

9. Complemento

I edizione



(vale per tutto il capitolo)

9. Complemento.....	1	9.3.1. Recettori cellulari per il complemento.....	10
9.1. GENERALIA SUL COMPLEMENTO.....	3	9.3.2. Opsonizzazione e fagocitosi.....	11
9.1.1. Le tre maggiori attività biologiche del sistema complementare.....	4	9.3.3. Effetti biologici del C5a.....	12
9.2. ATTIVAZIONE DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO.....	5	9.3.4. Effetti del C5.....	13
9.2.1. Attivatori del complemento.....	5	9.3.5. Effetti del C3B e C4B.....	13
9.2.2. Confronto tra la via classica e la via alternativa del complemento.....	6	9.3.6. Effetti del complemento e suo ruolo nella flogosi acuta.....	14
9.2.3. Azioni simili della via classica e della via alternativa.....	7	9.3.7. Il complemento e gli Immuno-complessi.....	15
9.2.4. La via litica.....	8	9.3.8. Genetica e biosintesi delle proteine complementari.....	17
9.2.5. Formazione delle anafilotossine.....	9	9.4. MALATTIE LEGATE AL SISTEMA DEL COMPLEMENTO.....	18
9.3. EFFETTI BIOLOGICI DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO.....	10	9.4.1. Attivazione impropria del complemento.....	19
		9.5. PRINCIPALI FONTI UTILIZZATE.....	20



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

Storia



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**



- 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

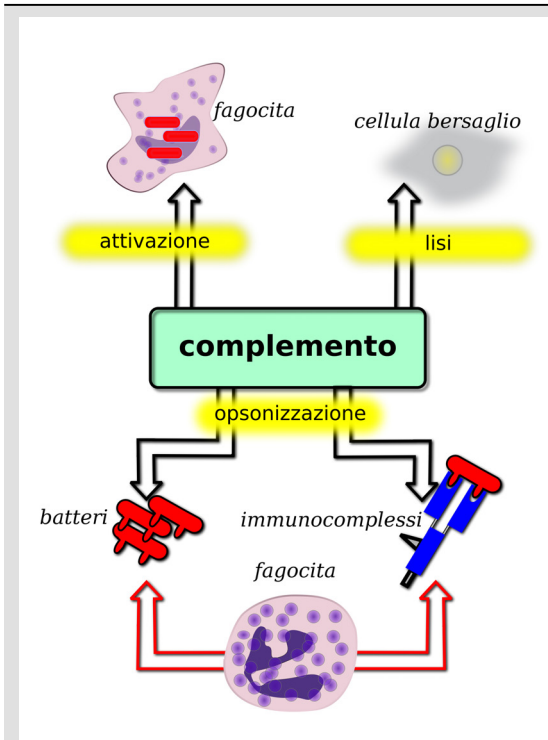


Figura 9.1. Le tre maggiori attività biologiche del complemento. Da Roitt (1993), ridisegnato.

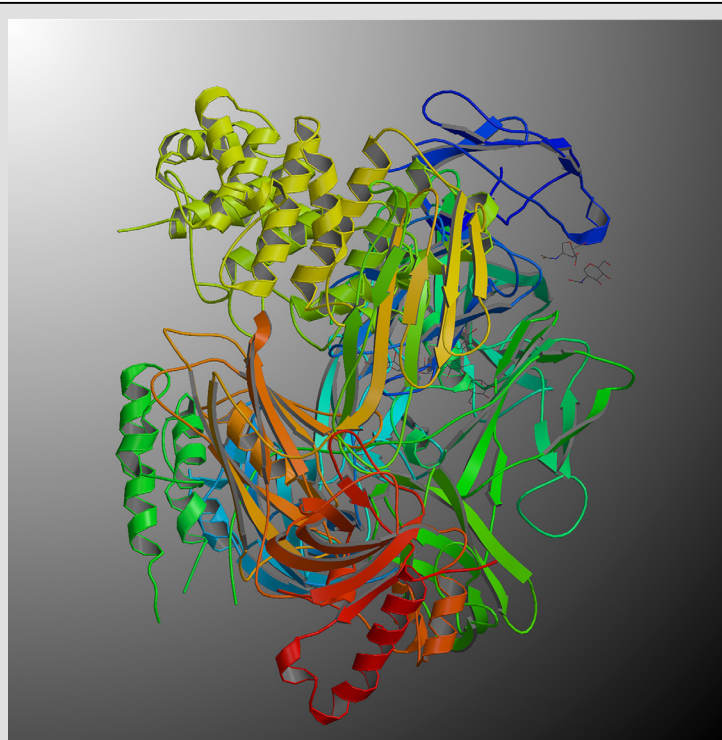


Figura 9.2. Componente C3 del complemento. 1iga.pdb (Janssen, 2005) render con Molscript (Kraulis, 1991) e Raster3D (Merrit, 1997)

9.2. Attivazione del sistema del complemento

9.2.1. ATTIVATORI DEL COMPLEMENTO

Tabella 9. 1: Attivazione del complemento

	complessi contenenti:	microrganismi			altri
		virus	batteri	altri	
via classica	IgM, IgG1, IgG2, IgG3	virus della stomatite vescicolare	-	<i>Mycoplasma</i>	PO ₄ ³⁻ (DNA, lipide A, cardiolipina), SO ₄ ²⁻ (eparina, condroitin-solfato)
via alternativa	IgG, IgA, IgE	alcune cellule infettate da virus (Epstein-Barr)	molti Gram-positivi e Gram-negativi	protozoi (tripanosomi, <i>Leishmania</i>), molti funghi	eritrociti eterologhi, carboidrati

9.2.2. CONFRONTO TRA LA VIA CLASSICA E LA VIA ALTERNATIVA DEL COMPLEMENTO

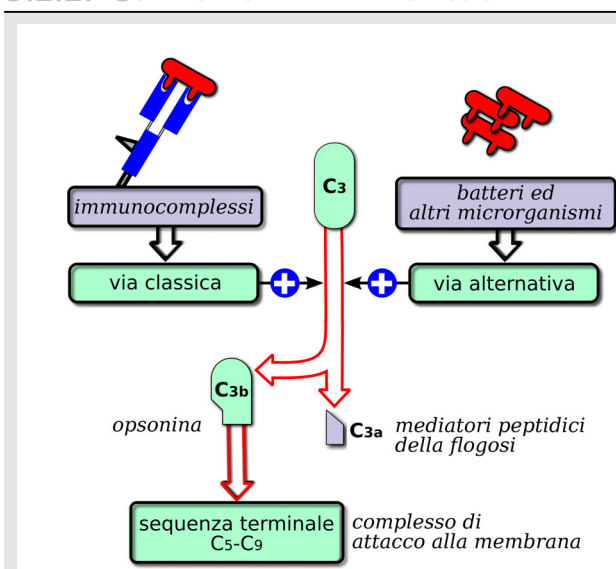


Figura 9.3. Via classica e via alternativa dell'attivazione del complemento. Da Roitt (1993), ridisegnato

Entrambe le vie, classica ed alternativa, generano una C3 convertasi, che converte il C3a a C3b, l'evento fondamentale dell'attivazione del sistema complementare

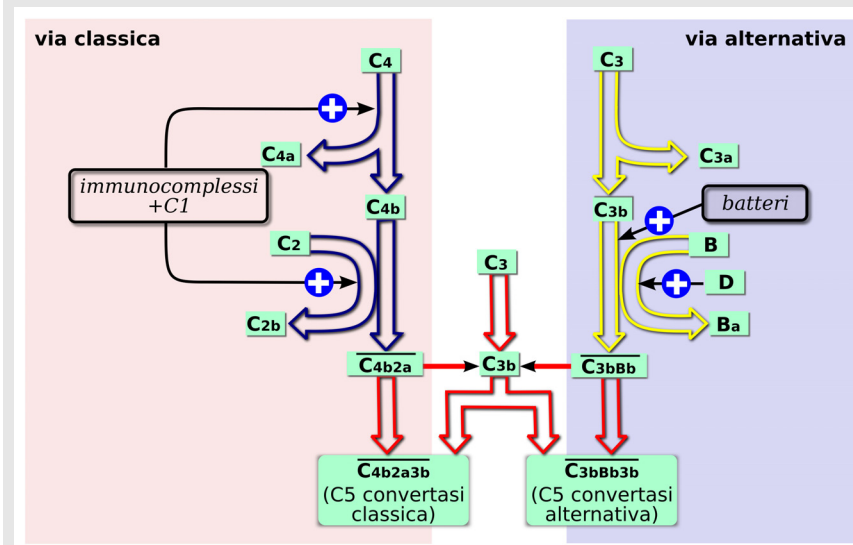
Il C3b attiva la via terminale litica C5-C9 che porta alla formazione del complesso di attacco alla membrana

Il primo stadio che 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 E DELLA VIA ALTERNATIVA



- Nella via classica il C1 viene attivato da anticorpi complessati e scinde sia il C4 che il C2
- I frammenti più piccoli, C4a e C2b, vengono persi, 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

Figura 9.4. Entrambe le vie generano una C3 convertasi: C4b2a (via classica) e C3bBb (via alternativa). Da Roitt (1993), ridisegnato

- 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

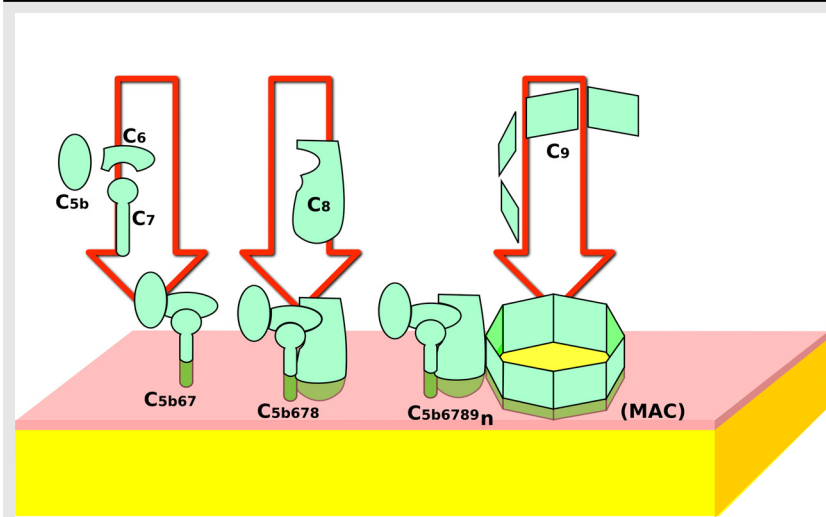


Figura 9.5. Generazione del complesso di attacco alla membrana

- 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)

Da Roitt (1993), ridisegnato.

- 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

9.2.5. FORMAZIONE DELLE ANAFILOTOSSINE

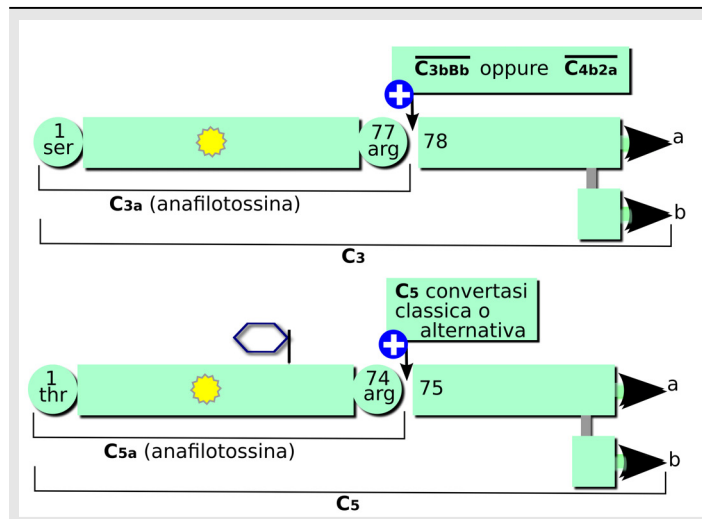


Figura 9.6. Formazione delle anafilossine.

● Estremità N-terminale del C3 e del C5. Il C3a, un peptide di 77 amminoacidi viene scisso dalla molecola C3, in maniera tale da formare un residuo di arginina terminale, da parte di C4b2a (via classica) o da parte di C3bBb (via alternativa)

● Il C5a, un frammento di 74 amminoacidi, viene scisso dal C5 da parte della C5 convertasi classica Cab2a3b o dalla C5 convertasi alternativa C3bBb3b

Da Roitt (1993), ridisegnato.



- La divisione proteolitica di fattori del complemento porta alla generazione di frammenti entrambi attivi biologicamente
- Le anafilossine sono un ponte tra complemento e flogosi molto efficiente

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 (cervice, naso-faringe)
CR3	iC3b enzimi alcuni batteri	monociti, macrofagi neutrofili cellule NK cellule dendritiche follicolari
CR4	iC3b	neutrofili monociti, macrofagi tissutali

9.3.2. OPSONIZZAZIONE E FAGOCITOSI

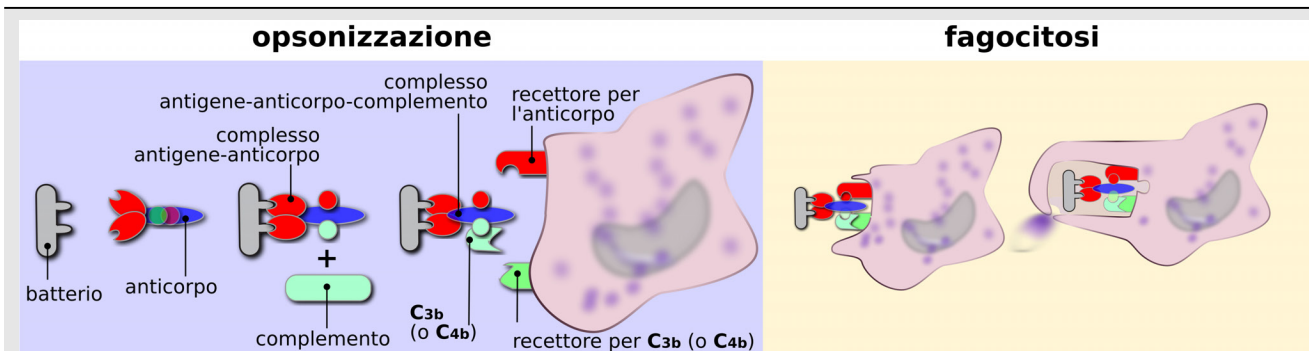


Figura 9.7. Captazione di una particella (batterio) opsonizzata da C3b o da C4b. Adattato da Roitt (1993)

- Quando l'anticorpo si lega all'antigene subisce una modificazione conformazionale che espone dei domini 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 domini riconosciuti dai recettori cellulari
- Il fenomeno di rendere riconoscibili dai recettori cellulari i complessi immuni si chiama **opsonizzazione**

9.3.3. EFFETTI BIOLOGICI DEL C5a

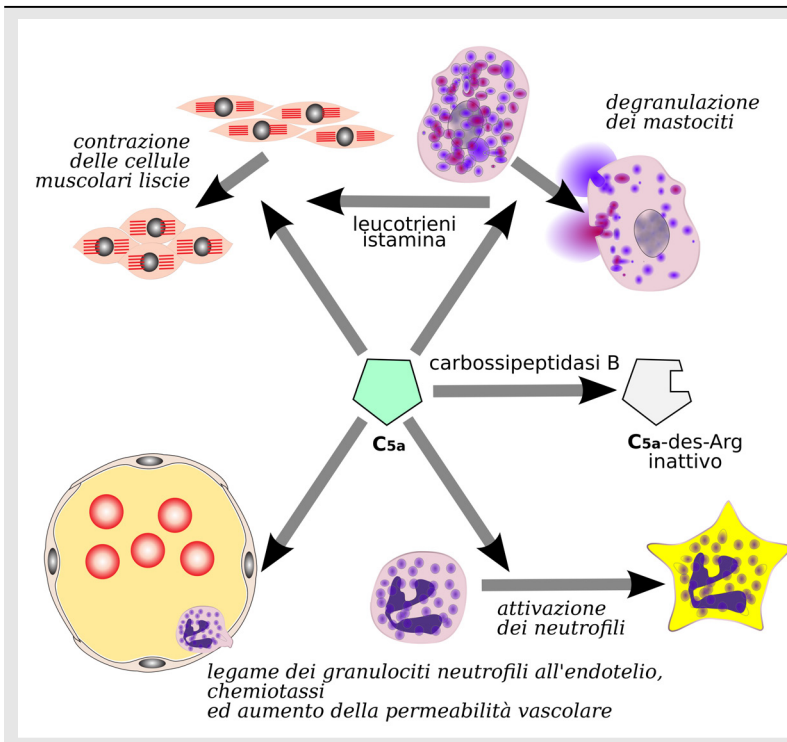


Figura 9.8. Effetti biologici del C5a.

Il C5a insieme al C3a costituiscono le cosiddette anafilossine 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. EFFETTI DEL C5

Il C5 provoca:

- contrazione della muscolatura liscia
- degranolazione dei mastociti
- attivazione dei neutrofili
- marginazione e chemiotassi dei neutrofili

La muscolatura liscia viene ulteriormente stimolata dall'istamina e dai leucotrieni liberati in conseguenza della degranolazione dei mastociti

La perdita del residuo C-terminale di arginina conseguente alla scissione da parte della carbossi-peptidasi B, produce il C5a-des-Arg, che perde attività

9.3.5. EFFETTI DEL C3B E C4B

Il C3B ed il C4B facilitano:

- il legame di batteri, virus e immuno-complessi a neutrofili monociti e macrofagi
- l'endocitosi, la fagocitosi e l'attivazione metabolica, mediante attivazione dei recettori per il complemento
- il legame al CR1 (recettore per il complemento) degli eritrociti per la *clearance* degli immuno-complessi
- la localizzazione degli immuno-complessi e delle APC (*antigene presenting cells*, cellule presentanti l'antigene)
- la solubilizzazione degli immuno-complessi mediante rottura dei reticoli macromolecolari

9.3.6. EFFETTI DEL COMPLEMENTO E SUO RUOLO NELLA FLOGOSI ACUTA

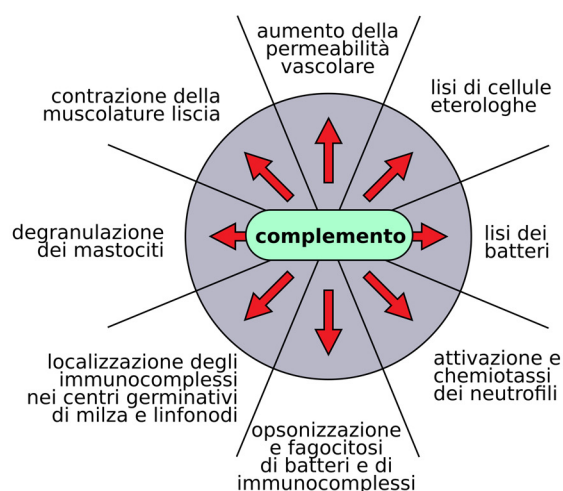


Figura 9.9. Complemento e flogosi acuta

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

9.3.7. IL COMPLEMENTO E GLI IMMUNO-COMPLESSI

- Una piccola quantità di complessi immuni 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 complessi immuni

- Il legame del complemento alle immunoglobuline può inibire stericamente le interazioni tra i frammenti Fc (porzione costante degli anticorpi che contiene i domini funzionali), limitando quindi la formazione di nuovi complessi immuni 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

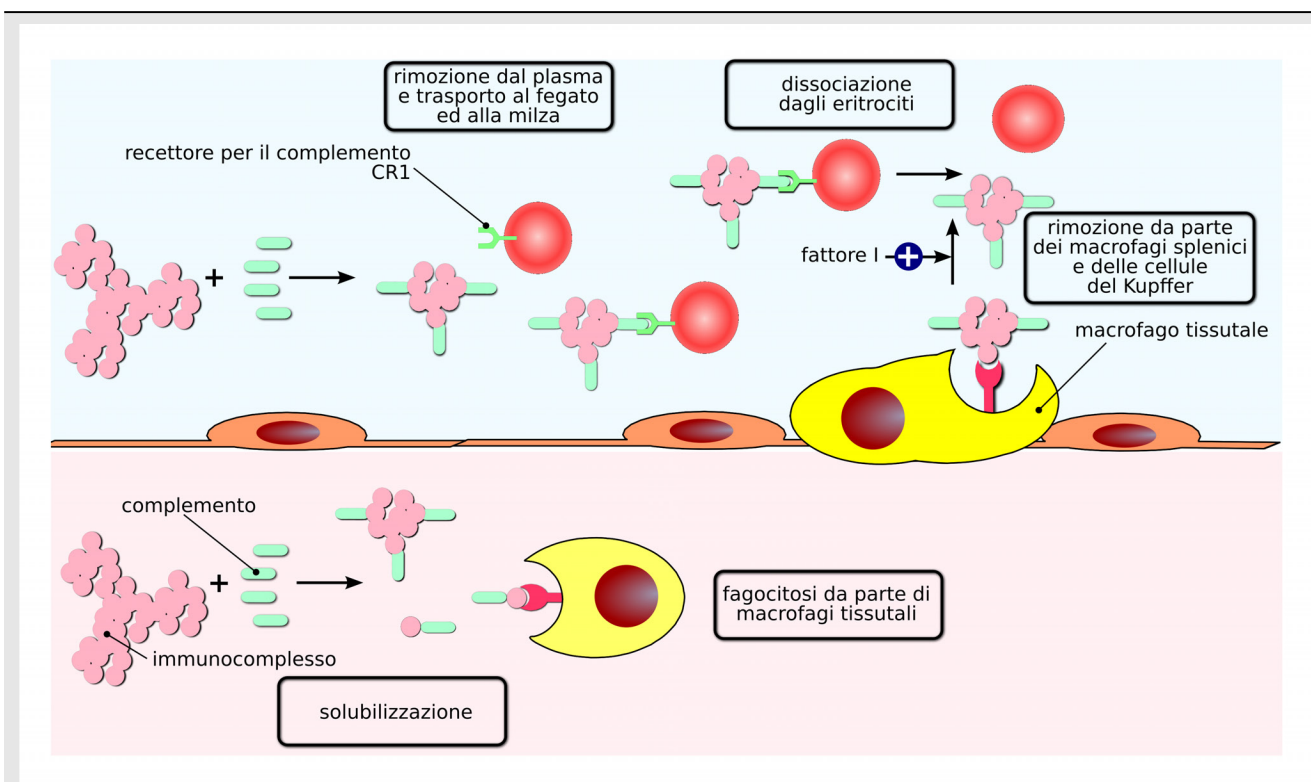
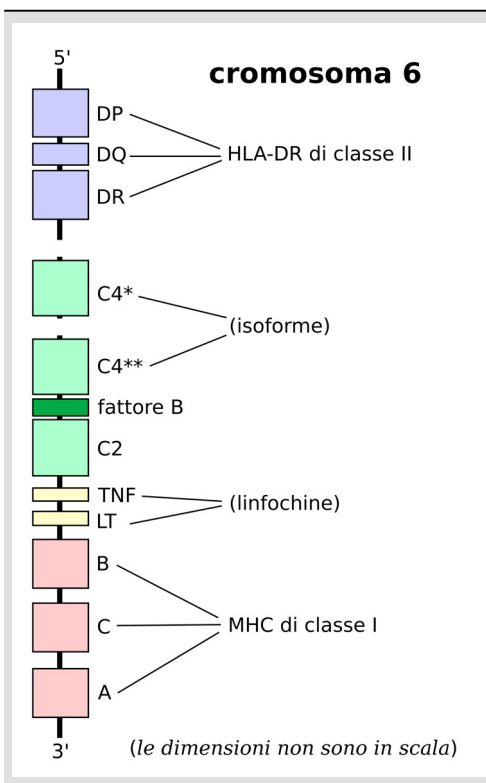


Figura 9.10. Rimozione degli immuno-complessi: ruolo del complemento

9.3.8. 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

- sia gli epatociti che i fagociti mononucleati possono sintetizzare la maggior parte delle componenti complementari presenti nel siero
- il fegato produce la maggior quantità di proteine complementari
- 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 (*tumor 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: tumor necrosis factor; MHC: major histocompatibility complex

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

Deficit di un componente

- Un deficit di una qualsiasi delle componenti è solitamente dovuto ad un'alterazione strutturale dei relativi geni
- Può portare ad una anormale attivazione complementare
- Se sono assenti fattori di regolazione, può verificarsi 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 invece tradursi in una scarsa attivazione del complemento, e nella mancanza delle funzioni biologiche ad essa connesse

Attivazione impropria

- Un sistema del complemento intatto e normalmente funzionante può essere attivato in risposta 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

9.4.1. ATTIVAZIONE IMPROPRIA DEL COMPLEMENTO



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
- la generazione di C3a e di C5a stimola l'accumulo di neutrofilo nel sito di infezione. I neutrofilo 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 5a può amplificare la reazione infiammatoria aumentando la permeabilità vasale

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

9.5. Principali fonti utilizzate

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