

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ» 2019-2021**

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ:

Καθηγητής Ε. Ι. Παπαρέλλης - Μπουρμπουήλης

ΑΝΑΠΛ. ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ:

Καθηγητής Σ. Τσιόδρας

ΜΕΛΗ ΣΥΝΤΟΝΙΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

Καθηγητής Γ. Δημόσιουλος
Αναπλ. Καθηγητής Μ. Σαμάρκος
Επικ. Καθηγήτρια Γ. Πουλάκου
Επικ. Καθηγήτρια Ε. Σαμπατάκου

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ Α' ΕΞΑΜΗΝΟΥ
ΑΘΗΝΑ 2019

**ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ
ΠΜΣ «Λοιμωξιολογία»
17 Φεβρουαρίου 2020**

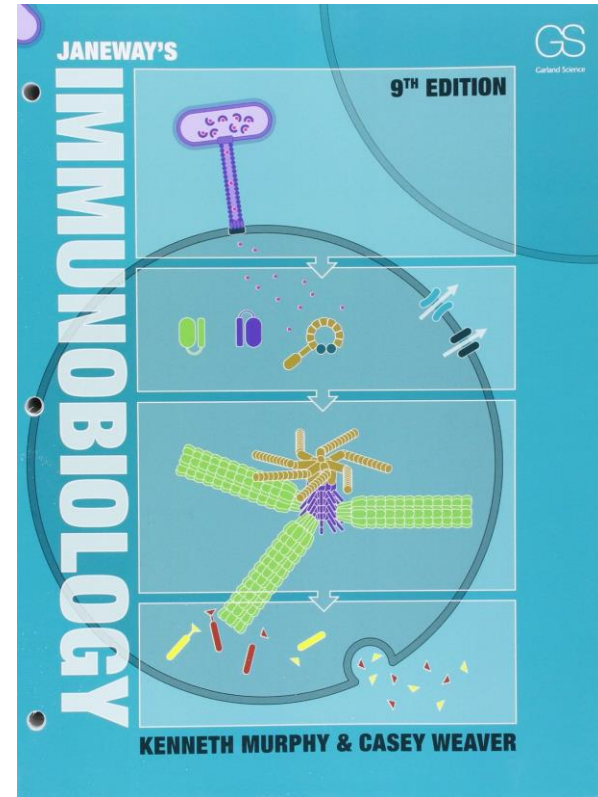
Μ. Σαμάρκος

Αναπλ. Καθηγητής Παθολογίας – Λοιμώξεων

Α' Παθολογική Κλινική



- ΕΙΣΑΓΩΓΗ
- ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ
- ΟΔΟΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ
- ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
- ΜΕΤΡΗΣΗ
- ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ
- ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ



Ποιό από τα παρακάτω νοσήματα ΔΕΝ
σχετίζεται με διαταραχή του συμπληρώματος;

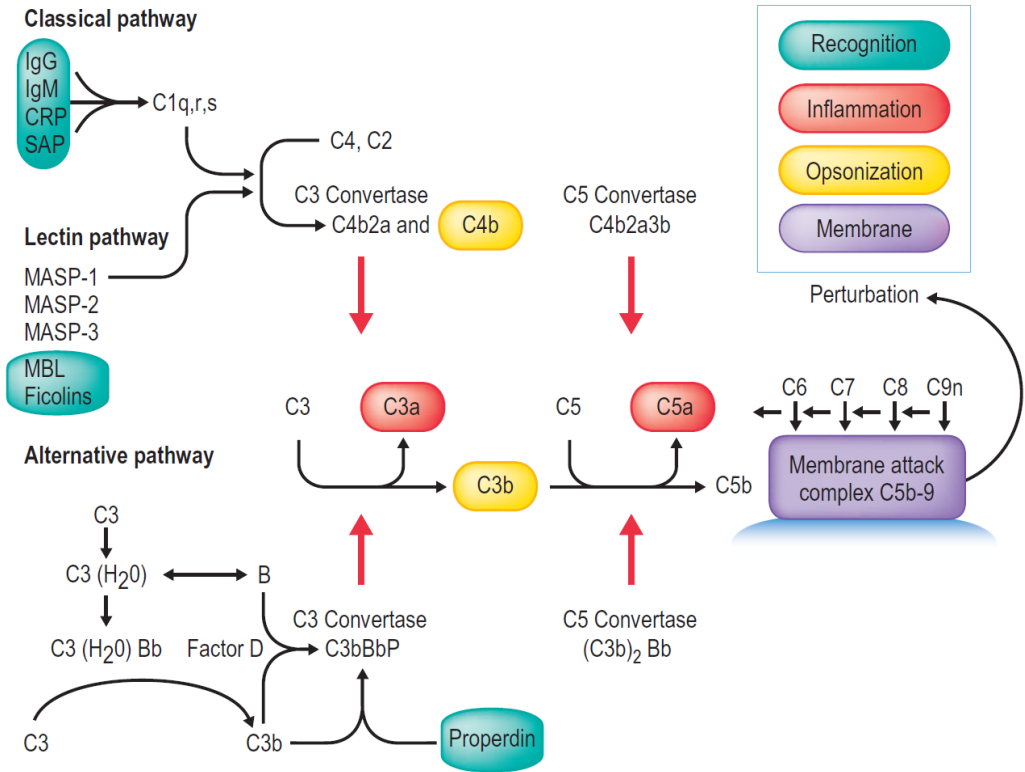


- A. Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία
- B. Κληρονομικό αγγειοίδημα
- C. Υποτροπιάζουσες λοιμώξεις από *Neisseria spp*
- D. «Κλασσική» οζώδης πολυαρτηρίτιδα
- E. Εκφύλιση ωχράς κηλίδας σχετιζόμενη με την ηλικία

Τι είναι το συμπλήρωμα;



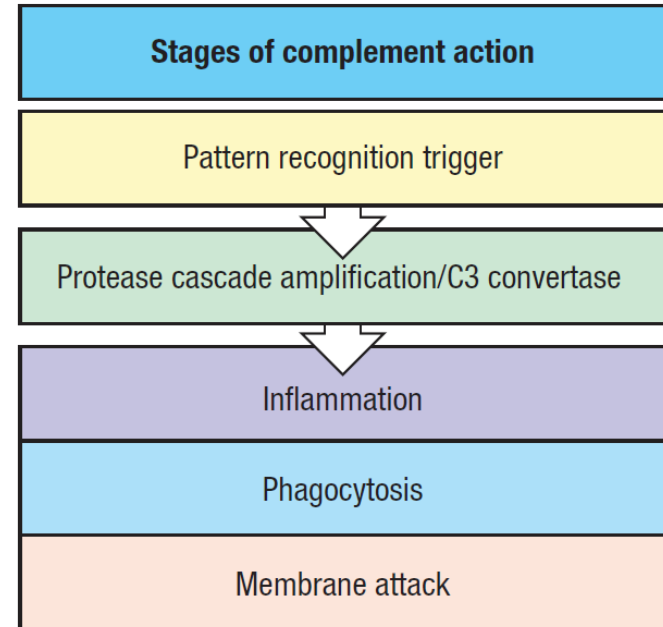
- Ανακαλύφθηκε το 1890 από τον Jules Bordet σαν μια θερμοευαίσθητη ουσία του φυσιολογικού πλάσματος της οποίας η δράση «συμπλήρωνε» τη βακτηριοκτόνο ικανότητα του ορού.
- Ένα σύνολο >30 διαλυτών πρωτεϊνών που υπάρχουν στο αίμα και άλλα σωματικά υγρά.
- Ενεργοποιείται με ένα «καταρράκτη» διαδοχικών αντιδράσεων «ενεργοποίησης» ενός μέχρι τότε ανενεργού στοιχείου («κλάσματος») του συμπληρώματος



Ποιές είναι οι βιολογικές του λειτουργίες;



- Εξυπηρετεί 3 βασικές λειτουργίες:
 - Προαγωγή της φλεγμονής και της ανοσολογικής απόκρισης
 - Αναγνώριση και επισήμανση ξένων υλικών και κατεστραμμένων ιδίων κυττάρων (οψωνινοποίηση και φαγοκυττάρωση)
 - Άμεση θανάτωση παθογόνων (κυτταρόλυση)
- Συμμετέχει στις αποκρίσεις τόσο του συστήματος της φυσικής όσο και της επίκτητης ανοσίας



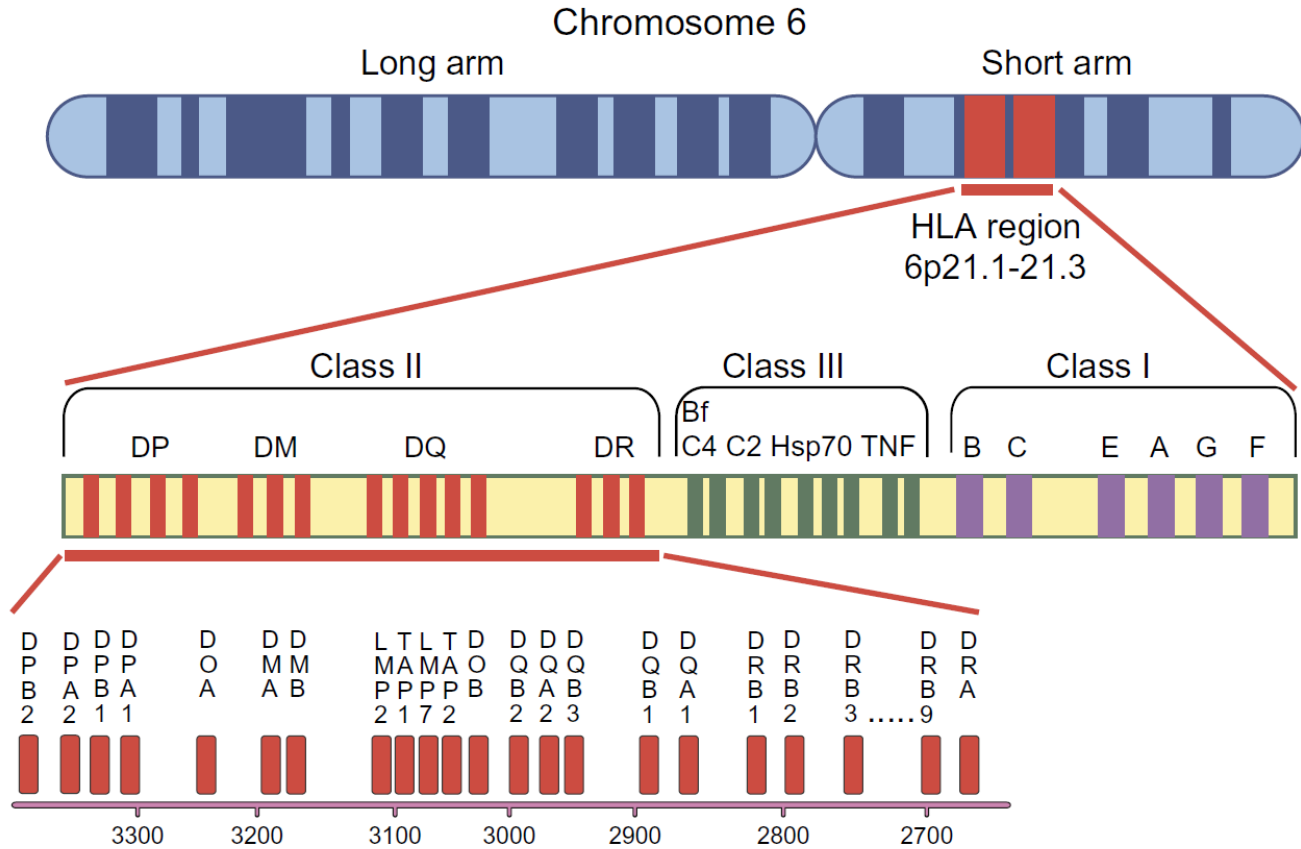
Αν και το συμπλήρωμα ανακαλύφθηκε σαν ένα εκτελεστικό σκέλος της αντισωματικής απόκρισης, τώρα γνωρίζουμε ότι εξελίχθηκε σαν μέρος του συστήματος της φυσικής ανοσίας το οποίο προσφέρει προστασία σε πρώιμα στάδια της λοίμωξης, πριν δημιουργηθούν τα αντισώματα.

Τα κύρια χαρακτηριστικά του συμπληρώματος



- Αρχέγονο μέρους του συστήματος της φυσικής ανοσίας που υπάρχει στο αίμα («ο φύλακας του ενδαγγειακού χώρου»)
- Εναποτίθεται σε βακτήρια και ιούς, τα οψωνινοποιεί και τα λύει σε δευτερόλεπτα
- Οι περισσότερες πρωτεΐνες του συμπληρώματος συντίθενται από το ήπαρ
- Ανακυκλώνεται συνεχώς (το κλάσμα C3 ανακυκλώνεται με ρυθμό 1 - 2%/ώρα)
- Έχει βρόγχους ενίσχυσης (ή θετικής ανάδρασης) που απαιτούν στενή ρύθμιση
- Συμμετέχει στο δραστικό σκέλος του συστήματος της χυμικής ανοσίας (IgM & IgG)
- Σημαντικός ρόλος στην απομάκρυνση κυτταρικών υπολειμμάτων
- 3^η σε συγκέντρωση πρωτεΐνη στο αίμα μετά τις ανοσοσφαιρίνες και τη λευκωματίνη
- Λειτουργεί σαν φυσικό ανοσοενισχυτικό (adjuvant) και «καθοδηγεί» τις αποκρίσεις της επίκτητης ανοσίας
- Έλλειψη ενεργοποιητικών κλασμάτων του συμπληρώματος οδηγεί σε βακτηριακές λοιμώξεις ή αυτοανοσία
- Έλλειψη ρυθμιστικών κλασμάτων του συμπληρώματος οδηγεί σε ιστική βλάβη ή ιστική εκφύλιση

Γενετικός τόπος C2 & C4: HLA



Το σύστημα του συμπληρώματος

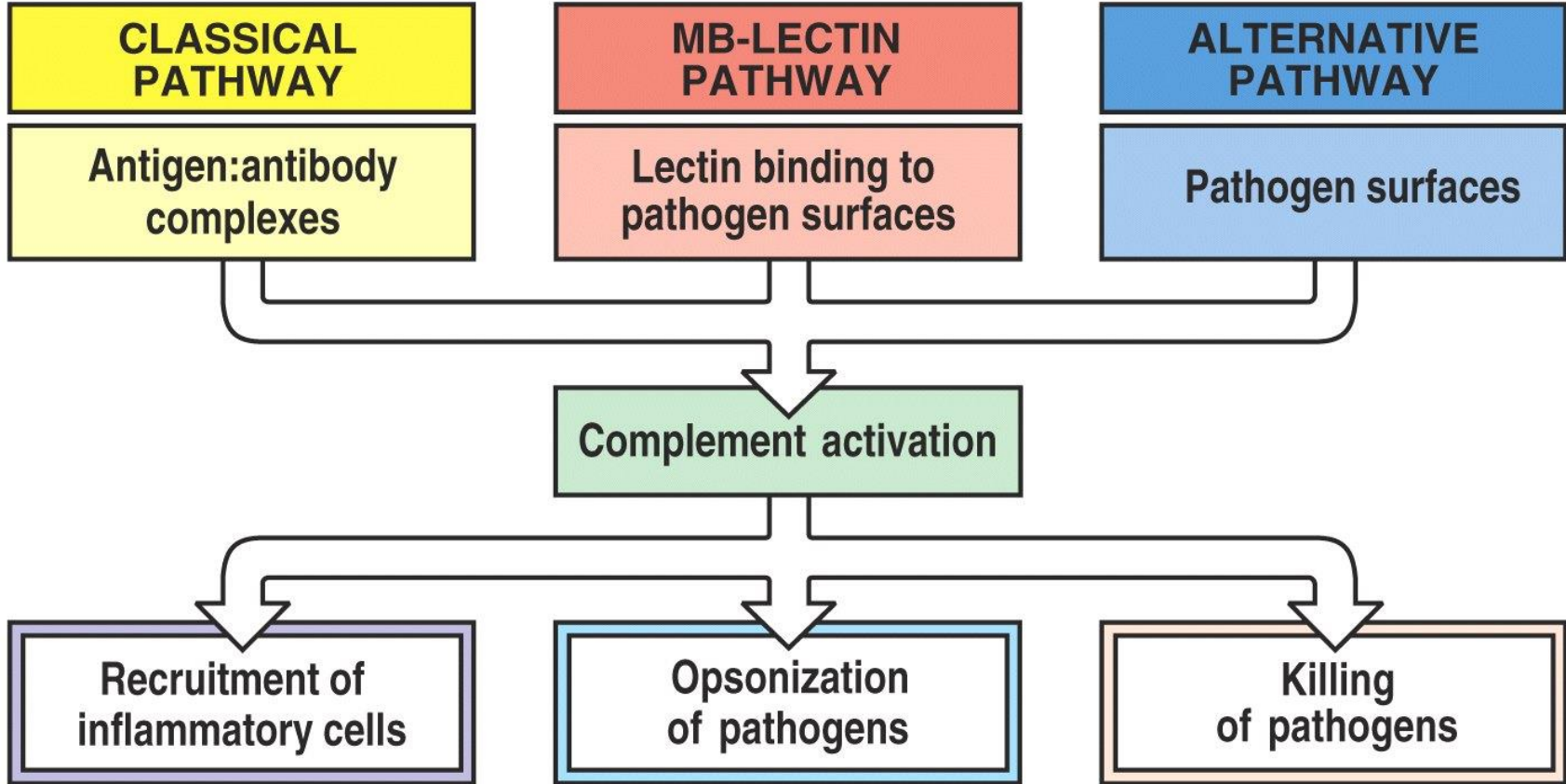


Figure 2-18 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ



- Μπορεί να προκαλέσει σύγχυση επειδή τα κλάσματα του συμπληρώματος ονοματίστηκαν με τη σειρά που ανακαλύφθηκαν, επομένως υπάρχουν κάποιες «αντιφάσεις»
- Κλασική οδός Cn: C1 – C9 ανάλογα με τη σειρά ενεργοποίησης
 - **ΕΞΑΙΡΕΣΗ: Το C4 ενεργοποιείται πριν το C3**
 - C1q, C1r, C1s: Διαφορετικές πρωτεΐνες και όχι προϊόντα διάσπασης του C1
- Τα κλάσματα που προκύπτουν από την πρωτεόλυση ονομάζονται Cna (το μικρότερο) και Cnb (το μεγαλύτερο) πχ C3a & C3b. Το μικρότερο κλάσμα είναι το a.
 - **ΕΞΑΙΡΕΣΗ: Το C2a είναι το μεγαλύτερο και το C2b το μικρότερο κλάσμα**
- Εναλλακτική οδός: παράγοντες B, D κλπ
 - Προϊόντα διάσπασης: B → Bb + Ba
- Οδός λεκτίνης
 - Περαιτέρω πρωτεόλυση: C3b → C3c + C3d
- Υποδοχείς συμπληρώματος: CR
- Ρυθμιστικές πρωτεΐνες: CD

Membrane Regulatory Proteins

CD55 (DAF)

CD46 (MCP)

CD59

Receptors

CD35 (CR1)

CD

CD21 (CR2)

CD11b/CD18 (CR3)

CD11c/CD18 (CR4)

CR1g

C5aR (CD88)

C5L2

C3aR



Functional protein classes in the complement system



| | |
|--|--|
| Binding to antigen:antibody complexes and pathogen surfaces | C1q |
| Binding to carbohydrate structures such as mannose or GlcNAc on microbial surfaces | MBL Ficolins Properdin (factor P) |
| Activating enzymes* | C1r C1s C2a Bb D MASP-1 MASP-2 MASP-3 |
| Surface-binding proteins and opsonins | C4b C3b |

| | |
|-----------------------------------|--|
| Peptide mediators of inflammation | C5a C3a C4a |
| Membrane-attack proteins | C5b C6 C7 C8 C9 |
| Complement receptors | CR1 CR2 CR3 CR4 CRIg |
| Complement-regulatory proteins | C1INH C4BP CR1/CD35 MCP/CD46 DAF/CD55 H I P CD59 |

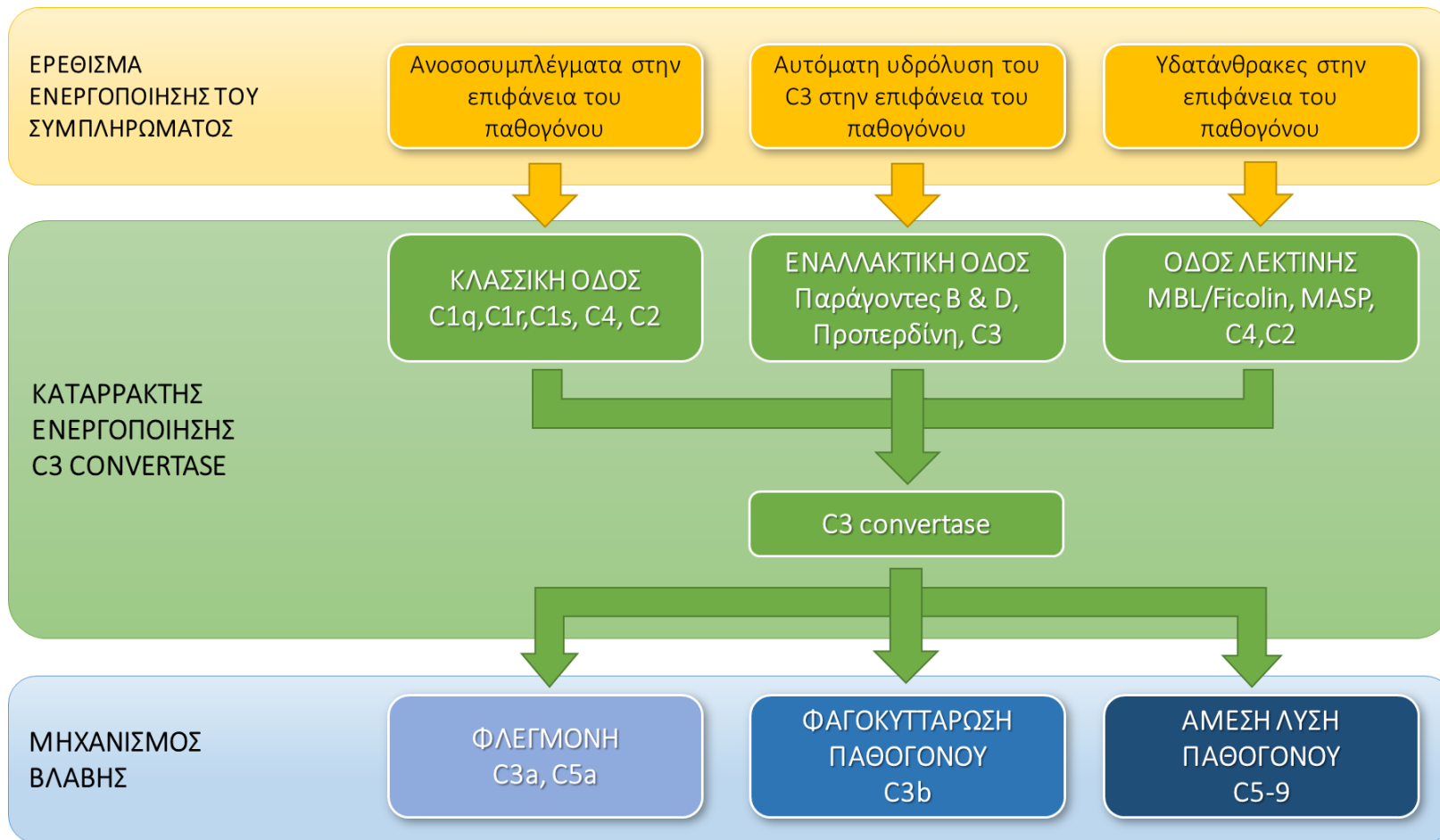
Οι τρεις οδοί του συμπληρώματος



- Τρεις οδοί → Τρεις τρόποι έναρξης ενεργοποίησης
- Κλασσική οδός, οδός λεκτίνης, εναλλακτική οδός
 - Ένα κοινό συμβάν: αναγνώριση μικροβιακών δομών (Pathogen-associated molecular patterns – PAMPs) ή δομών που υπάρχουν σε κατεστραμμένα ή αποπτωτικά ίδια κύτταρα, από πρωτεΐνες του συμπληρώματος
- Τρεις οδοί → Ένα κοινό προϊόν: C3 convertase
- Ένα κοινό προϊόν → Τρεις διαφορετικές εκβάσεις
 - Προαγωγή φλεγμονής
 - Οψωνινοποίηση και φαγοκυττάρωση
 - Άμεση θανάτωση παθογόνων

Κάθε οδός μπορεί να έχει και τις τρεις εκβάσεις

Ενεργοποίηση του συμπληρώματος

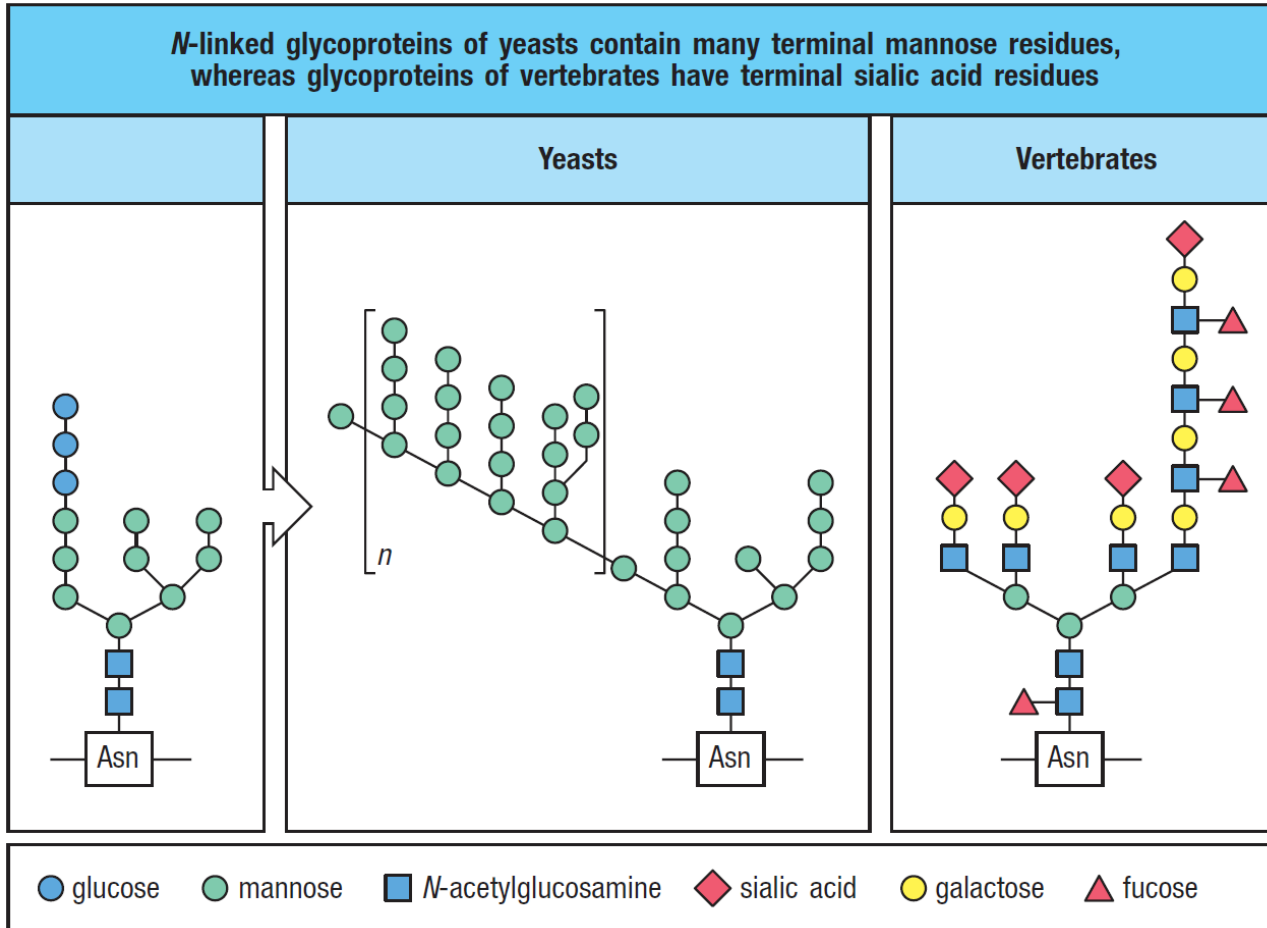


Οδός λεκτίνης

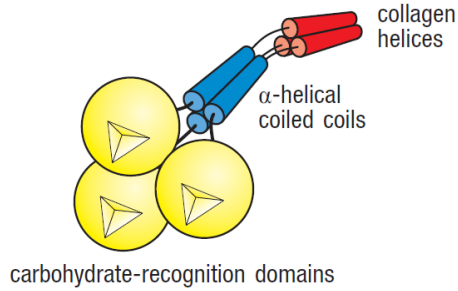


- Οι μικροοργανισμοί φέρουν στην επιφάνειά τους μοναδικές μοριακές δομές (Pathogen-associated molecular patterns – PAMPs).
 - Λιποτειχοϊκό οξύ [Gram (+)], λιποπολυσακχαρίτης [Gram(-)], γλυκάνες (μύκητες)
- Η οδός της λεκτίνης ανιχνεύει κάποιες από αυτές τις δομές των επιφανειών των μικροοργανισμών μέσω ειδικών υποδοχέων
- Λεκτίνες: Διαλυτές πρωτεΐνες που συνδέονται με υδατάνθρακες στις μικροβιακές επιφάνειες
 - Mannose-binding lectin (MBL): συντίθεται από το ήπαρ, ανήκει στις «κολλεκτίνες».
- Φικολίνες: Το τμήμα αναγνώρισης του μορίου είναι τύπου φμπρονεκτίνης. Δεν συνδέονται με υδατάνθρακες που περιέχουν μαννόζη.
 - L-Ficolin (Ficolin-2), M-Ficolin (Ficolin-1), & H-Ficolin (icolin-3).

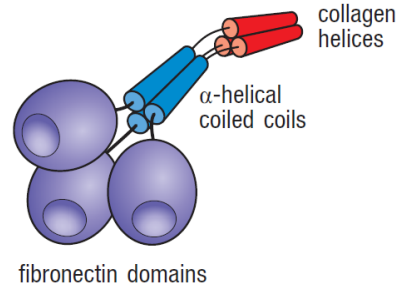
Οι υδατάνθρακες της επιφάνειας των παθογόνων διαφέρουν από αυτούς των σπονδυλωτών



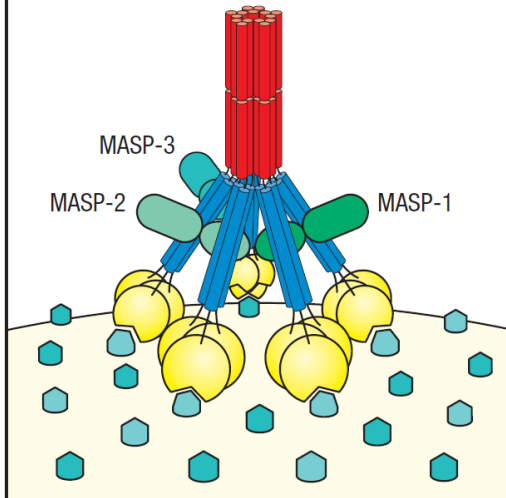
MBL monomers form trimeric clusters of carbohydrate-recognition domains



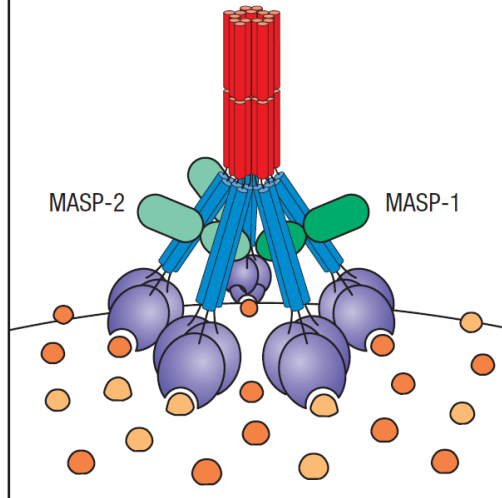
Ficolins are similar in structure to MBL but have a different carbohydrate-binding domain



MBL binds with high avidity to mannose and fucose residues



Ficolins bind oligosaccharides containing acetylated sugars

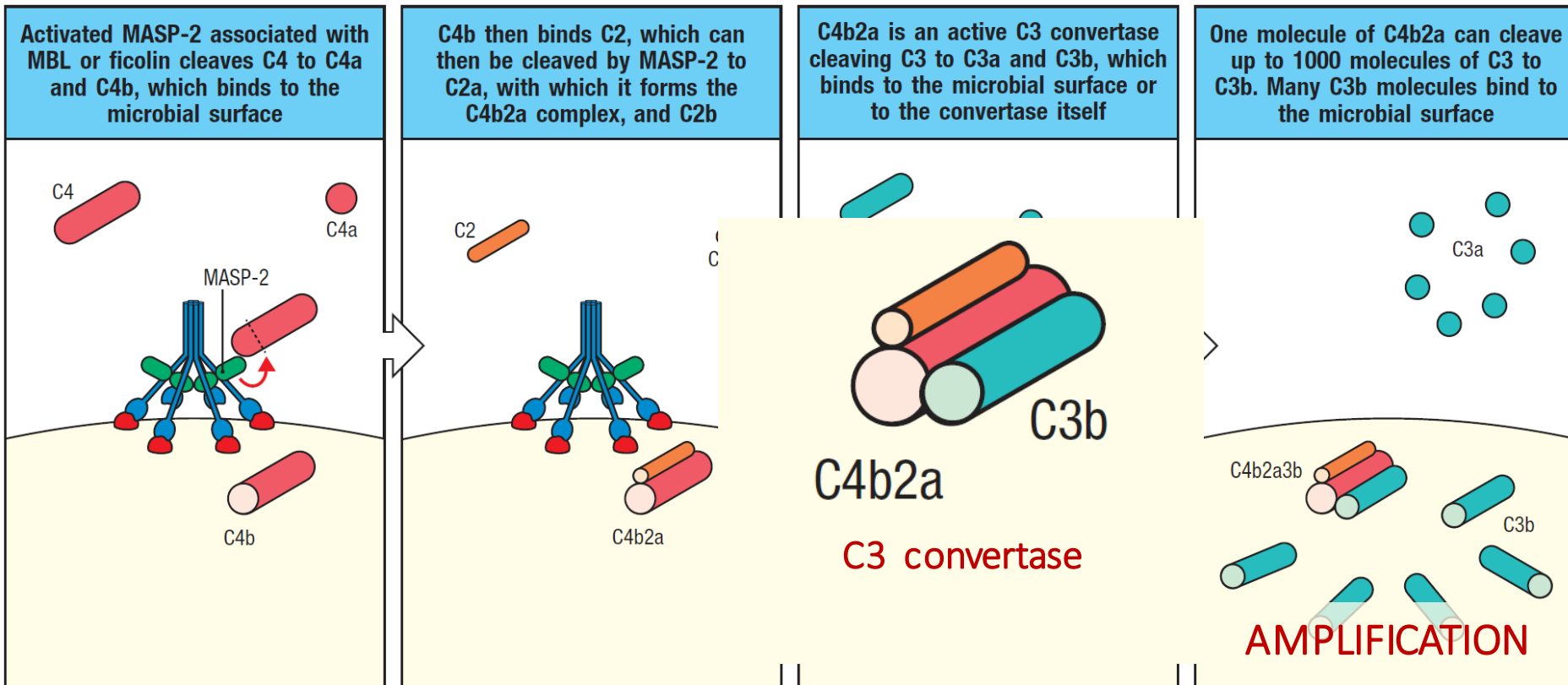


Οι υποδοχείς της οδού λεκτίνης



- Πολυμερή μόρια: Κάθε θέση σύνδεσης έχει χαμηλή συνάφεια (affinity), ωστόσο λόγω του μεγάλου αριθμού των θέσεων σύνδεσης, η συνολική συγγένεια της σύνδεσης (avidity) είναι υψηλή
- MASP (MBL-associated serine proteases): Ενεργοποιούνται διαδοχικά με τη σύνδεση της MBL/φικολίνης με την επιφάνεια των παθογόνων
 - Διασπούν το C4 και εκκινούν την οδό λεκτίνης

Παραγωγή C3 convertase της οδού της λεκτίνης




C2a: είναι το μεγαλύτερο κλάσμα - η εξαίρεση στην ονοματολογία του συμπληρώματος

Κλασσική οδός



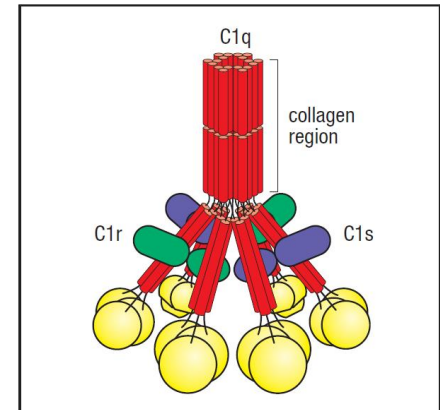
- Κλασσική οδός: η πρώτη οδός του συμπληρώματος που ανακαλύφθηκε
- Παρόμοια με την οδό της λεκτίνης
- Αναγνωρίζει τα παθογόνα μέσω του συμπλέγματος C1 (C1q/C1r/C1s)
 - Το C1 αναγνωρίζει τα παθογόνα άμεσα ή μέσω αντισωμάτων → η κλασσική οδός συμμετέχει τόσο στη φυσική όσο και στην επίκτητη ανοσία
- C1q: μόριο αναγνώρισης (όπως η MBL)
 - Άμεση προσκόλληση σε πρωτεΐνες ή πολυανιονικές δομές βακτηρίων (πχ λιποτειχικό οξύ)
 - Σύνδεση με την CRP η οποία με τη σειρά της συνδέεται με τη φωσφοχολίνη μορίων της βακτηριακής επιφάνειας (πχ πολυσακχαρίτης C του πνευμονιοκόκκου)
 - Σύνδεση με το κλάσμα Fc των αντισωμάτων – IgM, IgG1, IgG3

 Φυσικά αντισώματα: αντισώματα χαμηλής συγγένειας που αναγνωρίζουν κοινά συστατικά της βακτηριακής μεμβράνης (πχ φωσφοχολίνη) ή και αυτοαντιγόνα και παράγονται χωρίς να έχει προηγηθεί αναγνώριση αντιγόνου και απόκριση της επίκτητης ανοσίας

Εκκίνηση της κλασσικής οδού



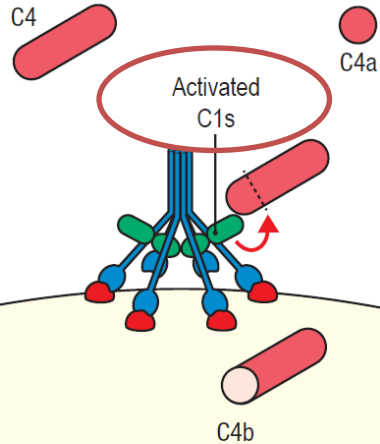
- C1q: η σύνδεση δύο ή περισσότερων θέσεων αναγνώρισης του C1 με το συνδέτη τους οδηγεί σε αλλαγή διαμόρφωσης του συμπλέγματος C1r:C1q και αυτοκαταλυτική ενεργοποίηση των C1r/C1s
- C1r/C1s – μόρια ενεργοποίησης
 - Ανάλογα της MASP-2
 - Σχηματίζουν τετραμερή
- C1r: ενεργοποιείται και διασπά το C1s με τη δημιουργία μιας δραστηκής πρωτεάσης σερίνης
- Η δραστηκή μορφή του C1s διασπά τα κλάσματα C4 & C2



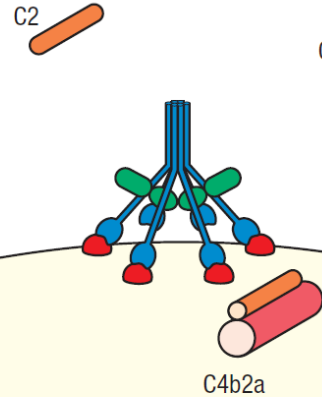
Παραγωγή C3 convertase της κλασσικής οδού



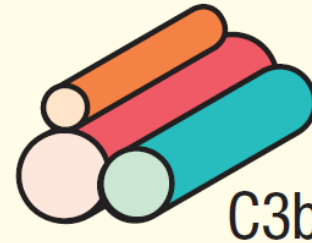
Activated C1s cleaves C4 to C4a and C4b, which binds to the microbial surface



C4b then binds C2, which can then be cleaved by C1s to C2a, with which it forms the C4b2a complex, and C2b

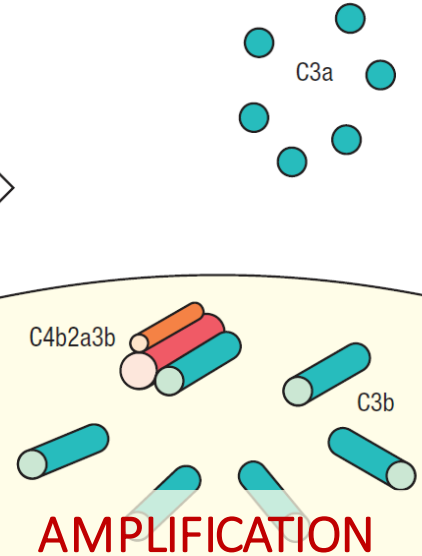


C4b2a is an active C3 convertase cleaving C3 to C3a and C3b, which binds to the microbial surface or to the convertase itself



C4b2a
Classical pathway
C3 convertase

One molecule of C4b2a can cleave up to 1000 molecules of C3 to C3b. Many C3b molecules bind to the microbial surface



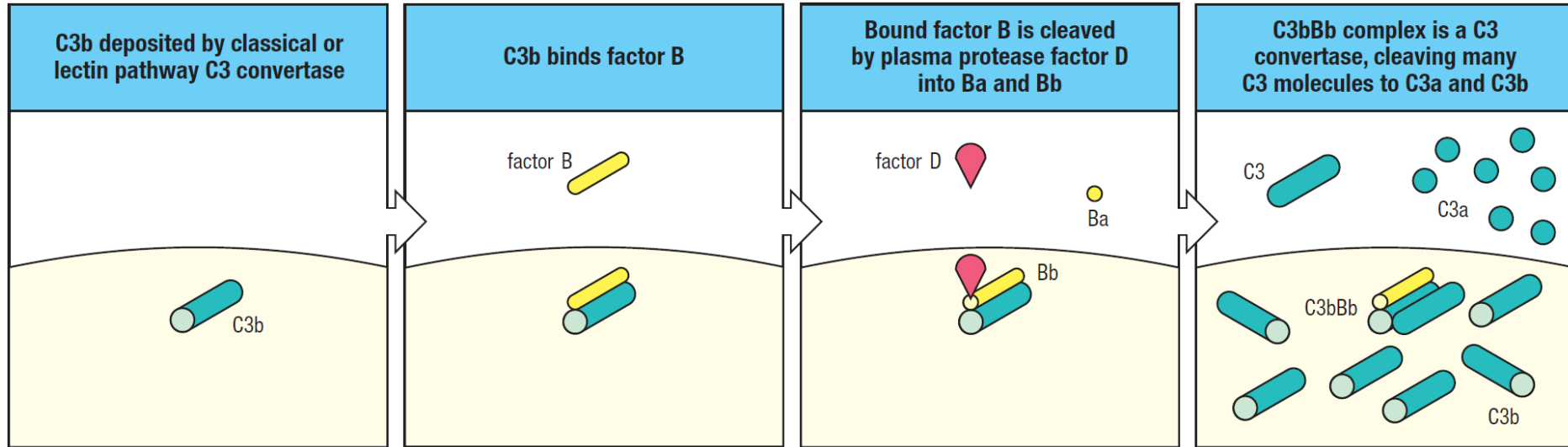
Classical pathway C3 convertase: ίδια με τη C3 convertase της οδού της λεκτίνης – πήρε το όνομα επειδή ανακαλύφθηκε πρώτη

Εναλλακτική οδός



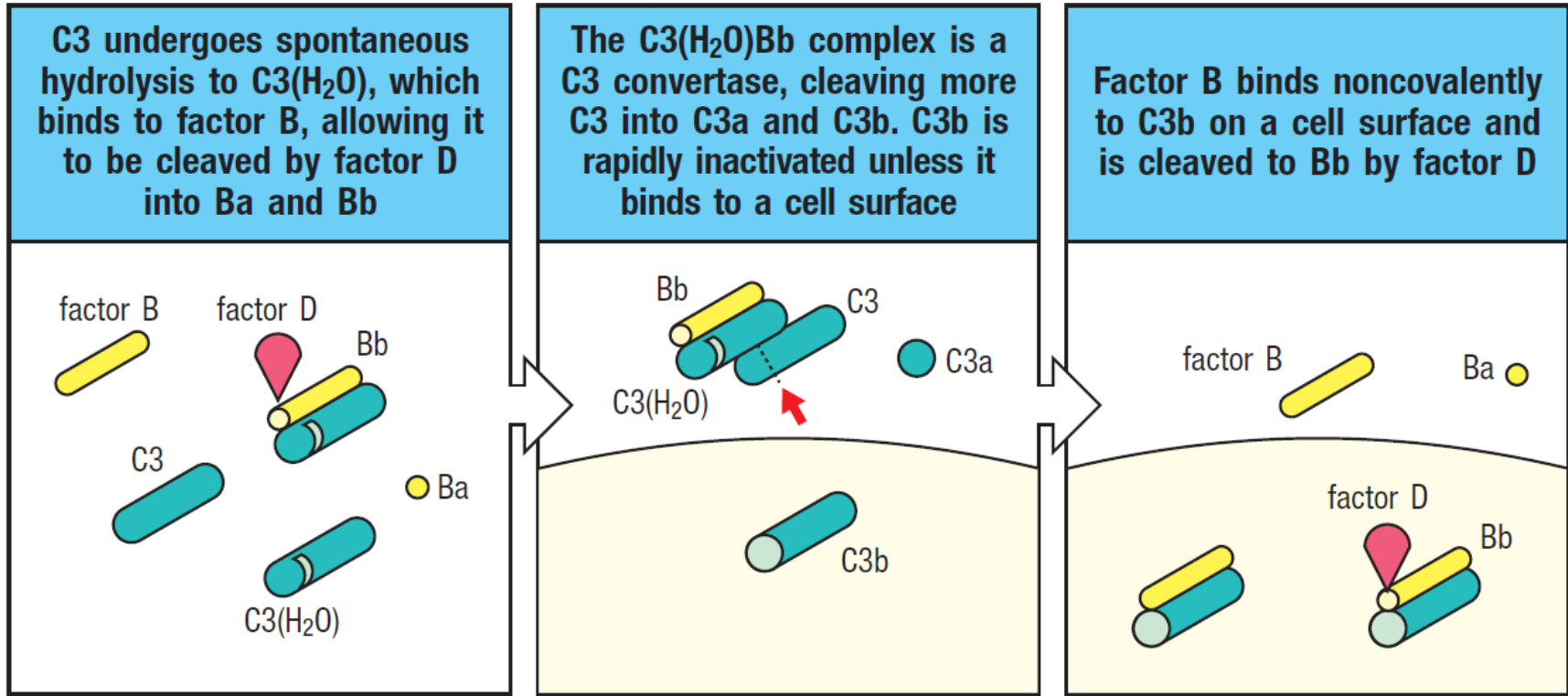
- Η αρχαιότερη εξελικτικά οδός – ονομάσθηκε «εναλλακτική» επειδή ανακαλύφθηκε δεύτερη.
- Κύριο χαρακτηριστικό: αυτόματη ενεργοποίηση
- Ενεργοποιείται με δύο τρόπους → **δύο διαφορετικές C3 convertases**
- Παραγωγή C3b από την οδό της λεκτίνης και την κλασική οδό: δημιουργία της C3 convertase της εναλλακτικής οδού **C3bBb (αντί C4b2a)**
 - Εξαιτίας αυτής της C3 convertase η εναλλακτική οδός μπορεί να λειτουργεί σαν ένας βρόγχος ενίσχυσης (θετικής ανάδρασης)
- Αυτόματη υδρόλυση (“tickover”) C3: ο C3 υπάρχει σε αφθονία στο πλάσμα και η αυτόματη υδρόλυση οδηγεί στην παραγωγή της βραχύβιας **C3 convertase υγρής φάσης [C3(H₂O)Bb]**
- Οι C3 convertases της εναλλακτικής οδού είναι βραχύβιες αλλά σταθεροποιούνται συνδεόμενες με προπερδίνη (παράγων P)

Ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού από την οδό της λεκτίνης ή την κλασσική οδό



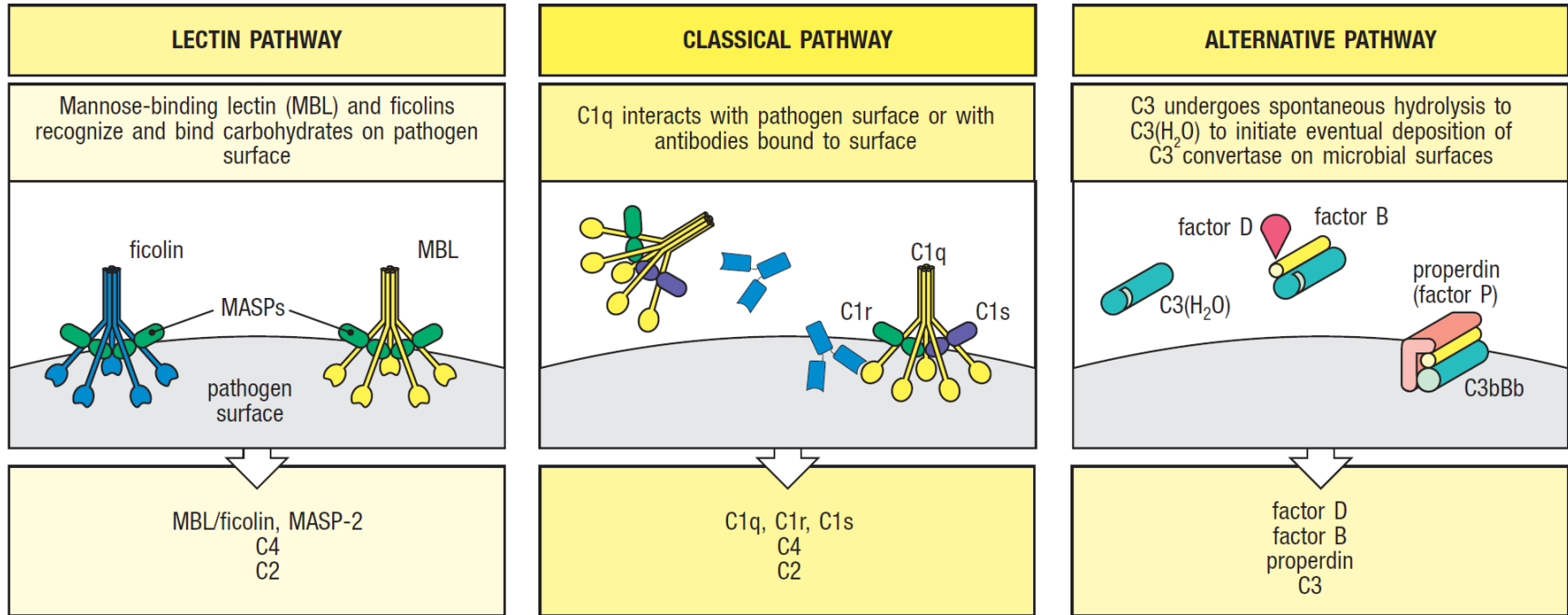
Από τη στιγμή που θα σχηματιστεί C3b, από οποιαδήποτε οδό, η εναλλακτική οδός δρα σαν βρόγχος ενίσχυσης και αυξάνει ταχύτατα τον αριθμό των μορίων C3b

Αυτόματη ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού

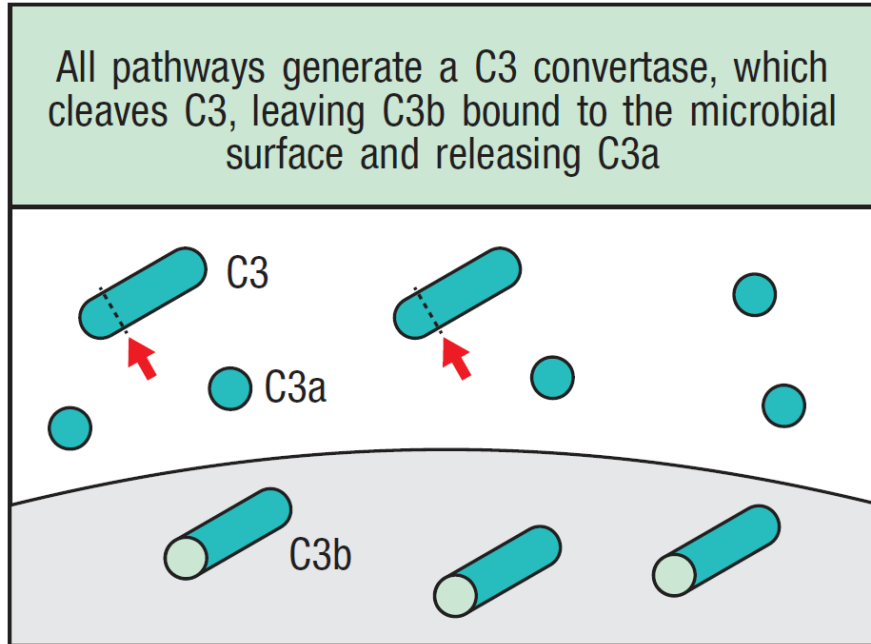


ΥΓΡΗ ΦΑΣΗ!

Σύνοψη της εκκίνησης των τριών οδών

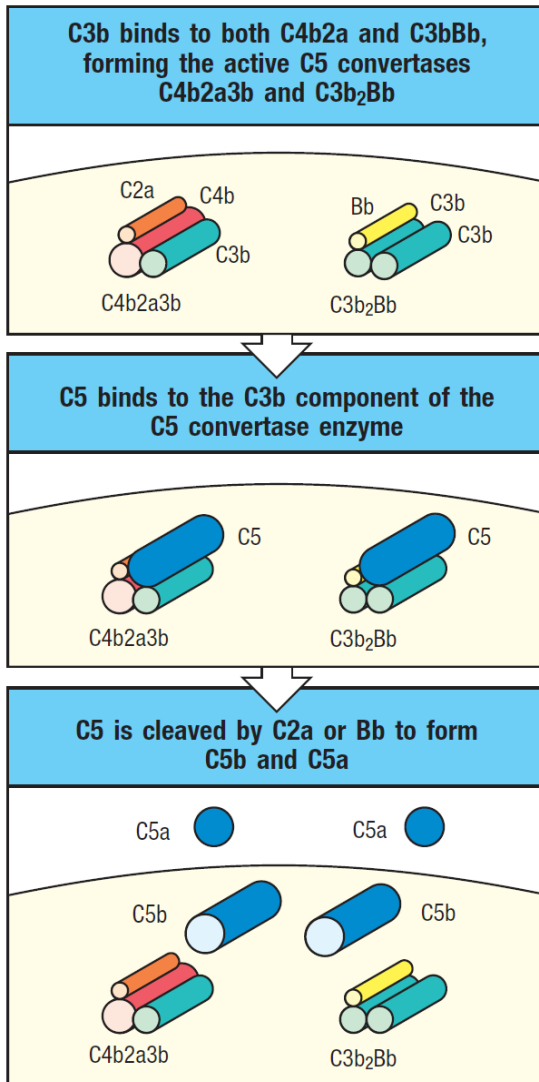


Η δράση της C3 convertase



- Η C3 convertase συνδέεται ομοιοπολικά με την επιφάνεια του παθογόνου
- Διασπά το C3 και παράγει μεγάλες ποσότητες **C3b (το κύριο δραστικό μόριο του συστήματος του συμπληρώματος)** και C3a το οποίο συνδέεται σε ειδικούς υποδοχείς και προάγει τη φλεγμονή
- Η διάσπαση του C3 είναι το κρίσιμο βήμα στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος και οδηγεί άμεσα ή έμμεσα σε όλες τις δραστικές (εκτελεστικές) λειτουργίες του συστήματος του συμπληρώματος

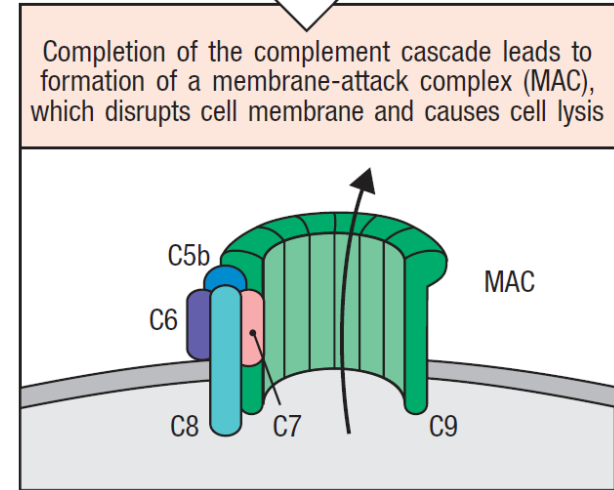
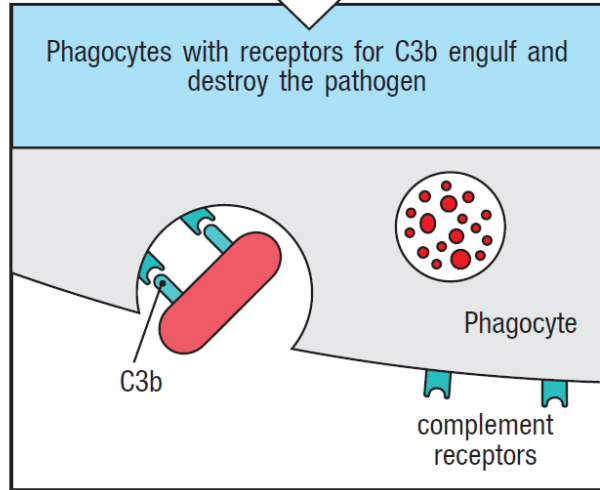
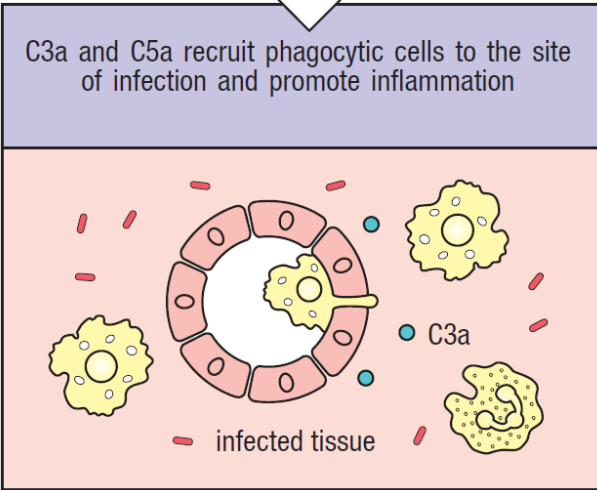
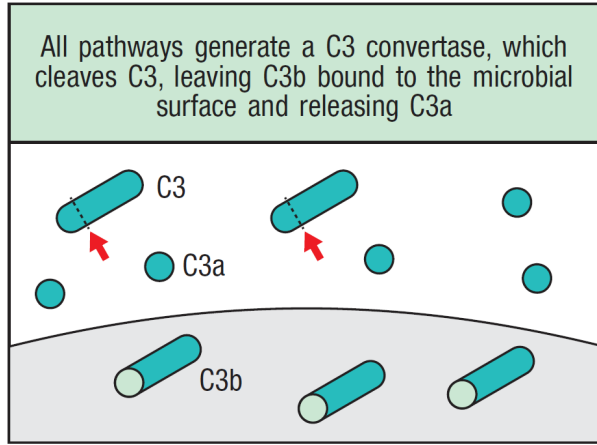
Οι δράσεις του C3b



- Συνδέεται ομοιοπολικά με την επιφάνεια των μικροοργανισμών και δρα σαν «οψωνίνη» - ο μικροοργανισμός καλύπτεται με C3b και είναι δυνατή η φαγοκυττάρωσή του από κύτταρα που φέρουν υποδοχείς συμπληρώματος
- Το C3b μπορεί να συνδεθεί με τη C3 convertase της κλασσικής και της εναλλακτικής οδού και να σχηματίσει το ένζυμο C5 convertase
 - Η C5 convertase διασπά το C5, απελευθερώνοντας το C5a, ένα εξαιρετικά προφλεγμονώδες πεπτίδιο και το C5b
 - Το C5b εκκινεί τα «όψιμα» στάδια της ενεργοποίησης του συμπληρώματος που καταλήγουν στην παραγωγή του συμπλέγματος προσβολής της μεμβράνης [Membrane attack complex (MAC)]



Αποτελέσματα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος

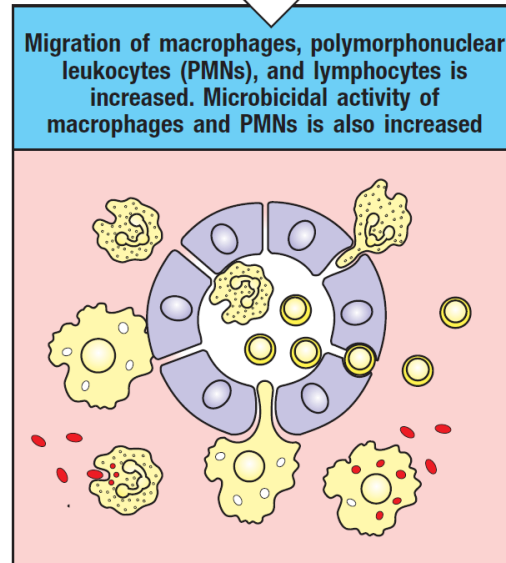
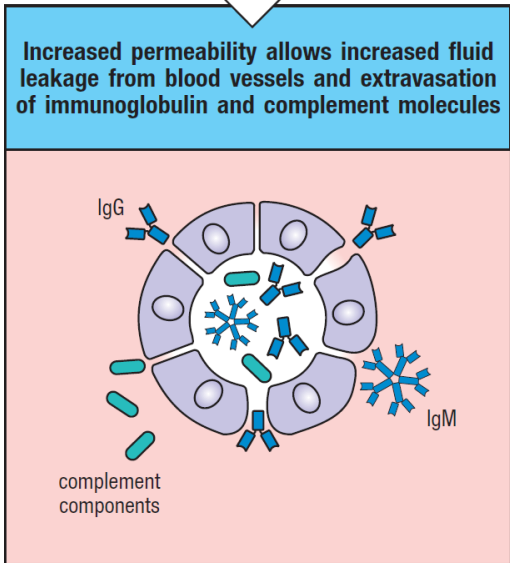
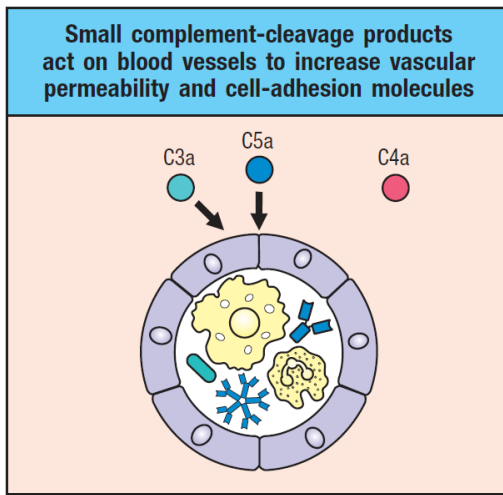


Τα προφλεγμονώδη μικρά κλάσματα του συμπληρώματος «Αναφυλατοξίνες»



- Τα κλάσματα C3a & C5a δρουν σε ειδικούς υποδοχείς στα ενδοθηλιακά και τα σιτευτικά κύτταρα και οδηγούν σε τοπική φλεγμονώδη απόκριση. Το C5a έχει την ισχυρότερη δράση
 - C4a: δεν έχει ισχυρή προφλεγμονώδη δράση και δεν έχει ειδικό υποδοχέα.
- Μεγάλες ποσότητες C3a & C5a δρουν συστηματικά και προκαλούν αναφυλακτική καταπληξία → **«αναφυλατοξίνες»**
 - Σύσπαση των λείων μυικών ινών, αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και επάγουν την έκφραση μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα
 - Ενεργοποιούν τα σιτευτικά κύτταρα στους υποβλεννογόνιους ιστούς, τα οποία απελευθερώνουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως η ισταμίνη και ο TNF-α.
 - Η συσσώρευση υγρού στους ιστούς επιταχύνει την κίνηση των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων προς τους επιχώριους λεμφαδένες και συνεισφέρει στην ταχύτερη έναρξη των αποκρίσεων της επίκτητης ανοσίας.

Η δράση των C3a & C5a



- Οι δράσεις των C3a & C5a επιστρατεύουν αντισώματα, συμπλήρωμα και φαγοκύτταρα στην εστία της λοίμωξης
 - Το C5a έχει άμεση δράση στα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα: αυξάνει την προσκολλητικότητα τους στο τοίχωμα των αγγείων, έχει χημειοτακτική δράση και αυξάνει τη φαγοκυτταρική τους ικανότητα και αυξάνει την έκφραση των υποδοχέων συμπληρώματος (CR1, CR3)

Υποδοχείς συμπληρώματος και φαγοκυττάρωση



- Η σημαντικότερη δράση του συμπληρώματος είναι η διευκόλυνση της πρόσληψης και καταστροφής των παθογόνων από τα φαγοκύτταρα.
- Τα φαγοκύτταρα φέρουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς συμπληρώματος (CR) που δεσμεύουν παθογόνα οψωνινοποιημένα από το C3b (και λιγότερο από το C4b).
 - Συνήθως για την έναρξη της φαγοκυττάρωσης απαιτείται και η ενεργοποίηση του φαγοκυττάρου, συνήθως από C5a
- Οι υποδοχείς εκφράζονται σε διάφορα είδη κυττάρων: μακροφάγα, μονοκύτταρα, B & T λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα, δενδριτικά κύτταρα
- CR1, CR2, CR3, CR4: συνδέονται με C3b το οποίο βρίσκεται στην επιφάνεια των παθογόνων
- Το C3b της επιφάνειας των παθογόνων διασπάται (από τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες παράγων P και MCP) σε μη δραστικά κλάσματα (iC3b).
 - Τα κλάσματα του C3b αναγνωρίζονται από διάφορους υποδοχείς: το C3dg αναγνωρίζεται από τον υποδοχέα CR2 που υπάρχει στα B λεμφοκύτταρα – με αυτό τον τρόπο τα B κύτταρα που αναγνωρίζουν το αντιγόνο του παθογόνου λαμβάνουν ισχυρότερο διεγερτικό σήμα → ισχυρότερη ανοτισωματική απόκριση



Υποδοχείς συμπληρώματος

| Receptor | Specificity | Functions | Cell types |
|--|--------------------|---|---|
| CR1 (CD35) | C3b, C4bi | Promotes C3b and C4b decay Stimulates phagocytosis (requires C5a) Erythrocyte transport of immune complexes | Erythrocytes, macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, B cells, FDC |
| CR2 (CD21) | C3d, iC3b, C3dg | Part of B-cell co-receptor Enhances B-cell response to antigens bearing C3d, iC3b, or C3dg Epstein-Barr virus receptor | B cells, FDC |
| CR3 (Mac-1) (CD11b: CD18) | iC3b | Stimulates phagocytosis | Macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, FDC |
| CR4 (gp150, 95) (CD11c: CD18) | iC3b | Stimulates phagocytosis | Macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, dendritic cells |
| CRlg | C3b, iC3b | Phagocytosis of circulating pathogens | Tissue-resident macrophages, hepatic sinusoid macrophages |
| C5a receptor (CD88) | C5a | Binding of C5a activates G protein | Neutrophils, macrophages, endothelial cells, mast cells |
| C5L2 (GPR77) | C5a | Decoy receptor, regulates C5a receptor | Neutrophils, macrophages |
| C3a receptor | C3a | Binding of C3a, activates G protein | Macrophages, endothelial cells, mast cells |

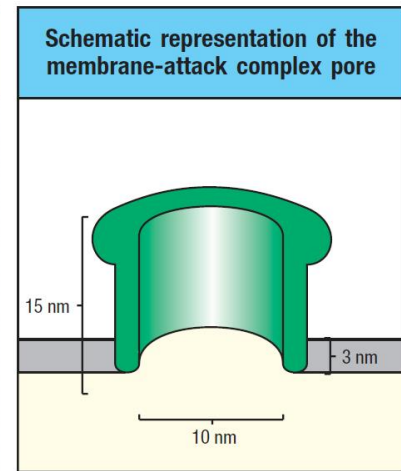
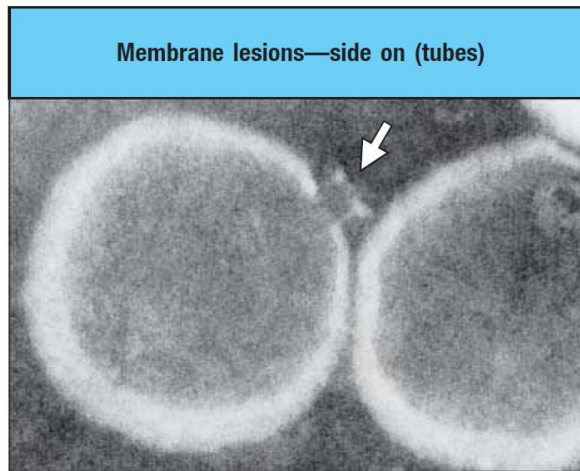
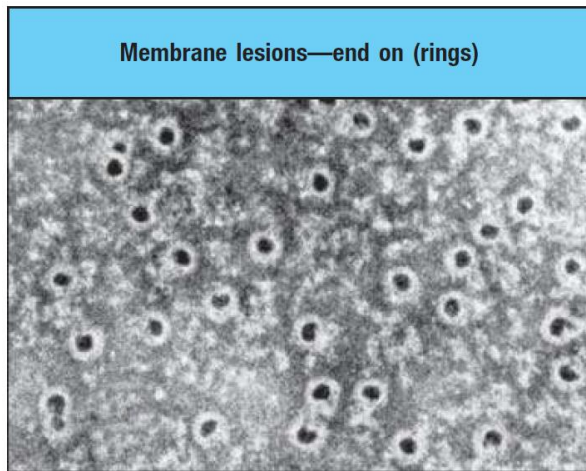
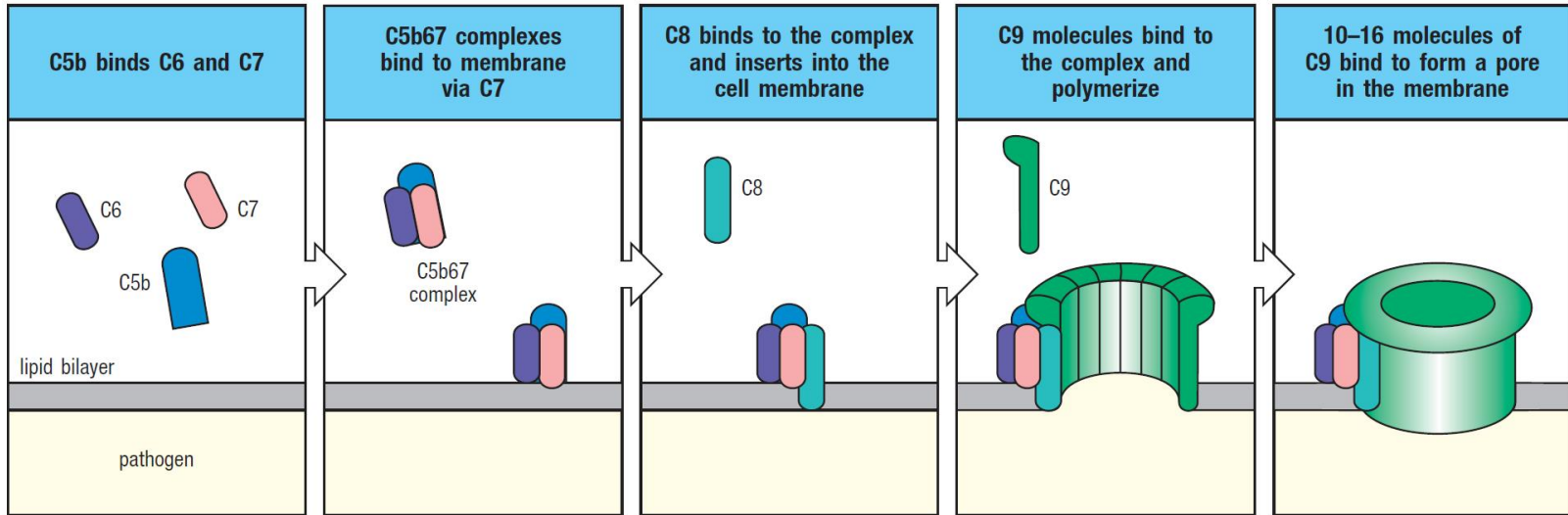
- Ειδικοί για συγκεκριμένα κλάσματα
- Οι περισσότεροι είναι ευοδωτικοί της φαγοκυττάρωσης
 - ΕΞΑΙΡΕΣΗ: C5L2 – υποδοχέας C5a με ρυθμιστικό ρόλο
- Μπορεί να συμμετέχουν στις αποκρίσεις της επίκτητης ανοσίας
 - CR2: συνυποδοχέας BCR

Σύμπλεγμα προσβολής μεμβράνης



- Διαδοχικές αντιδράσεις ενεργοποίησης C6-C9 που οδηγούν στο σχηματισμό ενός πόρου στη λιπιδιακή διπλοστοιβάδα του βακτηριακού κυττάρου
 - Θάνατος του κυττάρου μέσω κατάλυσης του πρηνούς (gradient) πρωτονίων
- Εκκίνηση: Διάσπαση του C5 από την C5 convertase και παραγωγή C5b
- Διαδοχική σύνδεση στο σύμπλεγμα του C6 και C7
- Το C7 υφίσταται αλλαγή διαμόρφωσης και εισέρχεται στη μεμβράνη του κυττάρου
- Με τον ίδιο τρόπο συνδέονται στο σύμπλεγμα το C8 το οποίο καταλύει τον πολυμερισμό 10-16 μορίων C9 και το σχηματισμό μιας σωληνοειδούς δομής (διάμετρος 10 μm) η οποία επιτρέπει την ελεύθερη διόδο ύδατος και διαλυμένων ουσιών.
 - Είσοδος ενζύμων (λυσοζύμη)
- Περιορισμένη βιολογική σημασία – Ελλείματα C5-C9 → λοιμώξεις από *Neisseria spp*

Το σύμπλεγμα προσβολής της μεμβράνης

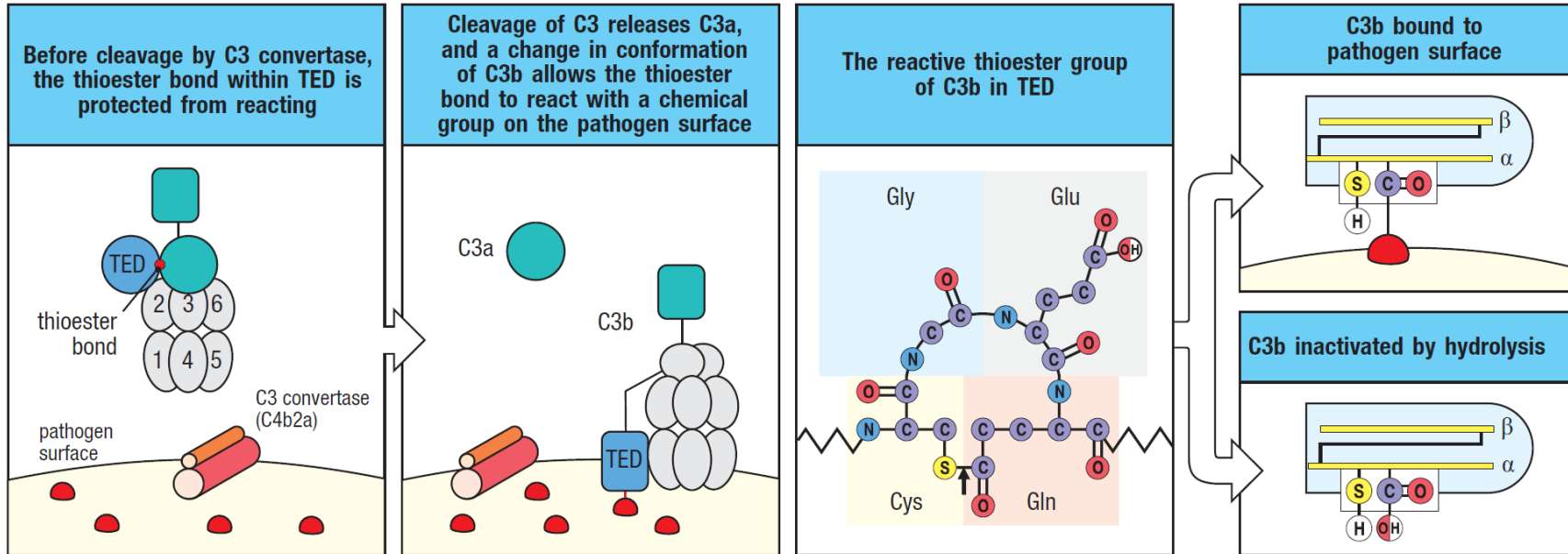


Το συμπλήρωμα κυκλοφορεί στο αίμα αλλά ενεργοποιείται σε επιφάνειες



- Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος ξεκινάει με τη σύνδεση των πρωτεϊνών του με την επιφάνεια του παθογόνου
- Είναι σημαντικό η ενεργοποίηση να περιορίζεται στην επιφάνεια του παθογόνου και να μην επεκτείνεται στο πλάσμα ή στην επιφάνεια των κυττάρων του ξενιστή
- Το C4b πρέπει να σχηματίσει ομοιοπολικό δεσμό με την επιφάνεια του παθογόνου
- Αν αυτό δεν συμβεί (εντός msec!) ο θειοεστερικός δεσμός υδρολύεται και το C4b απενεργοποιείται
- Έτσι εμποδίζεται η διάχυση του C4b μακριά από το παθογόνο και η προσκόλλησή του στα κύτταρα του ξενιστή.
- Τα επόμενα κλάσματα (C2, C3) **ενεργοποιούνται συνδεδεμένα στο C4b**, οπότε και εκείνα παραμένουν στην επιφάνεια του παθογόνου

Πως περιορίζεται η επέκταση της ενεργοποίησης του C3b



Ρυθμιστικοί μηχανισμοί της ενεργοποίησης του συμπληρώματος

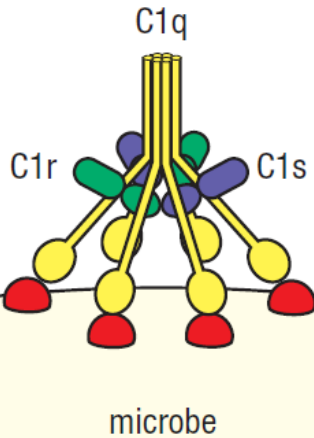


- Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος γίνεται πάνω σε βακτηριακές μεμβράνες και περιορίζεται σε αυτές
- Ρυθμιστικές πρωτεΐνες: διαλυτές ή μεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες περιορίζουν την αυτόματη ενεργοποίηση του καταρράκτη του συμπληρώματος.
- C1 inhibitor (C1INH): απομακρύνει τα C1r:C1s από το C1q και περιορίζει την ενεργοποίηση της κλασσικής οδού
 - Έλλειψη C1INH: κληρονομικό αγγειοίδημα
- Protectin (CD59): αναστέλλει τη δημιουργία του MAC

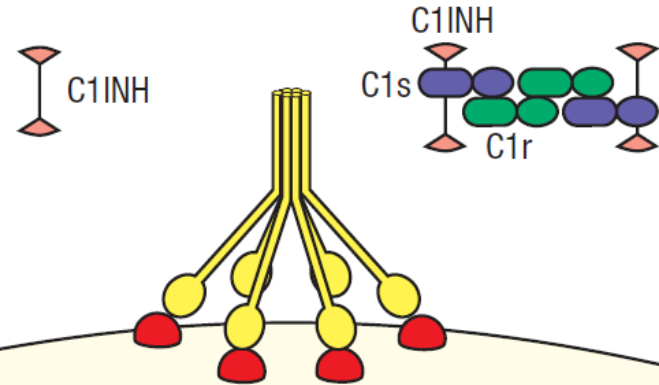
Ρύθμιση δραστηριότητας συμπληρώματος



C1q binding to antigen:antibody complexes activates C1r and C1s



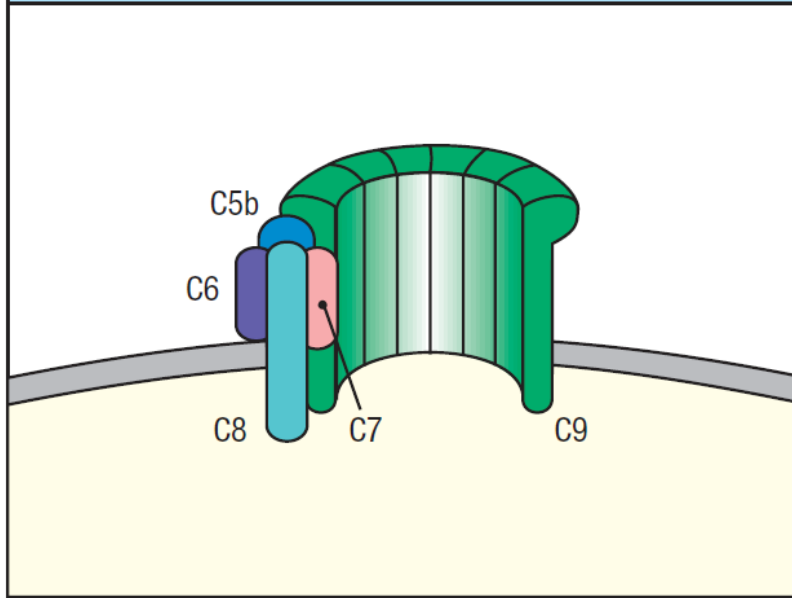
C1 inhibitor (C1INH) dissociates C1r and C1s from the active C1 complex



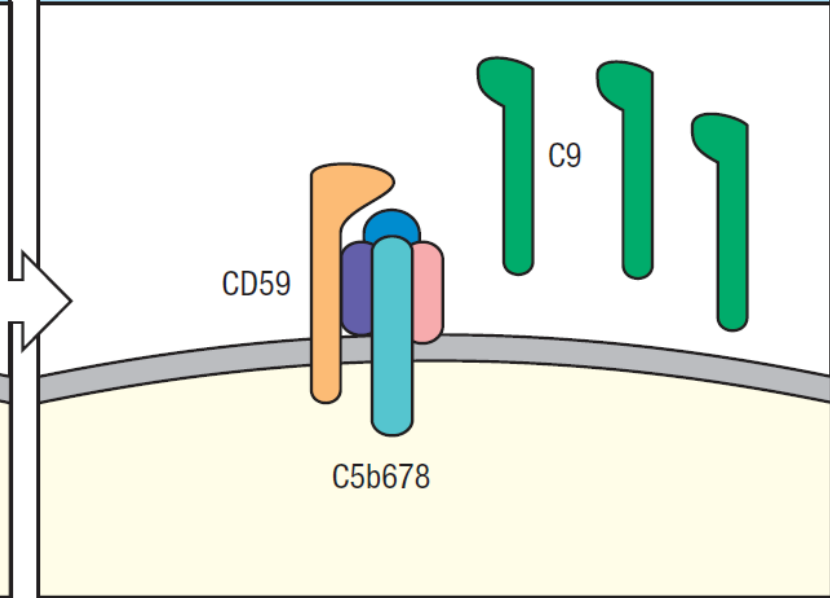
Ρύθμιση δραστηριότητας συμπληρώματος



The terminal components of complement form a membrane pore—the membrane-attack complex



CD59 prevents final assembly of the membrane-attack complex at the C8 to C9 stage



Regulatory proteins of the classical and alternative pathways



Soluble factors regulating complement

| Name | Ligand/ binding factor | Action | Pathology if defective |
|------------------------------|------------------------------------|--|--|
| C1 inhibitor (C1INH) | C1r, C1s (C1q); MASP-2 (MBL) | Displaces C1r/s and MASP-2, inhibiting activation of C1q and MBL | Hereditary angiodema |
| C4-binding protein (C4BP) | C4b | Displaces C2a; cofactor for C4b cleavage by factor I | |
| CPN1 (Carboxypeptidase N) | C3a, C5a | Inactivates C3a and C5a | |
| Factor H | C3b | Displaces Bb, cofactor for factor I | Age-related macular degeneration, atypical hemolytic uremic syndrome |
| Factor I | C3b, C4b | Serine protease, cleaves C3b and C4b | Low C3 levels, hemolytic uremic syndrome |
| Protein S | C5b67 complex | Inhibits MAC formation | |

Regulatory proteins of the classical and alternative pathways



Membrane-bound factors regulating complement

| Name | Ligand/ binding factor | Action | Pathology if defective |
|---|---------------------------|--|---|
| CR1g | C3b, iC3b, C3c | Inhibits activation of alternative pathway | Increased susceptibility to blood-borne infections |
| Complement receptor 1 (CR1, CD35) | C3b, C4b | Cofactor for factor I; displaces Bb from C3b, and C2a from C4b | |
| Decay-accelerating factor (DAF, CD55) | C3 convertase | Displaces Bb and C2a from C3b and C4b, respectively | Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria |
| Membrane-cofactor protein (MCP, CD46) | C3b, C4b | Cofactor for factor I | Atypical hemolytic anemia |
| Protectin (CD59) | C8 | Inhibits MAC formation | Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria |

Ο ρόλος του συμπληρώματος στην επίκτητη ανοσία



- Το συμπλήρωμα δρα κυρίως στα πλαίσια της φυσικής ανοσίας αλλά επιδρά και την επίκτητη ανοσία
- Η οψωνινοποίηση των παθογόνων από το συμπλήρωμα διευκολύνει την πρόσληψή τους από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, τα οποία φέρουν υποδοχείς συμπληρώματος. Έτσι ευοδώνεται η παρουσίαση των αντιγόνων στα T κύτταρα
- Τα B λεμφοκύτταρα φέρουν υποδοχείς συμπληρώματος. Η δέσμευση των υποδοχέων αυτών ενισχύει τις αντισωματικές αποκρίσεις των B κυττάρων
- Ορισμένα από τα κλάσματα του συμπληρώματος μπορούν να επηρεάσουν την παραγωγή κυτταροκινών από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, επομένως να επιδράσουν στην κατεύθυνση και την έκταση της απόκρισης της επίκτητης ανοσίας.

Εργαστηριακός προσδιορισμός



- Μεθοδολογία:
 - Αντιγονικός προσδιορισμός: ανοσολογικές μέθοδοι για C3 & C4
 - Λειτουργικός προσδιορισμός: ολικό αιμολυτικό συμπλήρωμα (CH50).
- CH50: ικανότητα ορού να λύει ερυθροκύτταρα προβάτου ευαισθητοποιημένα με IgM
 - Ελέγχονται όλα τα κλάσματα της κλασσικής οδού (C1-C9). Δεν ελέγχει πλήρως την εναλλακτική οδό (Factor B, properdin)
 - Μέθοδος screening
- C3 & C4: Νεφελομετρία
 - Λειτουργικές δοκιμασίες συγκεκριμένων πρωτεϊνών: σε ειδικά εργαστήρια – συνήθως δεν χρειάζονται καθώς ο αντιγονικός προσδιορισμός συμβαδίζει με τη λειτουργική ικανότητα
 - Πρέπει να ακολουθούν την εύρεση χαμηλού CH50

CH50



- Τιμή: το αντίστροφο της αραίωσης που λύει το 50% των ερυθροκυττάρων
 - CH50=200 u/mL → ο ορός του εξετασθέντος λύει το 50% των ερυθροκυττάρων σε αραίωση 1:200
 - Ειδικές συνθήκες χειρισμού δείγματος: οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος είναι ασταθείς – άμεση εξέταση ή φυλάξη σε κατάψυξη
- Χαμηλά επίπεδα:
 - Πολύ χαμηλά ή μηδενικά: Συγγενής έλλειψη ενός ή περισσότερων πρωτεϊνών του συμπληρώματος. Πχ παιδιά με υποτροπιάζουσες βακτηριακές λοιμώξεις και CH50<10 u/mL
 - Χαμηλά επίπεδα: κατανάλωση συμπληρώματος λόγω παραγωγής ανοσοσυμπλεγμάτων (παρουσία αυτοαντισώματος). Πχ SLE, κρουσφαιριναιμία
- Υψηλά επίπεδα:
 - Μέρος της αντίδρασης οξείας φάσης – εκτός από αυτό οι υψηλές τιμές δεν έχουν ιδιαίτερη σημασία

Διαταραχές C3 & C4



- Οι συχνότερα προσδιοριζόμενες μεμονωμένες πρωτεΐνες του συμπληρώματος.
- C3 ↓ (ή N), C4 ↓: ενεργοποίηση της κλασικής οδού
 - Νοσήματα από ανοσοσυμπλέγματα: SLE, κρουσφαιριναιμία
 - Το C3 μπορεί να μειώνεται αλλά να παραμένει σε φυσιολογικά επίπεδα
- C3 ↓, C4N: ενεργοποίηση εναλλακτικής οδού
 - Βακτηριακές λοιμώξεις
 - Μεμβρανοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα (C3 νεφριτιδικός παράγοντας)
 - Ένδεια παράγοντα H
- C3N, C4 ↓:
 - Συγγενής έλλειψη C4 (C4 null alleles)
 - Κληρονομικό αγγειοίδημα



TABLE 44-4 PATHOLOGIC CONDITIONS ASSOCIATED WITH COMPLEMENT ACTIVATION

Examples of diseases in which complement activation contributes to the immunopathology:

- Atypical hemolytic uremic syndrome^{*†}
- Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[†]
- Age-related macular degeneration^{*†}
- Membranoproliferative glomerulonephritis (types 1, 2, and 3)^{††}
- Myasthenia gravis[‡]
- Bullous pemphigoid[‡]
- Systemic lupus erythematosus/antiphospholipid syndrome[‡]
- Rheumatoid arthritis[‡]
- Immune hemolytic anemias[‡]
- Immune vasculitis (the ANCA-positive syndromes)[‡]
- Ischemia reperfusion injury^{*†}
- Allotransplantation[‡]
- Serum sickness[‡]
- Exposures to foreign materials (e.g., membranes, nanoparticles)^{*}

*Injury, ischemia, trauma, degeneration, or foreign body is the trigger (innate immune activation).

†Lack of adequate regulation contributes to disease pathogenesis.

‡Antibody dependent activation of the complement system (adaptive humoral immune activation).

ANCA = antineutrophil cytoplasmic antibody.

Συγγενή ελλείμματα συμπληρώματος



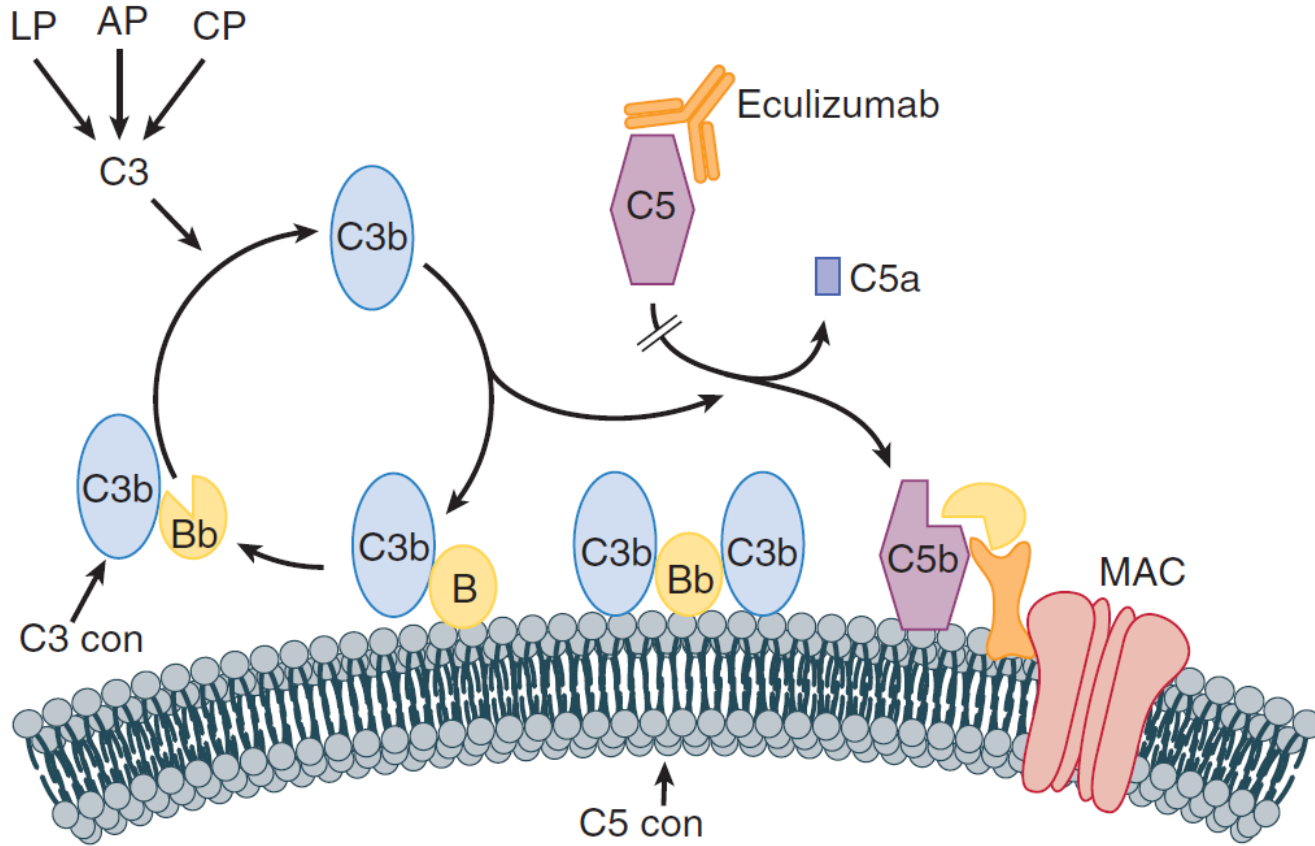
- Συνήθως υπάρχει ετεροζυγωτία – οι ομοζυγώτες είναι σπάνιοι
- Ελλείμματα στα πρώιμα κλάσματα της κλασσικής οδού (C1q, C1r, C1s, C4, & C2) οδηγούν σε προδιάθεση για αυτοάνοσα νοσήματα, κυρίως SLE.
 - Μπορεί επίσης να παρατηρηθούν και υποτροπιάζουσες λοιμώξεις
- Ελλείμματα των όψιμων κλασμάτων του συμπληρώματος της κλασσικής οδού (C3-C9) προδιαθέτουν σε υποτροπιάζουσες λοιμώξεις ειδικά από *S. pneumoniae*, *H. influenza* (έλλειψη C3) και λοιμώξεις από *Neisseria spp* (έλλειψη C5, C6, C7, C8, ή C9)
- Ελλείμματα ρυθμιστικών πρωτεϊνών – ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση του συμπληρώματος
 - Πλήρης έλλειψη οδηγεί σε κατανάλωση πολλαπλών κλασμάτων εντός της ίδιας οδού
 - Τα μειωμένα επίπεδα οδηγούν σε έντονη τοπική φλεγμονή ή συσσώρευση κυτταρικών υπολειμμάτων.
 - Κληρονομικό αγγειοίδημα, άτυπο αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο, γεροντική εκφύλιση ωχράς κηλίδας

Διαταραχές ρυθμιστικών πρωτεϊνών του συμπληρώματος



- Κληρονομικό αγγειοίδημα: ένδεια του C1INH με αποτέλεσμα υπερβολική παραγωγή C2b που οδηγεί σε παραγωγή C2 κινίνης.
 - Επίσης υπάρχει και υπερβολική παραγωγή βραδυκινίνης εξαιτίας μη αναστολής της καλλικρεΐνης (ελέγχεται και αυτή από τον C1INH)
- aHUS: Διαταραχή σε ρυθμιστικές πρωτεΐνες της εναλλακτικής οδού [factor H, factor I, MCP (CD46)] με αποτέλεσμα ενδοθηλιακή βλάβη
- Γεροντική εκφυλιση ωχράς κηλίδας: Διαταραχές στους παράγοντες H και I οδηγούν σε έντονη τοπική φλεγμονή.
- Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία: διαταραχή του μορίου GPI το οποίο είναι υπεύθυνο για τη σύνδεση ρυθμιστικών πρωτεϊνών του συμπληρώματος (DAF, CD59) – ενεργοποίηση συμπληρώματος.

Μηχανισμός δράσης Eculizumab



Μηχανισμοί διαφυγής των παθογόνων από το συμπλήρωμα



- Τα παθογόνα έχουν εξελίξει μηχανισμούς διαφυγής από τη δράση του συμπληρώματος
- Σύνδεση ρυθμιστικών μορίων του συμπληρώματος στις επιφάνειές τους
 - *Neisseria meningitidis*: παράγει factor H binding protein και PorA, αδρανοποιεί το C3b και αναστέλλει την ενεργοποίηση του συμπληρώματος
- Έκκριση πρωτεϊνών που αναστέλλουν άμεσα στοιχεία του συμπληρώματος
 - *Staphylococcus aureus*: παράγει Spa – συνδέεται με το κλάσμα Fc των ανοσοφαιρινών και εμποδίζει την ενεργοποίηση του C1.
 - *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase (SAK) – διασπά τις ανοσοσφαιρίνες που έχουν προσκολληθεί στη μεμβράνη του παθογόνου
 - *Staphylococcus aureus*: Staphylococcal complement inhibitor (SCIN) – δεσμεύει την C3 convertase της κλασσικής και της εναλλακτικής οδού.

Πρωτεΐνες διαφυγής συμπληρώματος



| Pathogen | Evasion molecule | Host target | Mechanism of action |
|---------------------------------|---------------------------------------|-------------|-----------------------|
| Membrane proteins | | | |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | Factor H binding protein (fHbp) | Factor H | Inactivates bound C3b |
| <i>Borrelia burgdorferi</i> | Outer surface protein E (OspE) | Factor H | Inactivates bound C3b |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | Pneumococcal surface protein C (PspC) | Factor H | Inactivates bound C3b |

Πρωτεΐνες διαφυγής συμπληρώματος



| Pathogen | Evasion molecule | Host target | Mechanism of action |
|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|---|
| Secreted proteins | | | |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | PorA | C4BP | Inactivates bound C3b |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Clumping factor A (ClfA) | Factor I | Inactivates bound C3b |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Staphylococcus protein A (Spa) | Immunoglobulin | Binds to Fc regions and interferes with C1 activation |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Staphylokinase (SAK) | Immunoglobulin | Cleaves immunoglobulins |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Complement inhibitor (SCIN) | C3 convertase (C3b2a, C3bBb) | Inhibition of convertase activity |



ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ !

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ MCQ



1. Regarding the complement pathway, which one of the following is the most accurate?

- (A) C3 convertase protects normal cells from lysis by complement.
- (B) C3a is a decay-accelerating factor and causes the rapid decay and death of bacteria.
- (C) In general, gram-positive bacteria are more likely to be killed by complement than gram-negative bacteria.
- (D) The membrane attack complex is formed as a result of activation of the classic pathway but not by activation of the alternative pathway.
- (E) The first time a person is exposed to a microorganism, the alternative pathway of complement is more likely to be activated than the classic pathway.



2. Of the following complement components, which one is the most important opsonin?

- (A) C1
- (B) C3a
- (C) C3b
- (D) C5a
- (E) C5b



3. Of the following complement components, which one is the most potent in attracting neutrophils to the site of infection (i.e., acting as a chemokine)?

(A) C1

(B) C2

(C) C3b

(D) C5a

(E) Mannan-binding lectin



4. Of the following, which one is the most important function of the complex formed by complement components C5b,6,7,8,9?

- (A) To enhance antibody production
- (B) To inhibit immune complex formation
- (C) To opsonize viruses
- (D) To perforate bacterial cell membranes
- (E) To release histamine from mast cells



5. A deficiency of which one of the following complement components predisposes to bacteremia caused by members of the genus *Neisseria*?

(A) C1

(B) C3b

(C) C5a

(D) C5b

(E) C5b,6,7,8,9



6. Your patient is a 20-year-old woman who complains of swellings on her arms and legs and a feeling of fullness in her throat that makes it difficult to breath. The swellings are not red, hot, or tender. You suspect she may have angioedema caused by a complement abnormality. Of the following, which one is the most likely explanation?

- (A) She has too little C1 inhibitor.
- (B) She has too little C3b.
- (C) She has too little factor B.
- (D) She has too much C5a.
- (E) She has too much C9.