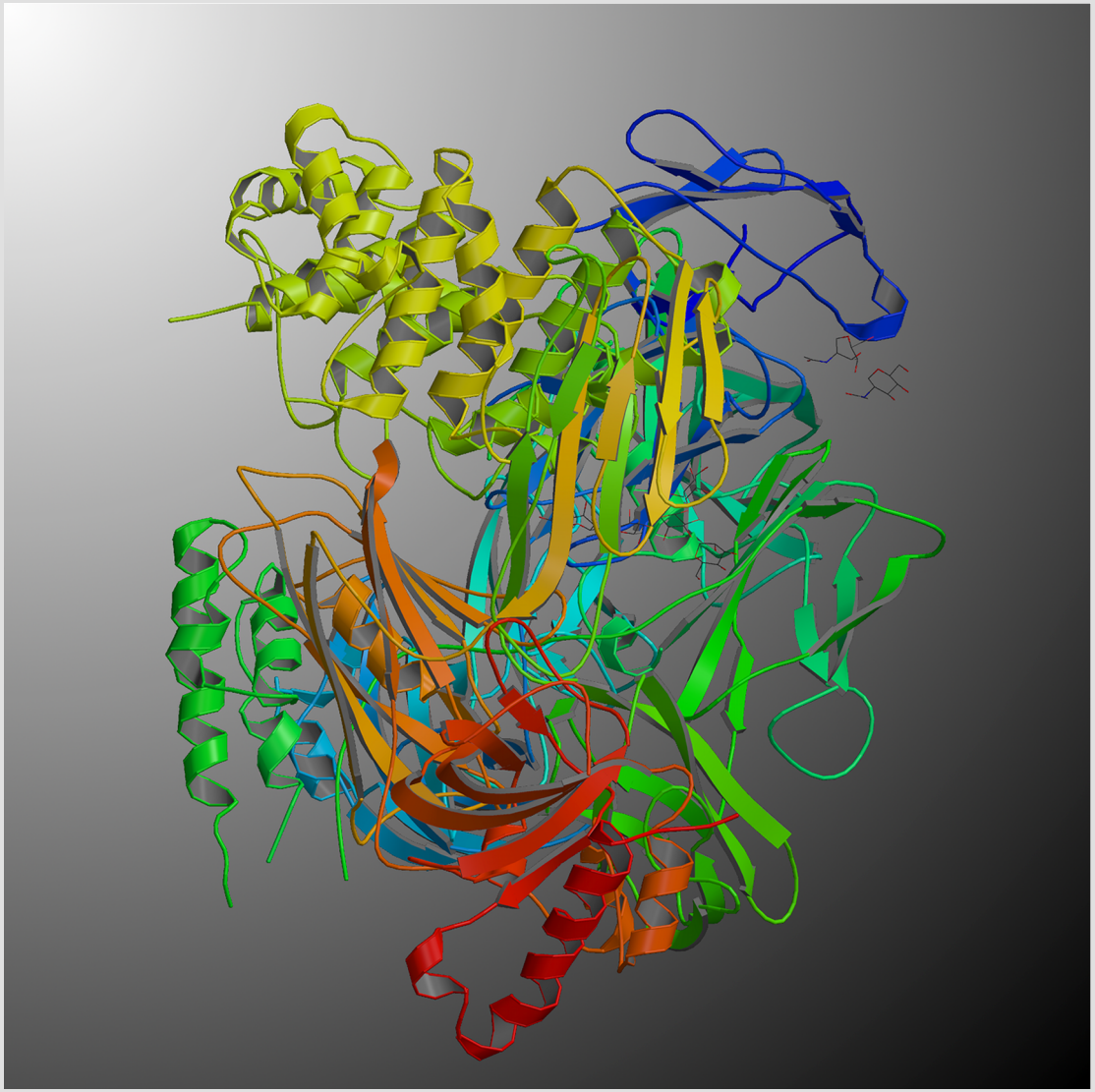


Figura 9.3. Componente C3 del complemento. 1iga.pdb (Janssen, 2005) render *con Molscript (Kraulis, 1991) e Raster3D (Merrit, 1997)*

9.2. Attivazione del sistema del complemento

9.2.1. Attivatori del complemento

Tabella 9.1. Attivazione del complemento. MBP: mannose-binding protein *(proteina legante il mannoso), si trova sulla membrana macrofagi e rimuove glicoproteine umane invecchiate e microrganismi che presentino strutture mannosidiche*

	complessi contenenti:	**microrganismi**			**altri**
		virus	**batteri**	**altri**	
via classica	IgM IgG1, IgG2, IgG3	virus della stomatite vescicolare	-	*Mycoplasma*	PO43- (DNA, lipide A, cardiolipina)
via classica-lectinica	MBP				SO_4^{2-} (eparina, condroitin-solfato)
via alternativa	-	alcune cellule infettate da virus (Epstein-Barr)	molti Gram-positivi e Gram-negativi	protozoi (tripanosomi, *Leishmania*), molti funghi	eritrociti eterologhi, carboidrati

9.2.2. Confronto tra la via classica e la via alternativa del complemento

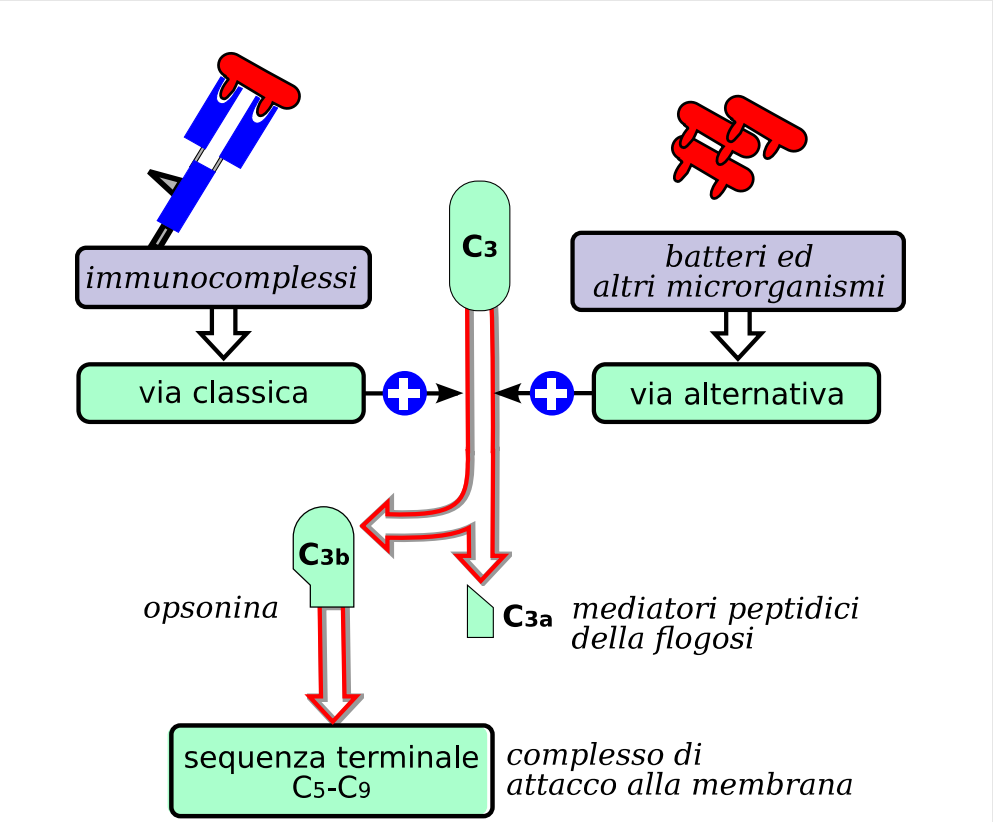


Figura 9.4. Via classica e via alternativa dell'attivazione del complemento. Liberamente tratto da Roitt (1993)

☞ Entrambe le vie, classica ed alternativa, generano una C3 convertasi, che converte (scinde) il C3 in C3a e C3b, l'evento fondamentale dell'attivazione del sistema complementare

☞ Il C3b attiva la via terminale litica C5-C9 che porta alla formazione del complesso di attacco alla membrana

☞ Il primo stadio porta alla fissazione del C3 nella via classica è il legame tra antigene ed anticorpo

La via alternativa non necessita di anticorpi: può essere indotta dai componenti glucidici della membrana cellulare dei microrganismi

☞
- La via alternativa conferisce una protezione immunitaria non specifica, innata
- La via classica rappresenta un meccanismo acquisito evolutosi più recentemente

9.2.3. Azioni simili della via classica, della via classica-lectinica e della via alternativa

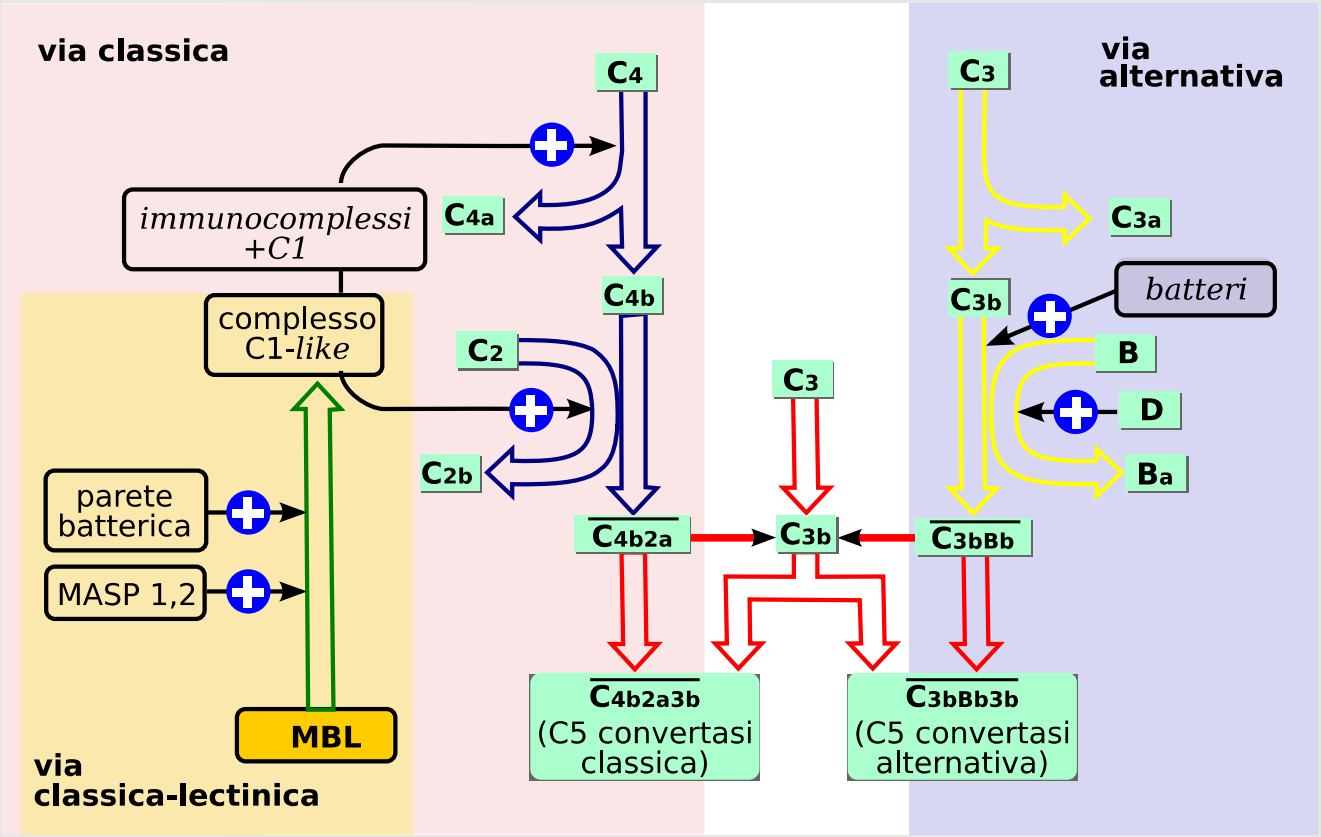


Figura 9.5. Vie classica, classica-lectinica ed alternativa. MBL: mannose-binding protein*; MASP:* MBL-associated serine proteases

- *Nella via classica il C1 viene attivato da anticorpi complessati (nella via classica-lectinica un complesso* C1-like*) che scinde sia il C4 che il C2*
- *I frammenti più piccoli, C4a e C2b, vengono perduti, mentre quelli più grandi formano il complesso C4b2a*
- *Nella via alternativa, il C3b preesistente si lega la Fattore B, che viene scisso in un frammento piccolo Ba, che viene perso, ed in frammento grande Bb che si lega al C3b a formare C3bBb. C3bBb converte dell'altro C3, creando un* feed-back *positivo*
- *Entrambe le attività facilitano la via alternativa. La C3 convertasi di entrambe le vie può scindere ulteriore C3 per formare la C5 convertasi*
- *La C5 convertasi attiva il successivo componente del complemento, il C5. La C5 convertasi classica è il C4b2a3b, mentre la C5 convertasi alternativa è il C3bBb3b*

☞
- Una parte dei fattori che fanno parte del sistema del complemento hanno la funzione di regolare ed inibire l'indefinita attivazione del sistema stesso
- Questi fattori sono anche importanti nello spegnimento dell'attivazione

9.2.4. La via litica

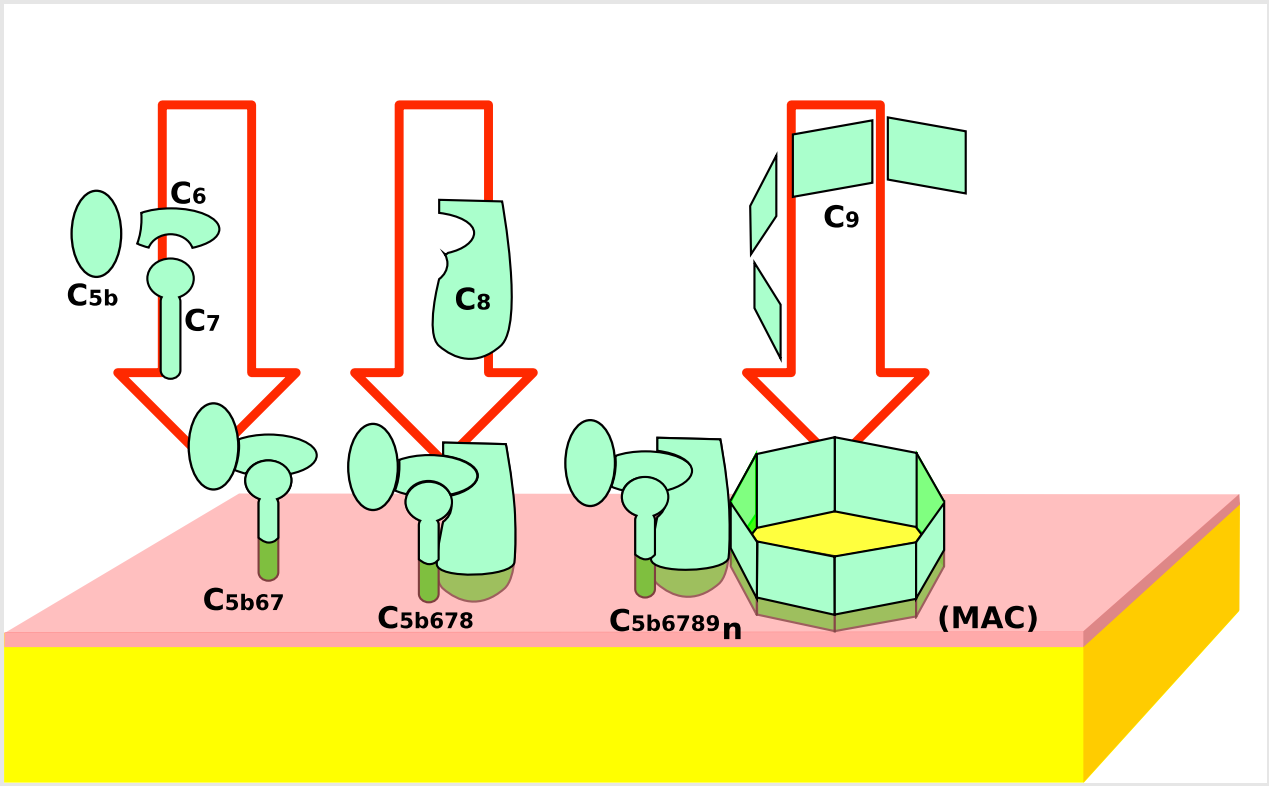


Figura 9.6. Generazione del complesso di attacco alla membrana

- *Il C5b lega il C6 e il C7 per formare C5b67, che è idrofobico e possiede un sito di legame per la membrana che gli permette di legarsi vicino alla sede di reazione*
- *Il C8 si lega al C5b e penetra nella membrana dove catalizza la polimerizzazione della molecole di C9 per generare il complesso di attacco alla membrana (*membrane attack component*, MAC)*

Liberamente tratto da Roitt (1993)

- Se la formazione di pori supera la capacità di riparazione cellulare il liquido extra-cellulare entra per gradiente osmotico e fa “scoppiare” la cellula
- Si ha quindi lisi cellulare con necrosi e rilascio del contenuto intra-cellulare nell'interstizio e flogosi

9.3. Effetti biologici del sistema del complemento

9.3.1. Recettori cellulari per il complemento

Tabella 9.2. Principali recettori e relativi ligandi del sistema del complemento

recettore	ligando	distribuzione cellulare
CR1	C3 > iC3b C4	linfociti B neutrofili monociti, macrofagi cellule dendritiche follicolari eritrociti cellule epiteliali glomerulari
CR2	iC3b C3dg virus di Epstein Barr	linfociti B cellule dendritiche follicolari cellule epiteliali (esocervice uterina, naso-faringe)
CR3	iC3b enzimi alcuni batteri	monociti, macrofagi neutrofili cellule NK (*natural killer*) cellule dendritiche follicolari
CR4	iC3b	neutrofili monociti, macrofagi tissutali

9.3.2. Opsonizzazione e fagocitosi

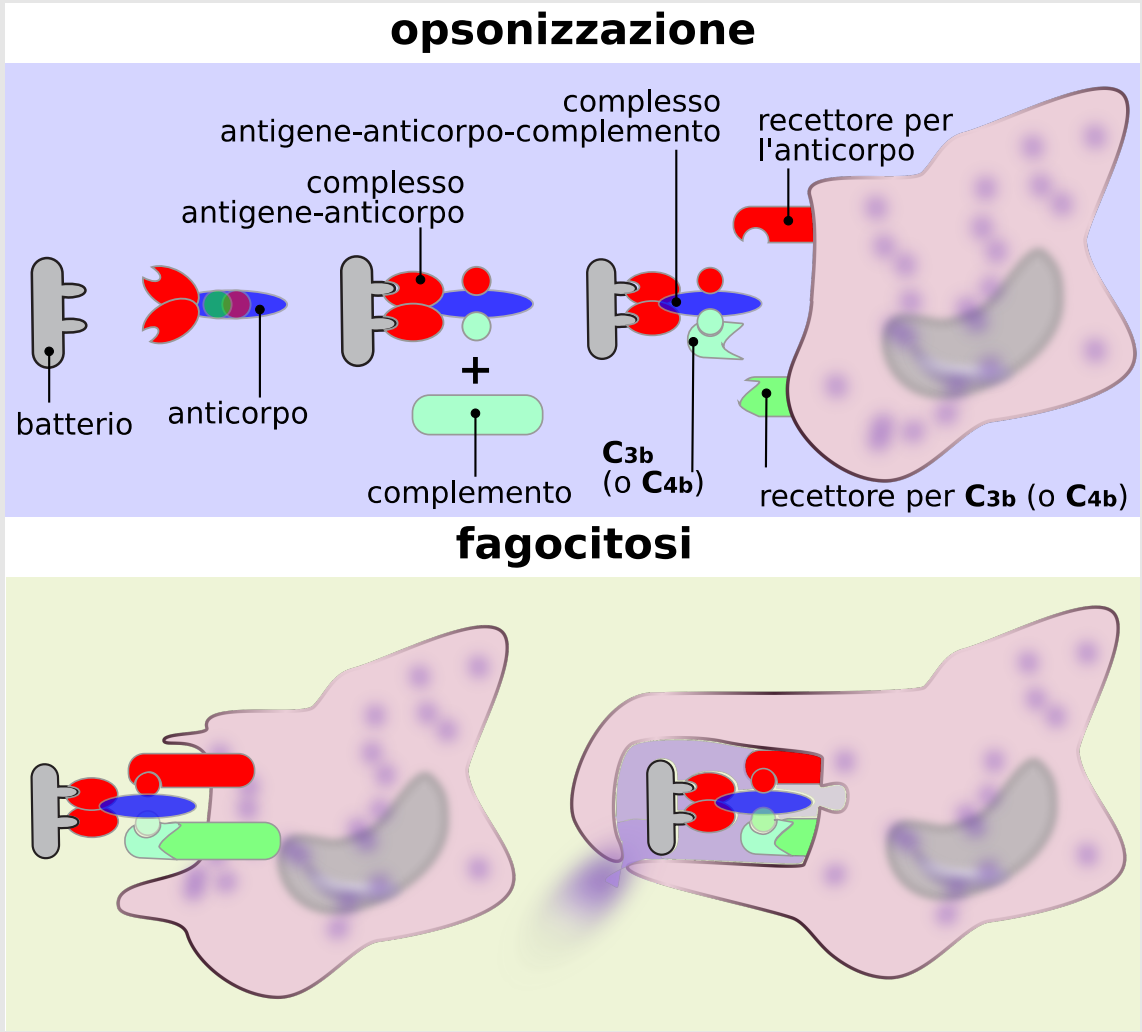


Figura 9.7. Captazione di una particella (batterio) opsonizzata da C3b o da C4b. Liberamente tratto da Roitt (1993)

☞ Quando l'anticorpo si lega all'antigene subisce una modificazione conformazionale che espone dei dominii riconosciuti dai recettori cellulari e dal complemento che quindi si attacca al complesso immune attivandosi

I componenti del complemento attivato presenti sui complessi immuni espongono dei dominii riconosciuti dai recettori cellulari

Il fenomeno di rendere riconoscibili dai recettori cellulari i complessi immuni si chiama opsonizzazione (rendere appetibile)

9.3.3. Effetti del complemento e suo ruolo nella flogosi acuta

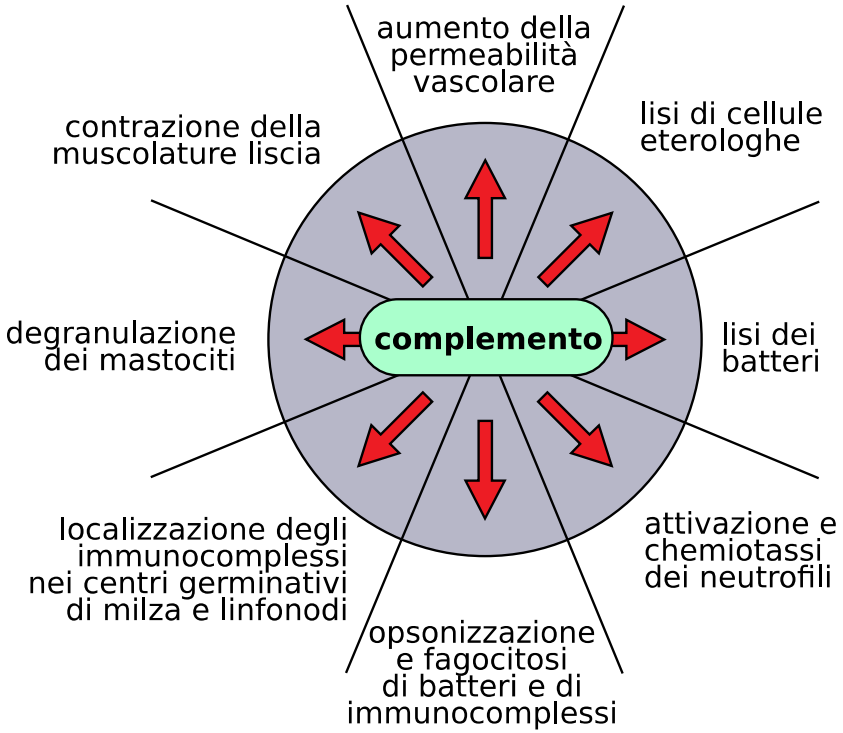


Figura 9.8. Complemento e flogosi acuta

Il complemento ha un ruolo centrale sia nell'immunità naturale che nell'immunità acquisita

Il complemento ha sia funzione di innesco della risposta protettiva sia funzione effettrice nella rimozione della *noxa* patogena

Effetti flogistici del C5a

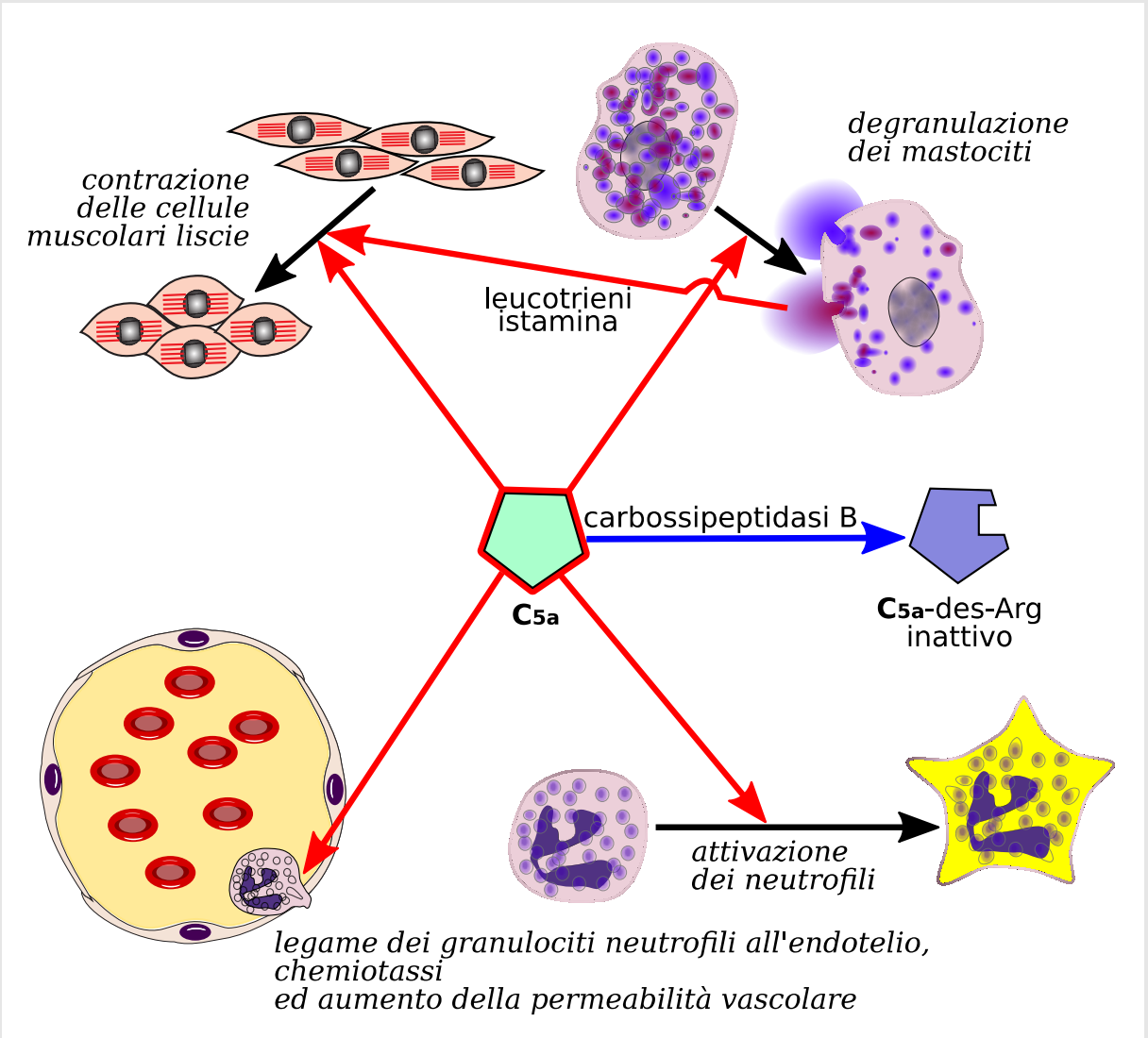


Figura 9.9. Effetti flogistici del C5a

Il C5 a insieme al C3a costituiscono le cosiddette anafilotossine complementari perché possono avere grande ruolo nello scatenare la reazione anafilattica, cioè un'allergia immediata (ipersensibilità di tipo I) mediata da IgE generalizzata

Gli effetti finali del C5a sono

- rapidi (mediati dai mastociti)
- lenti (mediati dai granulociti neutrofili)

Il C5a viene inattivato per proteolisi dalla carbossi-peptidasi B che è ubiquitaria: ha quindi vita media breve

9.3.4. Il complemento e gli immuno-complessi

☞ Una piccola quantità di immuno-complessi (complessi anticorpo-antigene) si forma in continuazione

Quando si sviluppa una vigorosa risposta anticorpale verso un antigene circolante presente in quantità elevate, gli immuno-complessi circolanti possono aumentare in maniera drammatica

Gli immuno-complessi sono potenzialmente dannosi: possono depositarsi a livello delle pareti vasali, attivare il complemento, con reazioni infiammatorie che danneggiano i tessuti circostanti

Solubilizzazione ed eliminazione dei immuno-complessi

☞ Il legame del complemento alle immunoglobuline può inibire stericamente le interazioni tra i frammenti Fc (porzione costante degli anticorpi che contiene i dominii funzionali), limitando quindi la formazione di nuovi immuno-complessi o disaggregando quelli già formati

Il sistema del complemento può favorire l'eliminazione dei complessi circolanti da parte dei fagociti

Questa funzione è in gran parte mediata dai recettori per il complemento CR1 presenti sulla membrana dei globuli rossi, che costituiscono, in virtù del numero degli eritrociti, la grande maggioranza dei recettori CR1 dell'organismo

I complessi antigene-anticorpo circolanti attivano il complemento, il C3b generato forma legami covalenti con le molecole di anticorpo; i complessi possono essere quindi adsorbiti dai globuli rossi, data l'alta affinità di CR1 per C3b

Le cellule fagocitarie presenti nel fegato e nella milza sono responsabili della rimozione dei complessi immuni dalla membrana degli eritrociti, durante il transito di questi ultimi nei sinusoidi di tali organi

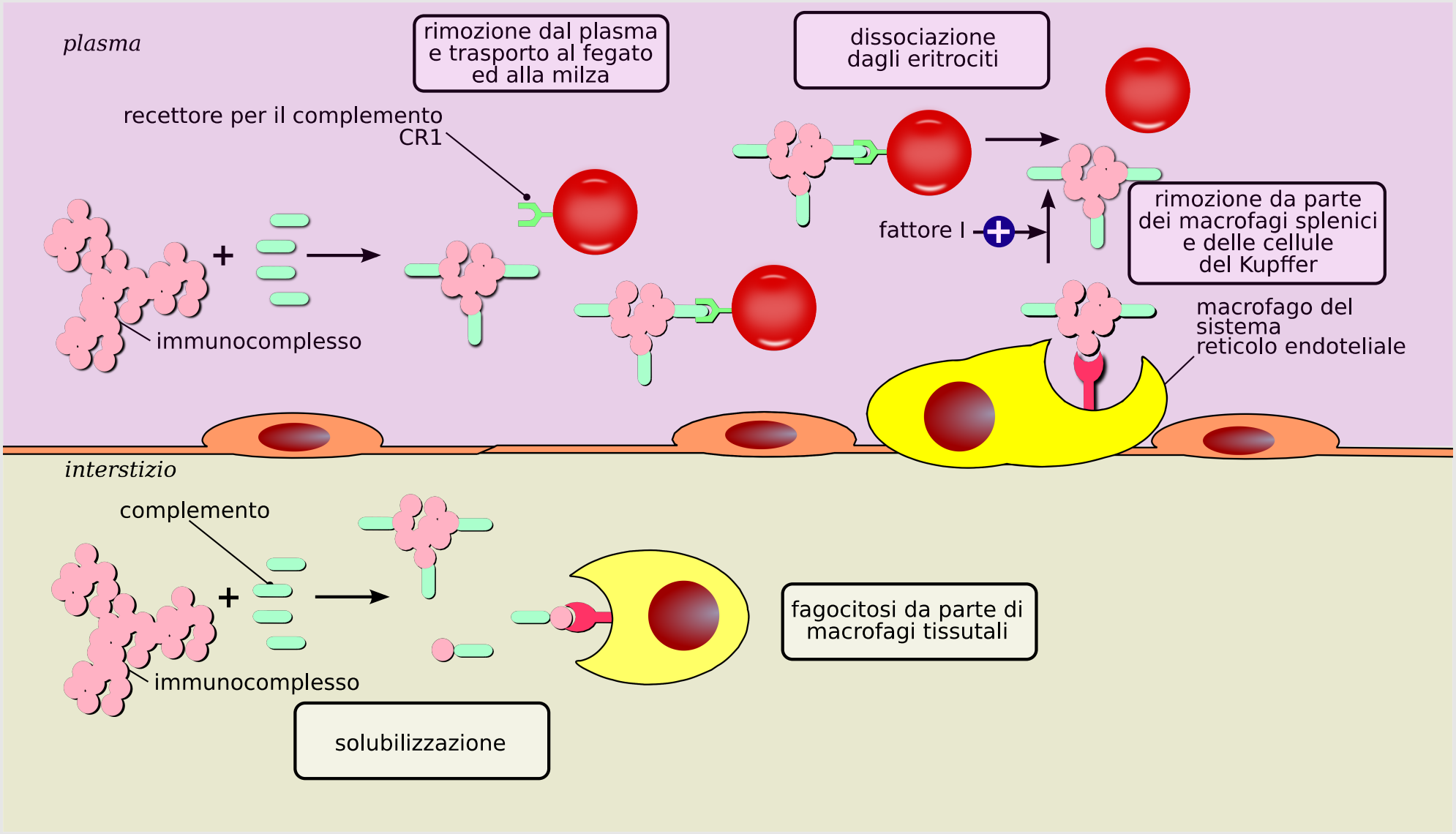
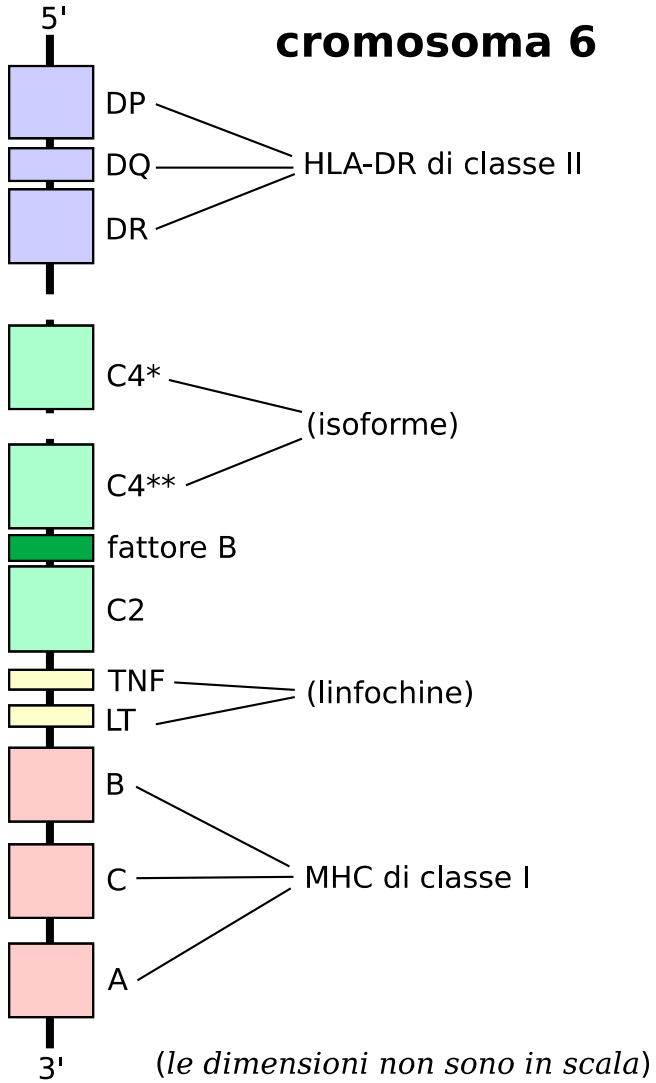


Figura 9.10. Rimozione degli immuno-complessi: ruolo del complemento

9.3.5. Genetica e biosintesi delle proteine complementari



Genetica

- immunità infiammazione e complemento sono legati anche da un punto di vista genetico-evoluzionistico, come si evidenzia dalla distribuzione dei geni sul cromosoma 6

Biosintesi

- la maggio parte dei componenti complementari presenti nel plasma è sintetizzata dagli epatociti e dai fagociti mononucleati
- la sintesi da parte dei fagociti mononucleati è probabilmente più importante a livello dei siti di infiammazione
- anche numerosi altri tipi cellulari sono in grado di sintetizzare una o più proteine del complemento
- molte proteine del complemento costituiscono le cosiddette proteine di fase acuta, sintetizzate in risposta a citochine circolanti come l'interleuchina IL-1, IL-6 e TNF (*tumour necrosis factor*)

Figura 9.11. Cromosoma 6. I geni per il complemento sono in stretta vicinanza con altri geni legati alla risposta immunitaria

HLA: human leucocyte antigen*; TNF:* tumour necrosis factor*; MHC:* major histocompatibility complex

9.3.6. Regolazione del complemento

☞ Il sistema del complemento è in grado di essere potenzialmente assai dannoso per i tessuti dell'ospite, perciò la sua attivazione deve essere attentamente regolata

☞ Il sistema del complemento è regolato da proteine di controllo del complemento

Le proteine di controllo del complemento plasmatiche hanno una attività, in condizioni normali, più elevata di quella del complemento stesso, assicurandone di norma il blocco dell'attività

Alcune proteine di controllo sono presenti sulla superficie delle cellule, ed ivi impediscono la formazione del complesso di attacco alla membrana

Le proteine di controllo alla superficie cellulare sono legate al riconoscimento del *self*: funzionano sulle cellule *self* inalterate

☞ Esempi di proteine di controllo sono:

- CD59 conosciuta anche come protectina, che inibisce la polimerizzazione di C9 bloccando così la formazione di un complesso di attacco alla membrana funzionale
- inibitore di C1, che si lega a C1 impedendone l'attivazione

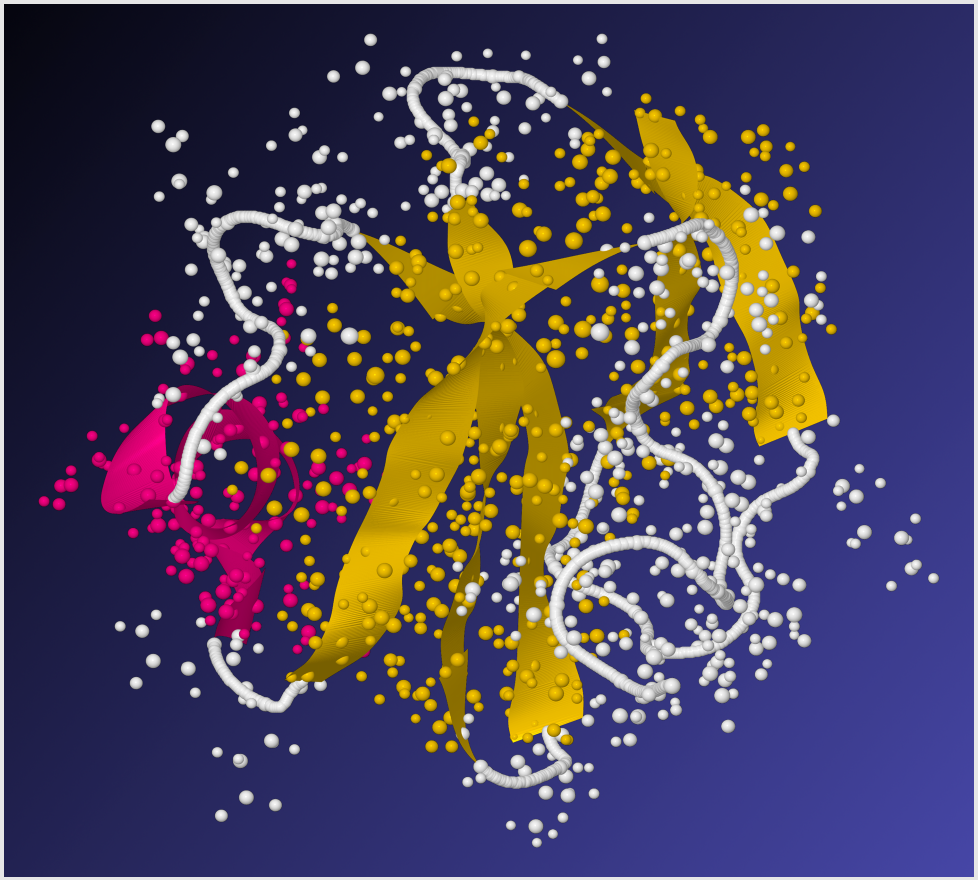


Figura 9.12. Proteina regolatoria del complemento CD59. Immagine della struttura 1CDQ (PDB, protein data bank), Fletcher (1994) ottenuta con Jmol e Pov-Ray

9.4. Malattie legate al sistema del complemento

☞ Nell'uomo, il sistema del complemento è legato all'instaurarsi di condizioni morbose dovute ad iper- od ipo-attività complementare:

- deficit di un componente
- attivazione impropria

9.4.1. Deficit di un componente

☞ Il deficit di un componente può riferirsi alle seguenti situazioni:

- alterazione strutturale dei relativi geni (sovente)
- anormale attivazione complementare
- deficit nei fattori di regolazione, che può indurre un'eccessiva attivazione complementare, nel momento sbagliato o in un sito improprio
- l'assenza di una componente integrale della via classica, alternativa, o della sequenza terminale può tradursi in una scarsa attivazione del complemento, e nella mancanza delle funzioni biologiche ad essa connesse

9.4.2. Attivazione impropria del complemento

☞
- Un sistema del complemento intatto e normalmente funzionante può essere attivato in risposta a stimoli abnormi, come un microrganismo persistente o risposte umorali autoimmuni verso costituenti autologhi
- L'effetto infiammatorio o litico del complemento può contribuire in maniera significativa all'instaurarsi del quadro patologico

☞ Anche quando è correttamente regolato e normalmente attivato, il sistema del complemento può provocare significativi danni tissutali

Questi effetti patologici comprendono la distruzione delle cellule "spettatrici" (cellule viciniori non direttamente interessate dalla reazione) nel corso delle risposte infiammatorie dovute agli agenti infettivi

Es.:

- un'infezione batterica può stimolare una risposta immune umorale, e l'anticorpo legato al batterio può attivare il complemento; in assenza anticorpi, può anche verificarsi l'attivazione diretta della via alternativa a livello della superficie cellulare batterica
- la generazione di C3a e di C5a stimola l'accumulo di neutrofili nel sito di infezione. I neutrofili aderiscono all'agente patogeno e lo fagocitano; nel far questo essi rilasciano radicali liberi e proteasi che distruggono i microbi, ma possono danneggiare anche le cellule normali nelle immediate vicinanze
- l’istamina rilasciata dai mastociti in risposta a C5a può amplificare la reazione infiammatoria aumentando la permeabilità vasale

L'esempio più chiaro di patologia mediata da complemento è forse rappresentato dalle malattie da immuno-complessi (*vedi reazioni di ipersensibilità, cap. 14*)

9.5. Principali fonti utilizzate

Abbas, A.K., Lichtman, A.H. (2003). Cellular and Molecular Immunology. V ed. Saunders, Philadelphia

Janssen, B.J., Huizinga, E.G., Raaijmakers, H.C., Roos, A., Daha, M.R., Nilsson-Ekdahl, K., Nilsson, B., Gros, P. (2005) Structures of complement component C3 provide insights into the function and evolution of immunity. Nature 437, 505-511

Roitt, I. M., Brostoff, J., Male, D. K. (1993) Immunology. III ed. Mosby, Edinburgh

Siti web

jmol.org	*visitato il 29/10/2011*	*accessibile il 16/06/2013*
pdb.org_protein_data_bank	*visitato il 29/10/2011*	*accessibile il 16/06/2013*
povray.org	*visitato il 29/10/2011*	*accessibile il 29/06/2012*