

# ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ

## ΠΜΣ «Λοιμωξιολογία»

### 25 Φεβρουαρίου 2022

Μ. Σαμάκος

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;

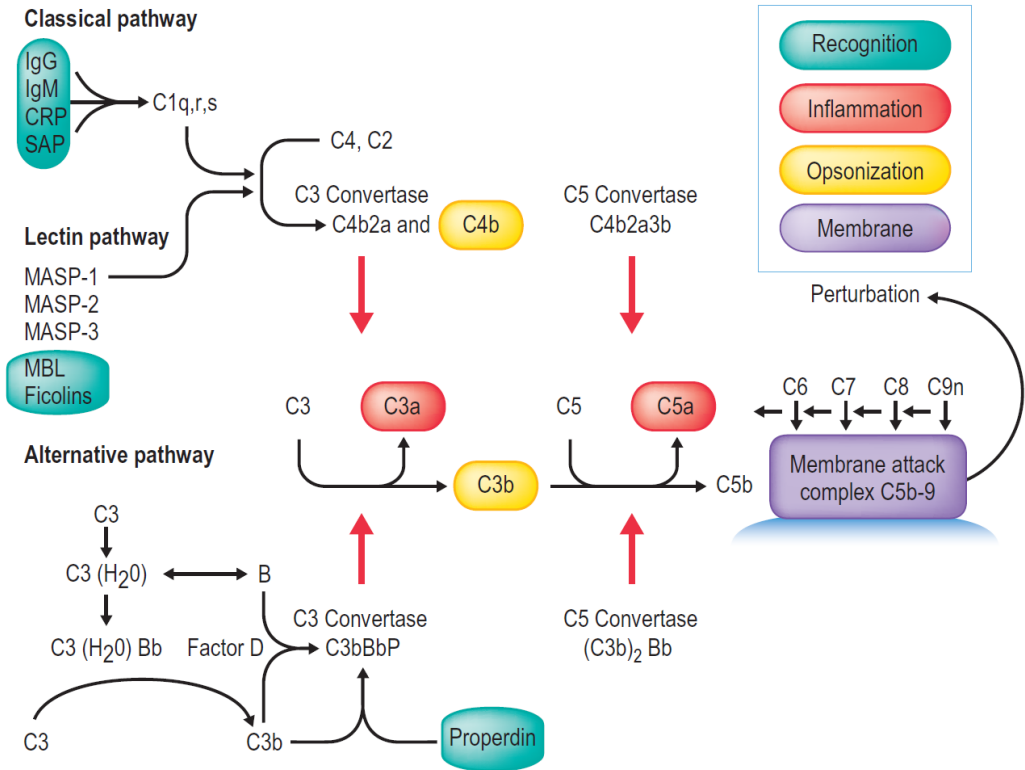


- A. Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία
- B. Κληρονομικό αγγειοίδημα
- C. Υποτροπιάζουσες λοιμώξεις από *Neisseria spp*
- D. «Κλασσική» οζώδης πολυαρτηρίτιδα
- E. Εκφύλιση ωχράς κηλίδας σχετιζόμενη με την ηλικία

# Τι είναι το συμπλήρωμα;



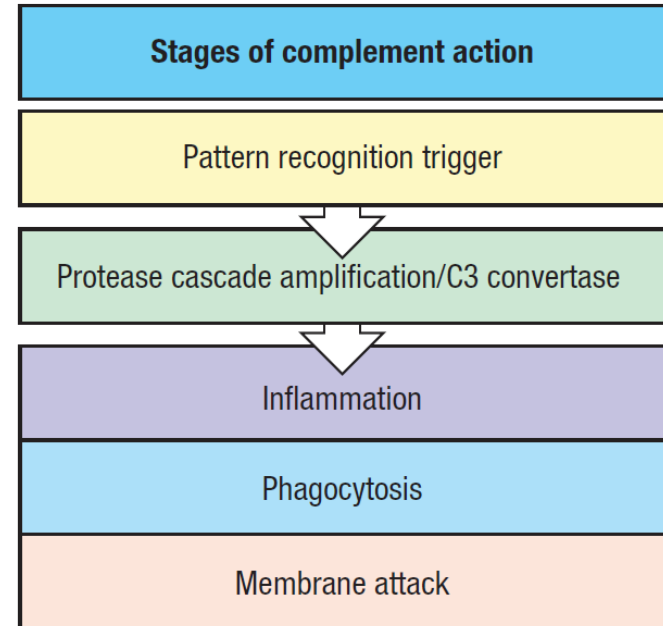
- Ανακαλύφθηκε το 1890 από τον Jules Bordet σαν μια θερμοευαίσθητη ουσία του φυσιολογικού πλάσματος της οποίας η δράση «συμπλήρωνε» τη βακτηριοκτόνο ικανότητα του ορού.
- Ένα σύνολο >30 διαλυτών πρωτεϊνών που υπάρχουν στο αίμα και άλλα σωματικά υγρά.
- Ενεργοποιείται με ένα «καταρράκτη» διαδοχικών αντιδράσεων «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 μέρος του συστήματος της φυσικής ανοσίας που υπάρχει στο αίμα («ο φύλακας του ενδαγγειακού χώρου»)
- Συμμετέχει στο δραστικό σκέλος του συστήματος της χυμικής ανοσίας (IgM & IgG)
- Λειτουργεί σαν φυσικό ανοσοενισχυτικό (adjuvant) και «καθοδηγεί» τις αποκρίσεις της επίκτητης ανοσίας
- Οι περισσότερες πρωτεΐνες του συμπληρώματος συντίθενται από το ήπαρ
- 3<sup>η</sup> σε συγκέντρωση πρωτεΐνη στο αίμα μετά τις ανοσοσφαιρίνες και τη λευκωματίνη

# Τα κύρια χαρακτηριστικά του συμπληρώματος



- Ανακυκλώνεται συνεχώς (το κλάσμα C3 ανακυκλώνεται με ρυθμό 1 - 2%/ώρα)
- Έχει βρόγχους ενίσχυσης (ή θετικής ανάδρασης) που απαιτούν στενή ρύθμιση
- Εναποτίθεται σε βακτήρια και ιούς, τα οψωνινοποιεί και τα λύει σε δευτερόλεπτα
- Σημαντικός ρόλος στην απομάκρυνση κυτταρικών υπολειμμάτων
- Έλλειψη ενεργοποιητικών κλασμάτων του συμπληρώματος οδηγεί σε βακτηριακές λοιμώξεις ή αυτοανοσία
- Έλλειψη ρυθμιστικών κλασμάτων του συμπληρώματος οδηγεί σε ιστική βλάβη ή ιστική εκφύλιση





# Το σύστημα του συμπληρώματος

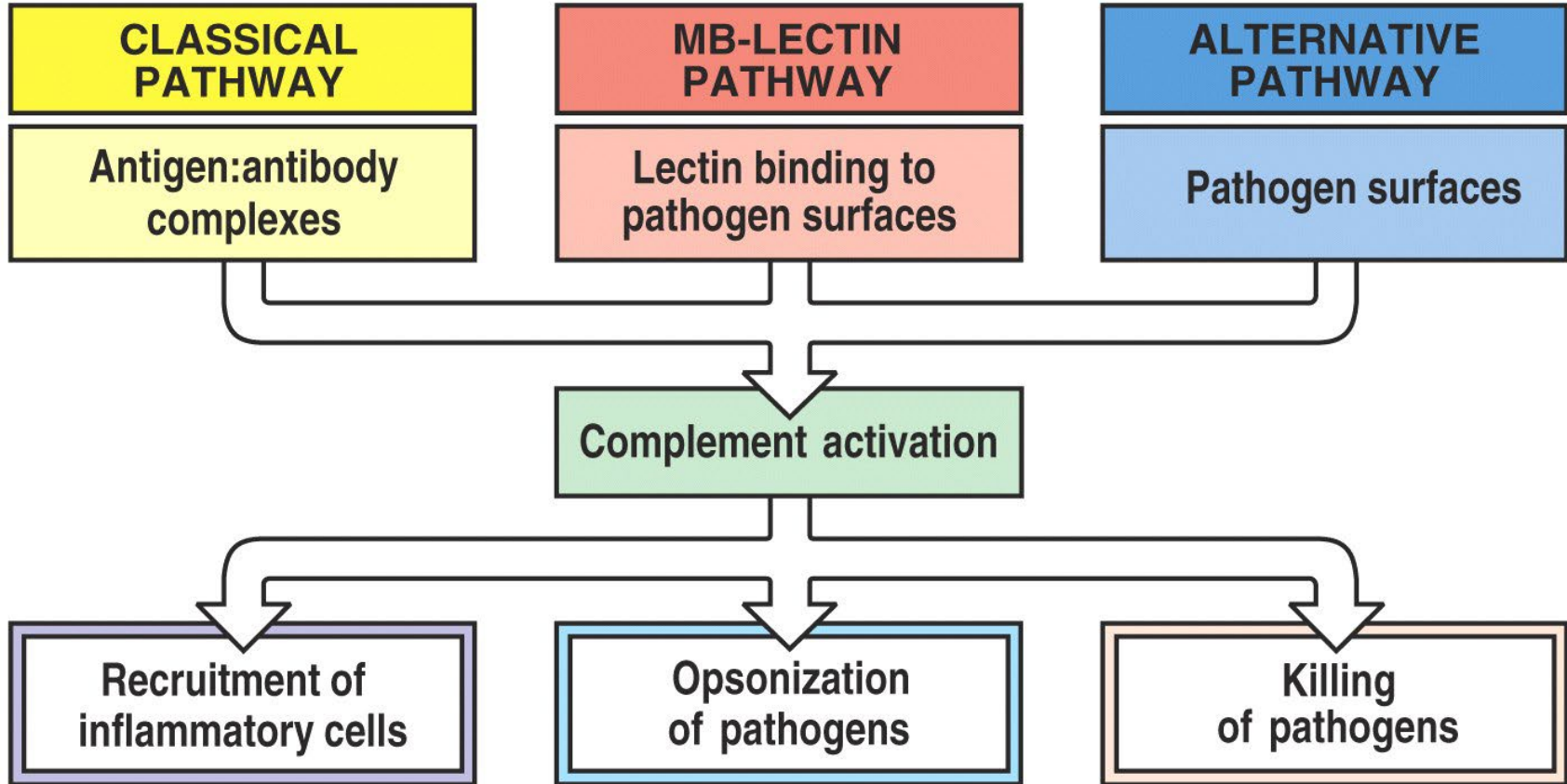


Figure 2-18 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ



- Μπορεί να προκαλέσει σύγχυση επειδή τα κλάσματα του συμπληρώματος ονοματίσθηκαν με τη σειρά που ανακαλύφθηκαν, επομένως υπάρχουν κάποιες «αντιφάσεις»
- Κλασσική 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



**TABLE 21.1 Proteins of the Complement System**

Component	Function
<b>Classical Pathway (CP)</b>	
C1q	Part of C1. Binds to immunoglobulin M (IgM), IgG, pentraxins, and ligands on apoptotic cells to initiate CP activation.
C1r	Part of C1. After auto-activation, cleaves C1s.
C1s	Part of C1. After activation by C1r, cleaves C4 and C2.
C4	Cleaved by C1s to form C4b, part of the CP and LP C3 and C5 convertases. An opsonin.*
C2	Binds to C4b and then cleaved by C1s to form C2a; enzymatic component of the CP and LP C3 and C5 convertases. C2b is released. <sup>1A</sup>
<b>Lectin Pathway (LP)</b>	
MBL	Recognition component for LP activation. Binds to mannose-rich glycans through C-type lectin domains.
MASP-1 and MASP-3	Associated with MBL and ficolins. Cleaves C2, but not C4. Cleaves profactor D.
MASP-2	Associated with MBL and ficolins. Cleaves C2 and C4.
Ficolins 1–3	Recognition components for LP activation. Bind to glycans through fibrinogen-like recognition domains.
<b>Alternative Pathway (AP)</b>	
C3	Cleaved by C3 convertases to form C3b and C3a. C3b is opsonic. A small fraction becomes part of the AP C3 convertase and part of all C5 convertases. C3b is further cleaved to opsonic iC3b and the CR2 ligands C3dg and C3d. C3a is an anaphylatoxin.
Factor B	Binds to C3b and then cleaved by factor D to form Bb, the enzymatic component of the AP C3 and C5 convertases. Ba is released. <sup>1o</sup>
Factor D	Cleaves factor B bound to C3b to form AP convertases.
Properdin	Stabilizes AP convertases. Binds to microbial ligands to initiate AP activation.
<b>Membrane Attack Complex (MAC)</b>	
C5	Cleaved by C5 convertases to form C5b and C5a. C5b initiates MAC formation. C5a is an anaphylatoxin.
C6	Part of the MAC. Binds membranes.
C7	Part of the MAC. Binds membranes.
C8	Part of the MAC. Initiates pore formation.
C9	Part of the MAC. Polymerizes to form lytic pores.
<b>Soluble Regulatory Proteins</b>	
C1-INH	Serine protease inhibitor of C1r, C1s, MASP-1, MASP-2, kallikrein, factor XII.
C4BP	Binds C4b. Decay accelerating and cofactor activities for C4b-containing convertases.
FH	Binds C3b and polyanions. Has decay-accelerating and cofactor activities for C3b-containing convertases.
FI	Cleaves C3b and C4b bound to a cofactor protein.
Vitronectin	Binds C5b-7, prevents membrane insertion and lysis.
Clusterin	Binds C8 and C9, prevents MAC assembly and lysis.
<b>Membrane Regulatory Proteins</b>	
CD55 (DAF)	Accelerates decay of C3 and C5 convertases.
CD46 (MCP)	Cofactor for FI cleavage of C3b and C4b.
CD59	Binds to C8 and C9, prevents MAC assembly and lysis.
Receptors	
CD35 (CR1)	Opsonic receptor for C3b and C4b. Has decay accelerating and cofactor activity for C4b and C3b and convertases containing these fragments.
CD21 (CR2)	Receptor for C3dg and C3d. Enhances B cell activation.
CD11b/CD18 (CR3)	Opsonic receptor for iC3b. Leukocyte adhesion integrin.
CD11c/CD18 (CR4)	Opsonic receptor for iC3b. Leukocyte adhesion integrin.
CR1g	Opsonic receptor for iC3b and C3c. Inhibits C5 convertases.
C5aR (CD88)	Proinflammatory and chemotactic receptor for C5a.
C5L2	Receptor for C5a. Function not fully defined.
C3aR	Proinflammatory and chemotactic receptor for C3a.

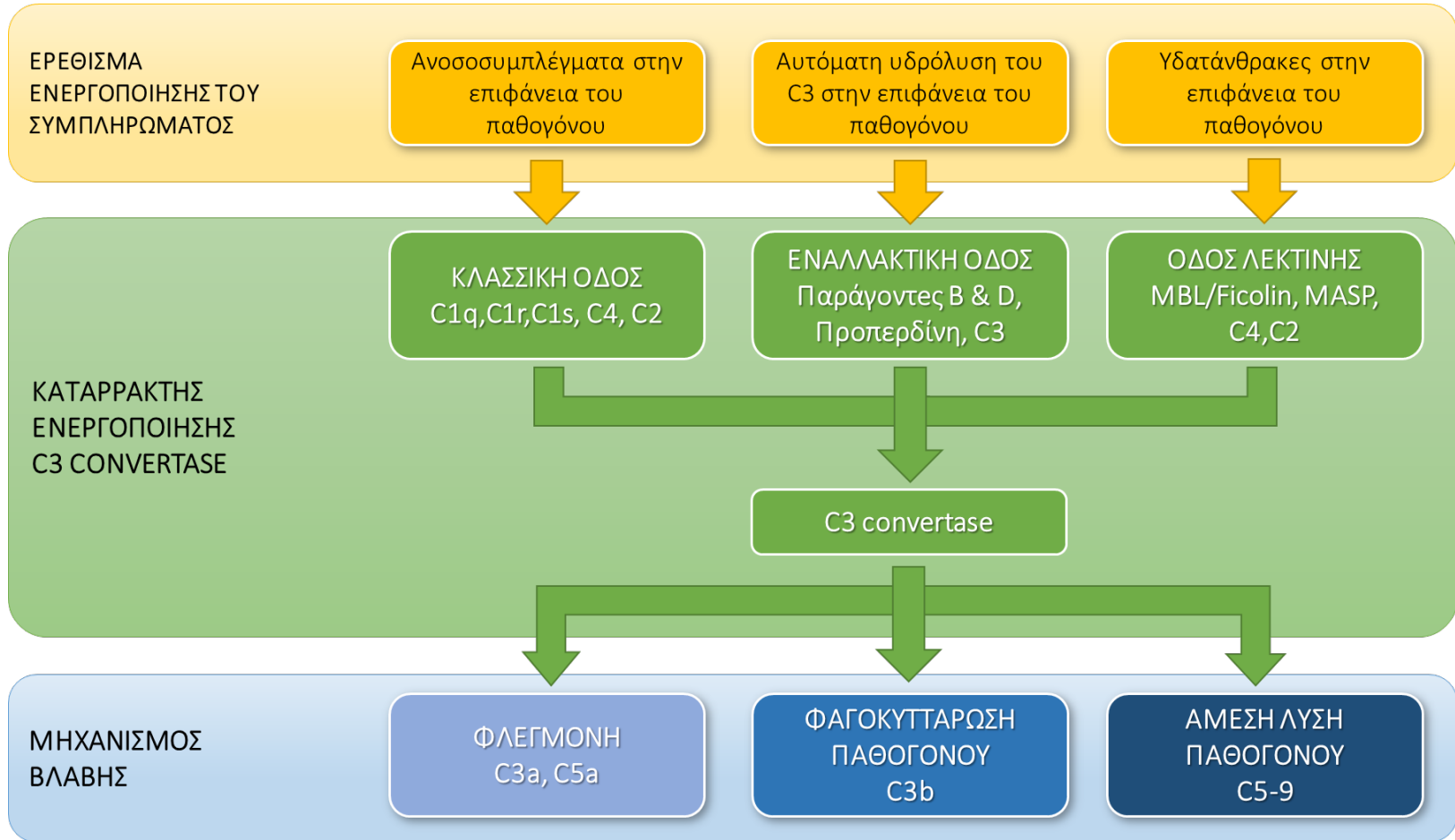
# Οι τρεις οδοί του συμπληρώματος



- 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

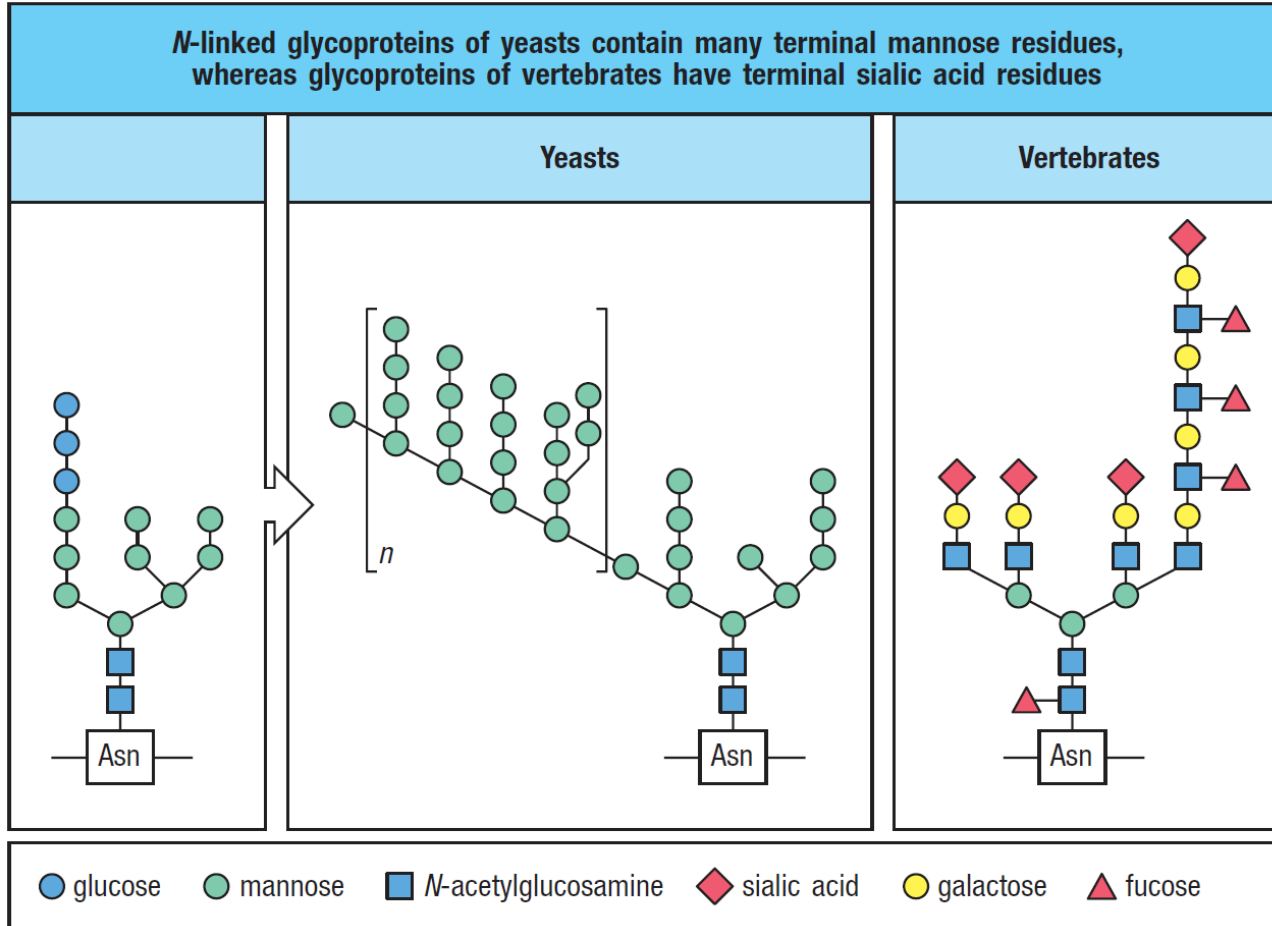


# Οδός λεκτίνης



- 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 φιβρονεκτίνης. Δεν συνδέονται με υδατάνθρακες που περιέχουν μαννόζη.
  - L-Ficolin (Ficolin-2), M-Ficolin (Ficolin-1), & H-Ficolin (Ficolin-3).

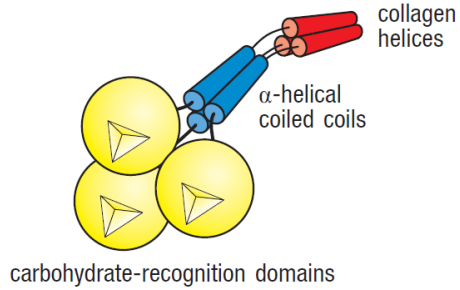
# Οι υδατάνθρακες της επιφάνειας των παθογόνων διαφέρουν από αυτούς των σπονδυλωτών



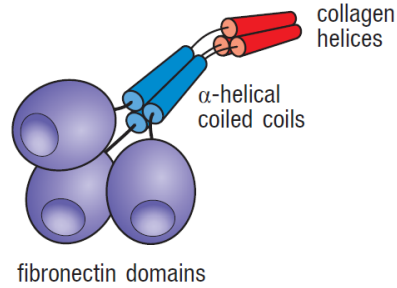
# Οι υποδοχείς της οδού λεκτίνης



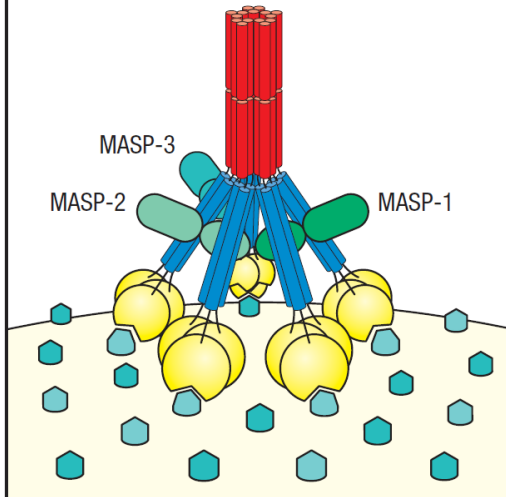
MBL monomers form trimeric clusters of carbohydrate-recognition domains



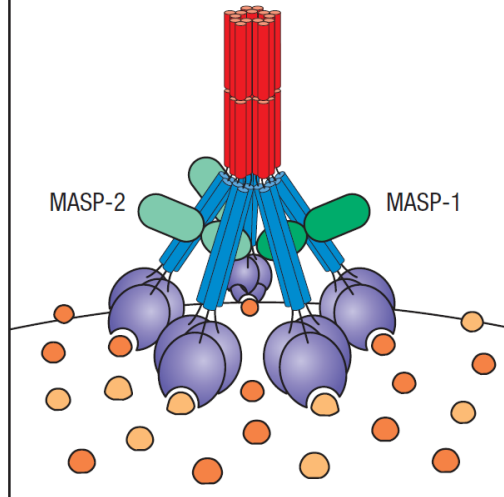
Ficolins are similar in structure to MBL but have a different carbohydrate-binding domain



MBL binds with high avidity to mannose and fucose residues



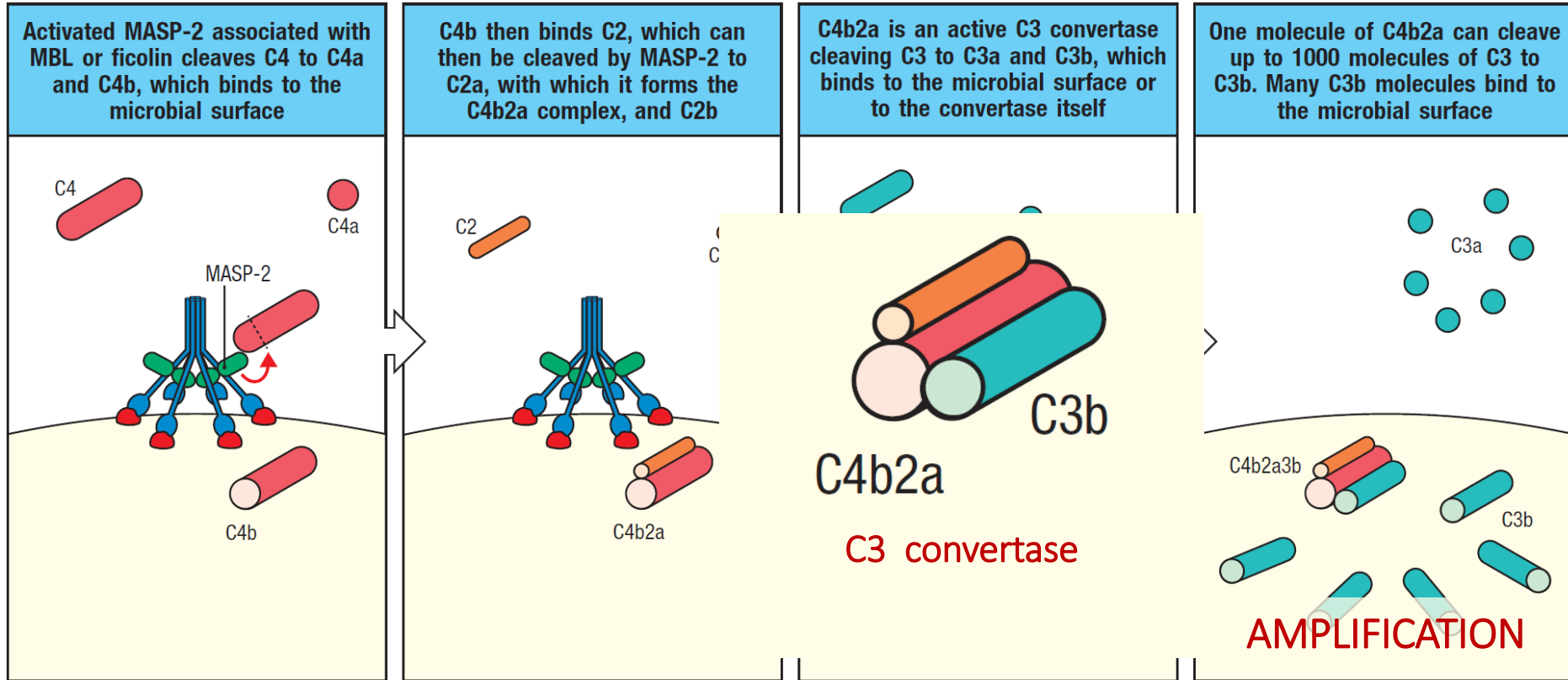
Ficolins bind oligosaccharides containing acetylated sugars



- 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

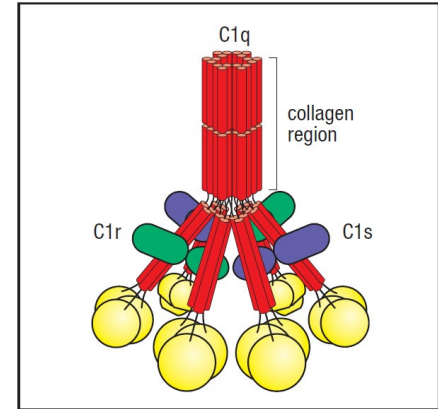


Φυσικά αντισώματα: αντισώματα χαμηλής συγγένειας που αναγνωρίζουν κοινά συστατικά της βακτηριακής μεμβράνης (πχ φωσφοχολίνη) ή και αυτοαντιγόνα και παράγονται χωρίς να έχει προηγηθεί αναγνώριση αντιγόνου και απόκριση της επίκτητης ανοσίας

# Εκκίνηση της κλασσικής οδού



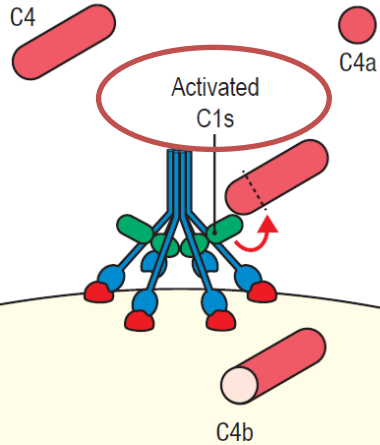
- C1q: η σύνδεση δύο ή περισσότερων θέσεων αναγνώρισης του C1 με το συνδέτη τους οδηγεί σε αλλαγή διαμόρφωσης του συμπλέγματος C1r:C1q και αυτοκαταλυτική ενεργοποίηση των C1r/C1s
- C1r/C1s – μόρια ενεργοποίησης
  - Ανάλογα της MASP-2
  - Σχηματίζουν τετραμερή
- C1r: ενεργοποιείται και διασπά το C1s με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



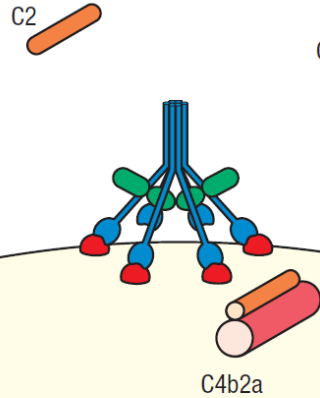
# Παραγωγή C3 convertase της κλασσικής οδού



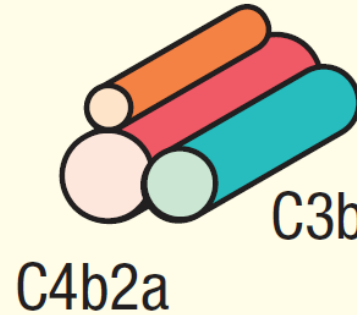
Activated C1s cleaves C4 to C4a and C4b, which binds to the microbial surface



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

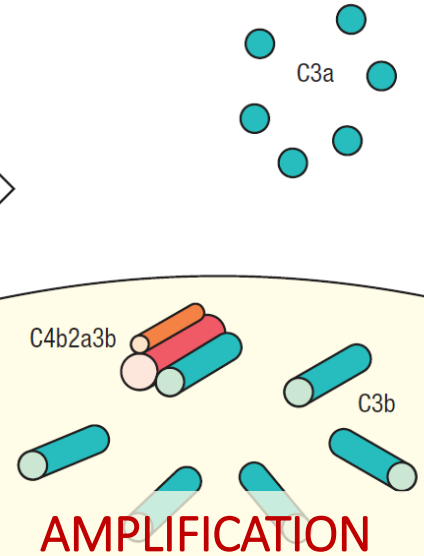


C4b2a is an active C3 convertase cleaving C3 to C3a and C3b, which binds to the microbial surface or to the convertase itself



**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



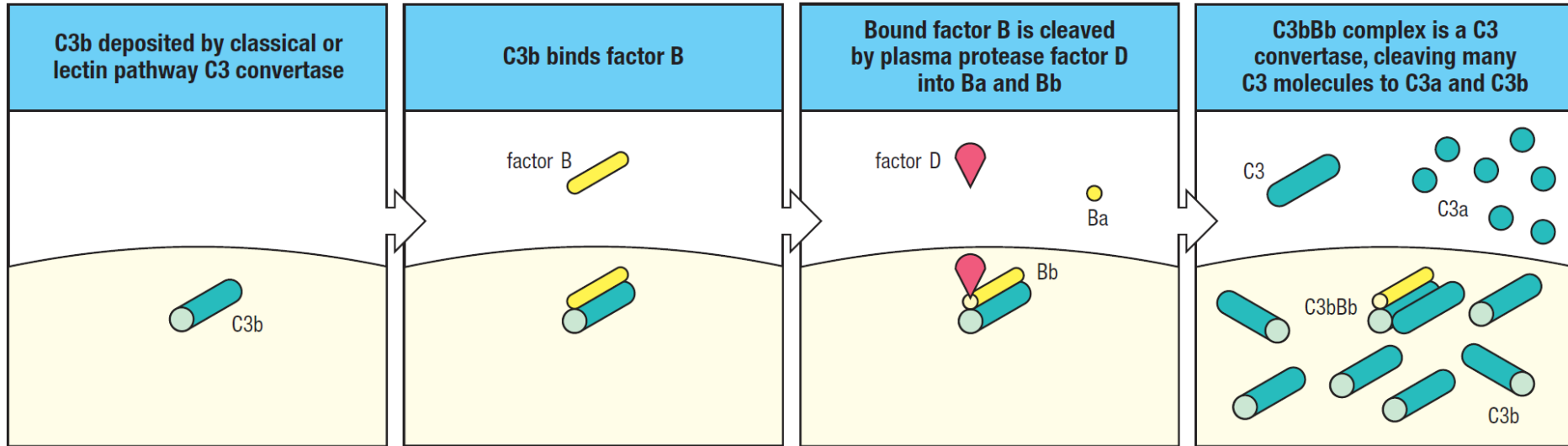
Classical pathway C3 convertase: ίδια με τη C3 convertase της οδού της λεκτίνης – πήρε το όνομα επειδή ανακαλύφθηκε πρώτη

# Εναλλακτική οδός



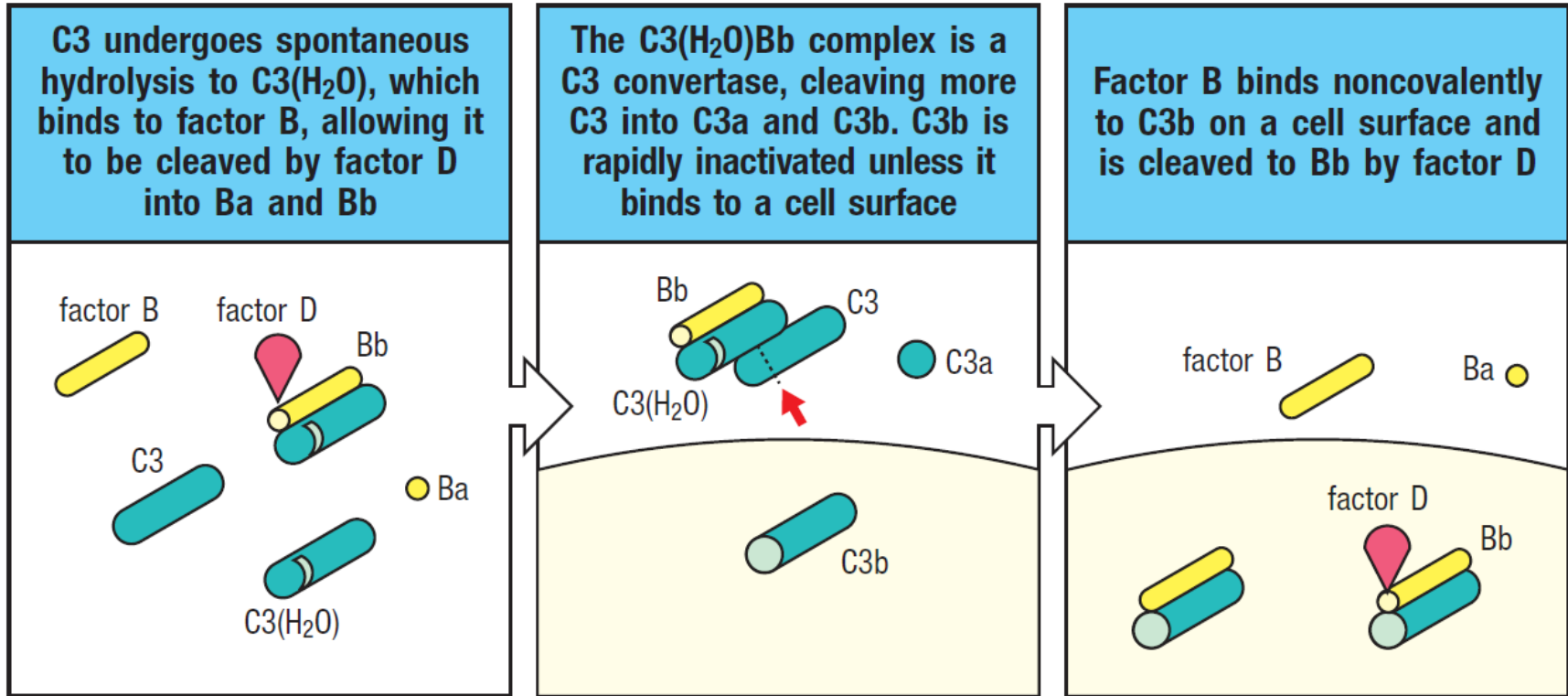
- Η αρχαιότερη εξελικτικά οδός – ονομάσθηκε «εναλλακτική» επειδή ανακαλύφθηκε δεύτερη.
- Κύριο χαρακτηριστικό: αυτόματη ενεργοποίηση
- Ενεργοποιείται με δύο τρόπους → **δύο διαφορετικές C3 convertases**
- Παραγωγή C3b από την οδό της λεκτίνης και την κλασσική οδό: δημιουργία της C3 convertase της εναλλακτικής 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(H<sub>2</sub>O)Bb]**
- Οι C3 convertases της εναλλακτικής οδού είναι βραχύβιες αλλά σταθεροποιούνται συνδεδεμένες με προπερδίνη (παράγων P)

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



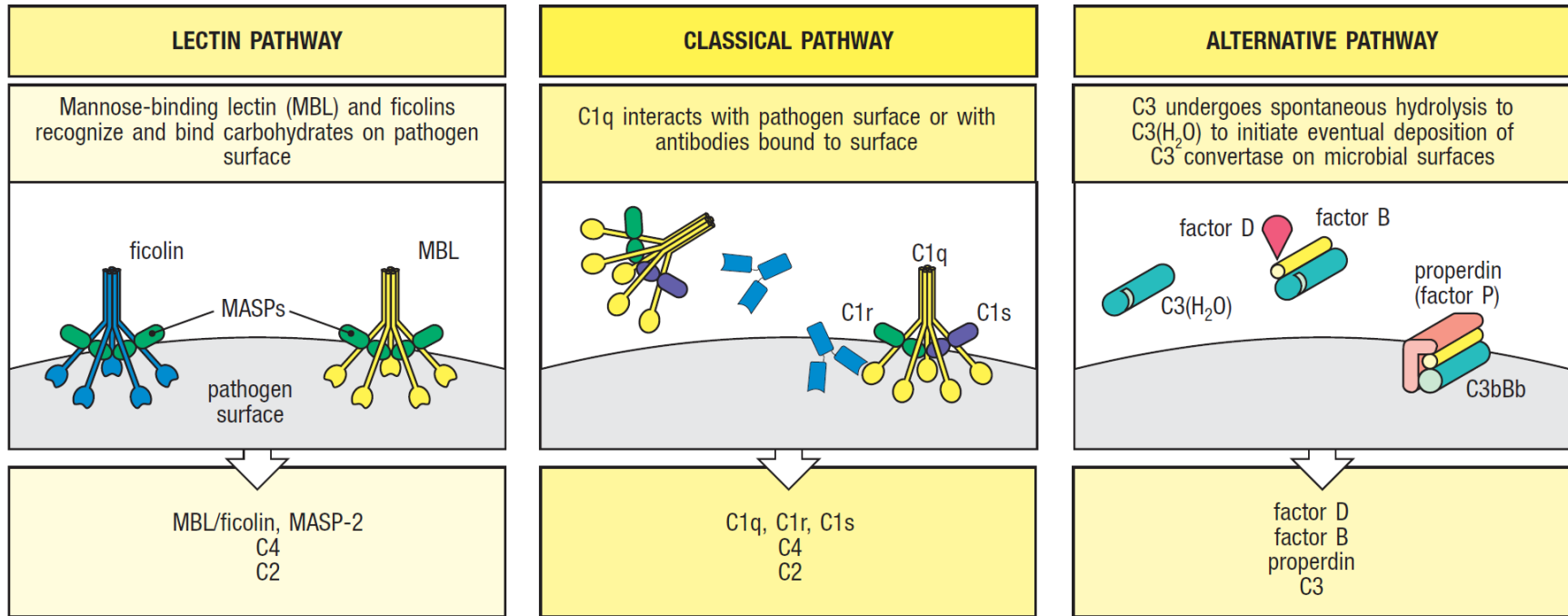
Από τη στιγμή που θα σχηματιστεί C3b, από οποιαδήποτε οδό, η εναλλακτική οδός δρα σαν βρόγχος ενίσχυσης και αυξάνει ταχύτατα τον αριθμό των μορίων C3b

# Αυτόματη ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού



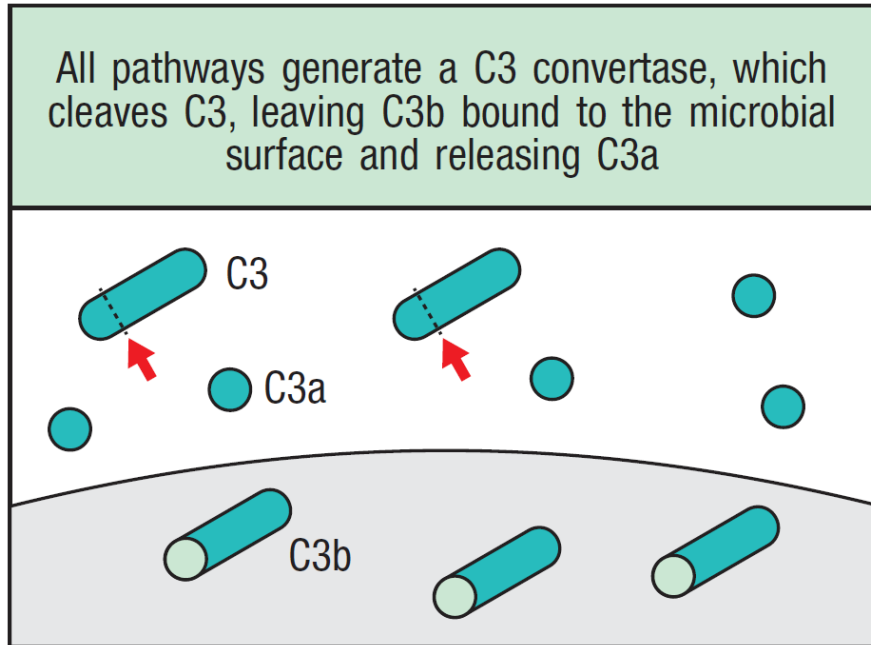
**ΥΓΡΗ ΦΑΣΗ !**

# Σύνοψη της εκκίνησης των τριών οδών



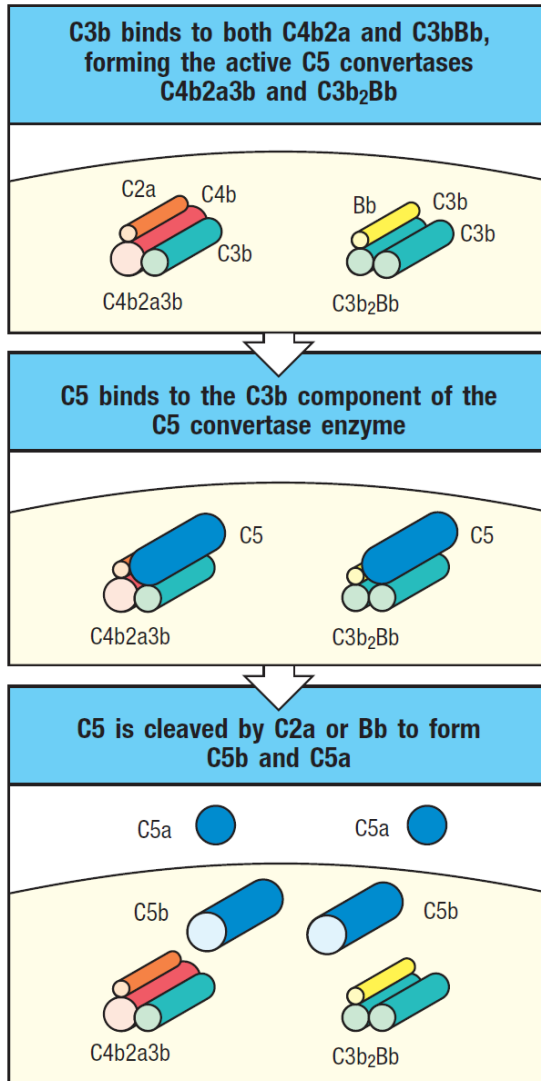


# Η δράση της C3 convertase



- 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

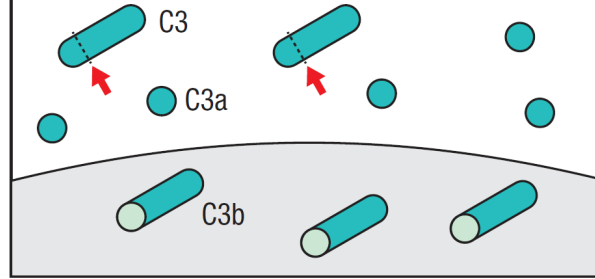


- Συνδέεται ομοιοπολικά με την επιφάνεια των μικροοργανισμών και δρα σαν «**οψωνίνη**» - ο μικροοργανισμός καλύπτεται με C3b και είναι δυνατή η φαγοκυττάρωσή του από κύτταρα που φέρουν υποδοχείς συμπληρώματος
- Το C3b μπορεί να συνδεθεί με τη C3 convertase της κλασσικής και της εναλλακτικής οδού και 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)**]

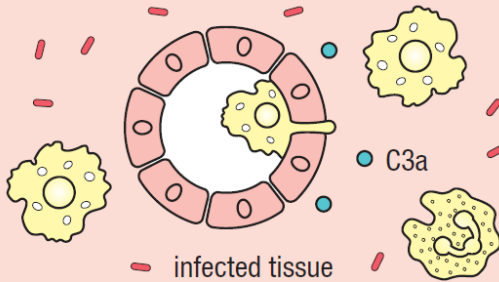


# Αποτελέσματα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος

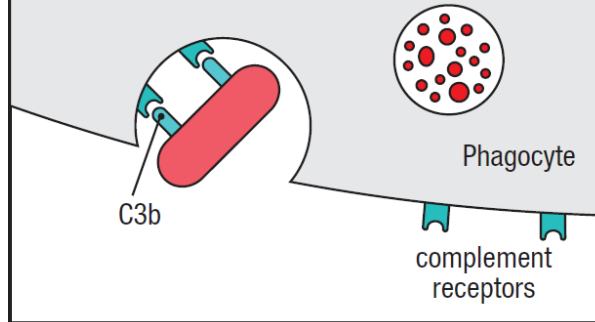
All pathways generate a C3 convertase, which cleaves C3, leaving C3b bound to the microbial surface and releasing C3a



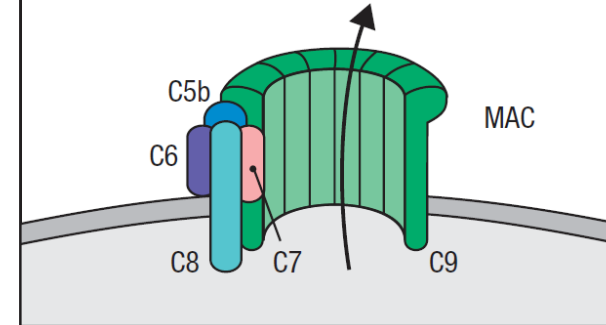
C3a and C5a recruit phagocytic cells to the site of infection and promote inflammation



Phagocytes with receptors for C3b engulf and destroy the pathogen



Completion of the complement cascade leads to formation of a membrane-attack complex (MAC), which disrupts cell membrane and causes cell lysis



# Τα προφλεγμονώδη μικρά κλάσματα του συμπληρώματος «Αναφυλατοξίνες»

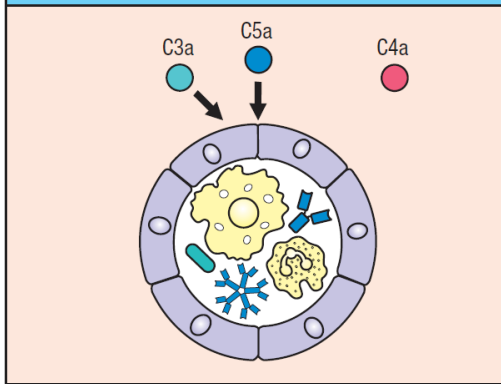


- Τα κλάσματα C3a & C5a δρουν σε ειδικούς υποδοχείς στα ενδοθηλιακά και τα σιτευτικά κύτταρα και οδηγούν σε τοπική φλεγμονώδη απόκριση. Το C5a έχει την ισχυρότερη δράση
  - C4a: δεν έχει ισχυρή προφλεγμονώδη δράση και δεν έχει ειδικό υποδοχέα.
- Μεγάλες ποσότητες C3a & C5a δρουν συστηματικά και προκαλούν 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.

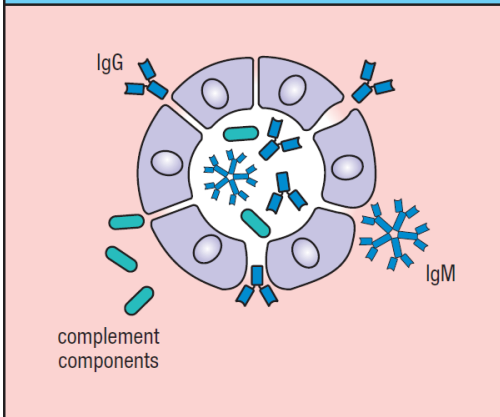
# Η δράση των C3a & C5a



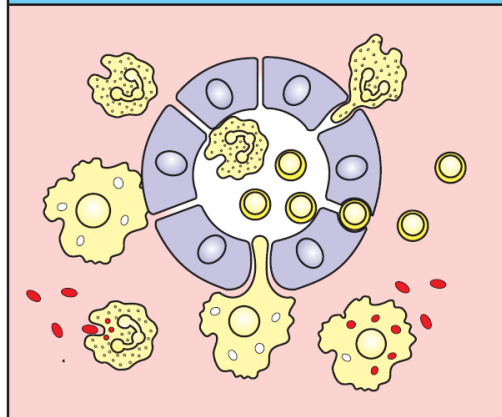
Small complement-cleavage products act on blood vessels to increase vascular permeability and cell-adhesion molecules



Increased permeability allows increased fluid leakage from blood vessels and extravasation of immunoglobulin and complement molecules



Migration of macrophages, polymorphonuclear leukocytes (PMNs), and lymphocytes is increased. Microbicidal activity of macrophages and PMNs is also increased



- 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 αντισωματική 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

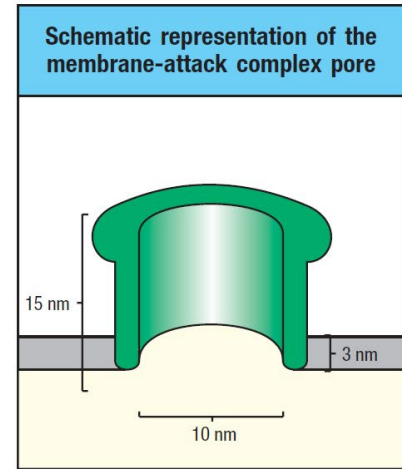
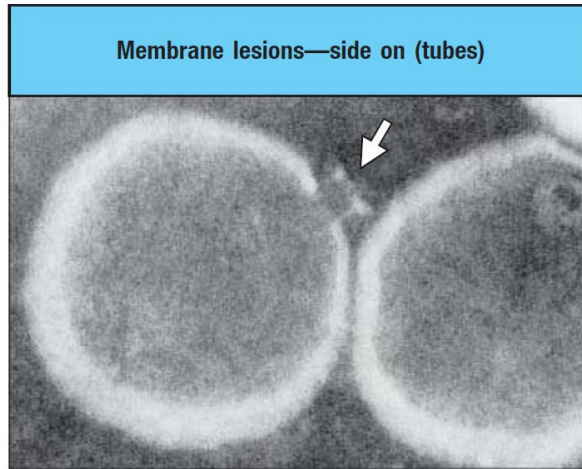
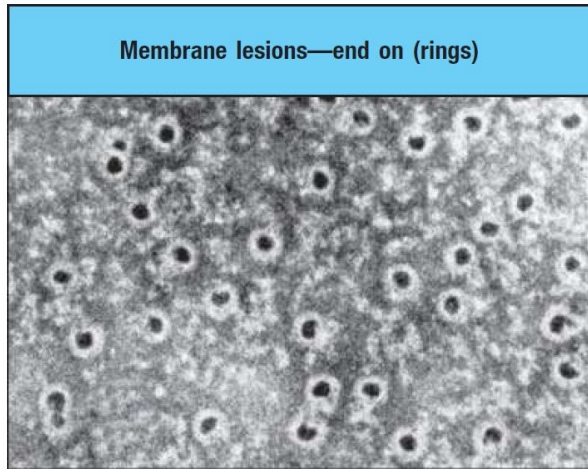
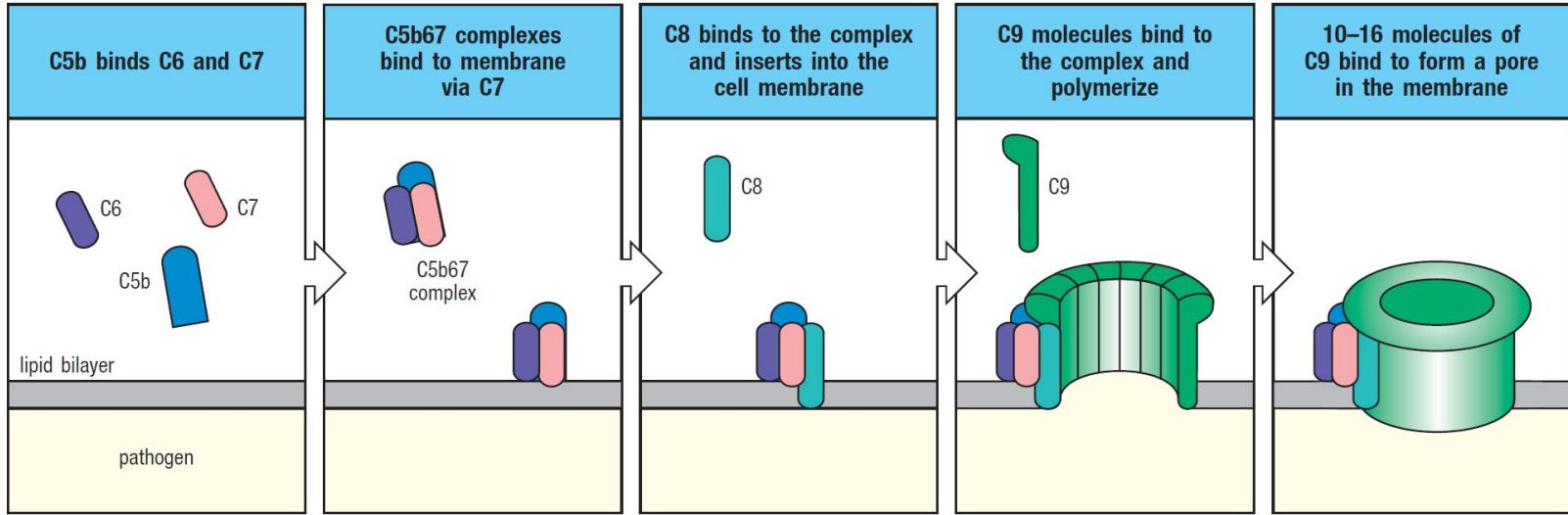
# Σύμπλεγμα προσβολής μεμβράνης



- 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



# Ρυθμιστικοί μηχανισμοί της ενεργοποίησης του συμπληρώματος

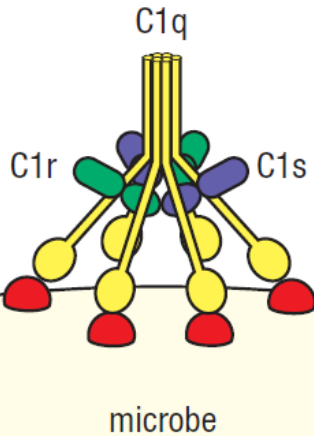


- Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος γίνεται πάνω σε βακτηριακές μεμβράνες και περιορίζεται σε αυτές
- Υπάρχουν μηχανισμοί που εξασφαλίζουν ότι η ενεργοποίηση περιορίζεται στην επιφάνεια του παθογόνου και δεν επεκτείνεται στο πλάσμα ή στην επιφάνεια των κυττάρων του ξενιστή
- Ρυθμιστικές πρωτεΐνες: διαλυτές 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

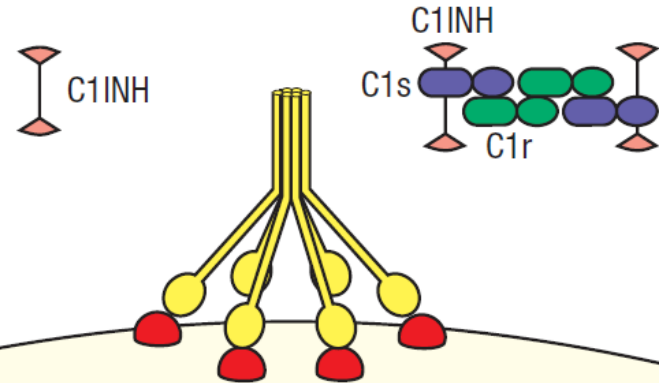
# Ρύθμιση δραστηριότητας συμπληρώματος



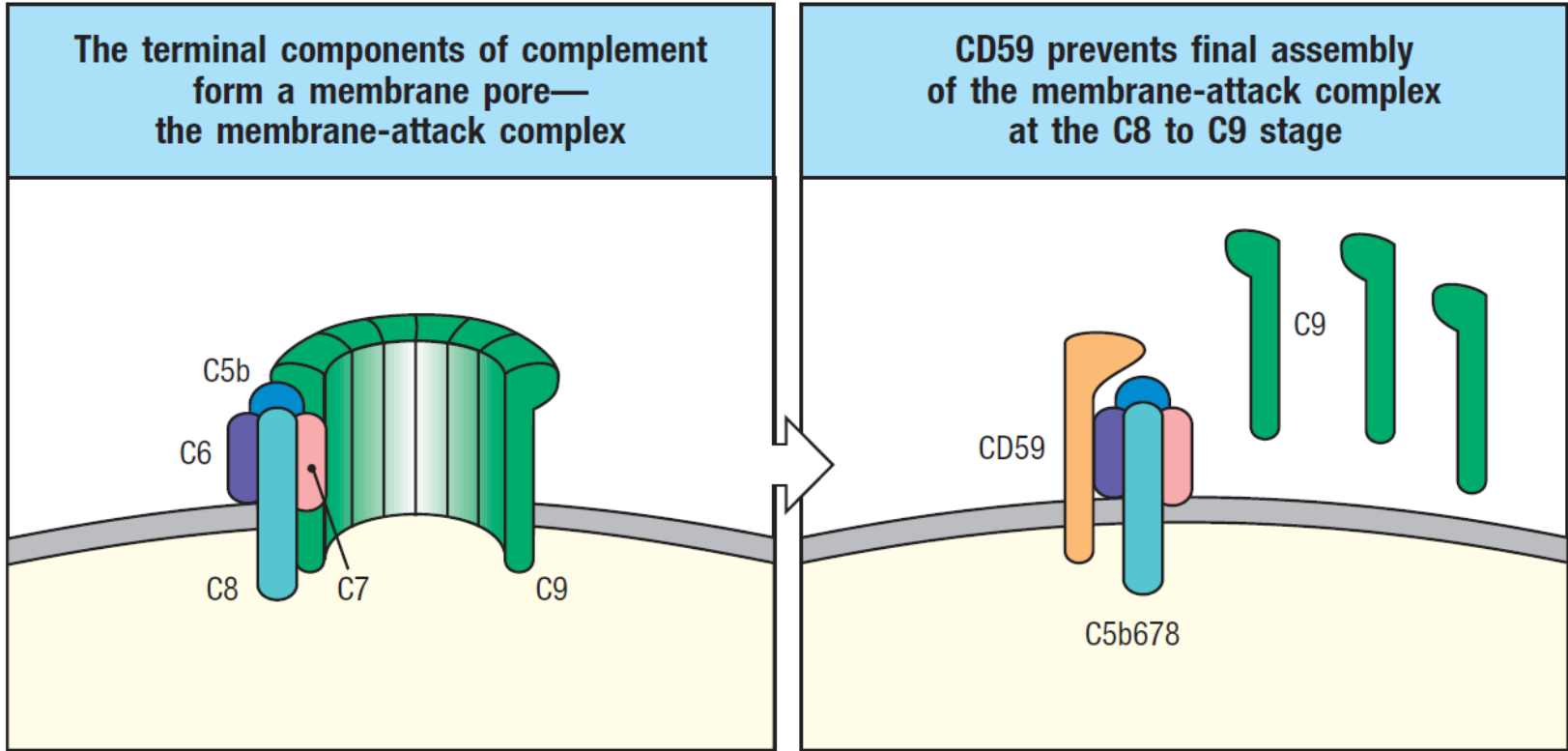
**C1q binding to antigen:antibody complexes activates C1r and C1s**



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



# Ρύθμιση δραστηριότητας συμπληρώματος



## 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



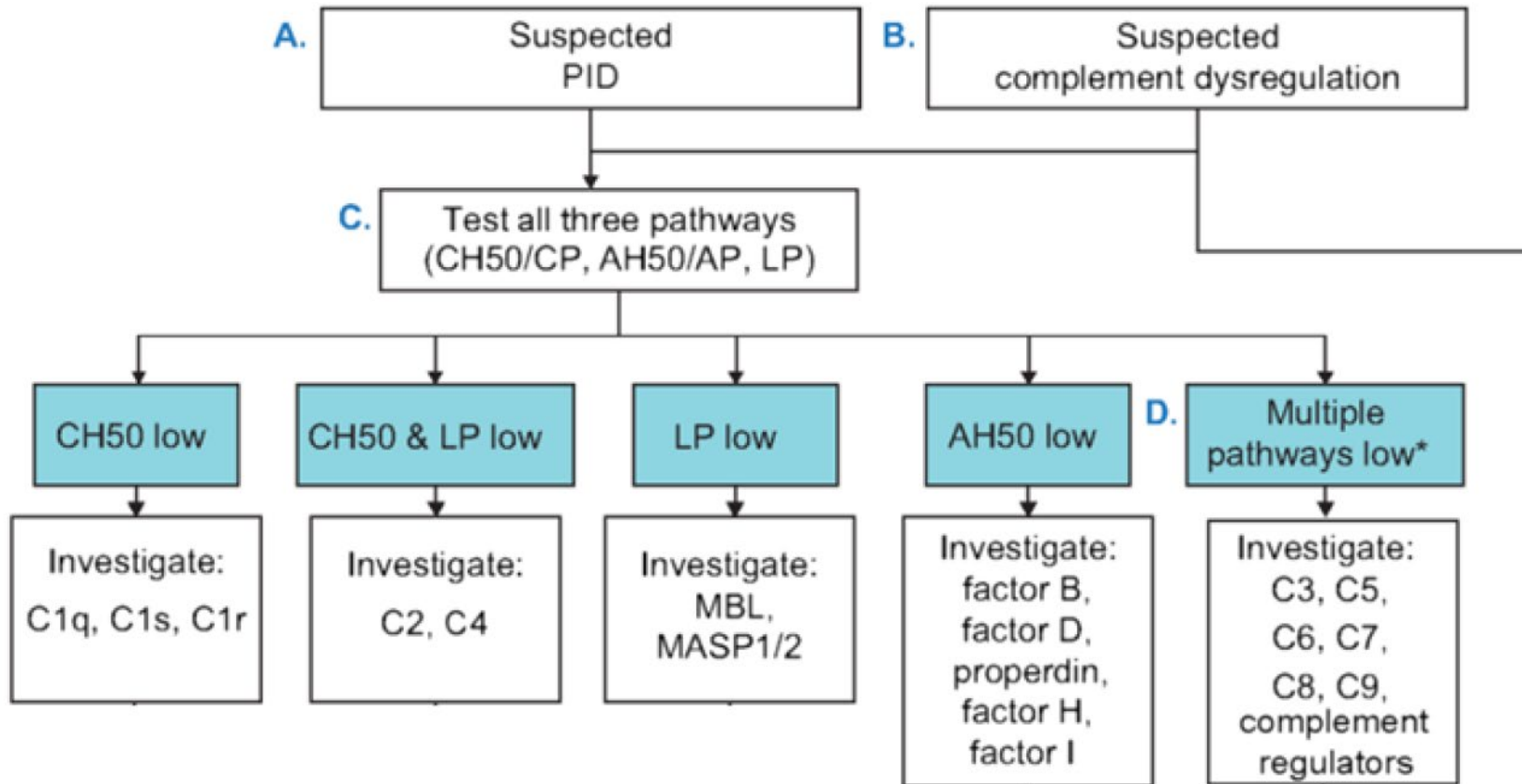
- Τιμή: το αντίστροφο της αραίωσης που λύει το 50% των ερυθροκυττάρων
  - CH50=200 u/mL → ο ορός του εξετασθέντος λύει το 50% των ερυθροκυττάρων σε αραίωση 1:200
  - Ειδικές συνθήκες χειρισμού δείγματος: οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος είναι ασταθείς – άμεση εξέταση ή φυλαξη σε κατάψυξη
- Χαμηλά επίπεδα:
  - 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

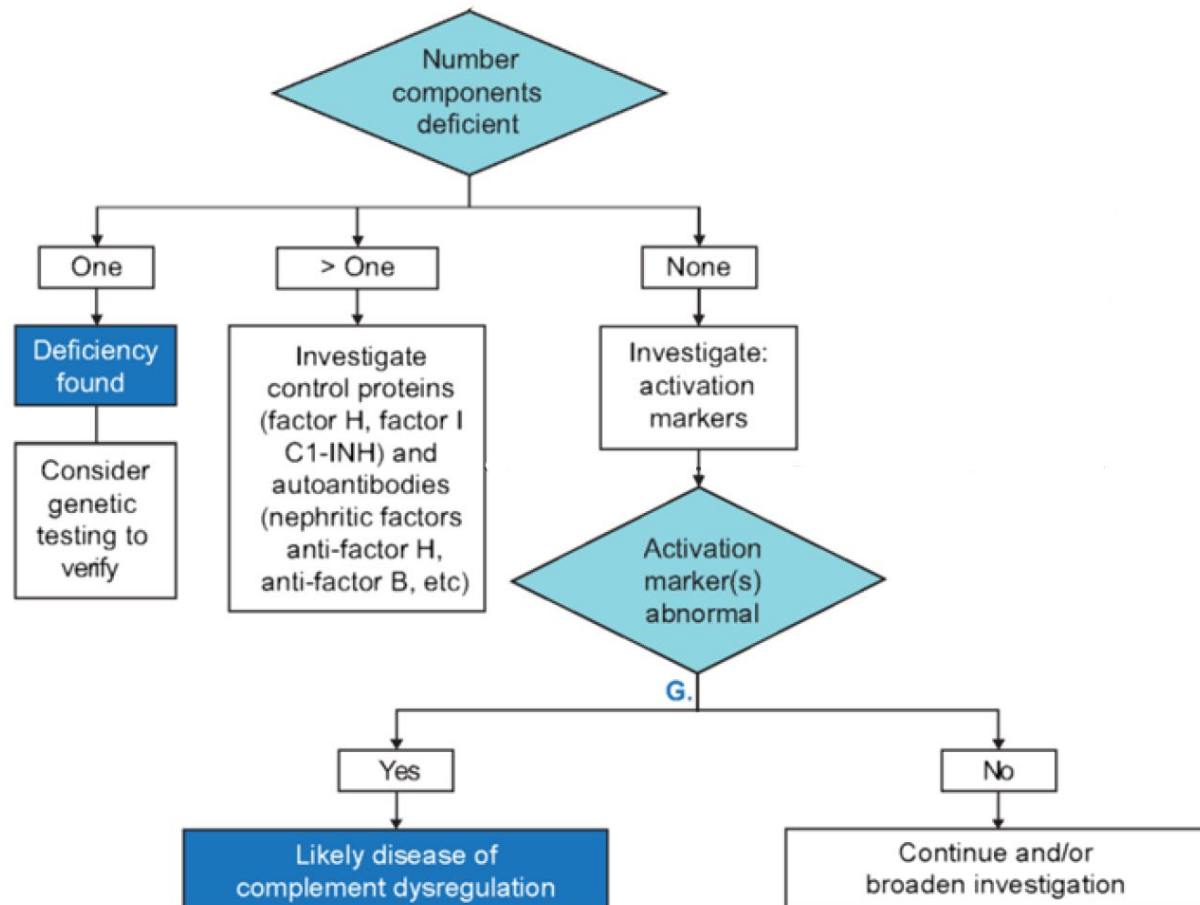


- Οι συχνότερα προσδιοριζόμενες μεμονωμένες πρωτεΐνες του συμπληρώματος.
- C3↓ (ή N), C4↓: ενεργοποίηση της κλασσικής οδού
  - Νοσήματα από ανοσοσυμπλέγματα: SLE, κρουσφαιριναιμία
  - Το C3 μπορεί να μειώνεται σχετικά, αλλά να παραμένει σε φυσιολογικά επίπεδα
- C3↓, C4N: ενεργοποίηση εναλλακτικής οδού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

# Algorithm for complement testing - 1



# Algorithm for complement testing - 2





## TABLE 44-4 PATHOLOGIC CONDITIONS ASSOCIATED WITH COMPLEMENT ACTIVATION

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

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

\*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

# Μηνιγγιτιδοκοκκική μηνιγγίτιδα και συμπλήρωμα



- Άτομα με έλλειψη τελικών κλασμάτων του συμπληρώματος εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας:
  - 1400X σε ασθενείς με έλλειψη C9
  - 7000-10000X σε ασθενείς με ελλείψεις άλλων τελικών κλασμάτων
- Η μέση ηλικία εμφάνισης μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας στους ασθενείς αυτούς είναι 17 έτη σε αντίθεση με τα ανοσοεπαρκή άτομα στα οποία είναι 3 έτη.
- Οι λοιμώξεις αυτές, σε αυτό τον πληθυσμό ασθενών έχουν χαμηλότερη θνητότητα και γενικά ηπιότερη πορεία.

# Διαταραχές MBL και λοιμώξεις



- Σε Καυκάσιους περίπου 5-7% του πληθυσμού έχουν κληρονομική έλλειψη MBL (<100 ng/mL)
- Ανεπάρκεια MBL παρατηρείται συχνότερα σε ασθενείς με σήψη και αρνητική έκβαση, ανεξάρτητα από τον μικροοργανισμό
- Αυξημένος κίνδυνος πυογόνων λοιμώξεων ή και σήψης σε βρέφη και ουδετεροπενικούς ασθενείς
- Ορισμένοι πολυμορφισμοί MBL συσχετίζονται με μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπών HSV2
- Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν συσχέτιση της ανεπάρκειας MBL με μέτρια αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων ιογενών λοιμώξεων, χρόνιων πνευμονικών λοιμώξεων από ασπέργιλλο και βαριάς ελονοσίας
- Χαμηλά επίπεδα MBL μπορεί να είναι προστατευτικά έναντι των μυκοβακτηριδιακών λοιμώξεων

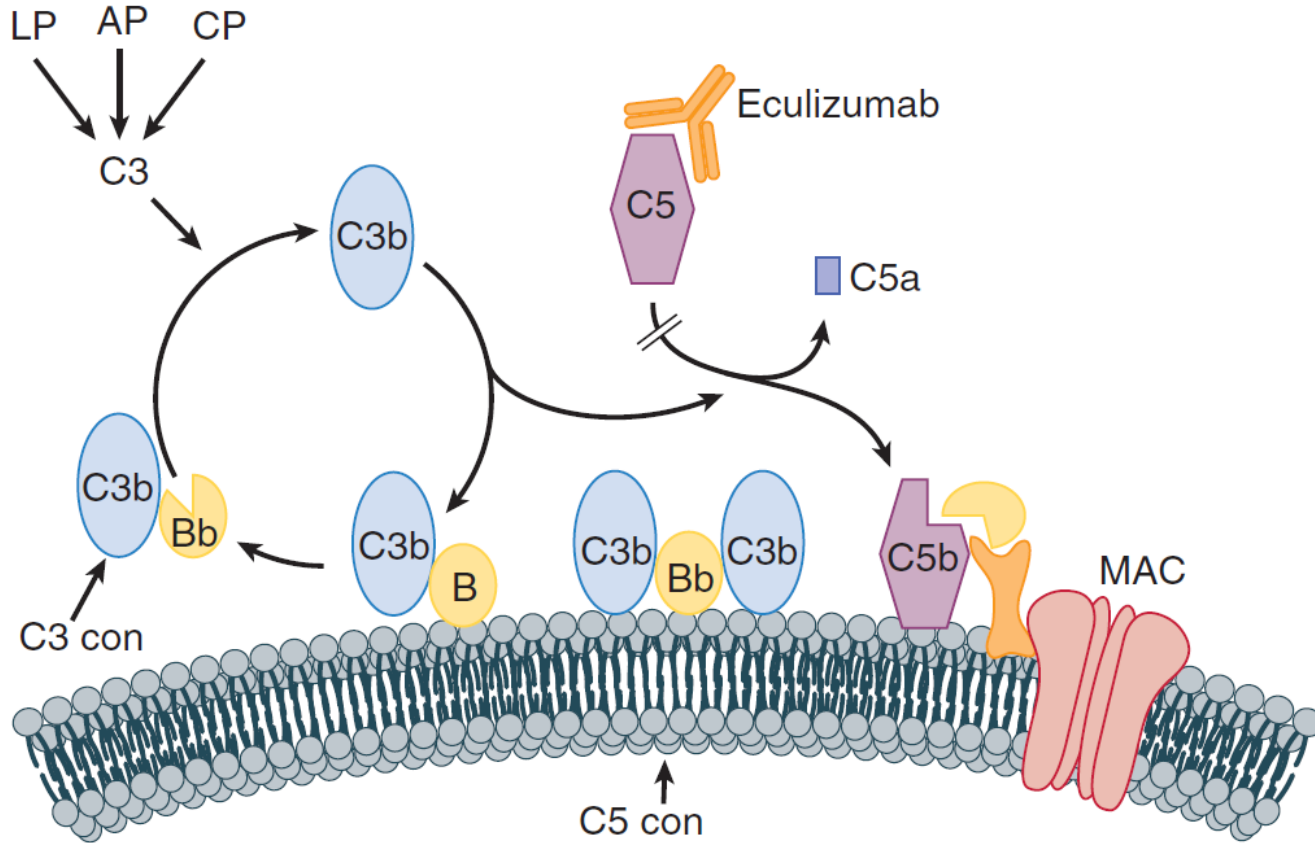


# Διαταραχές ρυθμιστικών πρωτεϊνών του συμπληρώματος



- Κληρονομικό αγγειοίδημα: ένδεια του C1INH με αποτέλεσμα υπερβολική παραγωγή C2b που οδηγεί σε παραγωγή C2 κινίνης.
  - Επίσης υπάρχει και υπερβολική παραγωγή βραδυκίνινης 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. Πχ *Staphylococcus aureus*:
  - Staphylococcal protein A (SpA) – συνδέεται με το κλάσμα Fc των ανοσοσφαιρινών και εμποδίζει την ενεργοποίηση του C1.
  - Staphylokinase (SAK) – διασπά τις ανοσοσφαιρίνες που έχουν προσκολληθεί στη μεμβράνη του παθογόνου
  - Staphylococcal complement inhibitor (SCIN) – δεσμεύει την C3 convertase της κλασικής και της εναλλακτικής οδού.

# Πρωτεΐνες διαφυγής συμπληρώματος



Pathogen	Evasion molecule	Host target	Mechanism of action
<b>Membrane proteins</b>			
<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
<b>Secreted proteins</b>			
<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

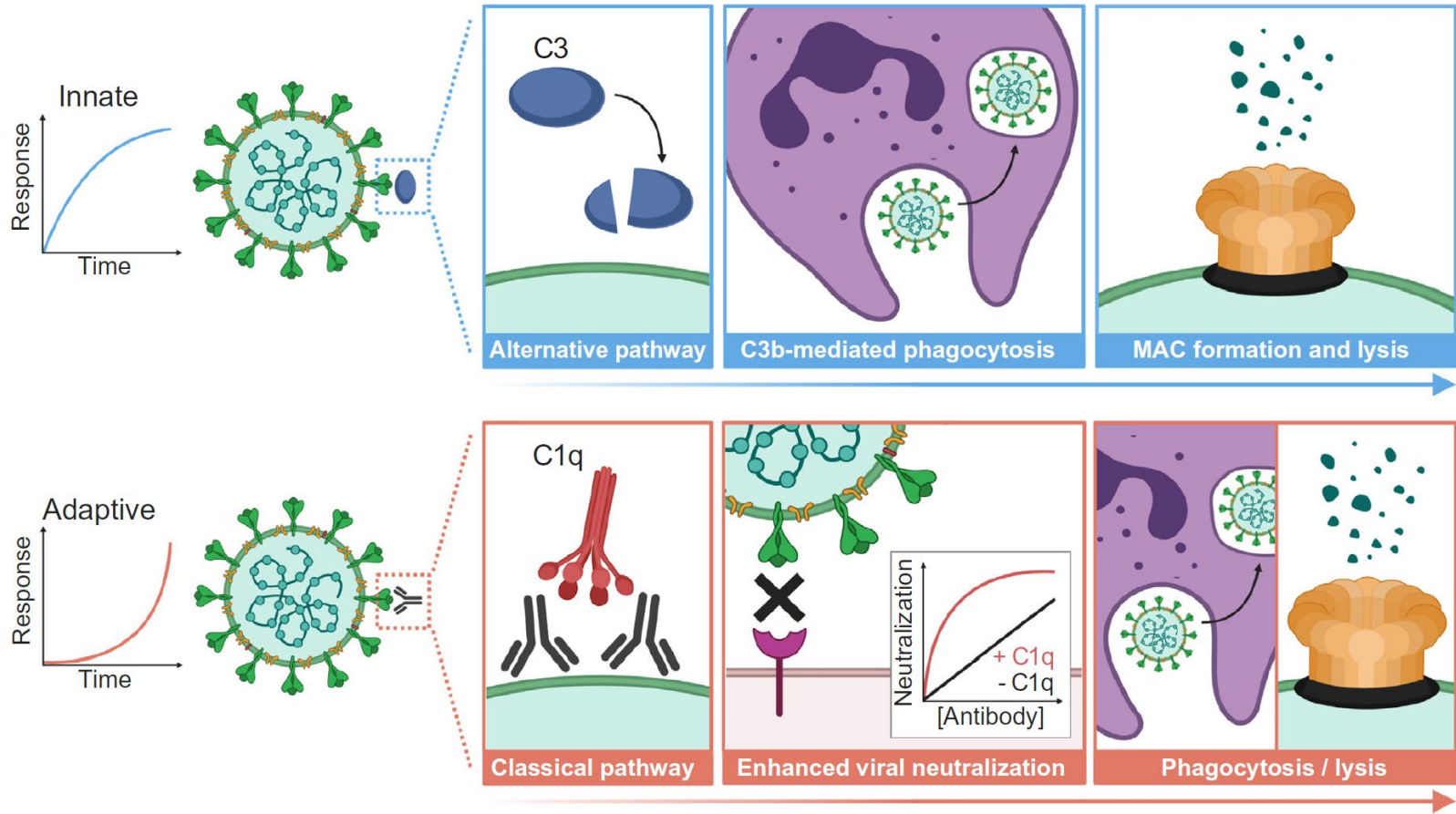
# The evasion mechanisms of microorganisms from the attack of innate immunity of complement system by targeting complement C4.



Microorganisms	Molecule(s) involved	Expression or Function of C4	Reference
Hepatitis C HCV Core protein	USF-1 and C4 mRNA		(90)
HCV NSSA	IRF-1 and C4 nRNA		(90)
HCV NS3/4A	Cleavage of C4 $\gamma$ -chain		(91)
HCV NS2/NS5B	Disruption of the interaction of MICA/B and NKG2D		(92)
Flavivirus (DENV, WNV, YFV) NS1	Cleavage of C4		(93)
<i>B. Streptococcus</i>	Complement interfering protein (CIP)		(83)
<i>S. aureus</i>	C4-binding protein (C4BP)		(84)
<i>B. pertussis</i>	Vag8		(85)
<i>A. fumigatus mycelia</i>	Alkaline protease Alp1p		(86, 87)
Maggot	Inhibition substance of complement activation		(88)
Parasitic nematodes	ES-62	(89)	

*USF-1*, upstream stimulating factor 1; *IRF-1*, interferon regulatory factor 1; *MICA/B*, major histocompatibility complex class I-related chains A and B; *NKG2D*, a transmembrane protein belonging to the *NKG2* family of C-type lectin-like receptors.

# Potential Mechanisms of Innate and Adaptive Complement Activation against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)



# Σύνοψη



- Το συμπλήρωμα είναι μια ομάδα διαλυτών πρωτεϊνών που αποτελούν μέρος της φυσικής ανοσίας, αλλά συμμετέχουν και στην επικτητη
- Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος γίνεται μέσω τριών οδών: κλασσική, λεκτίνης, εναλλακτική
- Το τελικό αποτέλεσμα της ενεργοποίησης είναι η φλεγμονή, φαγοκυττάρωση, και η άμεση κυτταρόλυση
- Ορισμένες ελλείψεις του συμπληρώματος προδιαθέτουν σε λοιμώξεις
- Ορισμένα παθογόνα έχουν αναπτύξει μηχανισμούς διαφυγής από τη δράση του συμπληρώματος





ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ !