

# SISTEMUL COMPLEMENT ȘI IMPLICAȚIILE SALE ÎN PATOLOGIE

## *Complement system and its pathological implications*

**Dr. Drd. George Săraci**

*Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu“, Cluj-Napoca*

### REZUMAT

Sistemul complement este un ansamblu complex de proteine activabile în cascadă, cu rol important în distrugerea agenților patogeni, aparținând imunității umorale împreună cu imunoglobulinele. Activarea sa se face de obicei în prezența imunoglobulinelor Ig G sau Ig M și, în mare, există trei moduri de activare: pe calea clasică, alternativă și cea a lectinei fixatoare de manoză. Indiferent de modalitatea de inițiere a activării, rezultatul este identic, respectiv asamblarea unor proteine canal ce duc la pierderea de apă și metaboliți din celulă, urmată de liza acesteia. Deficiențele diverselor fracțiuni ale complementului se soldează cu deficiențe în apărarea imunologică, iar disfuncția acestora are implicații, de asemenea, vaste în inflamație, anafilaxie, afecțiunile renale, respiratorii, reumatologice și altele. Cercetări recente creditează complementul ca aliat de încredere în lupta contra cancerului.

**Cuvinte cheie:** apărare antiinfecțioasă, sistem complement, activare, deficiențe

### ABSTRACT

Complement system is a complex group of cascade activated proteins with key role in destroying pathogenic agents and it is a part of humoral immunity along with immune globulins. The activation is usually achieved in the presence of immune globulins type Ig M or Ig G and there are three specific activation pathways: classical pathway, alternate pathway and manose binding lectine pathway. No matter the activation pathway, the final result is the same and it is dominated by the assembling of special channel type proteine polymere complexes through which water and metabolites leave the cell resulting cell lysis. Defficiency in certain complement fractions has consequences in immunologic defense and dysfunction of these fragments has numerous implications in inflammation, anaphylaxis, kidney, respiratory and rheumatic diseases. Also some recent advances suggest that complement could be a reliable ally in cancer fight.

**Key words:** antiinfectious defense, complement system, activation, defficiency

### INTRODUCERE

Sistemul complementului, denumit la început alexină, a fost descoperit în jurul anului 1900, când s-a constatat că este un sistem citolitic care lizează bacteriile și eritrocitele învelite în anticorpi (1). Astăzi se cunoaște că acesta conține peste 30 de proteine diferite, care sunt sintetizate în ficat și circulă în sânge sub formă inactivă (2). Frațiunile complementului au rol important în imunitatea nespecifică a organismului, ele activându-se în cascadă, existând trei modalități de inițiere a cascadei enzimatică: calea clasică, denumită astfel întrucât a fost studiată peste o sută de ani și a fost

prima descoperită, calea alternativă și calea lectinei fixatoare de manoză, care este considerată de unii autori o formă mai particulară de activare alternativă, care însă împrumută caracteristici ale ambelor căi de activare, alternativă și clasică (3). Deficiențele de sinteză a diverșilor factori ai complementului sunt rare și se asociază cu susceptibilitate crescută la infecții și boli autoimune. Deficitul primar genetic de fracțiuni ale complementului are în SUA o frecvență de 0,03%, cel mai frecvent deficit fiind cel de fracțiune C<sub>2</sub>, cu un caz la 10.000 locuitori. Mai frecvente sunt însă deficitele secundare acute datorate infecțiilor și bolilor cronice reumatologice și

Adresa de corespondență:

Dr. Drd. George Săraci, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu“, Cluj-Napoca  
e-mail: gsaraci@yahoo.com

autoimune. Deficiențele primare afectează toate rasele și ambele sexe, cu excepția deficitului de properidină, asociat cu o rată înaltă de mortalitate și care se transmite X-linkat recesiv, afectând numai băieții (4).

### ACTIVAREA ȘI REGLAREA ACTIVITĂȚII COMPLEMENTULUI

Pentru activarea complementului pe *cale clasică* este nevoie de o moleculă de IgM sau două de IgG (5). În momentul unirii antigenului cu anticorpul, acesta din urmă își va schimba conformația structurală, descoperind receptorul Fc pentru complement (6). Prima etapă este etapa de recunoaștere, în care e implicată fracțiunea  $C_1$ , care e de fapt un complex trimolecular  $C_{1Q}$ ,  $C_{1R}$ ,  $C_{1S}$ . Receptorul de complement (Fc) al imunoglobulinelor se fixează la nivelul  $C_{1Q}$ , astfel că  $C_{1R}$  dobândește capacitatea de acțiune asupra  $C_{1S}$  pe care o clivează, iar clivată din complexul trimolecular  $C_1$ , aceasta dobândește funcție enzimatică de esterază, devenind activă ( $C_1$ ) (7). În etapa a doua, denumită etapa de activare enzimatică,  $C_1$  acționează asupra lui  $C_4$ , pe care-l clivează într-un fragment cu greutate moleculară mică  $C_{4a}$ , care rămâne în soluție și un fragment cu greutate moleculară mare, care se absoarbe în membrana celulei țintă (8). În prezența  $C_{4b}$  și a ionilor de calciu,  $C_1$  scindează fracțiunea  $C_2$ , rezultând fragmentele  $C_{2a}$  și  $C_{2b}$ . Se obține astfel fracțiunea  $C_{4b2a}$  care este  $C_3$  convertaza și care scindează fracțiunea  $C_3$  în fragmentele  $C_{3a}$  cu funcție de anafilatoxină, și  $C_{3b}$  care se absoarbe în membrană lângă celelalte fragmente cu greutate moleculară mică, rezultând  $C_{4b2a3b}$  care este  $C_5$  convertaza (9). Acest complex acționează asupra fracțiunii  $C_5$  scindând-o în fragmentele  $C_{5a}$  cu funcție de anafilatoxină, și  $C_{5b}$  ce se fixează în continuare pe membrană, dar e instabilă, astfel că necesită atașare imediată a fracțiunilor  $C_6$  și  $C_7$  (10). Etapa a treia este etapa formării complexului de atac la membrană, în care încetează scindările enzimatiche și au loc numai atașări de membrana celulară. Complexul  $C_{5b67}$  necesită atașarea lui  $C_8$  care inițiază leziuni ale membranei. Apoi se fixează  $C_9$ , care desăvârșește aceste leziuni prin formarea unui polimer alcătuit din 6 molecule de  $C_9$ , și asamblat sub forma unor canale ce străbat întreaga membrană, prin care ies și intră metaboliți în celulă, ducând la liza acesteia (11). Activarea complementului pe cale alternativă începe de la  $C_{3b}$ , nu implică complexe imune, fiind determinată de alți factori de activare; rezultatul însă este același, liza celulei (9). Cascada complementului poate fi inițiată *alternativ* de către

endotoxina bacteriilor gram negative, polizaharidul capsular pneumococic, polizaharidul din levuri, acizii teichoici din peretele celular al bacteriilor gram pozitive, proteaze tisulare, enzime lisosomale, agregate de IgA și IgE ce nu au receptori pentru complement la nivelul fragmentului Fc, veninul de șarpe etc. (4). La activare mai participă o serie de factori: factorul B, o proteină serică ce este activată de esteraza D (factor D), factorul P (properidina) etc. Se începe de la fragmentul  $C_{3b}$ , apărut fie din calea clasică, fie format în organism sub acțiunea unor proteaze ce scindează permanent  $C_3$  în  $C_{3b}$  (foarte instabil) și  $C_{3a}$ .  $C_{3b}$  se fixează pe un activator, devine stabil și i se poate adăuga factorul B seric, formându-se complexul  $C_{3b}B$ , care în prezența ionilor de magneziu și sub acțiunea factorului D, este scindat în  $C_{3b}B_b$  care nu este altceva decât  $C_3$  convertaza căii alternative, descompunând  $C_3$  în  $C_{3a}$  și  $C_{3b}$  (12,13). Această convertază e foarte instabilă și, pentru a fi stabilizată, i se adaugă properidina (factorul P) care e tot o  $C_3$  convertază, însă stabilă, scindând  $C_3$  în  $C_{3a}$  și  $C_{3b}$ . Astfel, acestei convertaze ( $C_{3b}B_bP$ ) i se adaugă un număr mare de fragmente  $C_{3b}$  formându-se  $C_5$  convertaza (4).

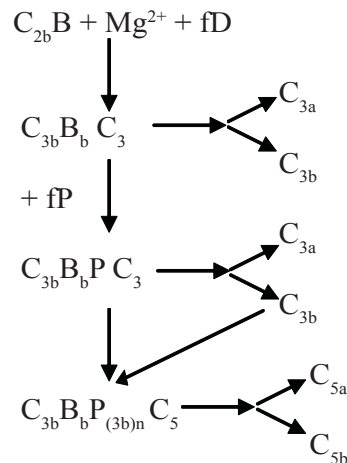


FIGURA 1. Activarea complementului pe cale alternativă (4)

*Lectina fixatoare de manoză (MBL)* este o proteină de fază acută, sintetizată de ficat, care se leagă de manoză sau resturile N-acetil glucozaminice activând complementul independent de complexe antigen-anticorp cu ajutorul proteazelor MASP 1 și MASP 2. MASP 1 poate cliva în mod direct fracțiunea  $C_3$ . MBL are o înaltă omologie structurală cu  $C_{1Q}$ , putându-se lega de  $C_{1R}$  și  $C_{1S}$  cu activarea  $C_4$  și  $C_2$  (m14). În reglarea activității complementului intervin factori celulari și plasmatici alături de instabilitatea anumitor componente ale sale (15). Inhibitorul  $C_1$  ( $C_1INH$ ) reglează calea clasică prin legarea și inactivarea  $C_{1R}$  și  $C_{1S}$ , iar proteina ligand

a  $C_4$  ( $C_4BP$ ) dezassemblează complexul  $C_{4b2a}$  (16). Factorul I clivează  $C_{3b}$  și  $C_{4b}$ , inactivând aceste fragmente și preîntâmpinând fixarea lor subsecventă. Factorul H duce la conversia  $C_{3b}$  la forma inactivă ( $iC_{3b}$ ) de către factorul I și îndepărtează fragmentul  $B_b$  de pe complexul  $C_{3b}B_b$ , intervenind în reglarea căii alternative. Activarea complementului este urmată de o serie de efecte citocice, proinflamatorii, anafilactice, opsonizante, chemotactice, antivirale, creșterea permeabilității vasculare, solubilizarea complexelor antigen-anticorp cu facilitarea epurării acestora (17).

## IMPLICAȚII CLINICE

Deficitul primar de  $C_1$ ,  $C_4$ ,  $C_2$  implicați în activarea pe cale clasică este moștenit autosomal recesiv, împiedică activarea în cascadă pe calea clasică și se asociază cu boala complexelor imune, LES și infecții pneumococice (18). Deficitul de  $C_3$  este, de asemenea, transmis autosomal recesiv, este mult mai rar, însă infecțiile apărute secundar acestui defect sunt mult mai severe întrucât este impietată atât activarea clasică, cât și cea alternativă (19). Deficitele primare de  $C_5$ ,  $C_6$ ,  $C_7$ ,  $C_8$ ,  $C_9$  (componente tardive) sunt transmise tot după model autosomal recesiv și au ca rezultat apariția infecțiilor bacteriene în special cu *Neisserii* (18). Deficitul de properidină se transmite X-linkat recesiv, iar până acum toți pacienții raportați au fost băieți cu meningită fulminantă și, alături de deficitele de factor B și D, duce la apariția infecțiilor severe fulminante cu *Neisserii*, având o mortalitate ridicată (19). Deficitele căii MBL duc la apariția infecțiilor recurente și a accelerării evoluției poliartritei reumatoide (PAR) și a lupusului eritematos sistemic (LES), iar deficitele de  $C_3$ , factor H și I predispun la infecții bacteriene (20).

Deficitul de  $C_1$ ,  $C_4$  și  $C_2$  este puternic asociat cu bolile de colagen, în special LES, în deficitul de  $C_1$  apare LES și glomerulonefrită, la cei cu LES și glomerulonefrită fiind prezente în sânge titruri înalte de ATC – anti  $C_{1q}$  (21). Deficitul de  $C_4$  e rar. Frațiunea  $C_4$  e codată de două gene  $C_4B$  și  $C_4A$ , ambele cu polimorfism înalt, aproape toți cei cu deficit de  $C_4$  având LES cu sau fără glomerulonefrită (22). Deficitul de  $C_2$  este asociat cu afecțiuni imunologice cutanate, articulare, renale și, ocazional, cu infecții recurente. Deficitul de  $C_3$  este rar. Când este prezent însă, nu se poate forma complexul de atac la membrană (MAC), astfel că funcția chemotactică și bactericidă a cascadei complementului este nulă, apărând infecții recurente, în special cu bacterii gram negative, meningococi și pneumococi

(23). Pot apărea de asemenea, boli autoimune, vasculite și glomerulonefrită membranoproliferativă. Deficitul de properidină crește riscul de infecții cu bacterii incapsulate: meningococ, pneumococ, *Haemophilus*. Infecțiile recurente sunt rare, întrucât calea clasică funcționează normal după ce s-au sintetizat anticorpi specifici (21).

În literatură s-au atestat doar 6 cazuri de bolnavi cu deficit de factor D, printre care un băiat de 6 zile cu deficit complet de factor D și funcție scăzută a factorului B, care a decedat prin septicemie pneumococică și meningită (24). Se apreciază că administrarea de factor D purificat corectează funcționalitatea căii alternative și nivelurile serice de factor D (25).

Deficitele de  $C_5$ ,  $C_6$ ,  $C_7$ ,  $C_8$  și  $C_9$  duc la imposibilitatea formării complexului de atac la membrană, pacienții fiind susceptibili la infecții recurente cu piogeni, tipic meningită meningococică sau infecție gonococică extragenitală, însă cei cu deficit izolat de  $C_9$  reușesc să inactiveze *Neisseria*, dar foarte lent (26).

Deficitul de  $C_1INH$  duce la apariția episoadelor recurente de angioedem, prin activare exagerată cu sinteză crescută de anafilatoxine (25).

Deficitele căii MBL trebuie luate în considerare mai ales în cazul nou-născuților și copiilor cu infecții recurente și al celor care „răcesc ușor”. Pot apărea, de asemenea, infecții cu *Pseudomonas aeruginosa* și *Burkholderia cepacia* (26).

Factorul nefritic  $C_3$  este un autoanticorp împotriva  $C_3$  convertazei  $C_{3b}B_b$  și este asociat cu glomerulonefrita mezangiocapilară și lipodistrofii, rezultanta fiind o activare cvasipermanentă a fragmentului  $C_3$ , cu depunerea sa în membrana bazală glomerulară, mezangiu și alte organe și structuri. Deficitul de factor H este asociat mai ales cu glomerulonefrita membranoproliferativă (GNMP) și sindrom hemolitic uremic (SHU) (27).

Rolul sistemului complement în apărarea antitumorală a fost neglijat o bună perioadă de timp, în care accentul s-a pus în principal pe imunitatea mediată celular în răspunsul imun împotriva neoplaziilor, însă odată cu introducerea în practica oncologică a imunoterapiei antitumorale acesta capătă din ce în ce mai multe valențe (28). Datorită faptului că este format din molecule solubile, complementul are un avantaj marcant în apărarea antitumorală, întrucât poate ajunge facil în proximitatea și în interiorul masei tumorale; în plus, aparține primei linii de apărare imunologică, astfel încât fragmentele complementului sunt sintetizate chiar local de către macrofage, fibroblaste și celule endoteliale (29). Complementul poate distruge celulele tumorale

prin formarea complexului de atac la membrană, dar și prin depunerea de fragmente  $C_{3b}$  la nivelul țintei și astfel aceste fragmente sunt legate de receptorii pentru  $C_1$  și  $C_3$  ( $CR_1$  și  $CR_3$ ) exprimate pe suprafața leucocitelor (30). Totodată, cuplarea fragmentelor de complement cu anticorpi monoclonali himerici sau umani direcționați împotriva antigenelor tumorale poate crește atât citotoxicitatea complementului, cât și precizia legării anticorpilor monoclonali (31). O serie de studii au demonstrat rolul clasei m de proteine reglatoare ale complementului (mCRP) exprimate de către celulele tumorale în tentativa de a se proteja de injuria complement mediată (28). Antigenele CD 55 și CD46 exprimate de către celulele tumorale umane par a avea un rol asemănător, CD 55 fiind identificat la niveluri crescute în cancerul de colon și fiind creditat a indica un prognostic sumbru (32). CD 46 a fost găsit la concentrații invers proporționale cu nivelurile depozitelor de C3 din cancerul renal și de col uterin, iar leucocitele periferice izolate de la pacienții cu leucemie limfatică cronică (LLC) care nu au răspuns la tratamentul cu anticorpi monoclonali împotriva CD20 (Rituximab) au răspuns favorabil după neutralizarea CD 55 și CD 59, răspuns care nu se întâlnea și la cei sensibili la Rituximab (33, 34). În plus, nivelurile serice crescute de CD59 în LLC

nu au putut fi epurate satisfăcător de către terapia cu Rituximab, dar eficiența clearance-ului lor a fost crescută prin cuplarea anticorpilor monoclonali împotriva CD59 cu fragmente C3 ale complementului. Imunoterapia antitumorală pare să fie îmbunătățită de neutralizarea mCRP, prin creșterea capacității anticorpilor de a activa complementul și de a reduce funcția mCRP, iar celula tumorală devine mult mai susceptibilă la liza indusă de complement după îndepărtarea enzimatică cu fosfolipaza C a resturilor fosforilate ale CD55 și CD59 (35). Pentru cancerul de sân și prostată s-a reușit recent reducerea expresiei pe suprafața celulelor a acestor antigene, urmată de creșterea capacității litice a complementului seric (36).

## CONCLUZII

Sistemul complement are un rol esențial în apărarea antiinfecțioasă și în reglarea funcției imune. Disfuncționalitățile atât în sensul diminuării sau inactivării anumitor fracțiuni, cât și în sensul augmentării anumitor complexe enzimatiche supra-moleculare din cadrul sistemului complement au implicații patogenetice în deficitale imune și diferite afecțiuni de natură autoimună.

## BIBLIOGRAFIE

1. Rus H. – The complement system in central nervous system diseases. *Autoimmunity* 2006; 39(5): 395-402
2. Saeki T., Ito T., Yamazaki H. et al. – Hypocomplementemia of unknown etiology: an opportunity to find cases of IgG4-positive multi-organ lymphoproliferative syndrome *Rheumatol Int* 2009; 34: 61-65
3. Masaki Y., Dong L., Kurose N. et al. – Proposal for a new clinical entity, IgG4-positive multiorgan lymphoproliferative syndrome: analysis of 64 cases of IgG4-related disorders *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 1310
4. Săraci G. – Deficitul de complement în: Săraci G Sindroame pediatrice Ed Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu” Cluj Napoca 2005: 242-248
5. Bolger M.S., Ross D.S., Jiang H. et al. – Complement Levels and Activity in the Normal and LPS-Injured Lung *American Journal of Physiology: Lung Cellular and Molecular Physiology* 2006 Oct 27; 23: 43-49
6. Rantala A., Lajunen T., Juvonen R. et al. – Mannose-binding lectin concentrations, MBL2 polymorphisms, and susceptibility to respiratory tract infections in young men *J Infect Dis* 2008; 198: 1247-1253
7. Garlatti V., Belloy N., Martin L. et al. – Structural insights into the innate immune recognition specificities of L- and H-ficolins *Embo J* 2007; 26: 623-633
8. Lambris J.D., Ricklin D., Geisbrecht B.V. – Complement evasion by human pathogens *Nat Rev Microbiol* 2008; 6: 132-142
9. Cestari I., Evans-Osses I., Freitas J.C. et al. – Complement C2 receptor inhibitor trispanning confers an increased ability to resist complement-mediated lysis in *Trypanosoma cruzi* *J Infect Dis* 2008; 198: 1276-1283
10. Basta M. – Ambivalent effect of immunoglobulins on the complement system: activation versus inhibition *Mol Immunol* 2008; 45(16): 4073-9
11. Morrison T.E. – The host complement system and arbovirus pathogenesis *Curr Drug Targets* 2008; 9(2): 165-72
12. Kavanagh D., Goodship T.H. – Membrane cofactor protein and factor I: Mutations and transplantation *Semin Thromb Haemost* 2006; 32:155-159
13. Venables J.P., Strain L., Routledge D. et al. – Atypical haemolytic syndrome associated with a hybrid complement gene *PLoS Med* 2006; e431
14. Endo Y. – Lectin complement system and pattern recognition *Immunobiology* 2006; 211(4): 283-93
15. Buscaglia C.A., Campo V.A., Frasca A.C. et al. – Trypanosoma cruzi surface mucins: host-dependent coat diversity *Nat Rev Microbiol* 2006; 4: 229-236
16. Sjöholm A.G., Jonsson G., Braconier J.H. et al. – Complement deficiency and disease: an update *Mol Immunol* 2006 Jan; 43(1-2): 78-85
17. Nilsson S.C., Trouw L.A., Renault N. et al. – Genetic, molecular and functional analyses of complement factor I deficiency *Eur J Immunol* 2009 Jan; 39(1): 310-23
18. Pettigrew H.D., Teuber S.S., Gershwin M.E. – Clinical significance of complement deficiencies *Ann N Y Acad Sci* 2009 Sep; 1173: 108-23
19. Botto M., Kirschfink M., Macor P. et al. – Complement in human diseases: Lessons from complement deficiencies *Mol Immunol* 2009; 46: 2774
20. Pickering M.C., Macor P., Fish J. et al. – Complement C1q and C8beta deficiency in an individual with recurrent bacterial meningitis and

- adult-onset systemic lupus erythematosus-like illness *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47: 1588
21. **Walker P.D.** – Dense deposit disease: new insights *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2007; 16: 204
22. **Richards A., Kavanagh D., Atkinson J.P.** – Inherited complement regulatory protein deficiency predisposes to human disease in acute injury and chronic inflammatory states: the examples of vascular damage in atypical hemolytic uremic syndrome and debris accumulation in age-related macular degeneration *Adv Immunol* 2007; 96: 141
23. **Grumach A.S., Leitão M.F., Arruk V.G. et al.** – Recurrent infections in partial complement factor I deficiency: evaluation of three generations of a Brazilian family *Clin Exp Immunol* 2006 Feb; 143(2): 297-304
24. **Sprong T., Roos D., Weemaes C. et al.** – Deficient alternative complement pathway activation due to factor D deficiency by 2 novel mutations in the complement factor D gene in a family with meningococcal infections *Blood* 2006; 107: 4865
25. **Levi M., Choi G., Picavet C. et al.** – Self-administration of C1-inhibitor concentrate in patients with hereditary or acquired angioedema caused by C1-inhibitor deficiency *J Allergy Clin Immunol* 2006 Apr; 117(4): 904-8
26. **Schejbel L., Rosenfeldt V., Marquart H. et al.** – Properdin deficiency associated with recurrent otitis media and pneumonia, and identification of male carrier with Klinefelter syndrome *Clin Immunol* 2009; 131: 456
27. **Heinen S., Sanchez-Corral P., Jackson M. et al.** – De novo gene conversion in the RCA gene cluster (1q32) causes mutations in complement factor H associated with atypical hemolytic uremic syndrome *Hum Mutat* 2006; 27 :292-293
28. **Macor P., Tedesco F.** – Complement as effector system in cancer immunotherapy *Immunology Letters* 2007; 111: 6-13
29. **Kuroki M., Huang J., Shibaguchi H. et al.** – Possible applications of antibodies or their genes in cancer therapy *Anticancer Res* 2006; 26: 4019-25
30. **Graziano D.F., Finn O.J.** – Tumor antigens and tumor antigen discovery *Cancer Treat Res* 2005; 123: 89-111
31. **Macor P., Mezzanatica D., Cossetti C. et al.** – Complement activated by chimeric anti-folate receptor antibodies is an efficient effector system to control ovarian carcinoma *Cancer Res* 2006; 66: 3876-83
32. **Ziller F., Macor P., Bulla R. et al.** – Controlling complement resistance in cancer by using human monoclonal antibodies that neutralize complement-regulatory proteins CD55 and CD59 *Eur J Immunol* 2005; 35: 2175-83
33. **Goldenberg D.M., Sharkey R.M., Paganelli G. et al.** – Antibody pretargeting advances cancer radioimmunodetection and radioimmunotherapy *J Clin Oncol* 2006; 24: 823-34
34. **Paganelli G., Bartolomei M., Grana C. et al.** – Radioimmunotherapy of brain tumor *Neurol Res* 2006; 28: 518-22
35. **Sier C.F., Gelderman K.A., Prins F.A. et al.** – Beta-glucan enhanced killing of renal cell carcinoma micrometastases by monoclonal antibody G250 directed complement activation *Int J Cancer* 2004; 109: 900-1008