

The complement system is an  
important component of the  
innate immunity  
involved in host defence  
against  
infection agents and altered self

# IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

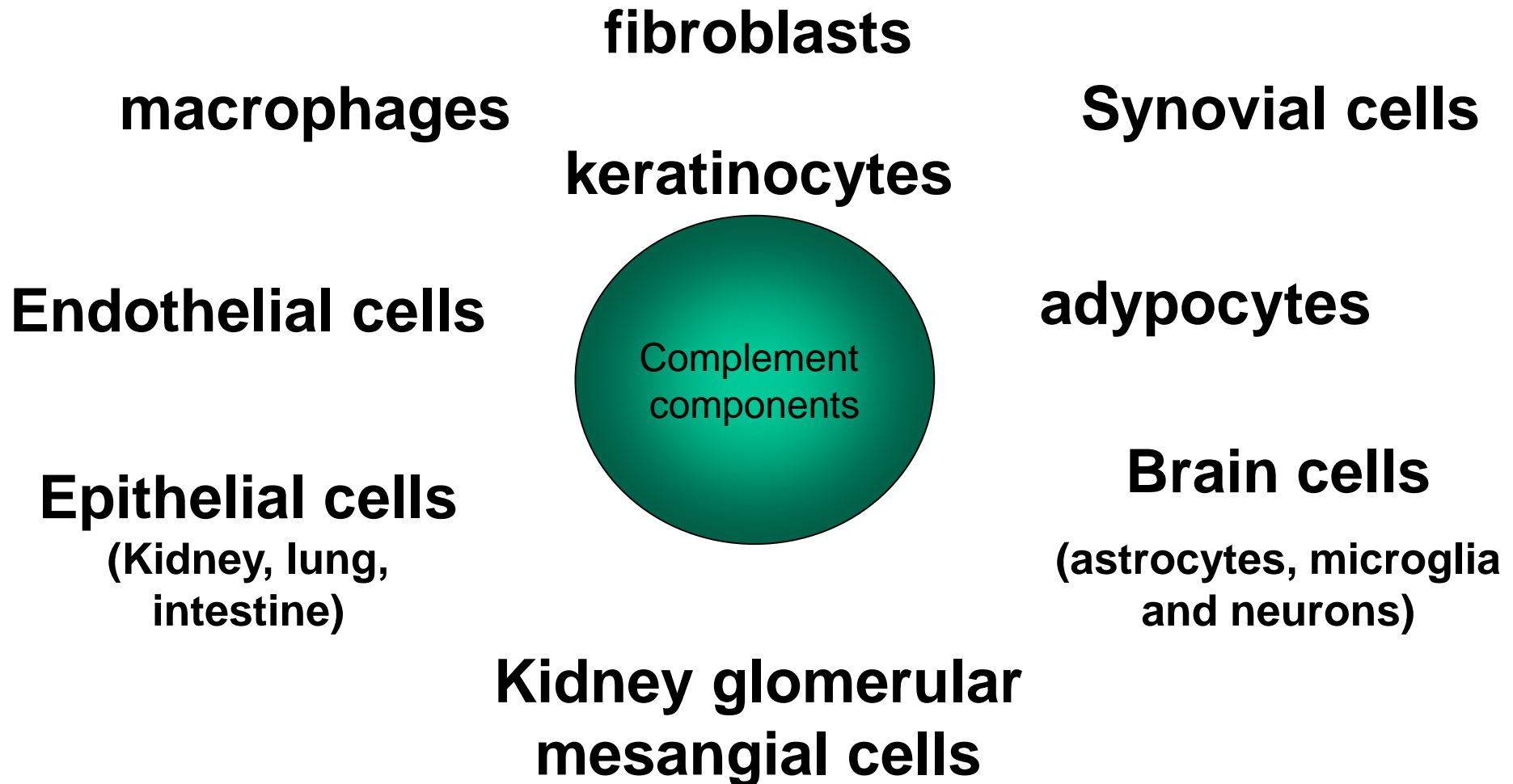
Glicoproteine (più di 30 proteine presenti nel plasma o sulla superficie cellulare)

5% globuline sieriche

le molecole solubili, in grado di raggiungere i bersagli presenti nei tessuti.

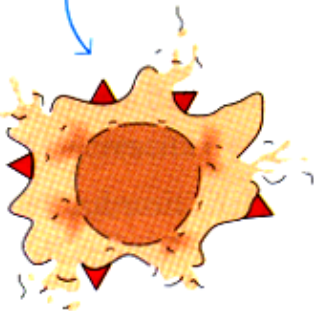
Vengono prodotte come proenzimi o zimogeni principalmente dal **Fegato**

# Extrahepatic synthesis of complement proteins



LISI

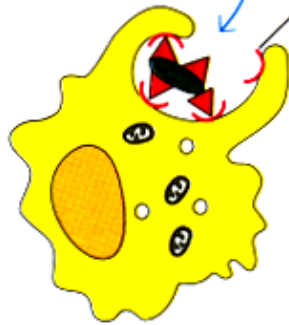
Complemento



Cellula bersaglio

OPSONIZZAZIONE

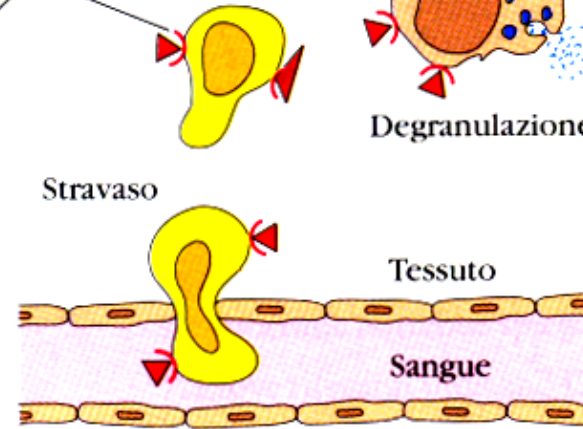
Batteri



Fagocita

ATTIVAZIONE DELLA RISPOSTA  
INFIAMMATORIA

Recettore del  
complemento



Stravaso

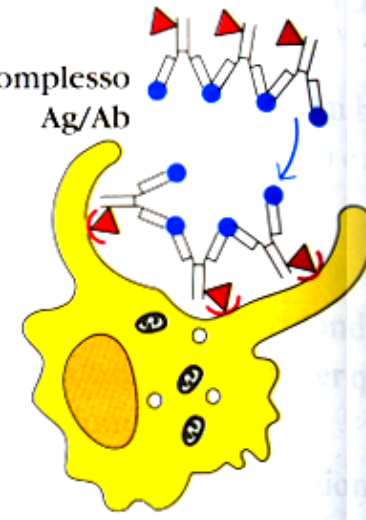
Tessuto

Sangue

Degranulazione

RIMOZIONE DEGLI  
IMMUNOCOMPLESSI

Complesso  
Ag/Ab



Fagocita

Rimozione cellule apoptotiche e necrotiche

# Nomenclatura

- C1-C9
- Fattore B, D, H, I
- MASPs, MBL, DAF, MCP
- CR1, CR2, CR3, CR4
- I componenti attivati sono identificati con una barra sul numero ed i prodotti di attivazione con la C seguita dal numero e da una lettera minuscola, come per esempio C4a e C4b oppure C3bi e C3dg.

# THE COMPLEMENT SYSTEM

Components	Receptors	Regulators
C1q	gC1q R	C1-INH
C1r	cC1q R	C4BP
C1s	C1q-RP	CD55 (DAF)
MBL	CR1 (CD35)	Factor H
MASP1/3	CR2 (CD21)	CR1 (CD35)
MASP2	CR3	CD46 (MCP)
C4	CR4	Factor I
C2		properdin
C3		CD59
D		
B		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		

■ Serum proteins

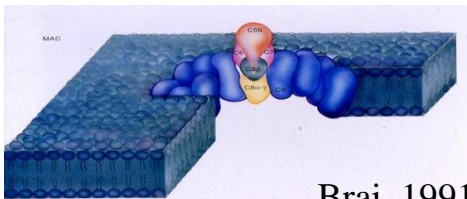
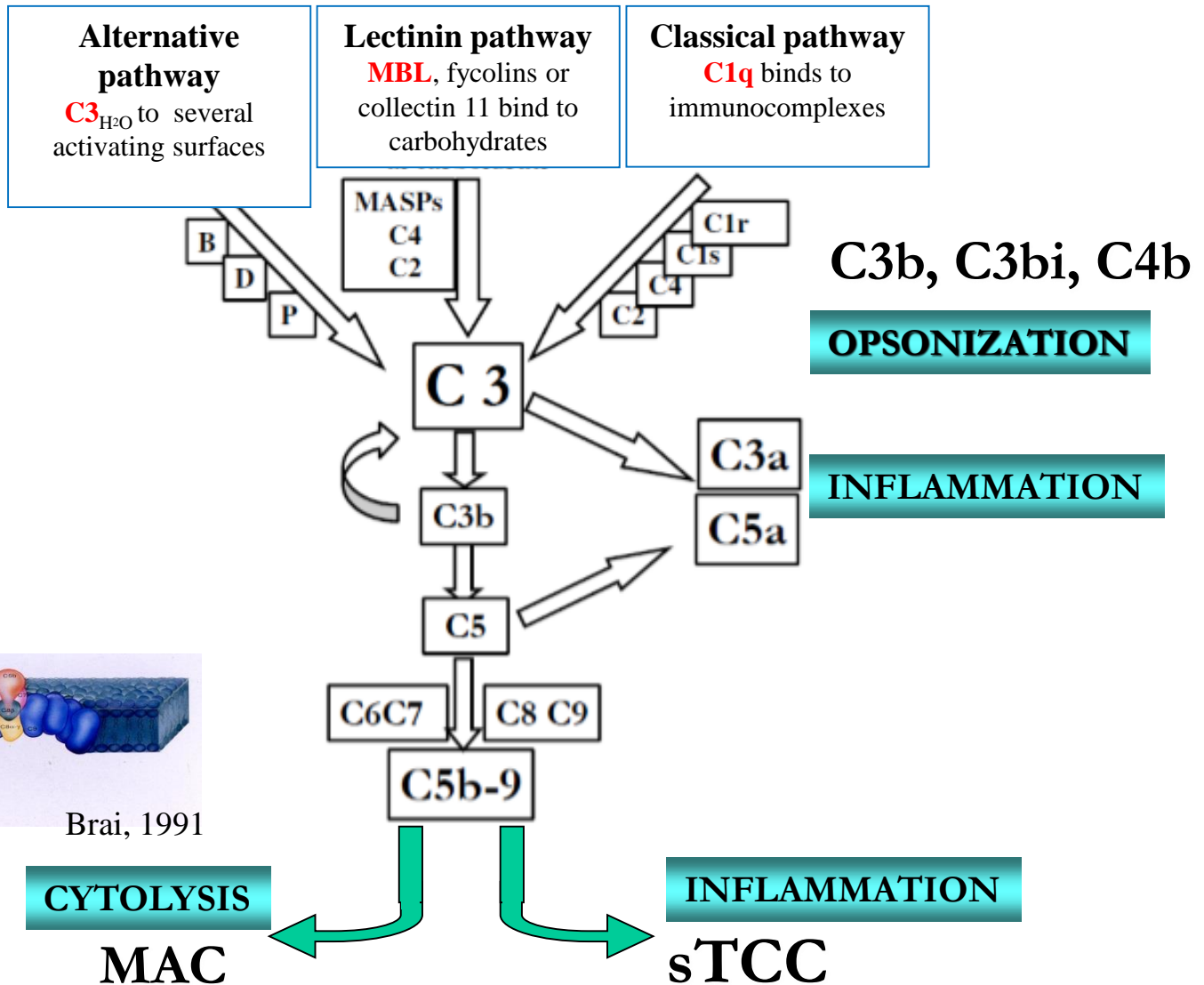
■ Cell surface proteins

# Attivazione del C

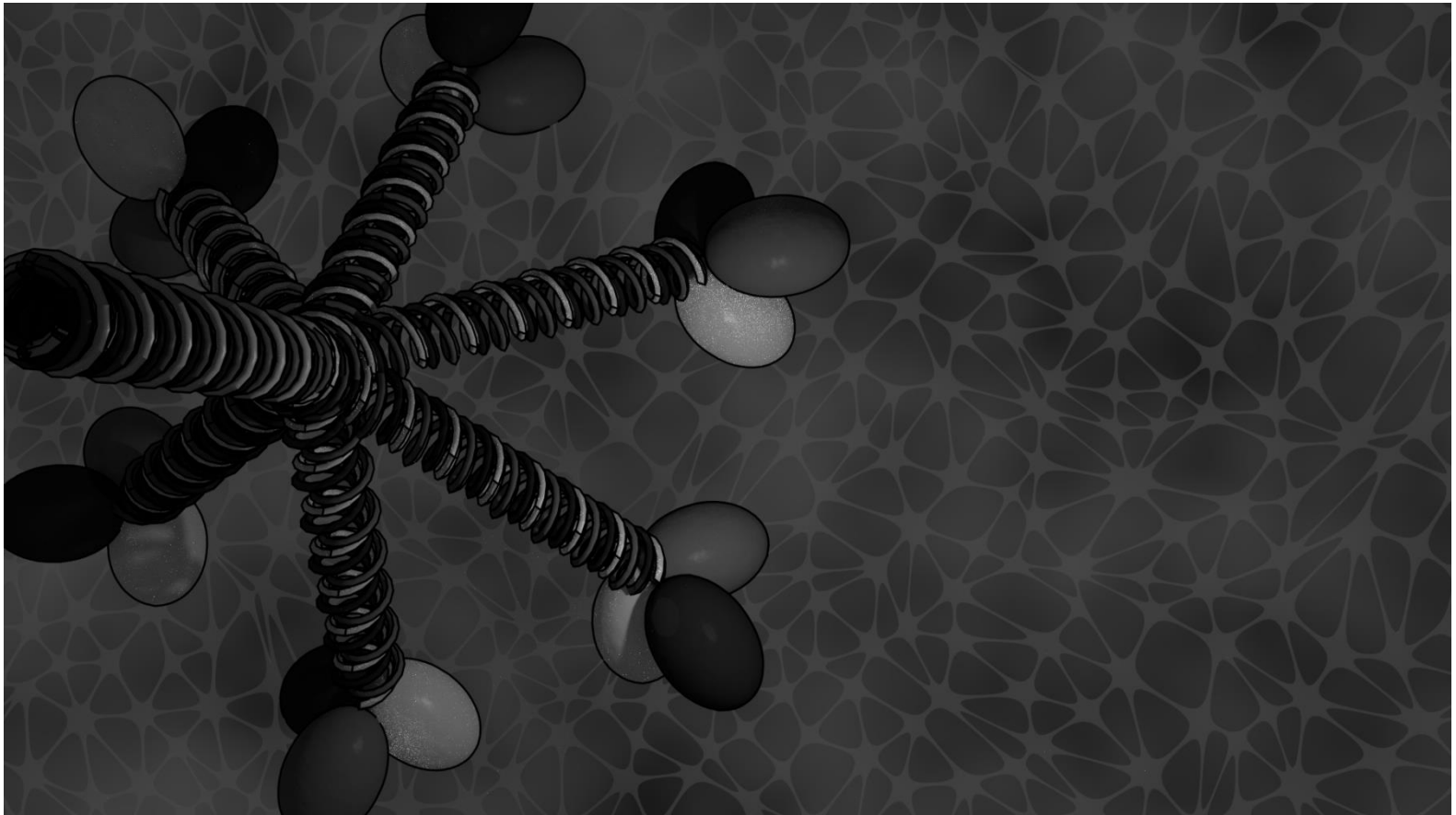
- **riconoscimento del bersaglio**
- **attivazione a cascata**, che è simile al processo di attivazione di altri sistemi biologici, come quelli della coagulazione, della fibrinolisi e delle chinine.

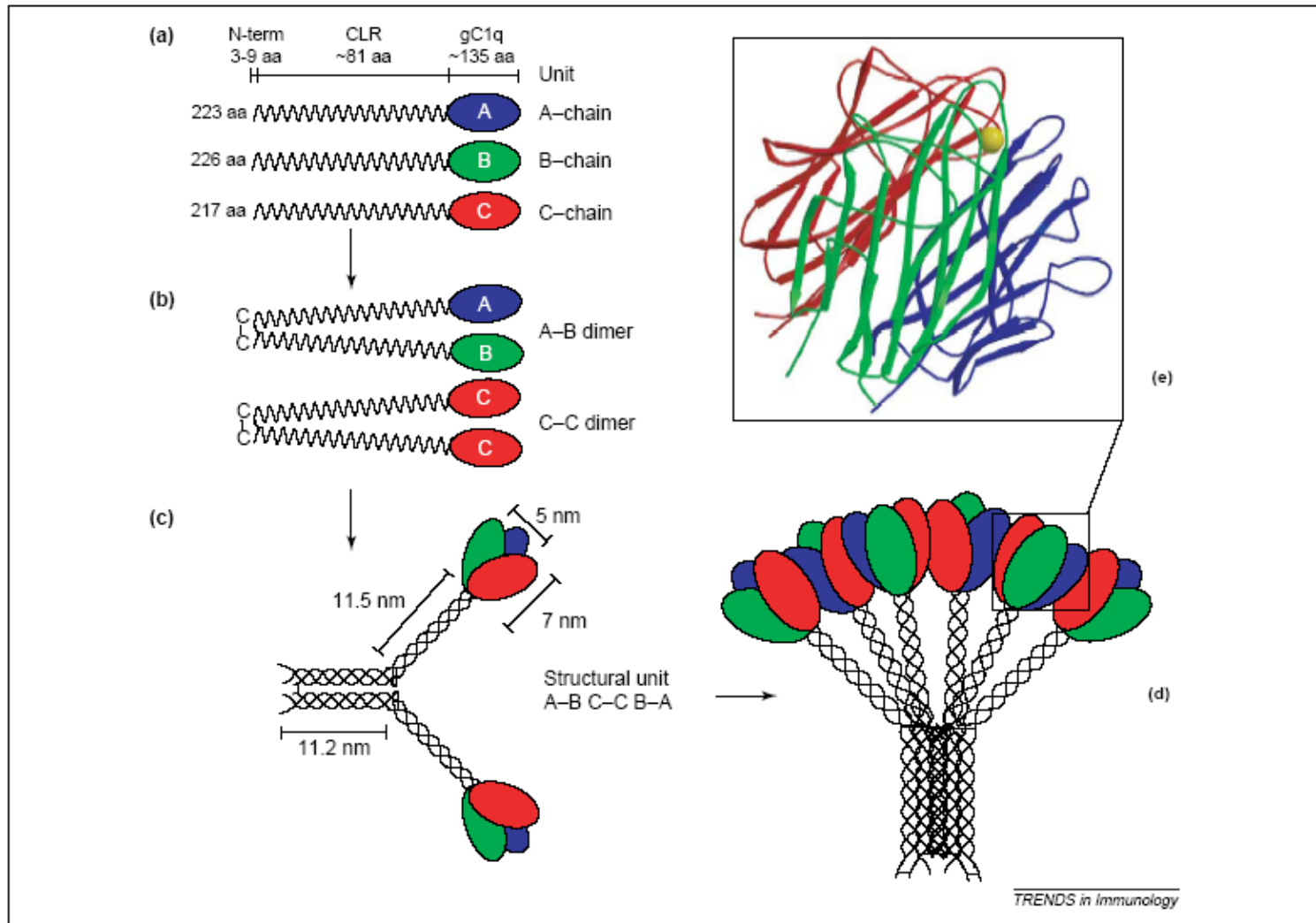


# Complement cascade Activation



# Attivazione della via Classica





La sequenza simil-collagene nelle catene A e B forma una tripla elica con la sequenza equivalente di una delle catene C mediante legami non covalenti.

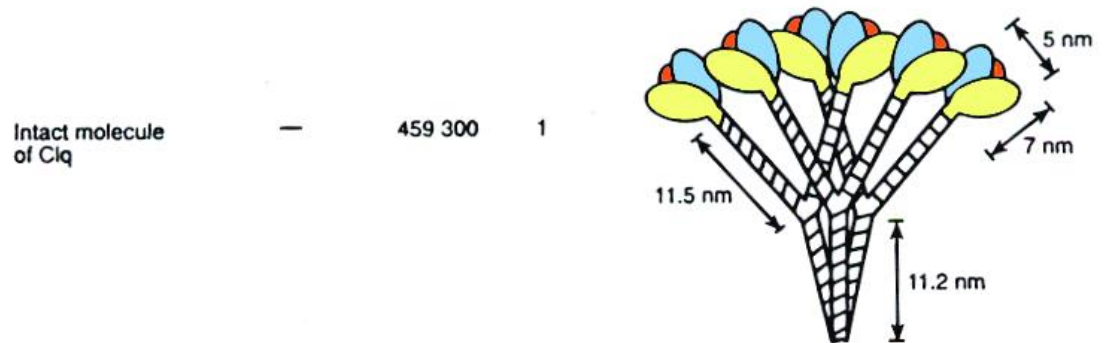
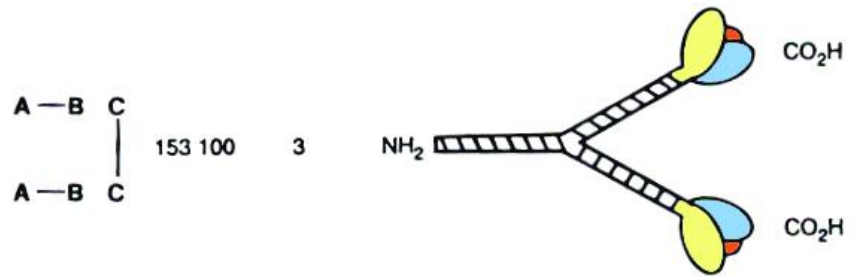
# C1q

Chains	Type	Mol. wt.	Number in one molecule	
	A	27 550	6	NH <sub>2</sub> ————— CO <sub>2</sub> H
	B	25 200	6	NH <sub>2</sub> ————— CO <sub>2</sub> H
	C	23 800	6	NH <sub>2</sub> ————— CO <sub>2</sub> H

---

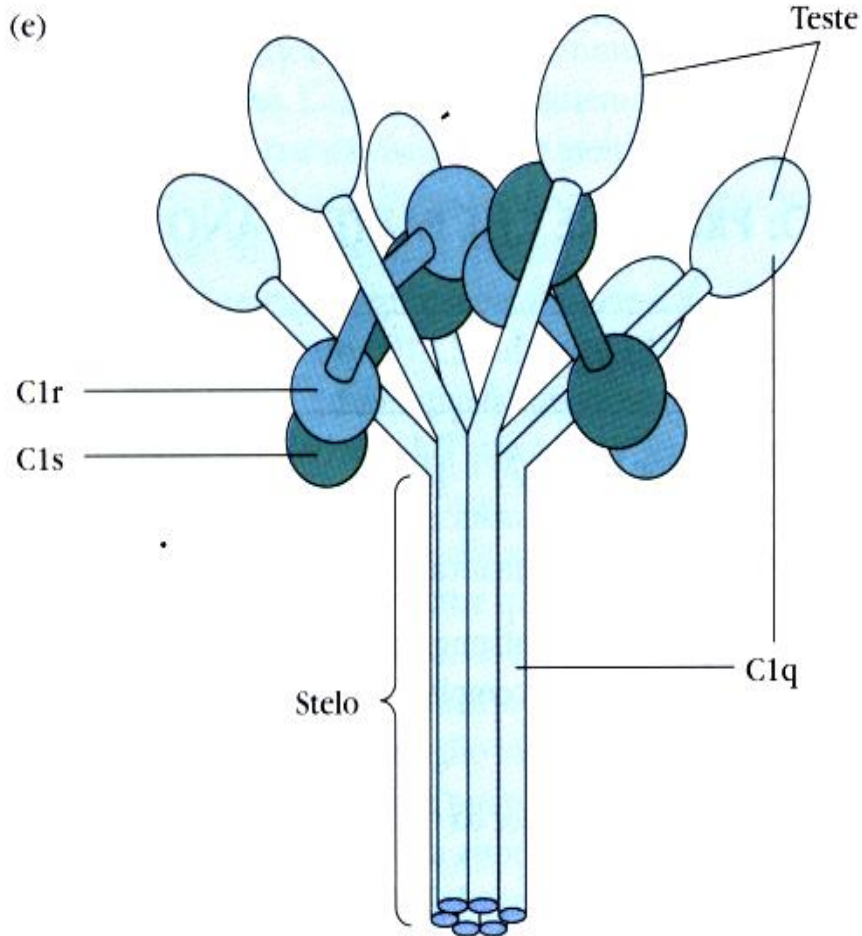
Structural units	Type	Mol. wt.	Number in one molecule	
	A   B	52 750	3	NH <sub>2</sub> ————— CO <sub>2</sub> H   S—S
	C   C	47 600	3	NH <sub>2</sub> ————— CO <sub>2</sub> H   S—S
	B   A	52 750	3	NH <sub>2</sub> ————— CO <sub>2</sub> H   S—S

Tre di queste unità strutturali si associano mediante forti legami non covalenti nella porzione collagenica



# Il componente complementare C1

$\text{Ca}^{2+}$



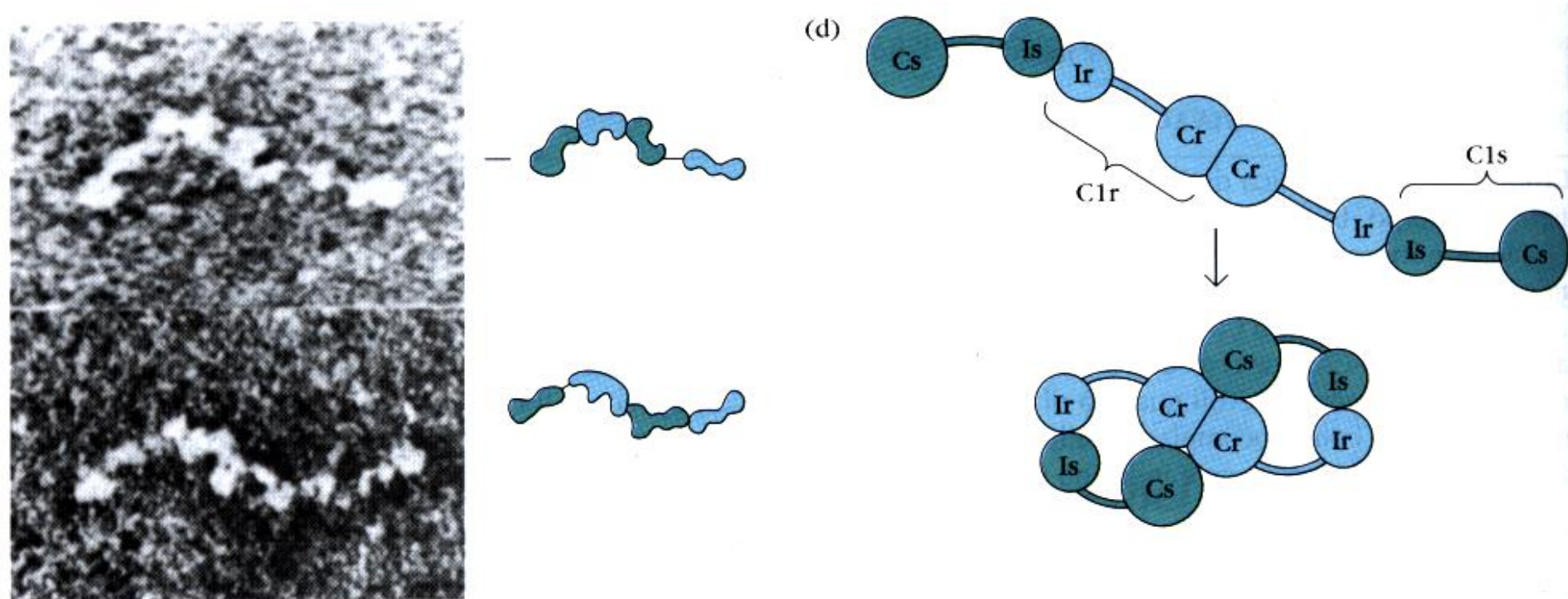
C1 è un complesso di tre glicoproteine C1q, C1r e C1s.

C1r e C1s interagiscono per formare un

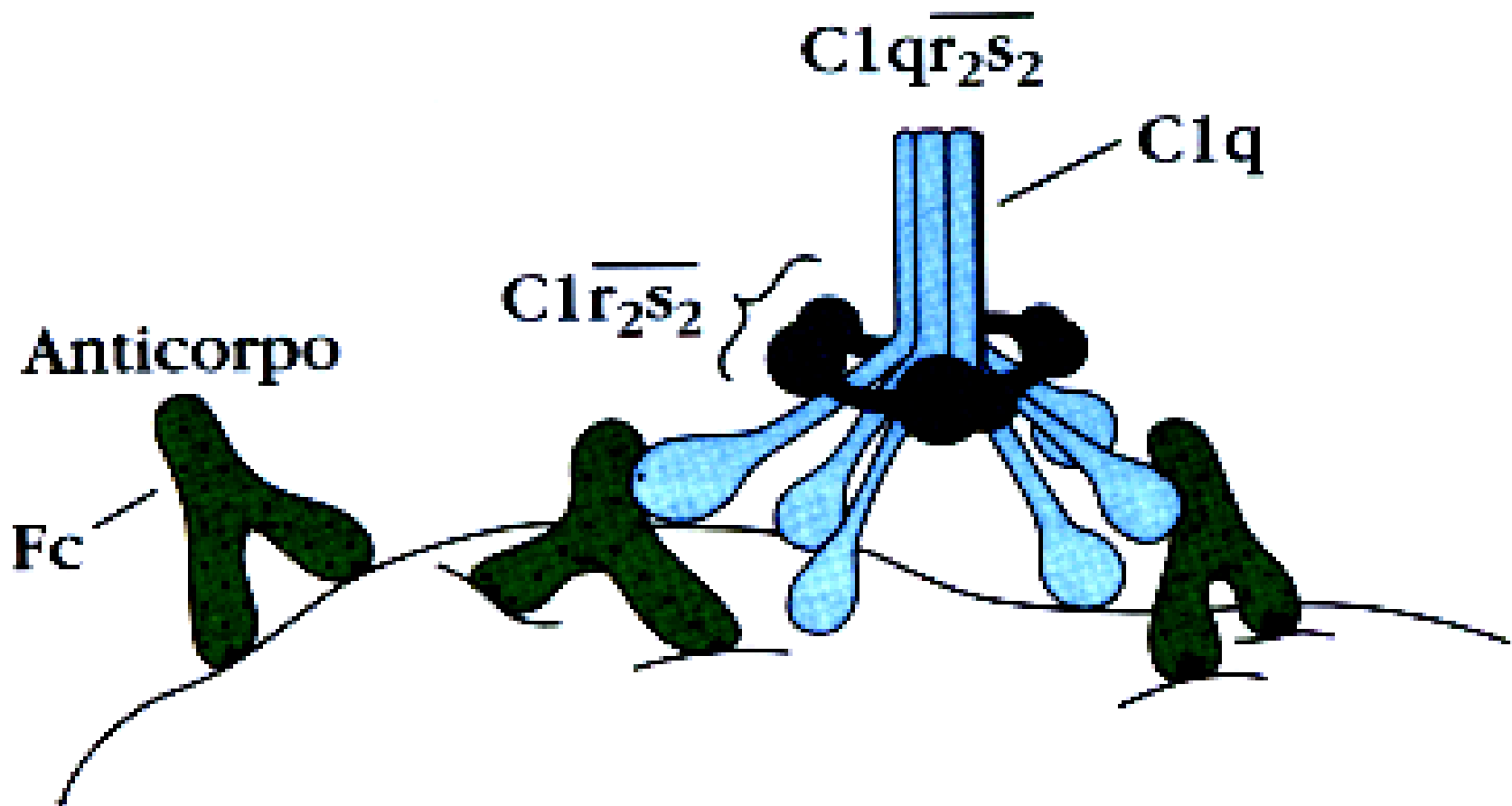
complesso proenzimatico tetramerico  $\text{Ca}^{2+}$  dipendente ( $\text{C1r}_2\text{-C1s}_2$ )

che interagisce con la porzione collagenica del C1q

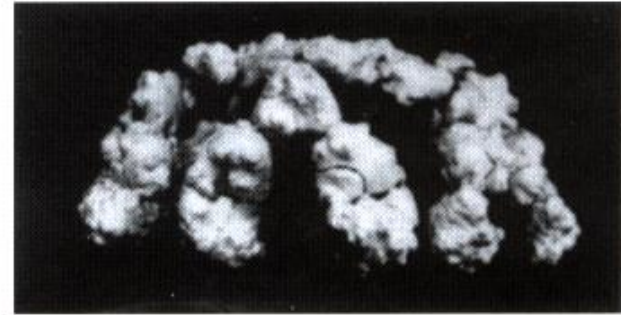
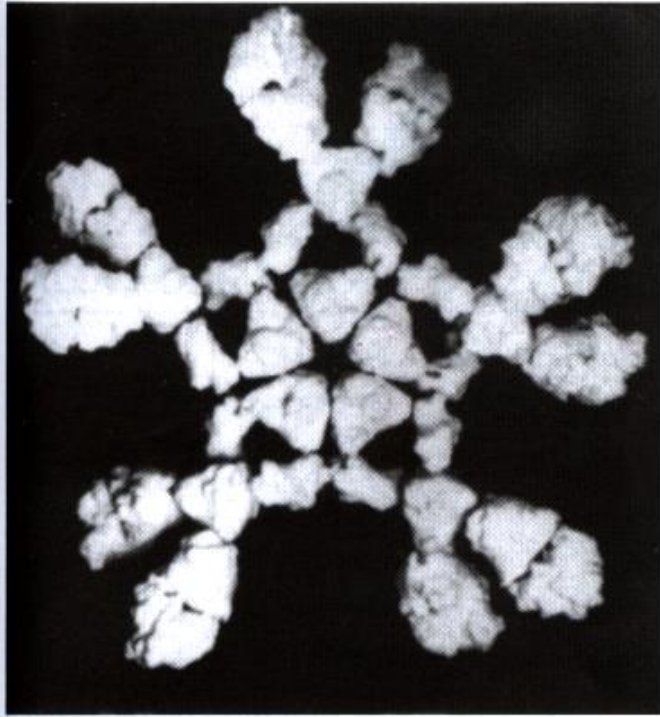
# C1r e C1s



- C1r e C1s sono proenzimi o zimogeni
- 2 domini:
  - 1 di interazione (che permette al C1r e al C1s di legarsi)
  - uno catalitico che acquista attività serin-proteasica



L'attivazione della via classica avviene quando il complesso C1 si lega agli immunocomplessi



(c)

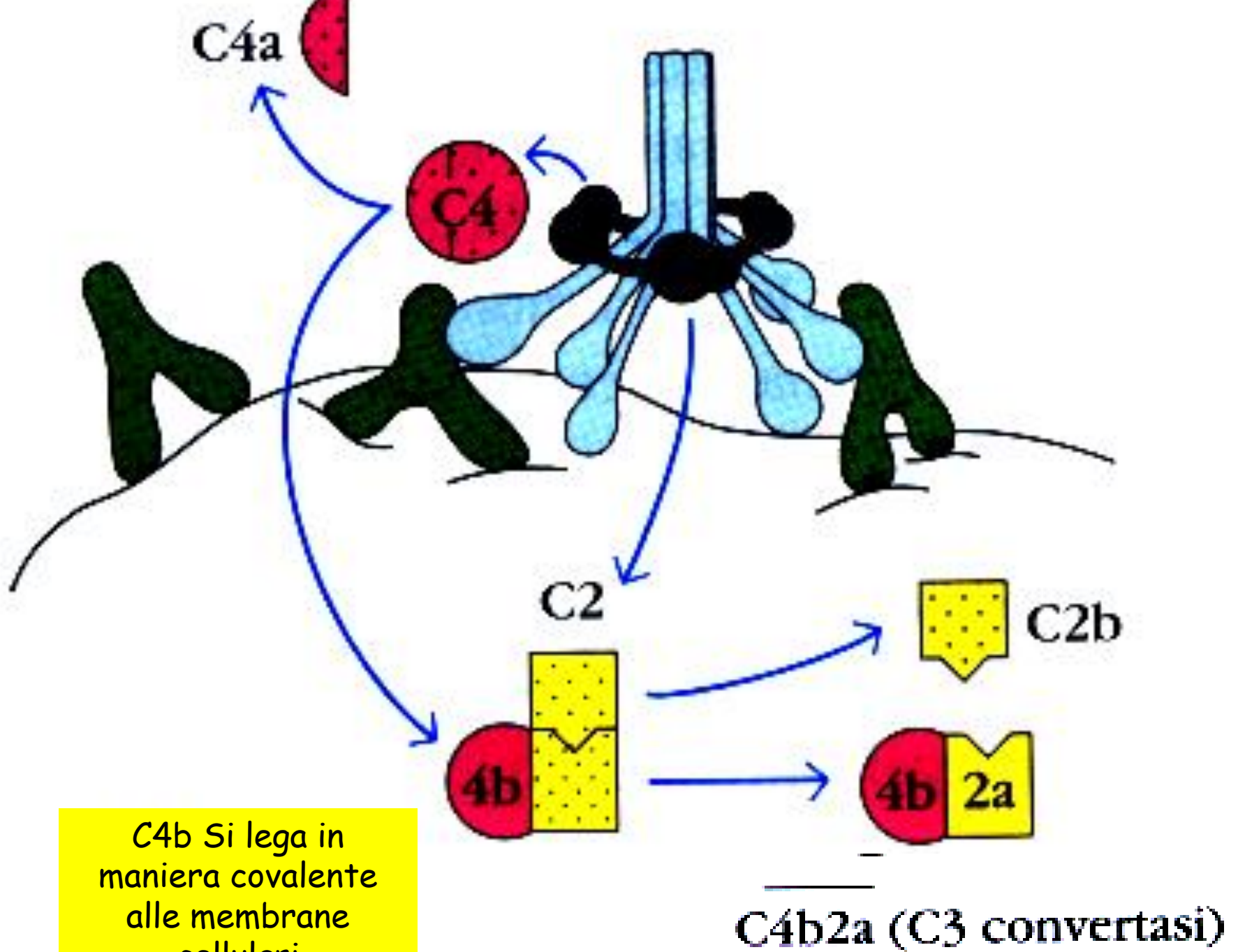


(d)



Modelli del pentamero di IgM nella forma planare e a pinza  
Fotografie al ME di IgM legata a flagelli





C4b Si lega in maniera covalente alle membrane cellulari

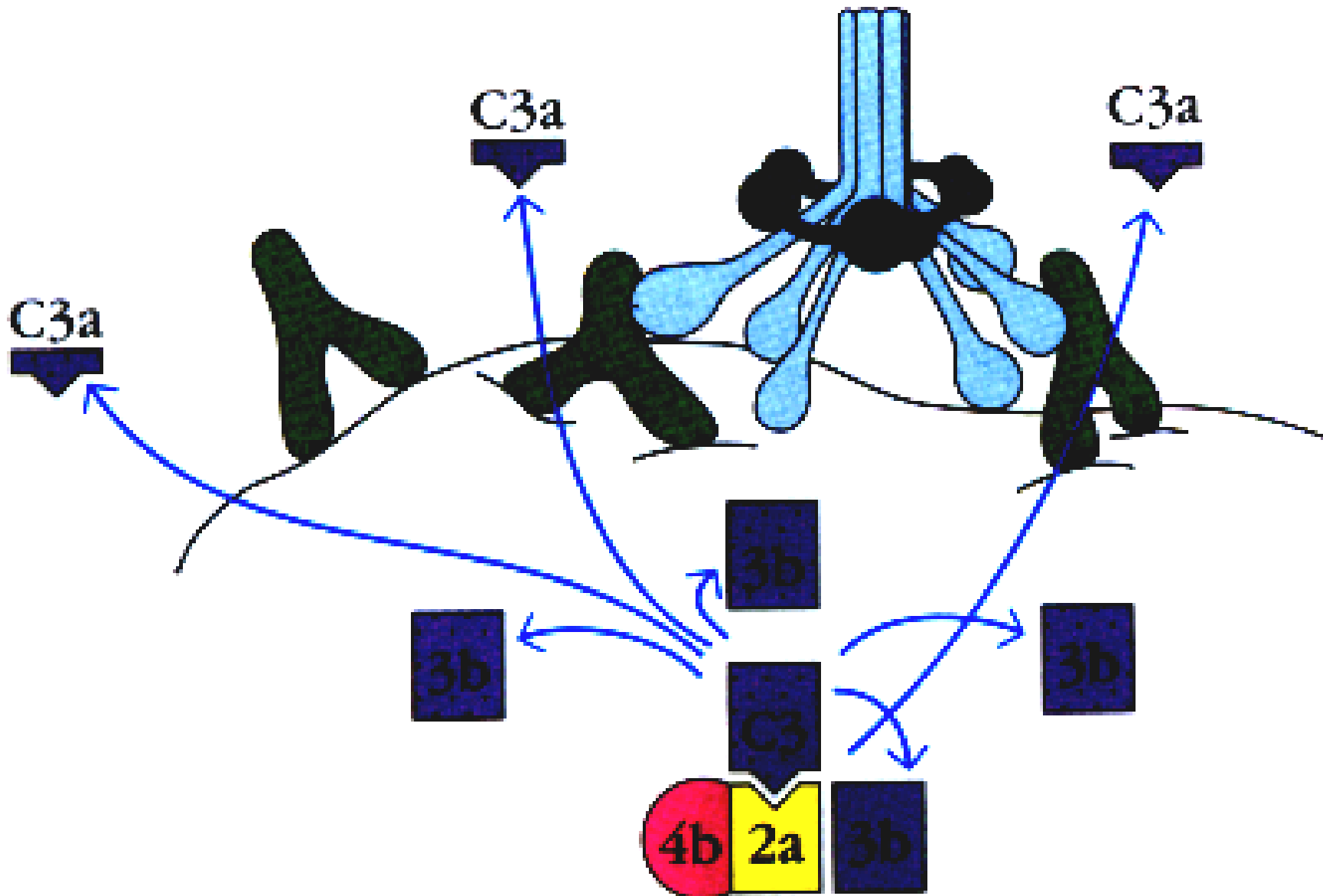
C4b2a (C3 convertasi)

# Nota sulla nomenclatura del frammento C2

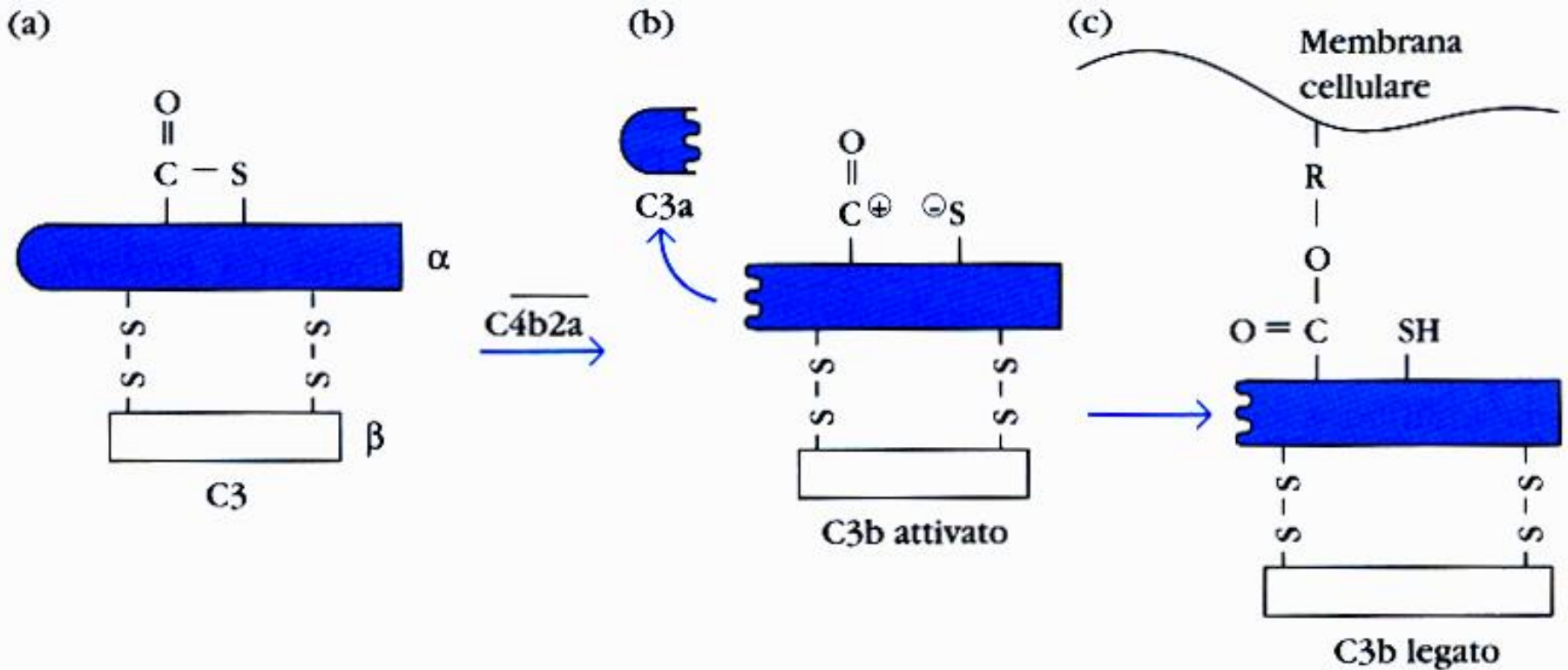
La regola generale per la nomenclatura dei frammenti del complemento prevede che le lettere a e b siano assegnate rispettivamente ai frammenti minore e maggiore.

In passato, il frammento enzimaticamente attivo del C2 e di maggiori dimensioni era stato definito C2a. Tuttora in alcuni testi e in parte della letteratura coesistono le due versioni...

Nelle figure ho adottato C2b come nome del frammento maggiore, enzimaticamente attivo e componente della C3 convertasi. Le ultime edizioni dei testi di Abbas e Janeway usano questa definizione.

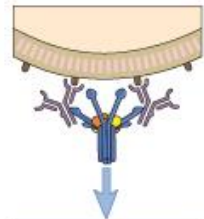


C4b2a3b (C5 convertasi)

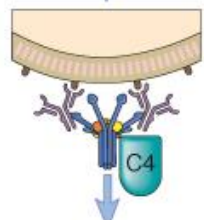


- La formazione del C3b porta all'attivazione di un **legame tioestere interno labile** che permette al C3b di legarsi a gruppi idrossilici o aminici liberi (R) sulla membrana cellulare

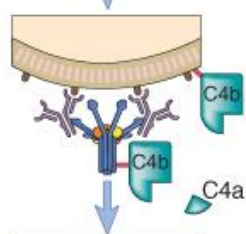
Binding of antibodies to multivalent antigen; binding of C1 to antibodies



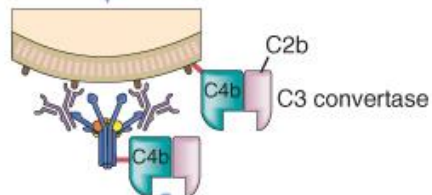
Binding of C4 to Ig-associated C1q



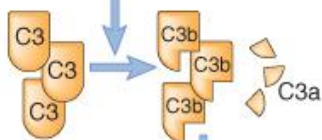
Cleavage of C4 by C1<sub>r2s2</sub> enzyme; covalent attachment of C4b to antigenic surface and to antibodies



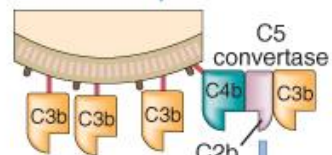
Binding of C2 to C4; cleavage of C2 to form C4b2b complex (C3 convertase)



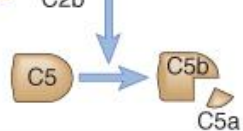
Cleavage of C3 by C3 convertase

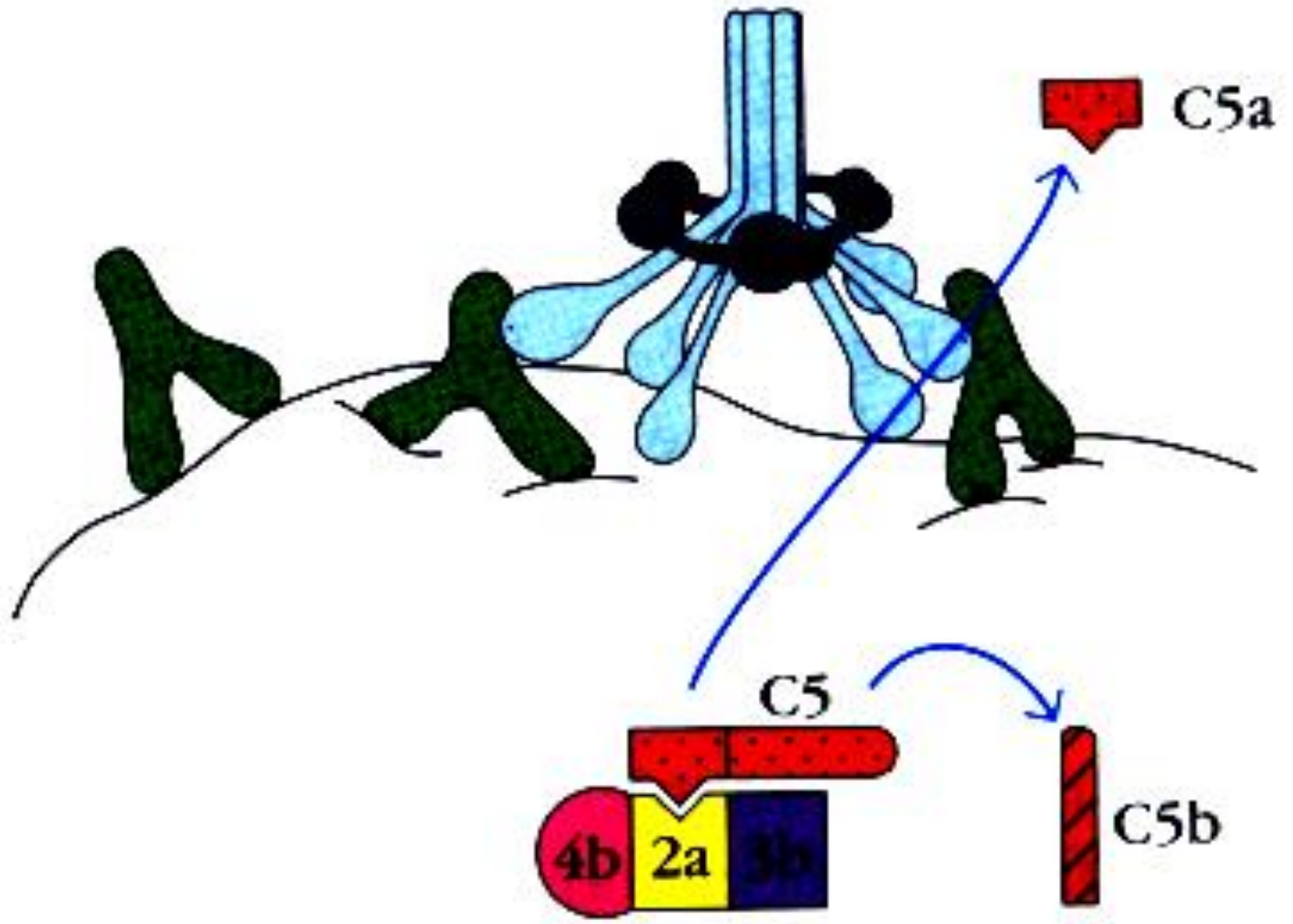


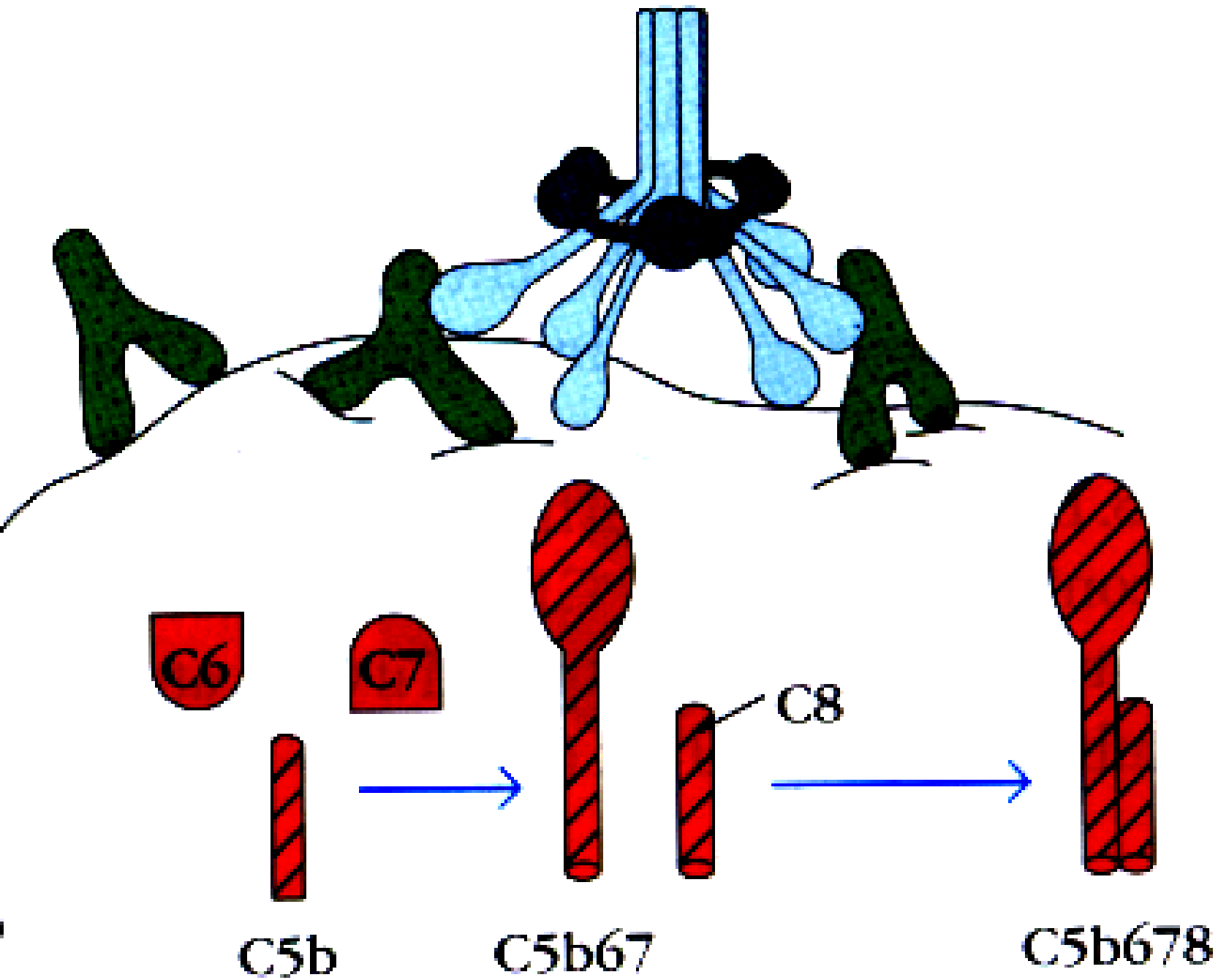
Binding of C3b to antigenic surface and to C4b2b complex

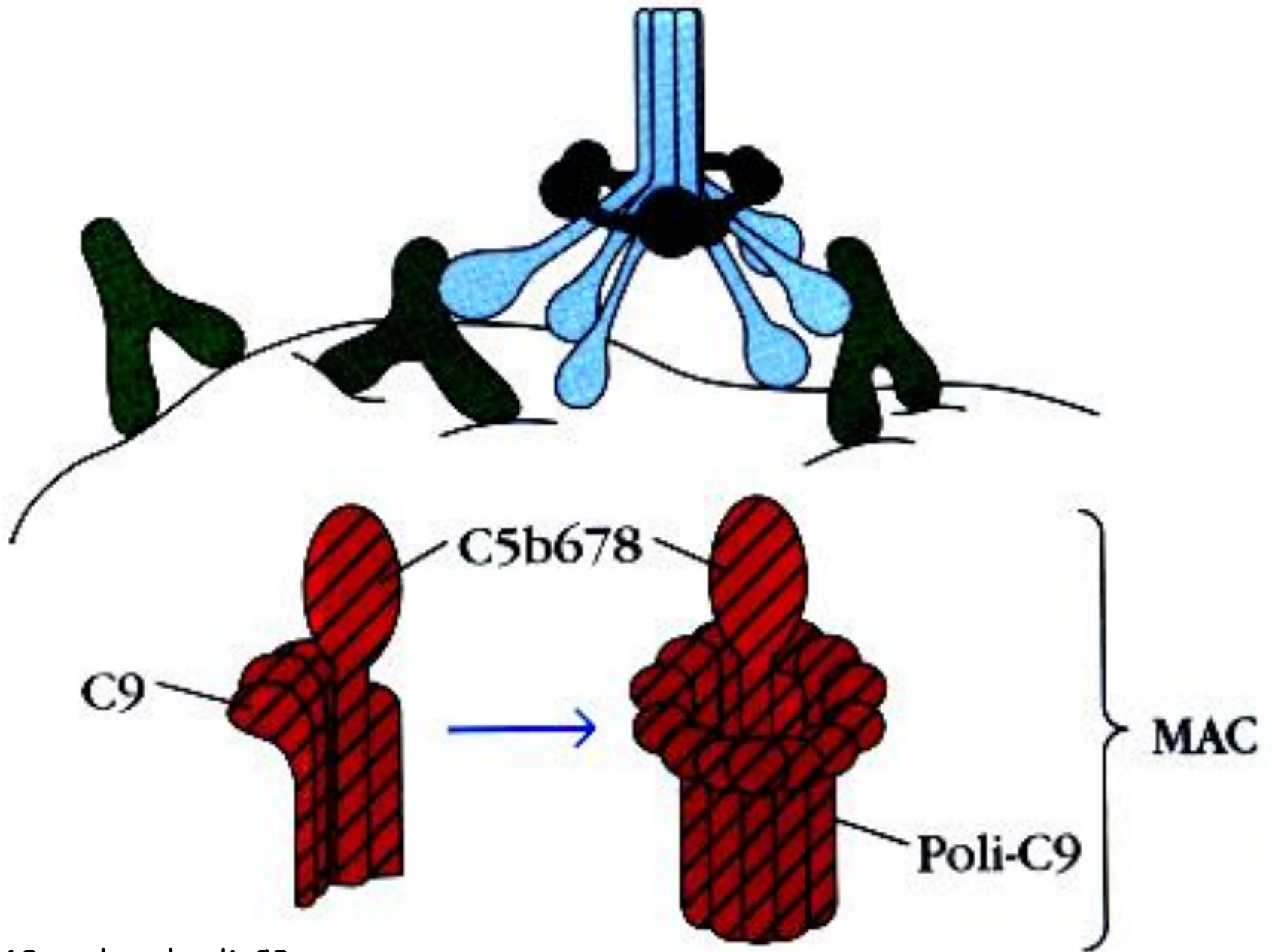


Cleavage of C5; initiation of late steps of complement activation









1-18 molecole di C9

Crea un buco di 100Å all'interno della membrana



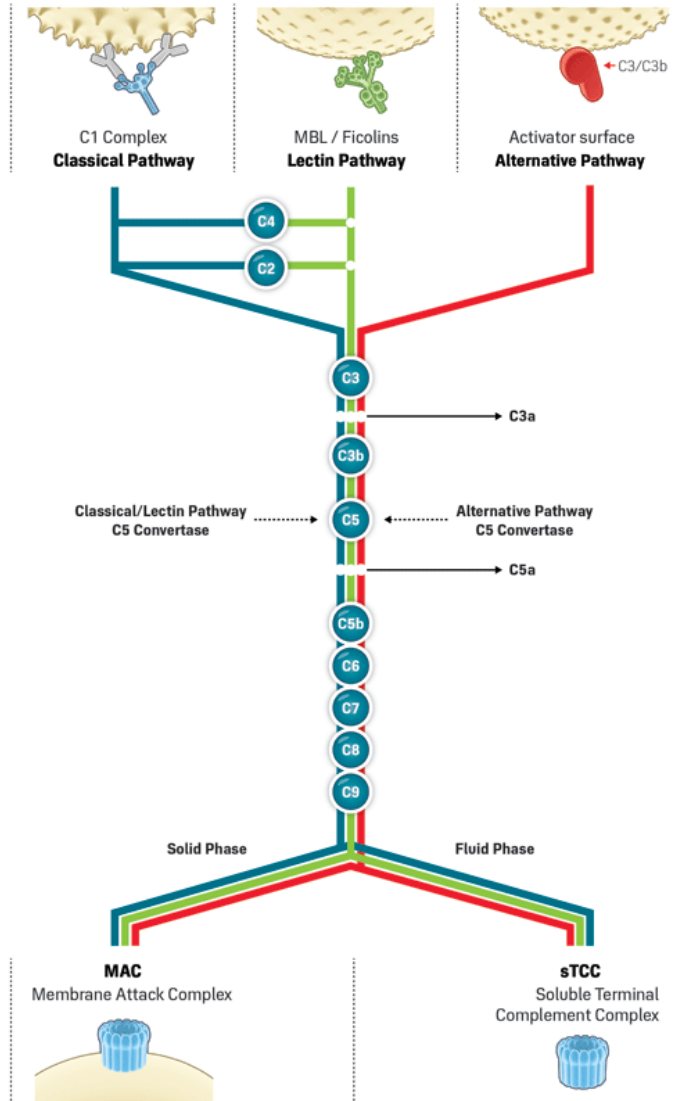
# "Membrane Attack Complex" (MAC).

- Si tratta di un poro cavo transmembranario con una superficie esterna idrofobica, che stabilisce rapporti fisici con il doppio strato fosfolipidico di membrana, mentre la superficie interna è idropica consentendo liberamente il passaggio di ioni.
- Se il poro attraversa la membrana cellulare a tutto spessore, ioni  $\text{Na}^+$  e  $\text{H}_2\text{O}$  entrano liberamente nell'interno della cellula, mentre ioni  $\text{K}^+$  fuoriescono. Questo porta al rigonfiamento della cellula con fuoriuscita di proteine endocellulari, come l'emoglobina nel caso dei globuli rossi e lisi cellulare.

# "Membrane Attack Complex" (MAC).

- Va sottolineato il fatto che non sempre l'assemblaggio del MAC sulla membrana cellulare porta a lisi cellulare. Questo può dipendere dal fatto che il MAC non sempre si inserisce perpendicolarmente a tutto spessore nel doppio strato fosfolipidico evitando di causare lisi cellulare.

# Soluble Terminal Complement Complex (sTCC)

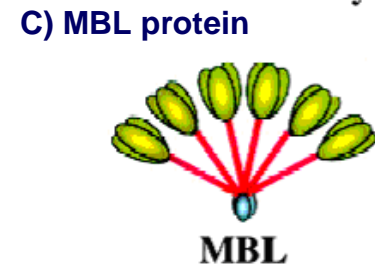
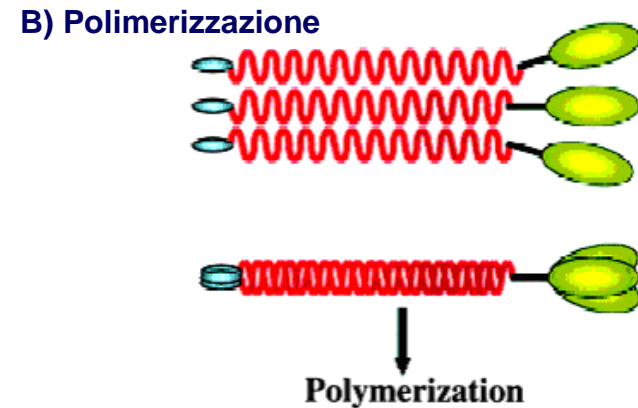
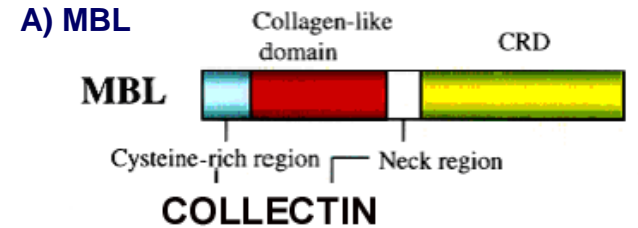
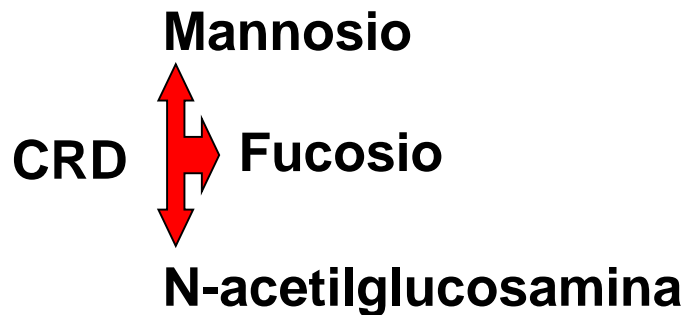


Il complesso terminale si può formare anche in fase fluida e prende il nome di sTCC

**Attivazione della via Lectinica**

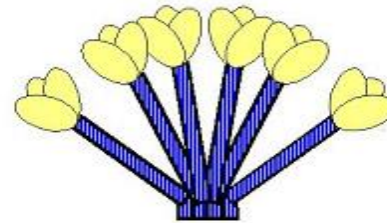
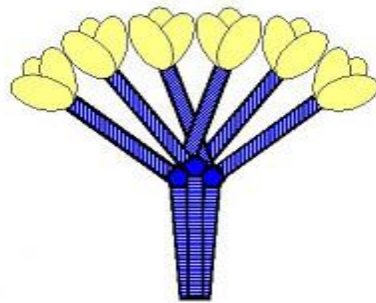
# Mannose Binding Lectin (MBL)

- Collectine
- 4 domini
  - N-terminale
  - Collagen-like
  - $\alpha$ -elica
  - CRD (Carbohydrate Recognition Domain,  $\text{Ca}^{++}$ -dipendente)



# SOMIGLIANZA STRUTTURALE TRA C1q ED MBL

TESTE GLOBULARI



REGIONE SIMIL-COLLAGENE

**C1q**

**MBL**

L'MBL che circola nel plasma è in prevalenza formata da dimeri, trimeri e tetrameri della subunità base

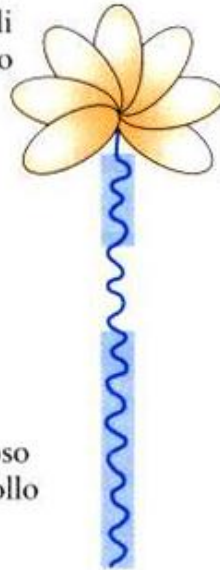
**A**

Testa globulare della lectina per legare carboidrati ricchi di mannosio



MBL

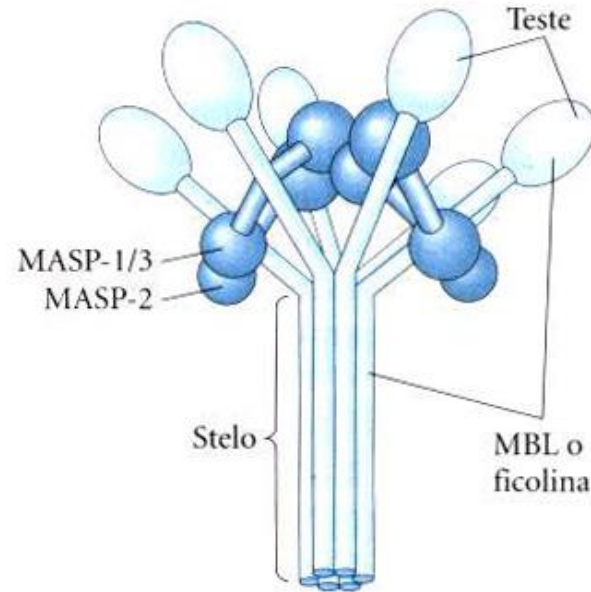
Domini simili al fibrinogeno per legare carboidrati



Ficolina

Stelo collagenoso con un collo flessibile

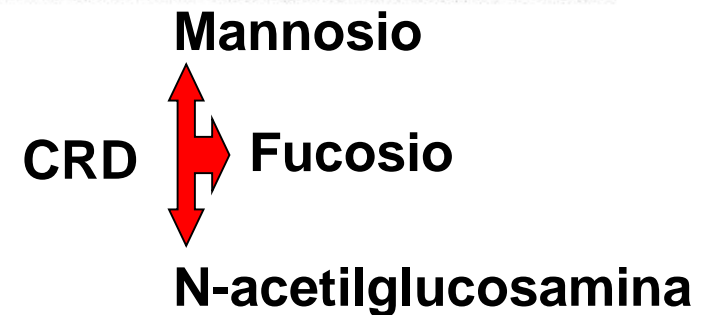
Stelo collagenoso con un collo flessibile

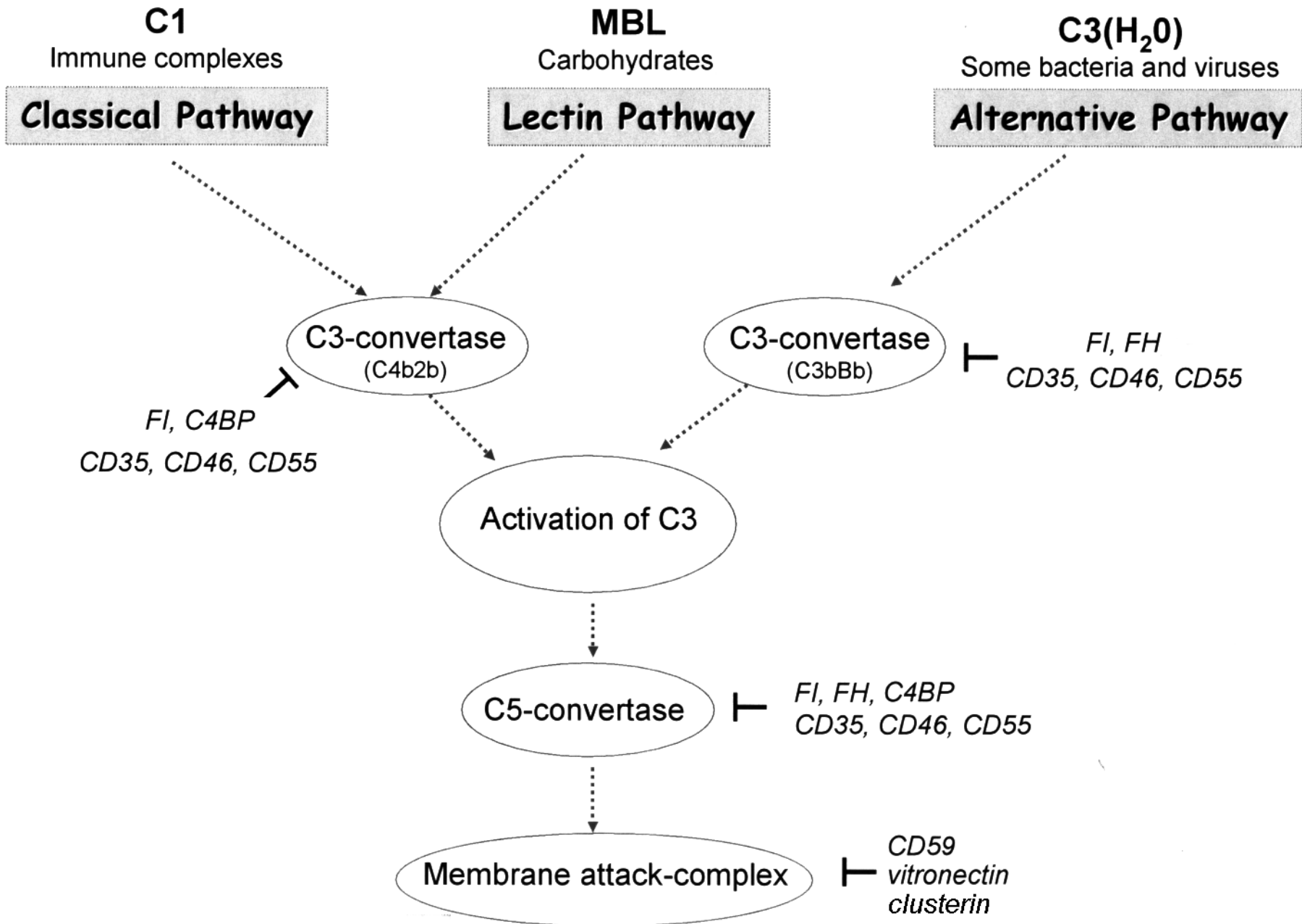
**B**

**Figura 5.9** La via della lectina dell'attivazione del complemento è iniziata da un complesso di multiple subunità che ricordano il C1. (A) La MBL (chiamata anche proteina legante il mannosio), fa parte della famiglia delle proteine collettime, che sono costituite da numerose subunità identiche, ognuna delle quali ha uno stelo simile al collagene ed una testa globulare che funziona come una lectina (lega gli zuccheri). Il dominio della testa globulare lega carboidrati, comuni delle superfici microbiche, ricchi di mannosio. Le ficoline presentano uno stelo simile al collagene, ma con un'unità di ricognizione per i carboidrati simile al fibrinogeno. (B) La MBL o le ficoline formano un complesso con due serino-proteasi chiamate MASP-1/3 e MASP-2, che si attivano quando la MBL lega i carboidrati. Il complesso MBL-MASP è pertanto strutturalmente e funzionalmente omologo al complesso C1. Sebbene il complesso MBL-MASP sia disegnato come avere sei MBL o subunità di ficolina per enfatizzare la sua omologia con il C1, l'attuale numero di MBL o subunità di ficolina nel complesso è variabile.

L, M, H ficoline

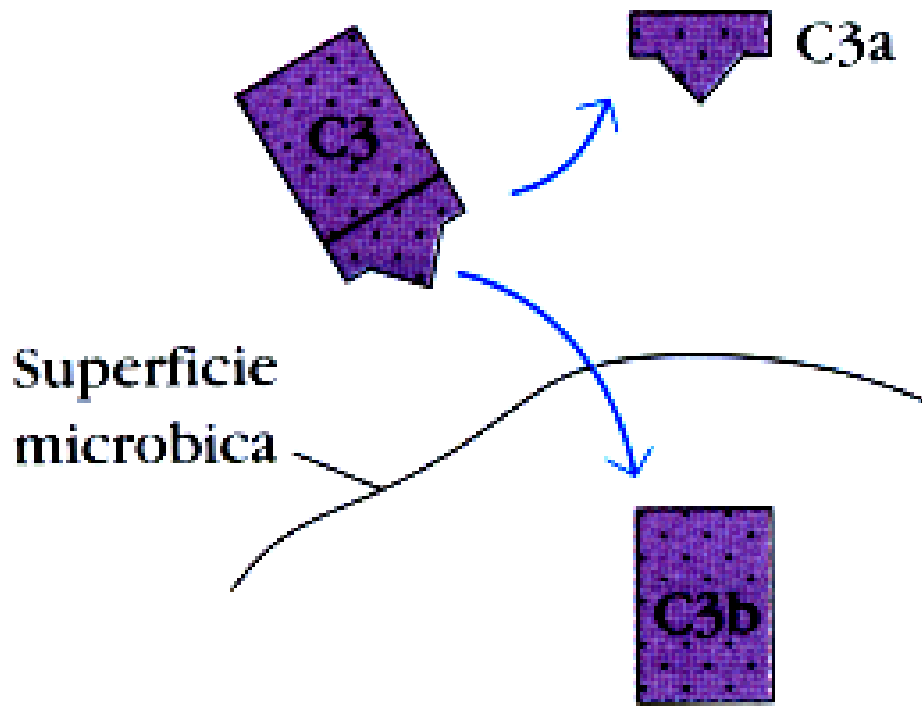
MASP= serin proteasi associate a MBL







**Attivazione della via Alternativa**



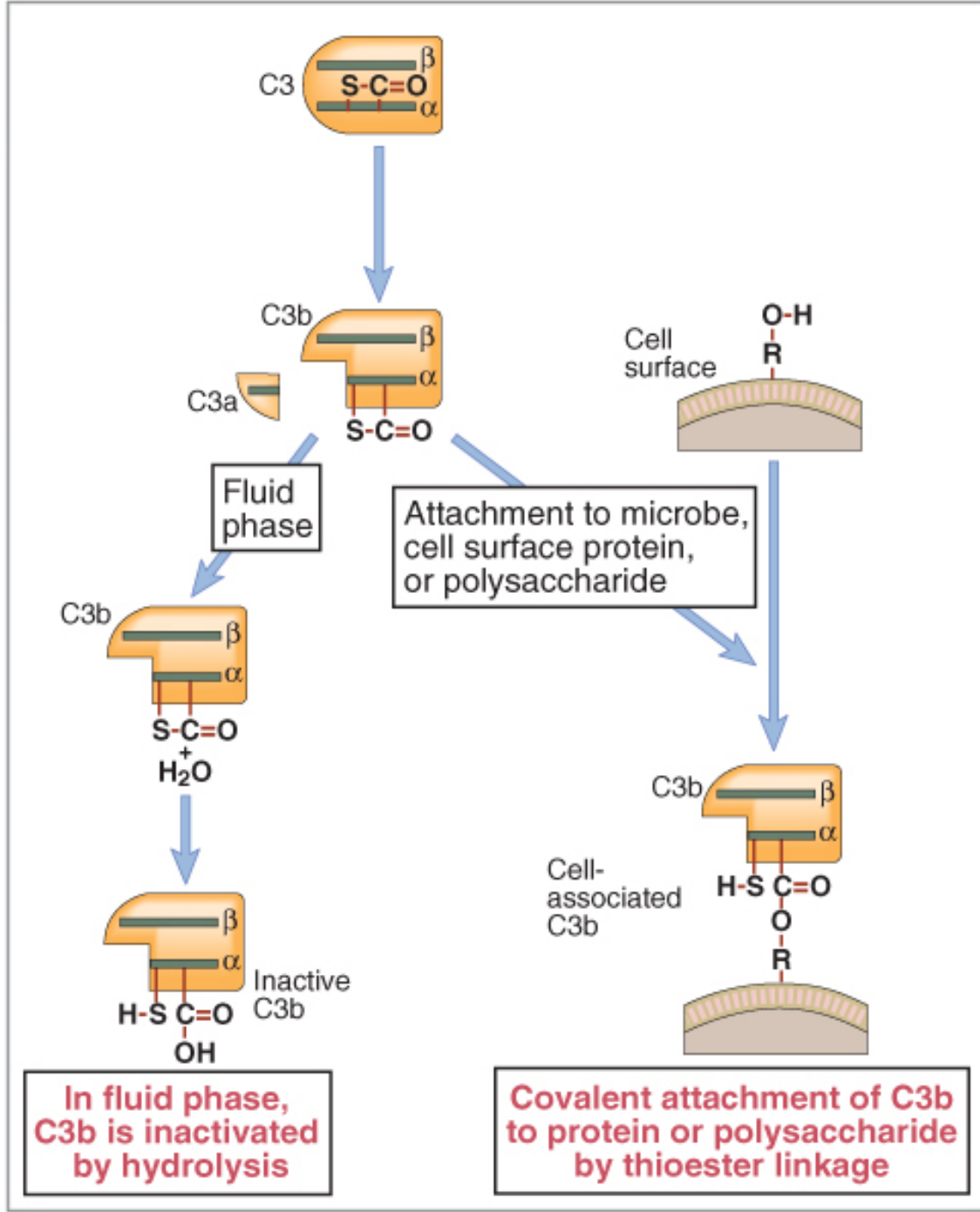
• Il legame tioestere interno della molecola C3 nativa va incontro a una idrolisi spontanea che dà luogo ad una forma attivata di C3. (Attivazione tickover).

- Il C3 sierico che contiene un legame tioestere instabile è soggetto a una lenta **idrolisi spontanea** con formazione di C3a e C3b che può legarsi ad antigeni di superficie estranei.
- **Bassi livelli di acido sialico sulle superfici antigeniche estranee permette al C3b di rimanere attivo più a lungo**

Intact C3  
(concealed  
thioester group)

Cleavage of  
C3  $\alpha$  chain  
by C3 convertase

Thioester group  
exposed in C3b

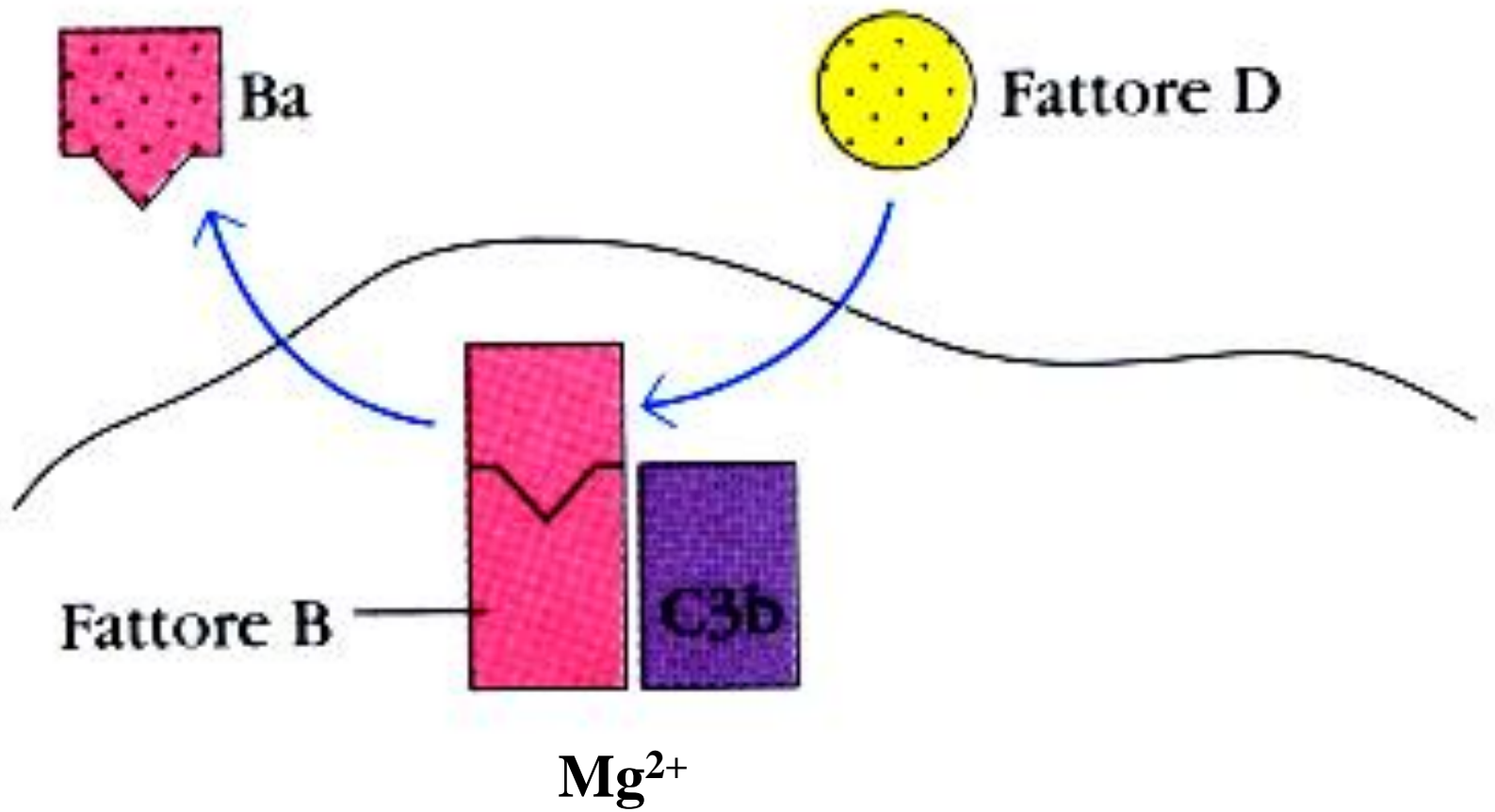


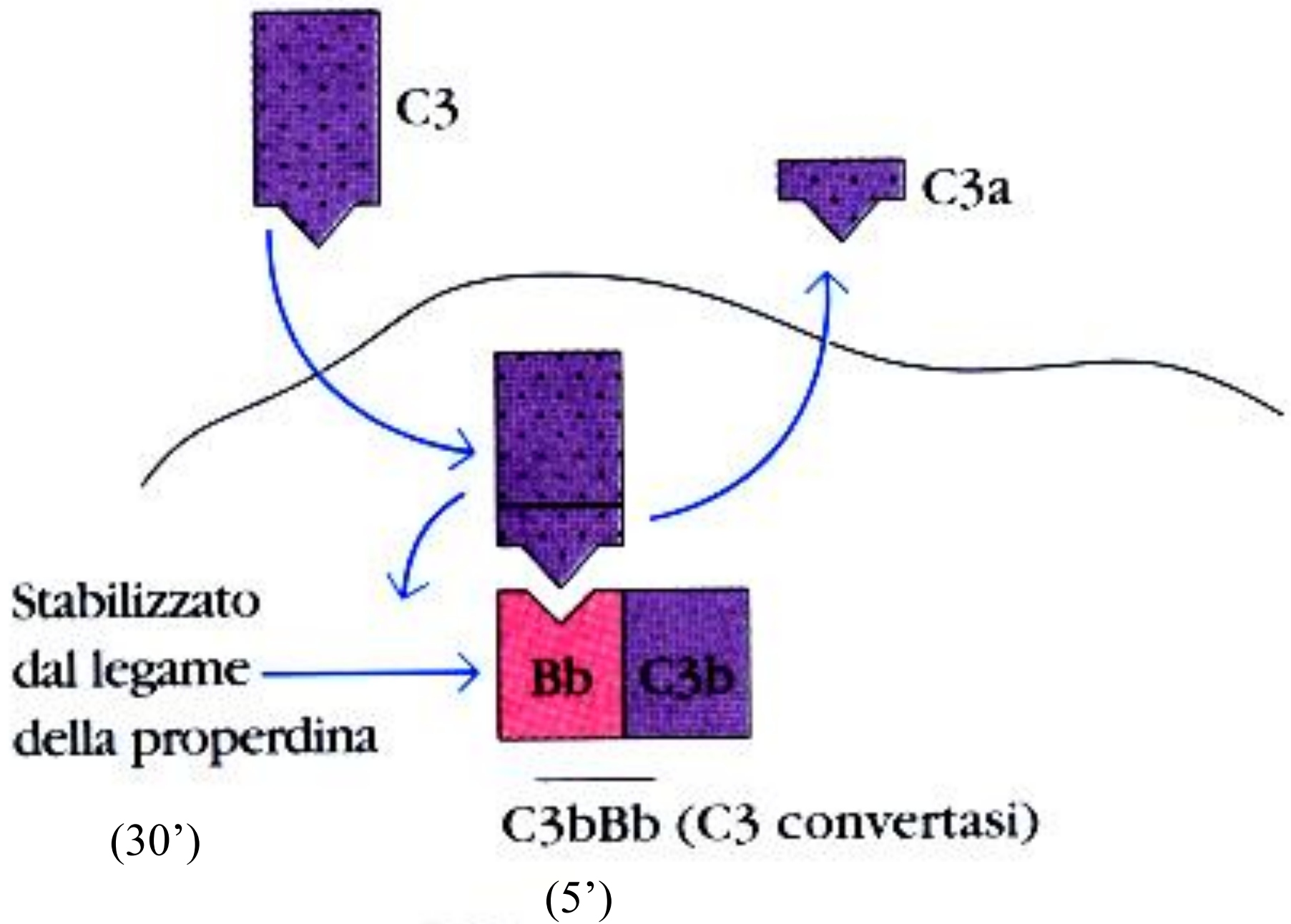
**In fluid phase,  
C3b is inactivated  
by hydrolysis**

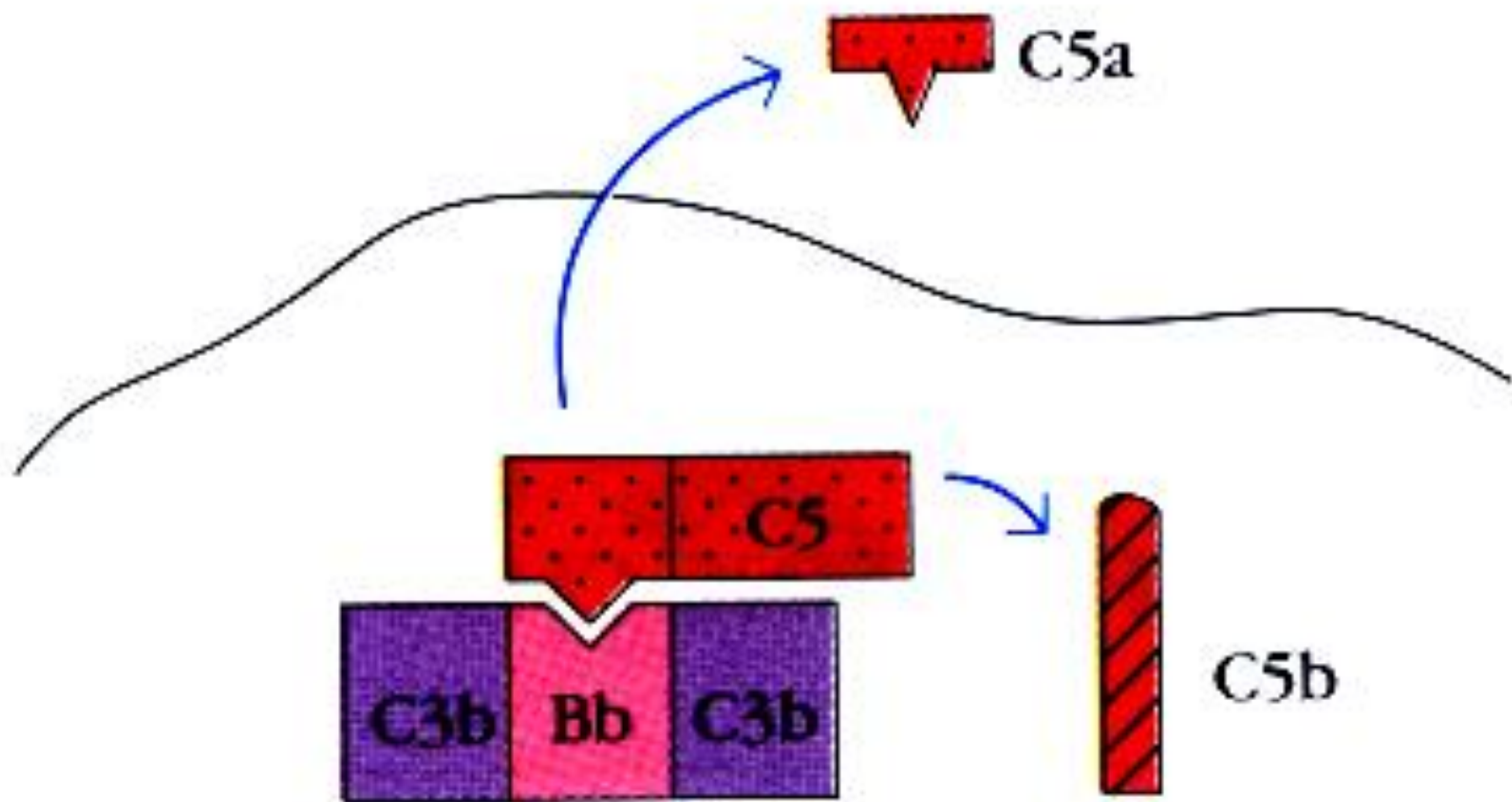
**Covalent attachment of C3b  
to protein or polysaccharide  
by thioester linkage**

Potenzialmente può legarsi al fattore B ma ciò dipende dal microambiente:

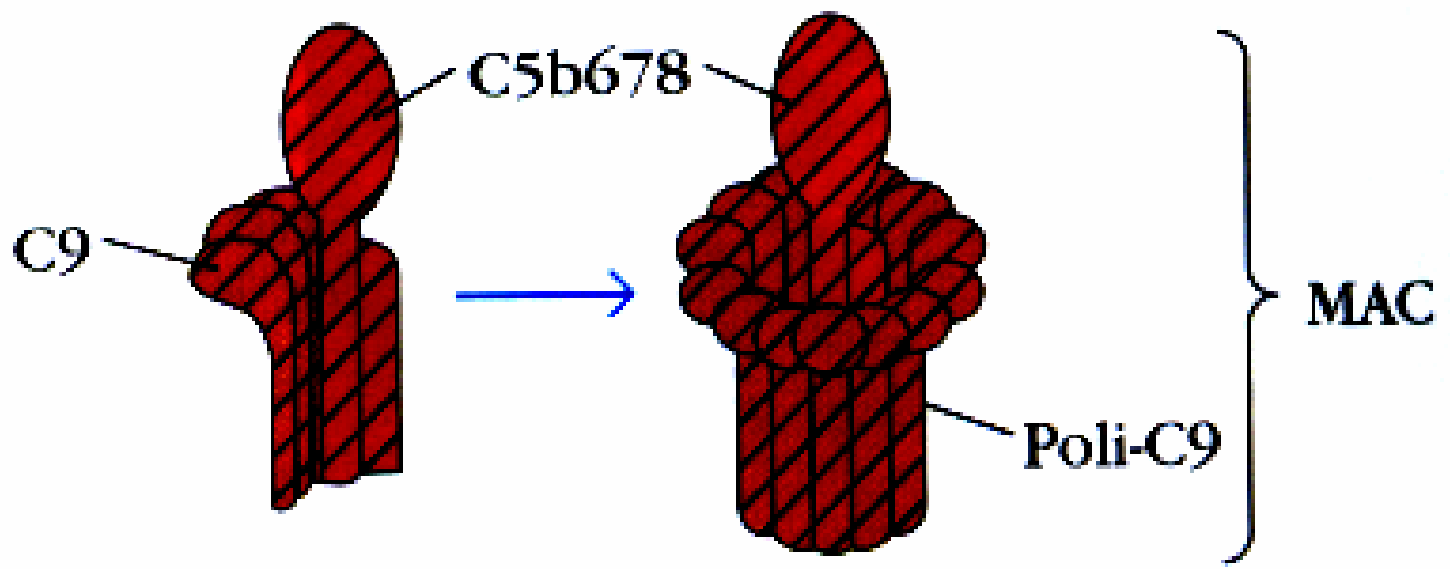
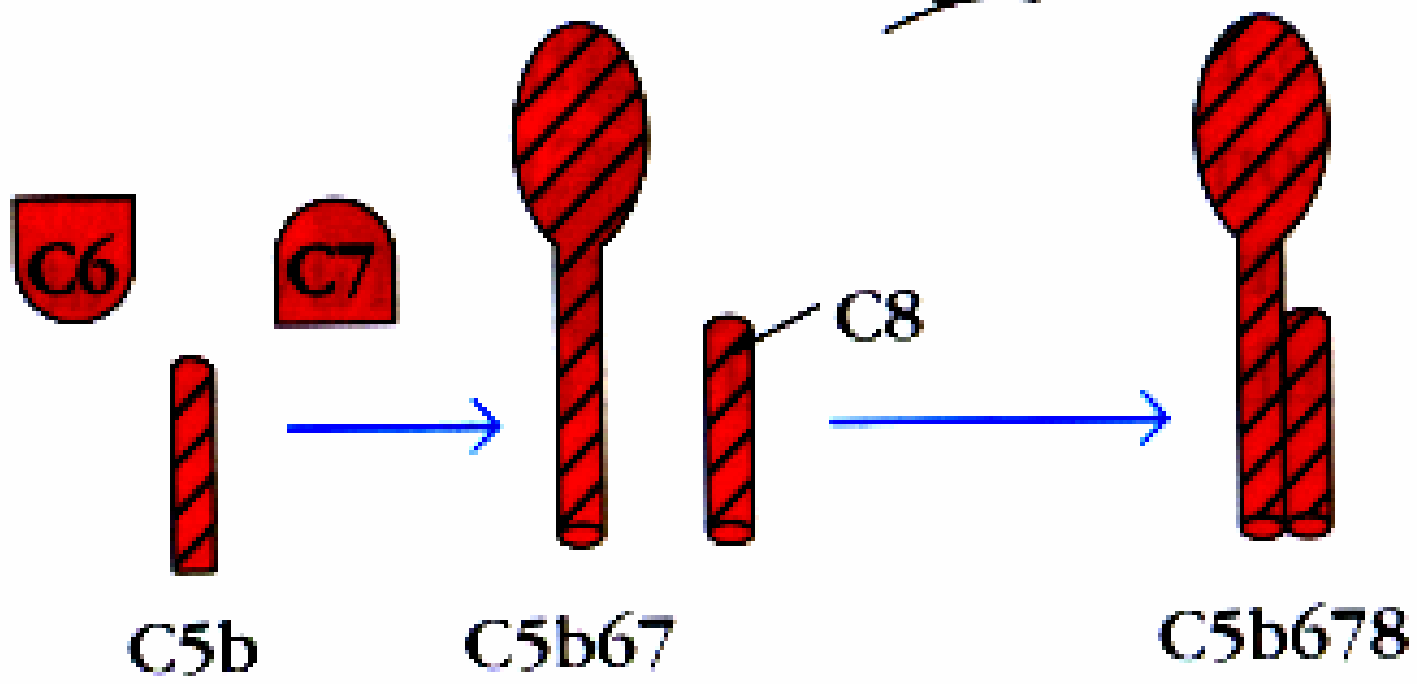
nel siero e sulla superficie delle cellule corporee la C3 viene idrolizzata dall' $H_2O$  ed inattivata mentre in prossimità di superfici attivanti rimane efficiente





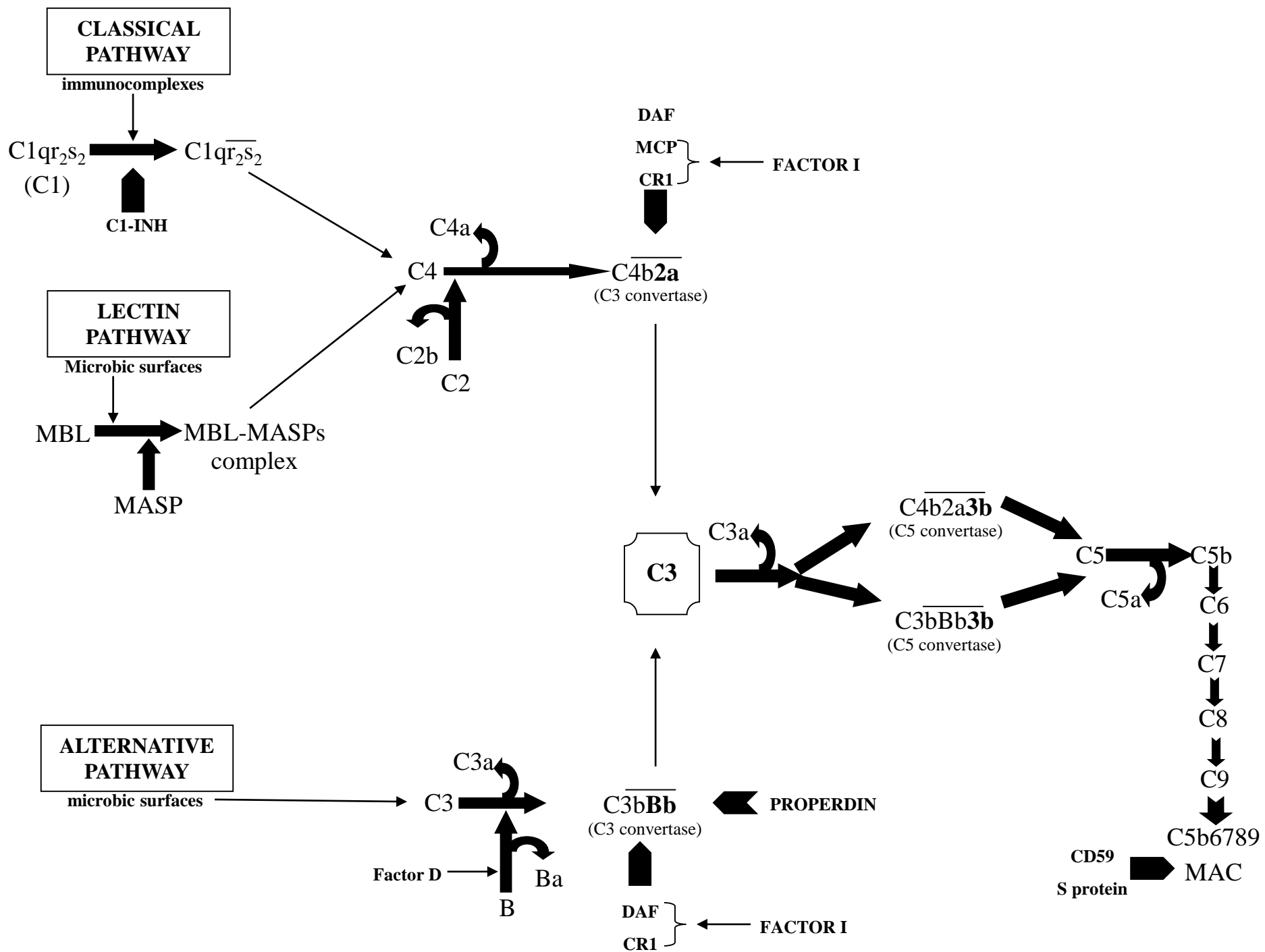


C3bBb3b (C5 convertasi)

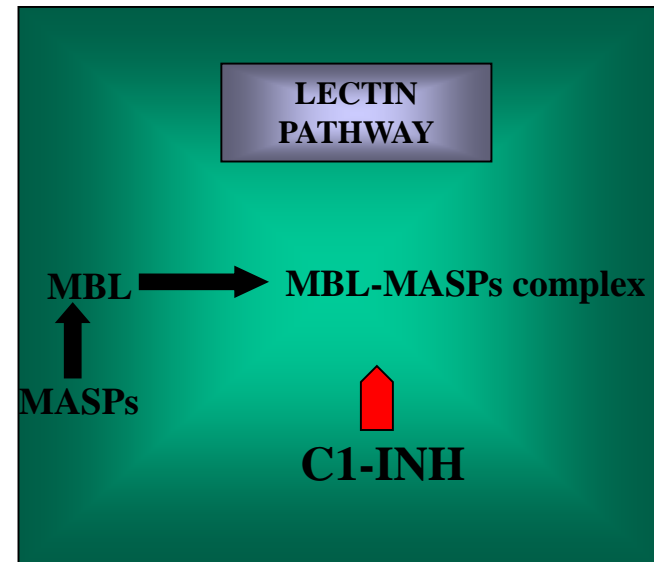
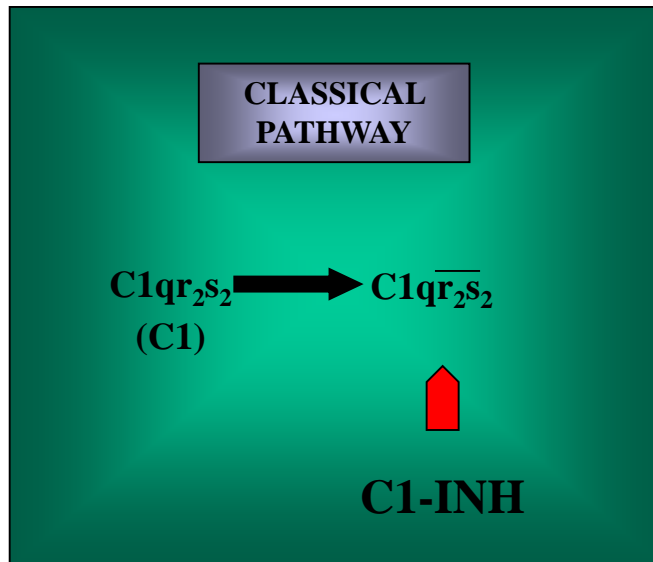


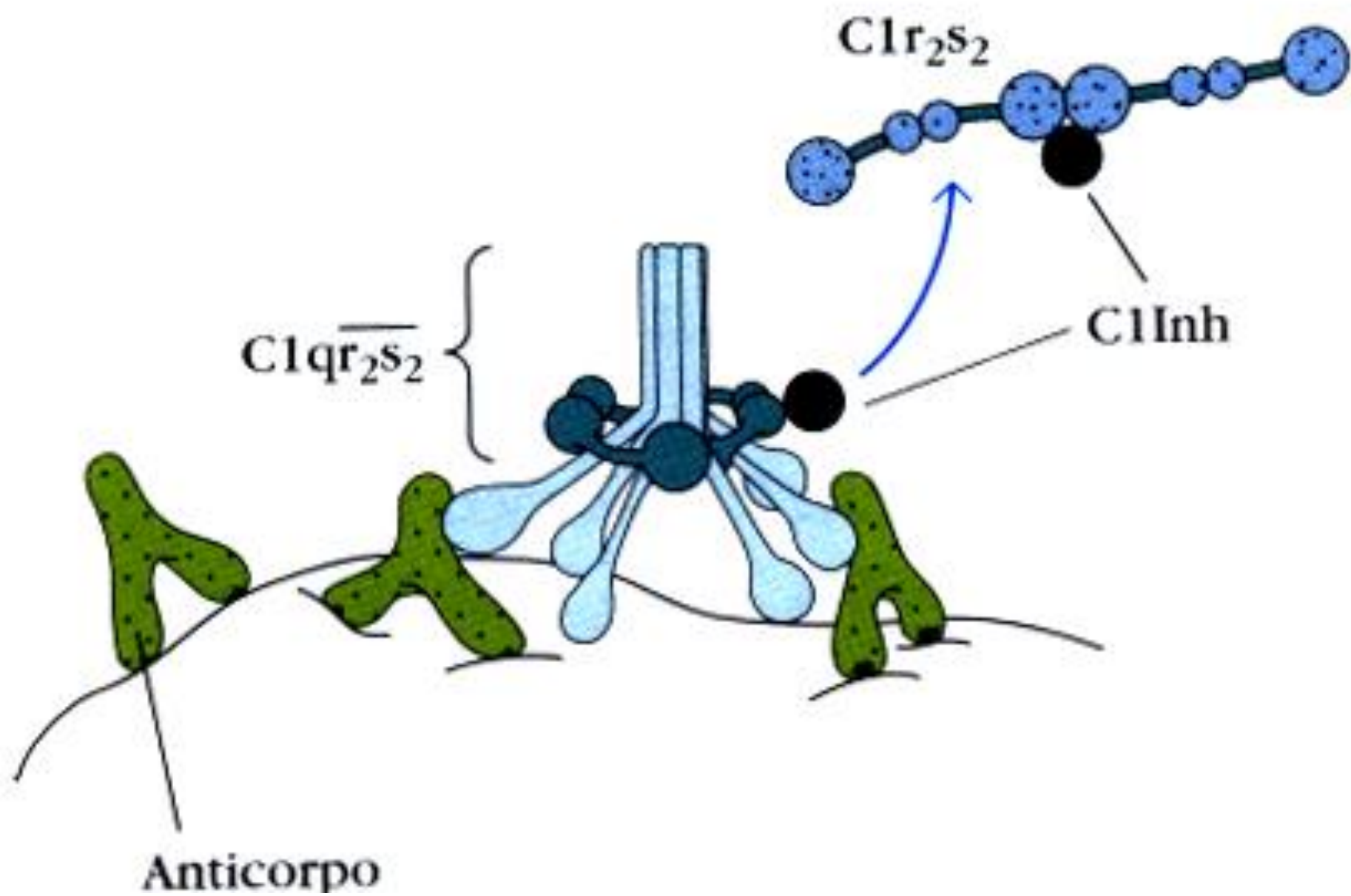
Self tissues  
are protected from inappropriate  
complement deposition  
by  
fluid phase and cells bound  
regulators





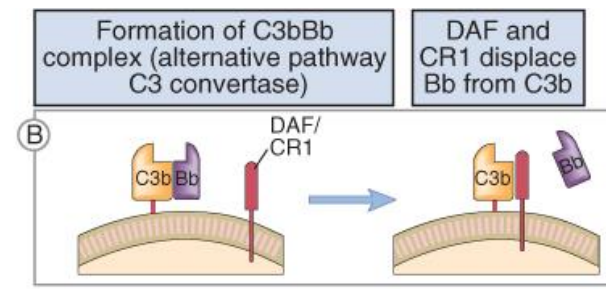
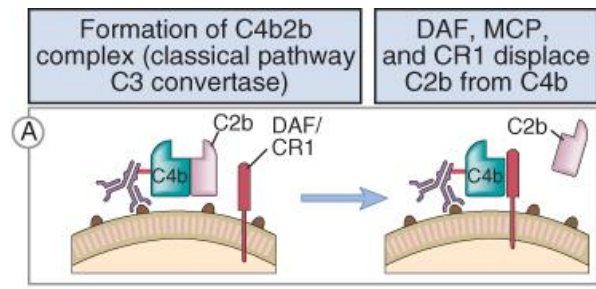
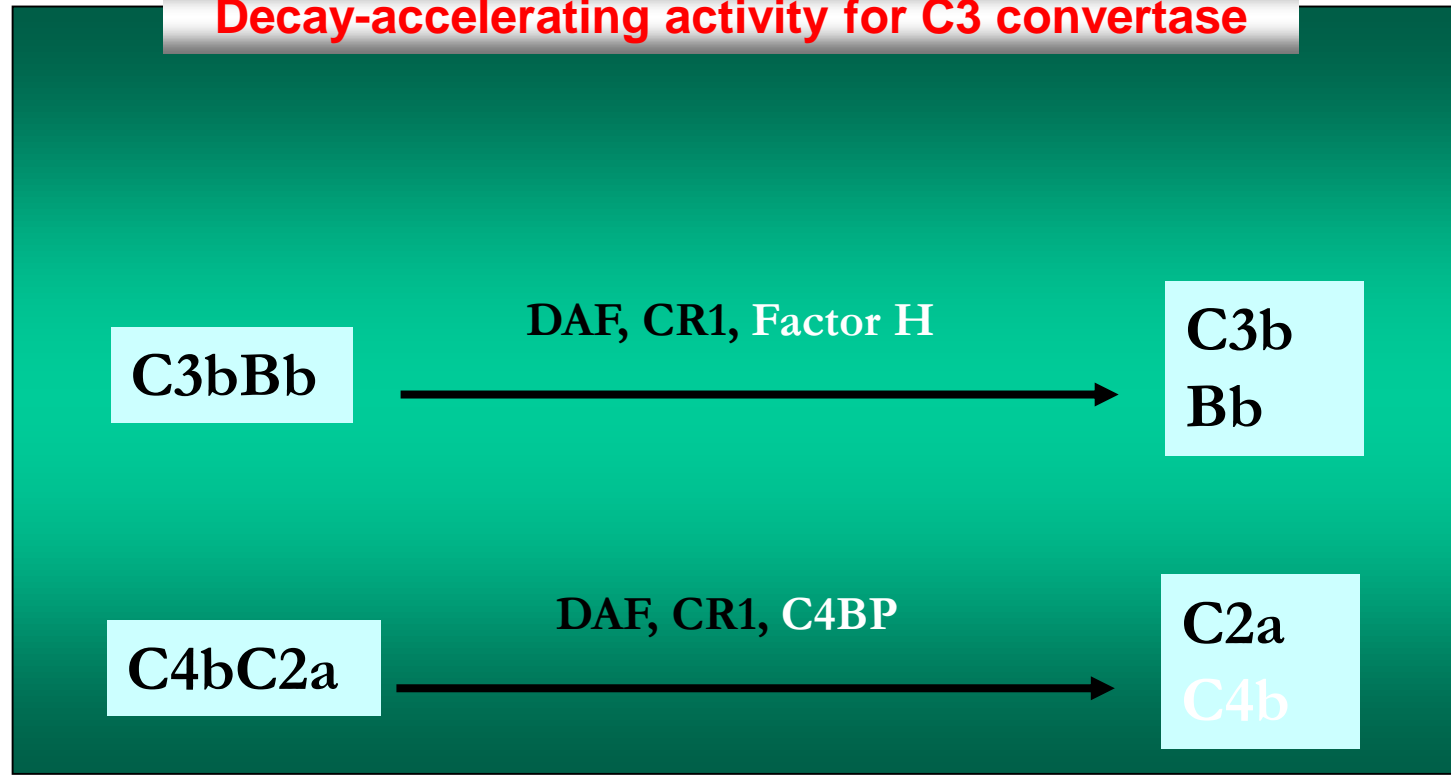
# Complement regulators

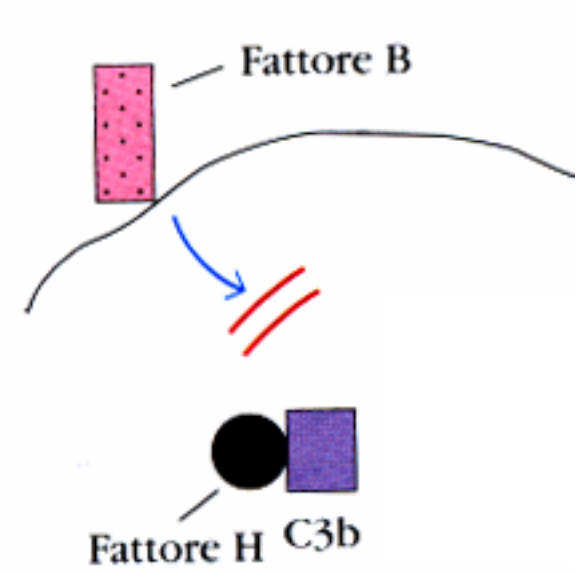
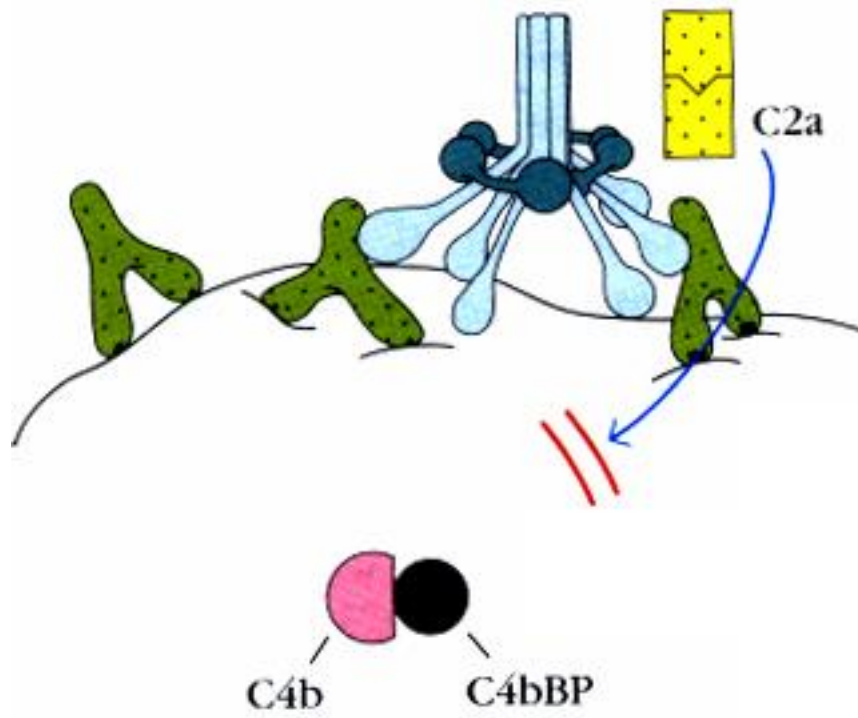




# Complement regulators

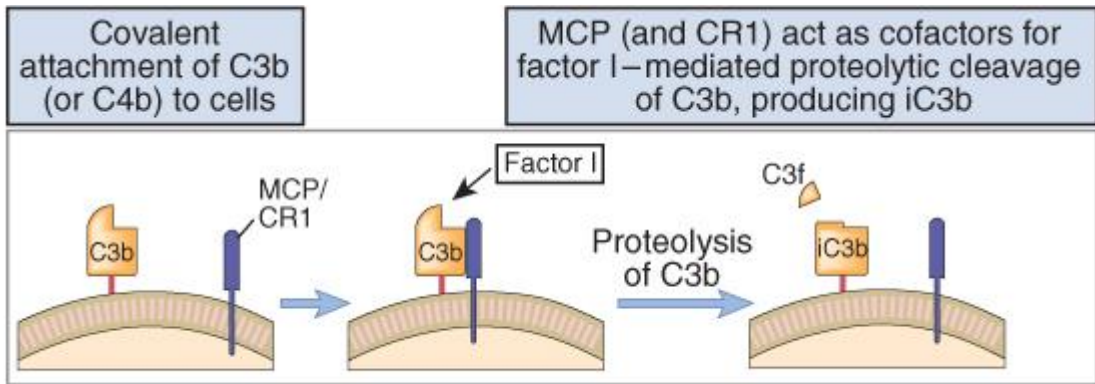
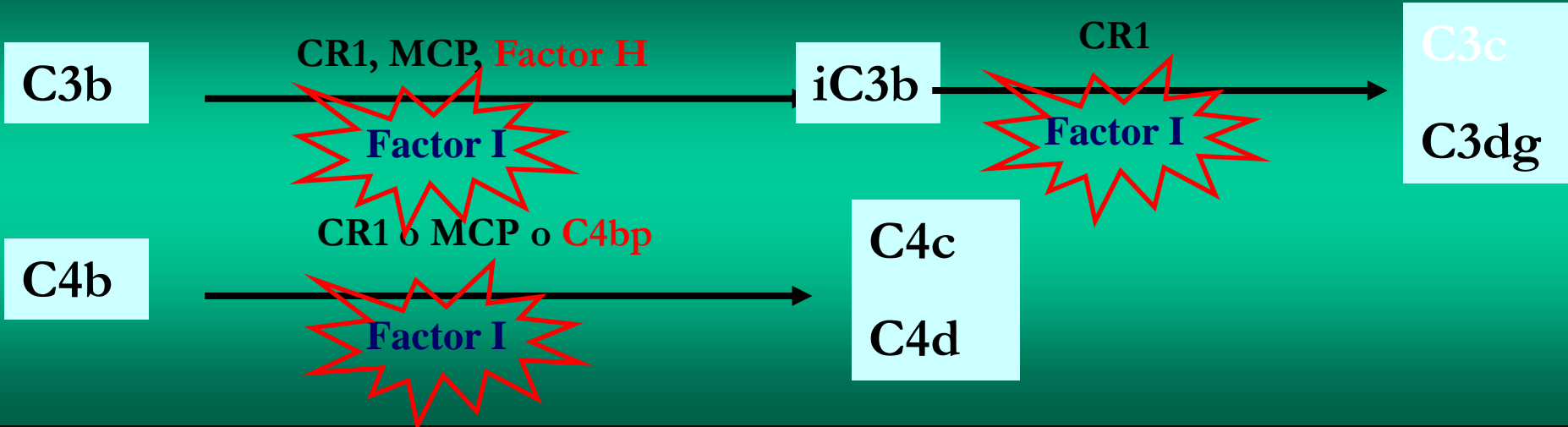
**Decay-accelerating activity for C3 convertase**

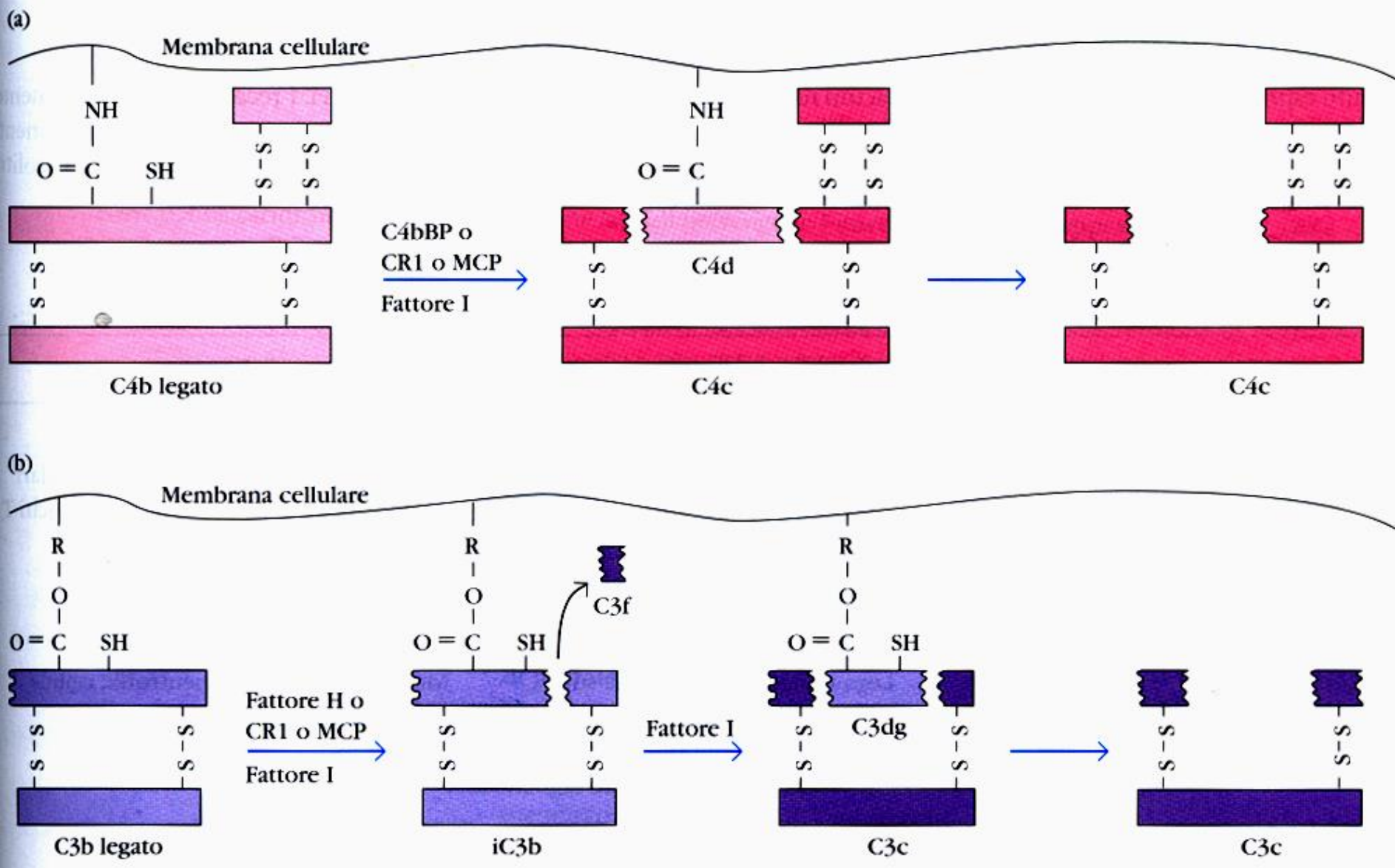




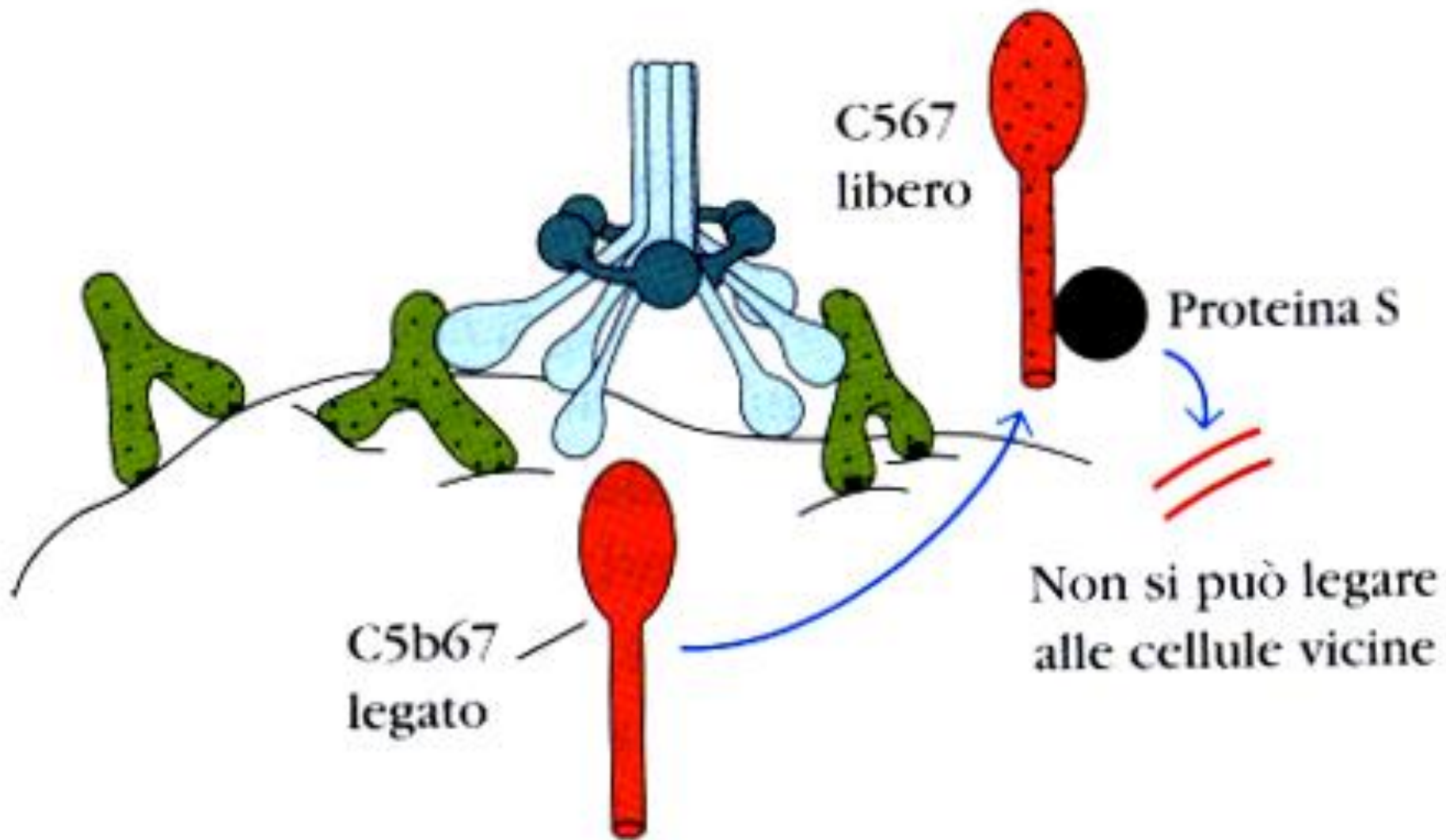
# Complement regulators

## Cofactor activity



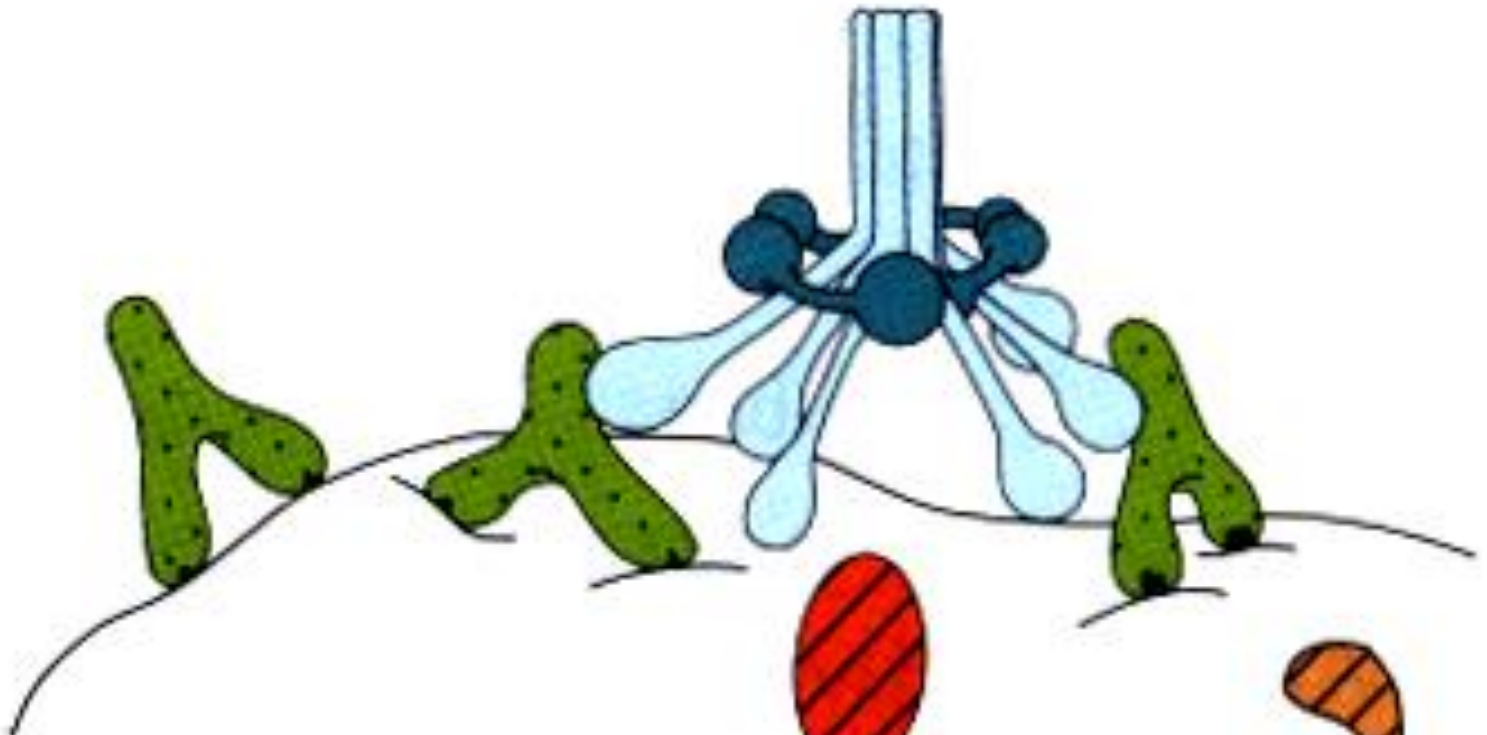


Fattore I = serin proteasi



Proteina S (vitronectina)  
clasterina





C5b678  
legato

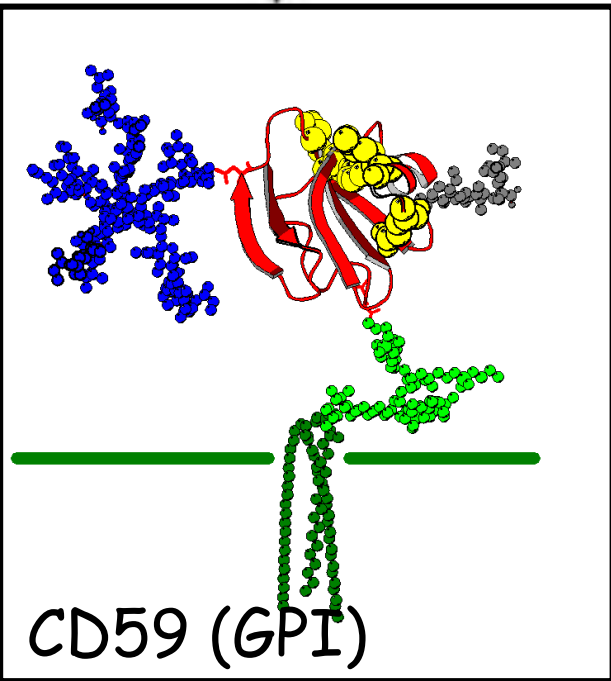


**CD59**



C9

Non può  
polimerizzare

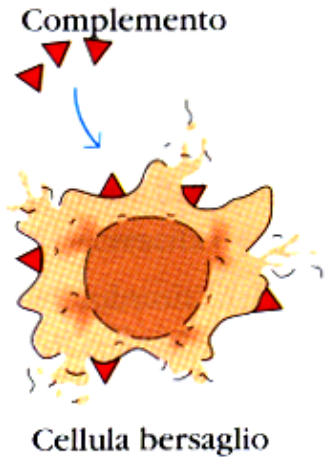


CD59 (GPI)

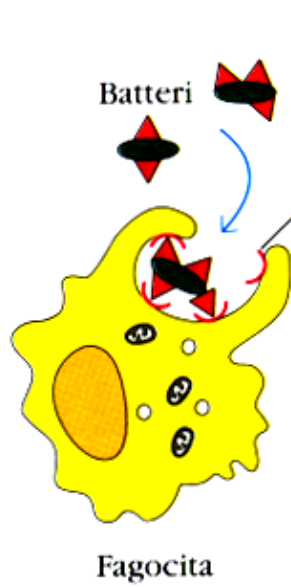
Homologous Restriction  
Factor, HRF/CD59

# Recettori

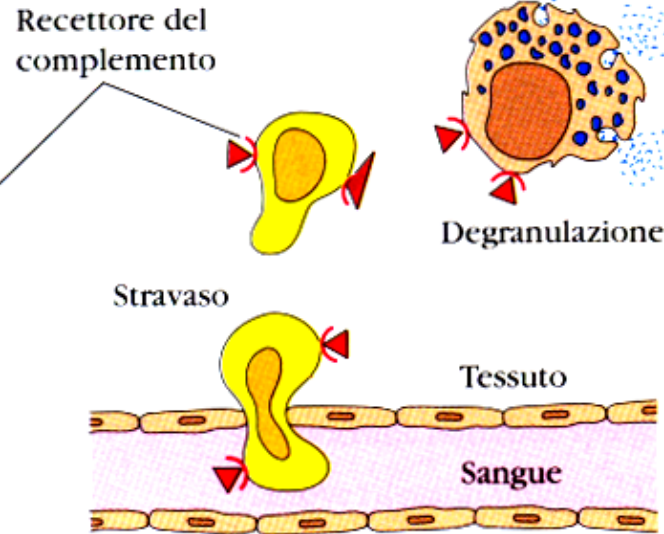
LISI



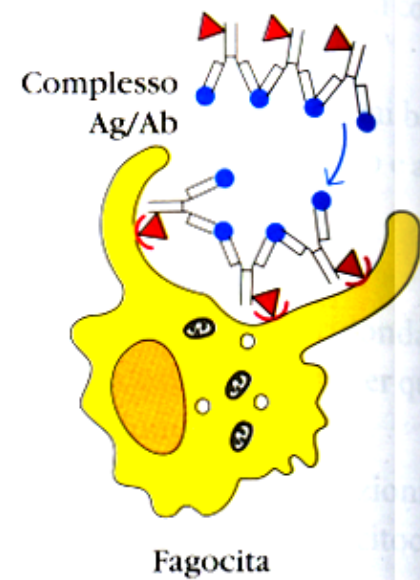
OPSONIZZAZIONE



ATTIVAZIONE DELLA RISPOSTA INFIAMMATORIA



RIMOZIONE DEGLI IMMUNOCOMPLESSI

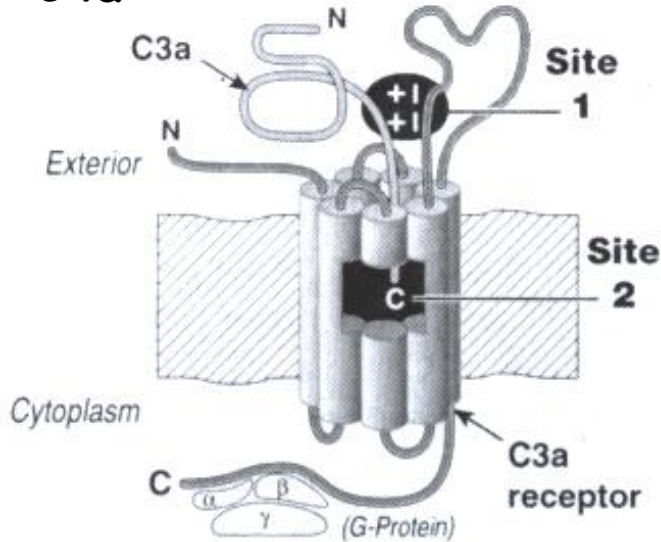


Rimozione cellule apoptotiche e necrotiche

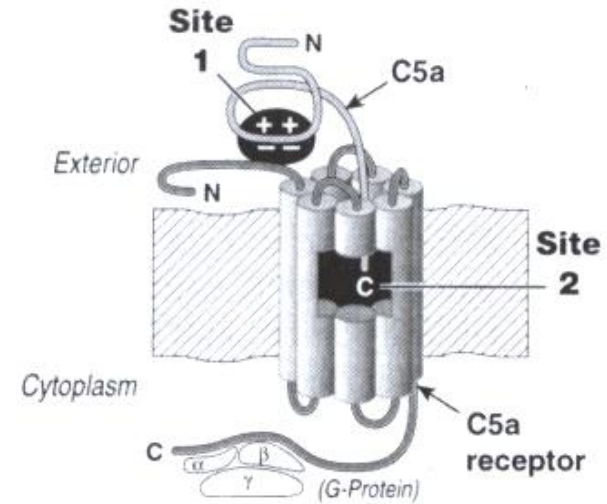
# Le anafilotossine C3a, C4a, C5a

(A) C3a/C3aR

C4a



(B) C5a/C5aR



Mastcellule, Basofili, N, E

Mastcellule, Basofili, N, E,  
Mo, M $\phi$ , EC, piastrine

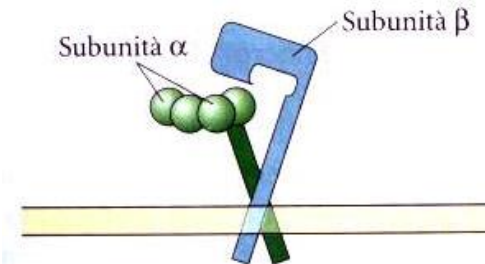
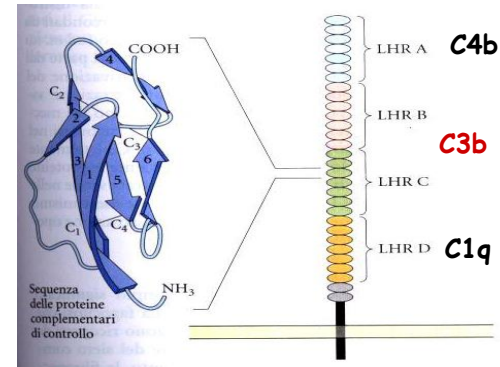
degranolazione di mastcellule e basofili, eosinofili

Stravasazione e chemiotassi di leucociti

Aggregazione piastrinica

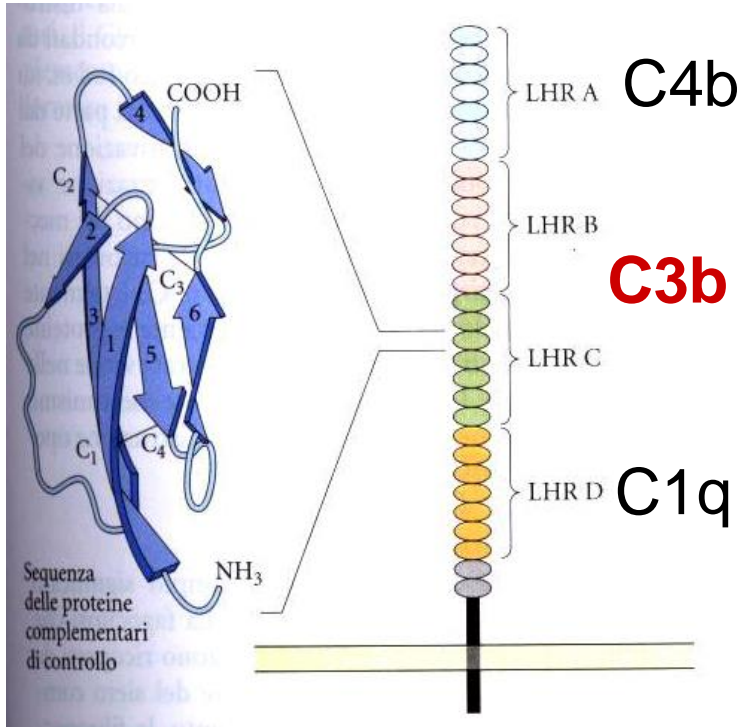
# Recettori presenti sui fagociti

<p><b>CR1</b> (CD35)</p>	<p><b>C3b</b></p>
<p><b>CR3</b> (MAC-1) <math>\alpha_m\beta_2</math> CD11b/CD18</p>	<p><b>iC3b</b></p>
<p><b>CR4</b> <math>\alpha_x\beta_2</math> CD11c/CD18</p>	<p><b>iC3b</b></p>



Il CR1 contiene 30 brevi repliche di consenso allineate in fila e raggruppate in quattro lunghe repliche omologhe (LHR-A, B, C, D) e si estende dalla membrana plasmatica per circa 90aa

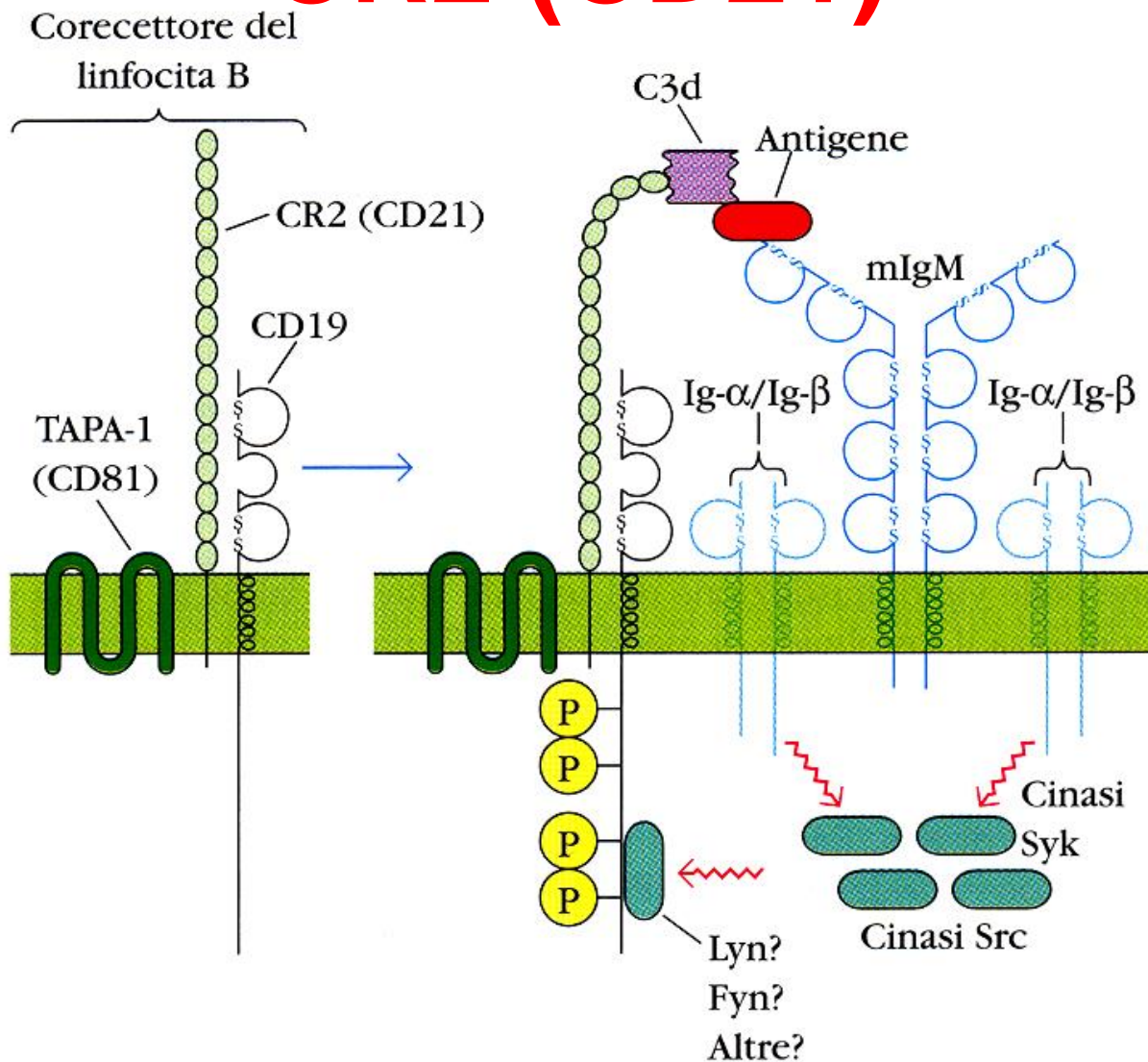
# CR1 (CD35)



- **GR**, N, Mo, M $\phi$ , E, B, T, DC follicolari
- Lega gli immunocomplessi
- Blocca la formazione della C3 convertasi

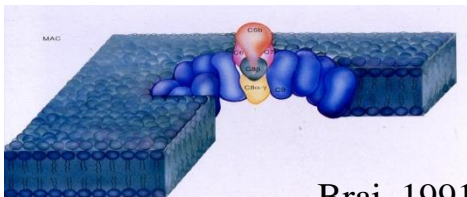
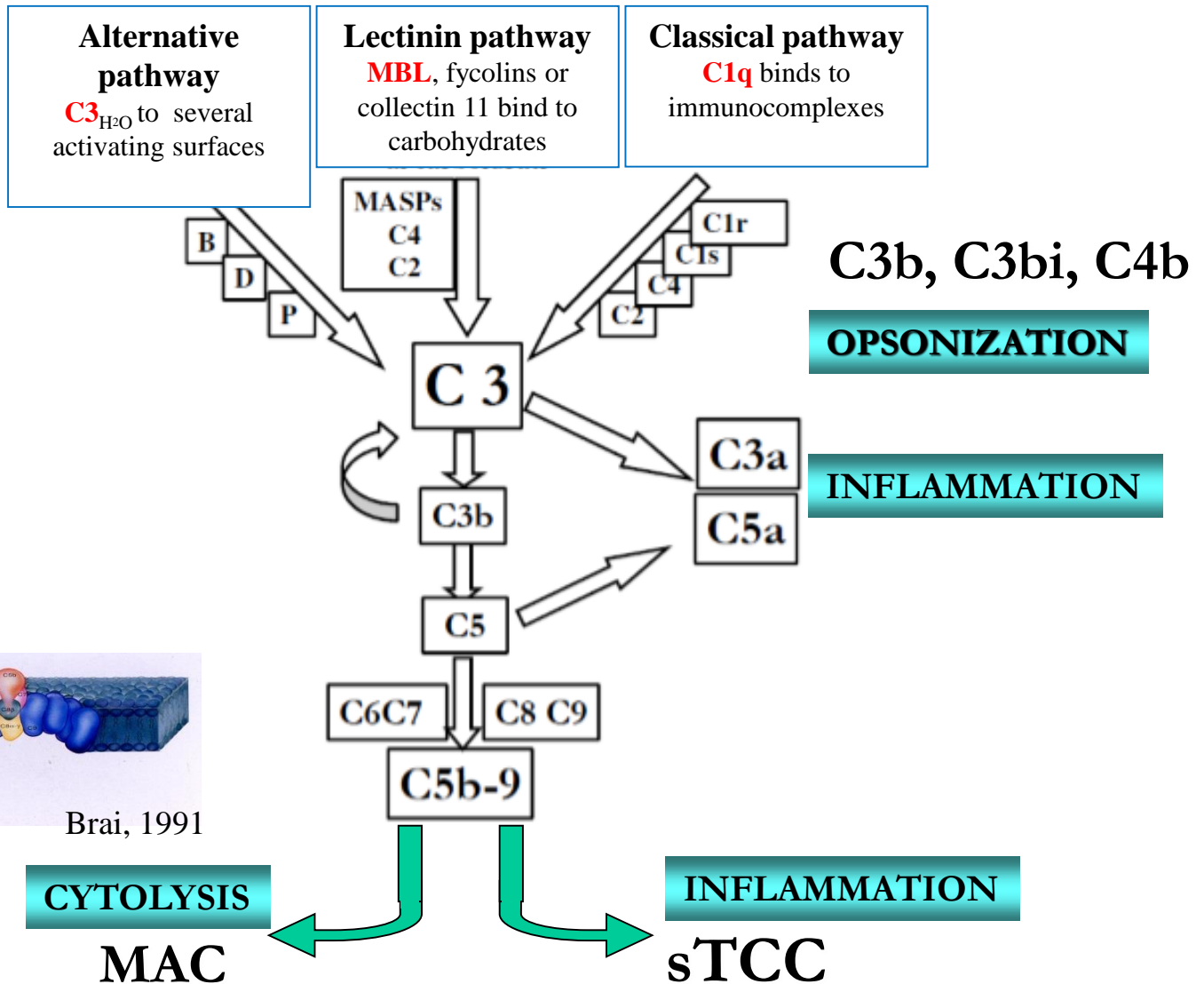
Il CR1 contiene 30 brevi repliche di consenso allineate in fila e raggruppate in quattro lunghe repliche omologhe (LHR-A, B, C, D) e si estende dalla membrana plasmatica per circa 90aa

# CR2 (CD21)



C3d funziona da adiuvante naturale diminuendo la soglia per l'attivazione della cellula B

# Complement cascade Activation



Brai, 1991

# deficit del C

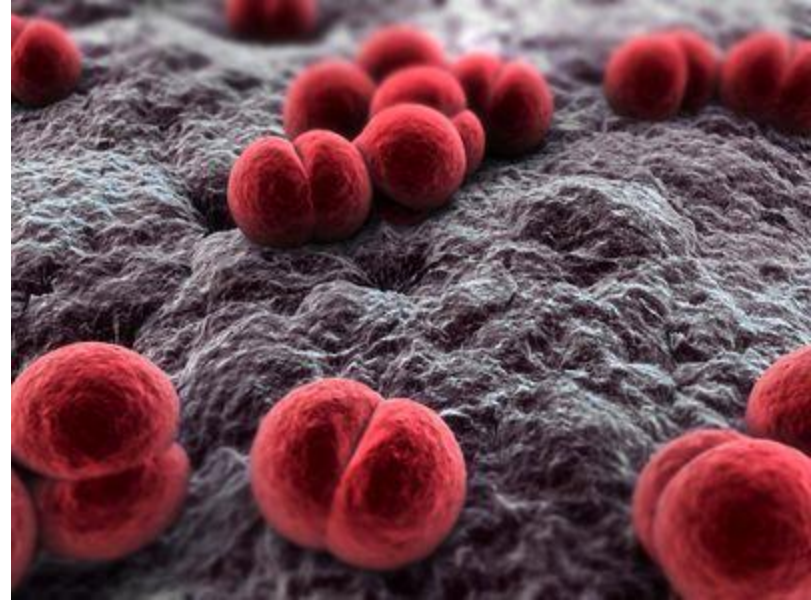
- In via generica le manifestazioni cliniche principali dell'immunodeficienza da deficit del complemento sono:
  - infezioni ricorrenti,
  - sindromi vasculitiche,
  - edemi ricorrenti,
  - aumentata incidenza di disordini autoimmuni.



# Infezioni

C2 (frequente)	Infezioni ricorrenti batteriche gravi <b>batteri piogeni (streptococchi e stafilococchi Gram+)</b> (bambini, meningiti, otiti, polmoniti)
C3 (raro)	Infezioni batteriche ricorrenti gravi <b>batteri piogeni (streptococchi e stafilococchi Gram+)</b> <b><i>Neisseria meningitidis</i></b> <b><i>Haemophilus influenzae</i></b>  (difetto primitivo o secondario= mancanza di controllo per C3b)
C5-C9	Meningiti, episodi ripetuti ogni 3-4 anni, primo episodio 10-13 anni ( <b><i>Neisseria meningitidis</i></b> ) <b>Rischio 1000-10000 volte superiore</b>
Fattore D e Properdina	Meningite fulminante ( <b><i>Neisseria meningitidis</i></b> )

# Neisseria meningitidis (meningococco)



- La Neisseria meningitidis, conosciuto anche come meningococco, è un batterio gram-negativo conosciuto per il suo ruolo come causa della meningite.
- 13 gruppi antigenici (sierotipi) diversi di capsula: A, B, C, D, 29E, H, I, K, L, W135, X, Y, Z dei quali i principali sono A, B, C, Y e W135;
- Normalmente può parassitare il nasofaringe di persone sane come innocuo saprofita senza dare necessariamente manifestazioni patologiche (portatori sani).

# *Haemophilus influenzae*

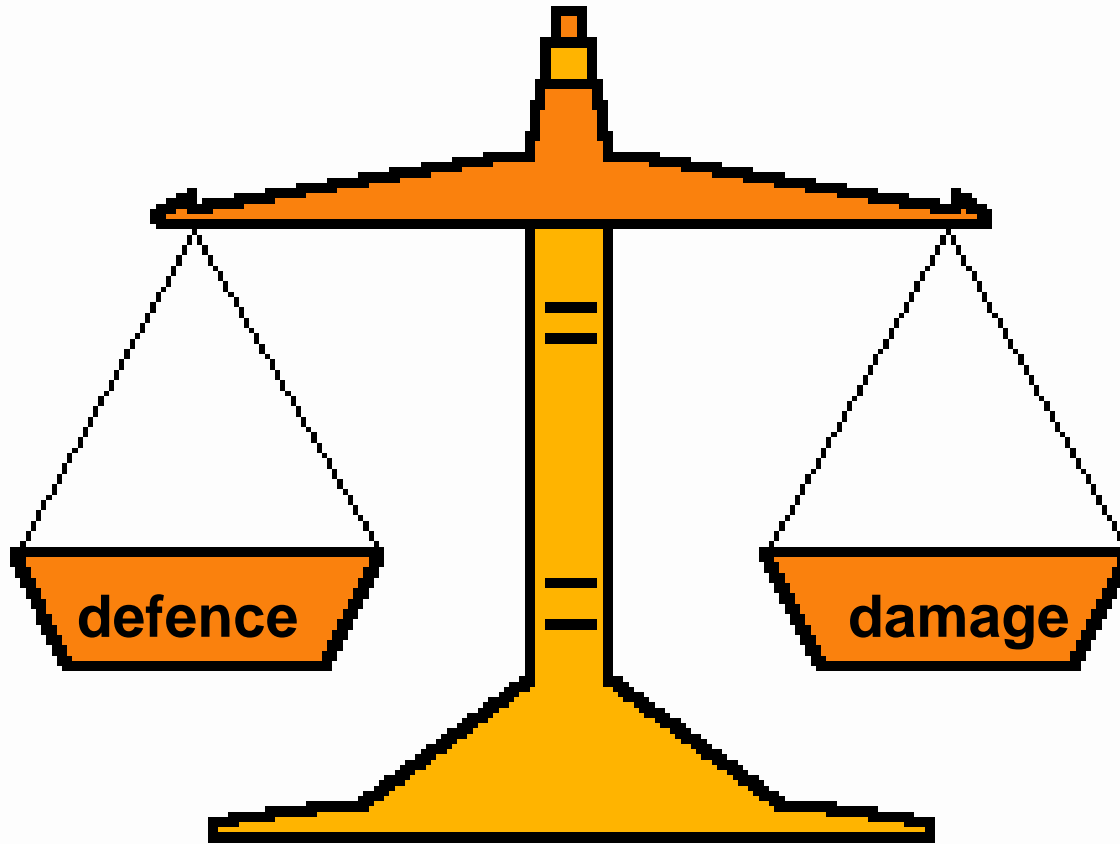


- Coccobacillo Gram negativo
- **H. influenzae di tipo b, Hib è la più comune causa di meningite nei bambini di età fra 2 mesi e 5 anni.**
- Il picco di **meningite** è fra 6-8 mesi.

# Malattie autoimmuni

- Patologie da immunocomplessi (lupus eritematosus sistemico LES, glomerulonefriti, vasculiti)
- Prevalenza (n. eventi osservati/persone a rischio in un dato periodo di tempo):
  - C1q: 95%
  - C1r-C1s: 57%
  - C4: 75%
  - C2: 10%

# The complement system



Inappropriate and excessive activation of the Complement system may lead to host damage

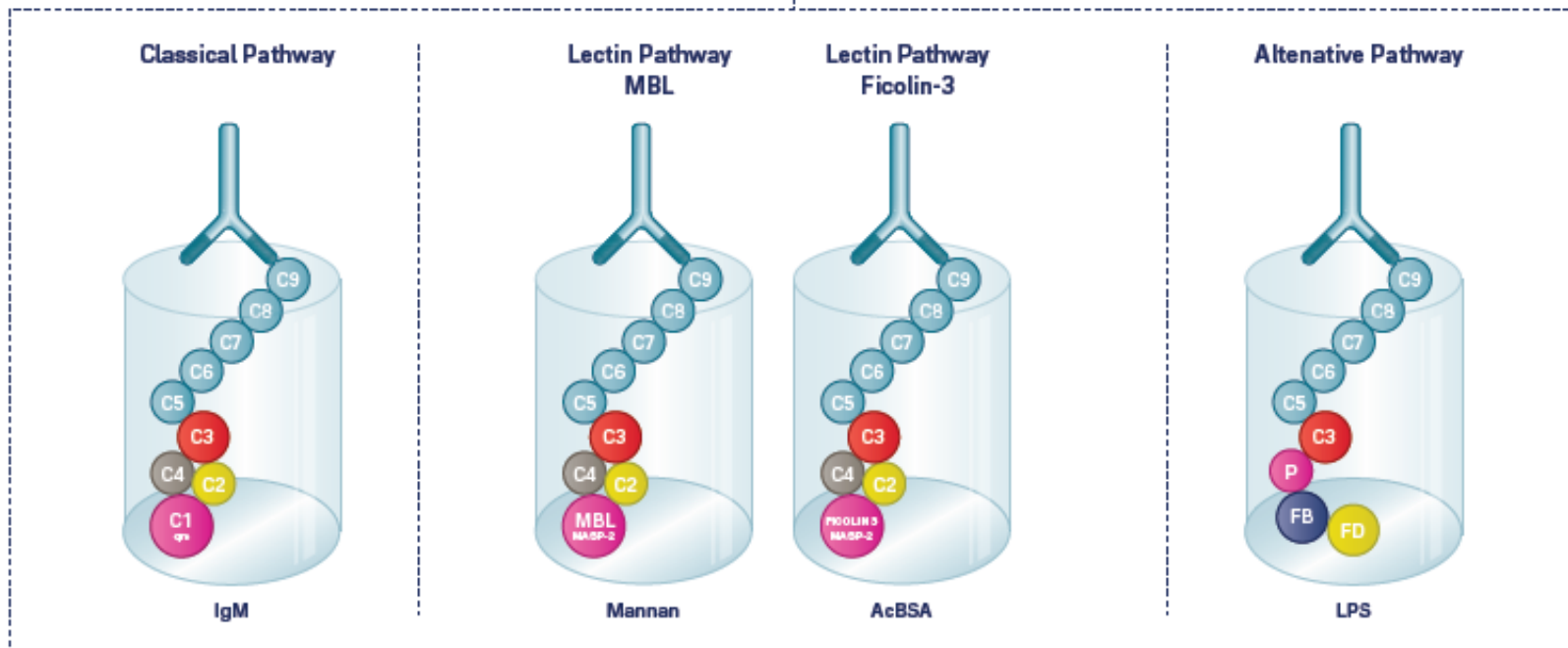
## **Acute conditions**

- Acute inflammation
- Sepsis
- Ischemia-reperfusion

## **Chronic conditions**

- Autoimmune diseases

# Test per la valutazione funzionale del sistema del complemento



International Complement Society

# Test per la valutazione funzionale del sistema del complemento

Classical Pathway	Lectin Pathway (MBL)		Alternative Pathway	Possible deficiency
Positive	Positive		Positive	None
Negative	Positive		Positive	C1q, C1r, Cls
Positive	Positive		Negative	Properdin, Factor B,D
Positive	Negative		Positive	MBL
Positive	Positive		Positive	Ficolin 3
Positive	Negative		Positive	MASP2
Negative	Negative		Negative	C3, C5, C6, C7, C8, C9
Negative	Negative		Positive	C4, C2 or combination