

## IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO COME E' STATO SCOPERTO?

1919: Premio Nobel a **Jules Bordet**

### OSSERVAZIONE:

- Siero fresco contenente anticorpi verso un batterio (*siero immune*) + batteri = lisi dei batteri
- Siero immune vecchio (o riscaldato a 56° C) + batteri = nessuna lisi
- Siero immune riscaldato a 56° C + siero fresco normale, non immune + batteri = lisi

Il termine complemento è stato coniato da Jules Bordet circa un secolo fa e si riferisce alla funzione delle proteine che lo compongono: esse complementano la funzione degli anticorpi nell'eliminazione dei microbi. Charles Bordet, nel 1919, vinse il premio Nobel, grazie alla scoperta delle proteine del complemento. Egli aveva osservato che, il siero fresco contenente anticorpi specifici verso un batterio X (siero immune) era in grado di lisare (distruggere) i batteri X contenuti in una coltura cellulare. Ma se lo stesso siero immune veniva riscaldato a 56° C prima di essere aggiunto alla coltura batterica perdeva la capacità di lisi nei confronti dei batteri X. Siccome a 56° C gli anticorpi non vengono danneggiati, doveva esserci qualche altra molecola in grado di complementare la funzionalità degli anticorpi. La dimostrazione della presenza delle proteine del complemento nel siero, venne ottenuta da Jules Bordet in seguito all'osservazione che, aggiungendo alla coltura batterica e al siero immune preriscaldato a 56° C, un siero fresco non immune e quindi non contenente gli anticorpi verso i batteri X, i batteri venivano nuovamente lisati. Nel siero sono contenute dunque delle proteine termolabili che aiutano gli anticorpi nella lisi dei batteri. Queste proteine vennero così chiamate da Bordet proteine del complemento o sistema del complemento.

## IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

### CHE COSA E'?

- Il complemento è costituito da circa **30 proteine circolanti** (C1-C9, fattore B, D, properidina)
- Le proteine del complemento sono **sintetizzate a dal fegato** e dalle cellule immunitarie
- Sono proteine con attività enzimatica (proteasi) poco stabili e **termolabili**
- Quando una proteina viene attivata ne attiva molte altre tagliandole in due parti
- **Meccanismo "a cascata"** potente ed attentamente regolato
- Svolge un ruolo fondamentale nella difesa nei confronti di numerosi microbi
- Complementa l'azione degli anticorpi, lisando la cellula bersaglio ed attirando altre cellule immunitarie

Il sistema del complemento consiste di circa trenta proteine, sia solubili (plasmaproteine) che di membrana, presenti in tutti i liquidi organici, che vengono indicate con la lettera C seguita da numeri progressivi. In condizioni fisiologiche queste proteine sono inattive. Circa il 90% delle proteine del complemento vengono sintetizzate nel fegato mentre il restante 10% viene sintetizzato principalmente dai monociti, macrofagi e fibroblasti. Come dimostrato dagli esperimenti di Bordet, le proteine del complemento a differenza degli anticorpi, sono proteine poco stabili e degradate dalla temperatura (termolabili). Il complemento può essere attivato direttamente dai microbi, costituendo un sistema di difesa dell'immunità innata, oppure dagli anticorpi attaccati al microbo, costituendo un braccio effettore dell'immunità adattativa.

Alla fine della cascata di attivazione del complemento, si ha la formazione di proteine effettrici in grado di eliminare i microbi. Il sistema del complemento agisce con una filosofia del tutto particolare, ovvero con un meccanismo a cascata finemente regolato, in cui un piccolo numero di proteine attivate sono in grado di produrre un gran numero di molecole effettrici.

In condizioni fisiologiche, la specificità della risposta delle proteine del complemento è assicurata dal fatto che le proteine attivate si legano in modo covalente alla membrana del microorganismo da eliminare; in questo modo l'eliminazione della cellula è limitata al sito di attivazione. Inoltre, le cellule dell'organismo producono proteine in grado di inibire l'attivazione delle proteine del complemento, chiamate inibitori, in modo che l'attività proteolitica degli enzimi del complemento venga limitata e non porti al danneggiamento delle cellule dell'organismo. La mancanza di alcuni di questi inibitori porta alla formazione di patologie anche molto gravi.

## **Complemento:**

**La scissione dei componenti della cascata del Complemento da origine a due tipi di fattori:**

**“a”, che vanno in circolo nel microambiente  
*(anafilotossine)***

**“b” che fanno proseguire la reazione**

L'attivazione delle proteine del complemento comporta una sequenza di proteolisi in cui ciascuna proteina viene divisa in due parti. Di queste due parti una funziona come enzima proteolitico e fa continuare la reazione, l'altra invece funziona come “anafilotossina” cioè come molecola che viene rilasciata nel microambiente e stimola i processi infiammatori.

## Vie d'attivazione:

### VIA CLASSICA

Anticorpi + batteri

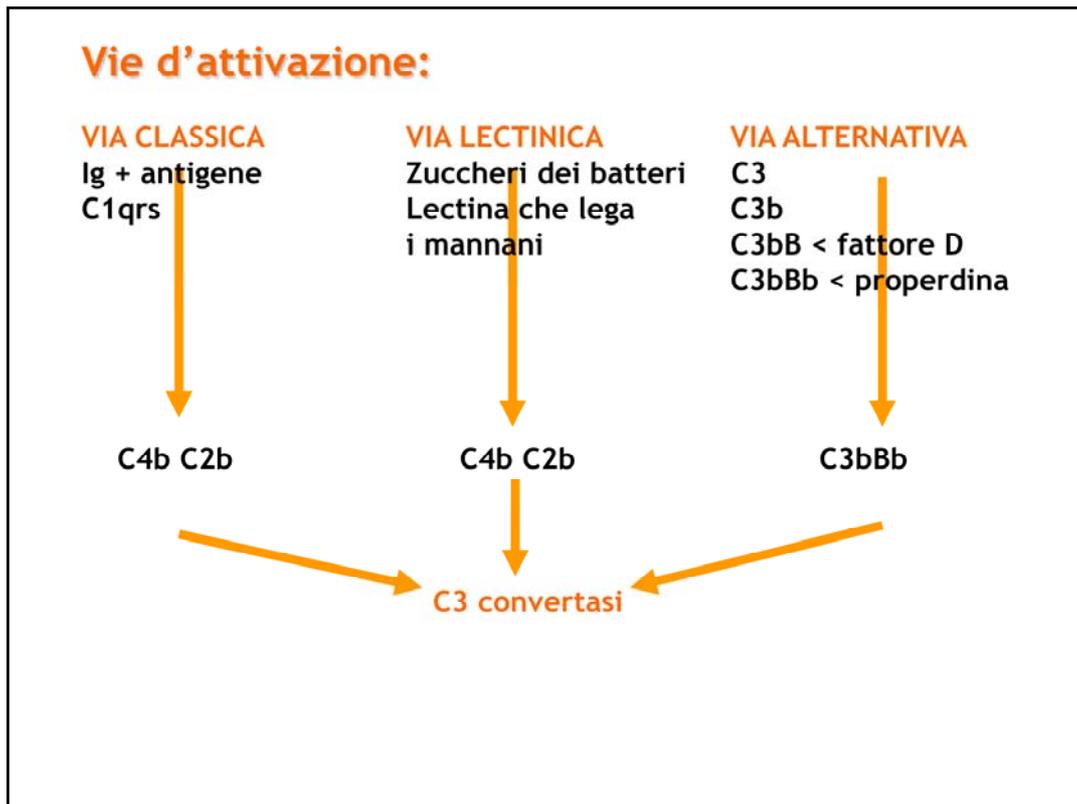
### VIA LECTINICA

batteri

### VIA ALTERNATIVA

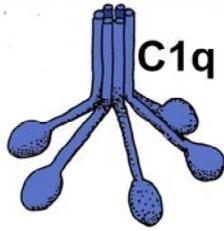
batteri

Esistono tre diverse vie attraverso cui può essere attivato il complemento. Due di queste, note come la via alternativa e quella lectinica, sono iniziate dai microorganismi in assenza di anticorpi. La via classica, invece, viene attivata dai complessi formati dal microorganismo ricoperto dagli anticorpi. Solo alcuni isotipi anticorpali (IgM, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub>) sono in grado di attivare il complemento.



In generale, possiamo dire, che le tre vie vengono attivate mediante meccanismi e molecole diverse, ma il risultato di questa complicata rete di attivazione è quello di avere il microorganismo ricoperto dal fattore C4b C2b detto anche C3 convertasi.

## VIA CLASSICA (Ig)

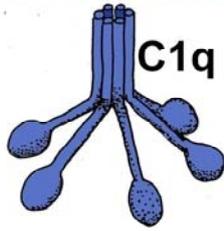


**C1q**

Ogni testa globulare del C1q lega un Fc, ma solo nella conformazione che l'Fc assume quando l'Ig ha legato un antigene. Il C1q lega solo l'Fc di alcuni isotipi delle Ig (IgG1, IgG3, IgG3, IgM)

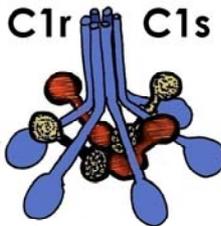
La via classica di attivazione del complemento, richiede la presenza di anticorpi che legano il microorganismo e della proteine del complemento note con il nome di C1. La proteina C1 è costituita da tre subunità il C1q, il C1r ed il C1s. Il legame di C1q al frammento costante degli anticorpi determina un cambiamento conformazionale tale da rendere attivi il C1r ed il C1s.

## VIA CLASSICA (Ig)



**C1q**

Ogni testa globulare del C1q lega un Fc, ma solo nella conformazione che l'Fc assume quando l'Ig ha legato un antigene. Il C1q lega solo l'Fc di alcuni isotipi delle Ig (IgG1, IgG3, IgG3, IgM)



**C1r C1s**

Quando il C1q riesce a legare due Fc, si attiva e mette in funzione l'attività serin esterasica di C1r e C1s

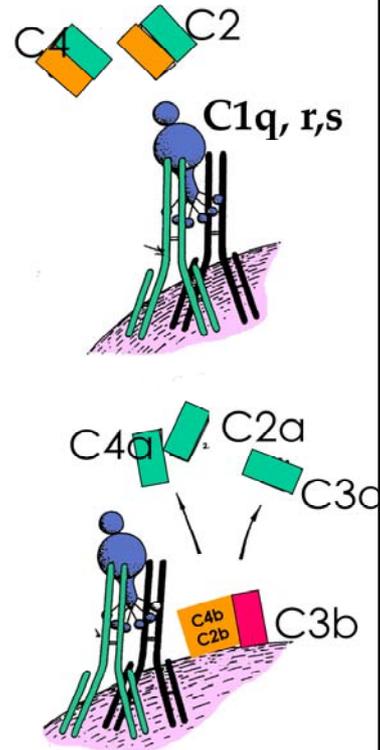
Il C1s scinde il C4 in C4b e in C4a. Il C4b si lega alla membrana del batterio e taglia il C2 in C2a e C2b. Il C2b a sua volta si lega alla membrana insieme al C2a per formare la C3 convertasi. I frammenti C2a e C4a invece, vengono rilasciati in circolo e funzionano come anafilotossine.

## VIA CLASSICA (Ig)

C1q,r,s taglia in due parti il C4 ed il C2.  
I frammenti C4b e C2b si legano  
covalentemente sulla membrana  
dove hanno aderito le Ig

Il C4b si lega covalentemente  
alla membrana e scinde il C2

Il C2b si lega vicino al C4, e forma  
il complesso che scinde il C3  
(la C3 convertasi)



La C3 convertasi scinde la proteina C3 in fattore C3b che si unisce alla C3 convertasi sulla membrana dando luogo alla proteina C5 convertasi (C4b C2b C3b).

## IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

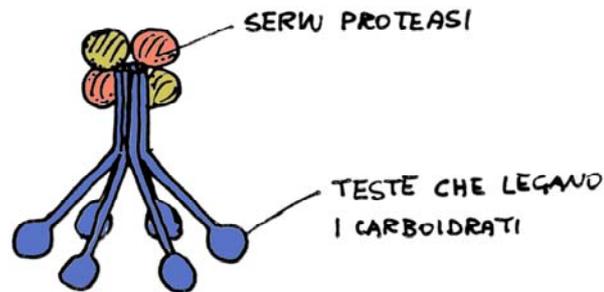
### VIE DI ATTIVAZIONE



La via lectinica di attivazione del complemento è iniziata in assenza di anticorpi. La proteina responsabile della scissione del C4 è la proteina che lega i mannani o MBL (mannose-binding lectin). Questa proteina, presente nel siero è in grado di riconoscere e legarsi ai mannani, che sono zuccheri che costituiscono la parete batterica e non sono presenti nelle cellule eucariote.

## LA VIA LECTINICA

Nel siero c'è la *proteina che lega i mannani (MBL)*, una proteina che lega zuccheri utilizzati solo dai microrganismi, alla quale sono associate delle serin esterasi (MASP)



Quando la proteina lega il mannosio, le sue serin proteasi tagliano il C4. Il C4b si lega covalentemente sulla membrana batterica e scinde il C2. Il C2b si lega vicino al C4, e forma il complesso (*la C3 convertasi*) che scinde il C3

Anche in questo caso, il legame della proteina MBL al batterio determina un cambiamento conformazionale a cui segue il clivaggio della proteina C4. Da qui in avanti si ripetono le stesse tappe descritte per la via classica, fino alla formazione della C5 convertasi.

## IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

### VIE DI ATTIVAZIONE



Infine, la via alternativa, chiamata così perché scoperta in un secondo tempo, prevede che la formazione del complesso C3 convertasi non sia iniziata da un enzima proprio del complemento ma sia dovuta alla scissione spontanea del C3 nel siero. Al fattore C3b, ancorato alla membrana del microbo si lega il fattore Bb derivato dalla scissione del fattore B ad opera del fattore D. Il complesso C3b Bb viene stabilizzato da una altra proteina detta properidina ed è in grado di scindere efficientemente il C3, agendo come una C3 convertasi.

## IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

### VIE DI ATTIVAZIONE

VIA CLASSICA

VIA LECTINICA

VIA ALTERNATIVA

**I componenti finali della cascata del complemento sono comuni alle tre vie di attivazione. Si legano tra loro e formano il COMPLESSO DI ATTACCO ALLA MEMBRANA (MAC) che causa la lisi delle cellule bersaglio**

In tutti i casi di attivazione descritti si arriva alla formazione della C3 convertasi. La C3 convertasi è l'enzima responsabile del taglio del C3 in C3b e C3a. Il C3 è il cuore del sistema del complemento. Il C3 è una delle proteine sieriche principali (circa 1g/litro) il cui clivaggio enzimatico, o attivazione, ha effetti drammatici. Il C3b è una potente opsonina: si fissa sulla superficie del batterio, trasformandolo in un bersaglio per la fagocitosi, in quanto i fagociti possiedono recettori specifici per il C3b. Tuttavia il C3b agisce anche come catalizzatore per la polimerizzazione di altri componenti del complemento. Il C3b infatti si lega al complesso della C3 convertasi formando la C5 convertasi che, scinde il C5, generando il fattore C5b che rimane legato al complesso. I restanti componenti del complemento, il C6, il C7 il C8 ed il C9 subiscono il clivaggio in sequenza e rimangono anch'essi legati alla C5 convertasi.

L'ultima fase dell'attivazione, chiamata fase di attacco alla membrana, consiste nella formazione ad opera del C9 di veri e propri buchi attraverso i quali entrano l'acqua e gli ioni, portando la cellula microbica alla morte.

## **Attività del C**

- 1) Uccisione di cellule (lisi)**
- 2) Opsonizzazione**
- 3) Induttore delle reazione infiammatoria**
- 4) Eliminazione dei complessi antigene anticorpo (complessi immuni)**

Il complemento gioca un ruolo importante nell'eliminazione dei microbi sia come braccio effettore dell'immunità innata che di quella adattativa. Le principali funzioni biologiche effettrici del complemento sono: uccisione diretta delle cellule microbiche (lisi cellulare), l'opsonizzazione dei microbi, l'induzione della risposta infiammatoria e l'eliminazione degli immunocomplessi.

La lisi dei microbi è ottenuta mediante la formazione di pori sulla membrana della cellula microbica ad opera delle proteine del complesso di attacco alla membrana; in questo modo, quando il complemento si attiva sulla superficie di un microbo, questo viene ucciso per lisi osmotica.

L'opsonizzazione. Numerose proteine del complemento funzionano come opsonine e cioè come molecole che rivestono i microorganismi rendendoli più "appetibili" per i fagociti. L'opsonina più importante è il C3b. Quando un microbo è ricoperto dal C3b viene facilmente riconosciuto e fagocitato dai fagociti che esprimono un recettore chiamato CR1, specifico per il C3b.

La proteolisi del C3, C4 e C5 determina la formazione di piccole proteine, note come anafilotossine, o fattori C5a, C3a e C4a che svolgono una potente attività proinfiammatoria. I recettori per le anafilotossine sono espressi dalle cellule endoteliali, dai mastociti, dai macrofagi e dai neutrofili. Il legame delle anafilotossine alle cellule endoteliali, favorisce l'aumento della permeabilità vasale con conseguente formazione dell'edema e la fuoriuscita dei leucociti nel sito dell'attivazione del complemento. Le anafilotossine attivano anche i mastociti che, rilasciando l'istamina contenuta nei loro granuli creano edema e nei casi più gravi anche shock anafilattico. Infine le anafilotossine fungono da potenti chemoattraenti nei confronti dei macrofagi che vengono attivati e dei neutrofili che vengono spinti a degranulare.

Solubilizzazione degli immunocomplessi e loro eliminazione mediante fagocitosi. Il C3b si lega agli immunocomplessi formati dagli antigeni e dagli anticorpi e in questo modo l'immunocomplesso viene riconosciuto dai macrofagi che esprimono il recettore CR1 e dai globuli rossi. L'eliminazione avviene nel fegato e nella milza.