

EL SISTEMA DE COMPLEMENTO

José Angel Cova, MD. Instituto de Inmunología Clínica. ULA

Las primeras teorías acerca de la existencia del sistema de Complemento (C) aparecieron en el siglo XIX, mientras se estudiaban los efectos de los anticuerpos contra microorganismos y glóbulos rojos. Las descripciones iniciales de Grohmann, Nuttal, Buchner, Pfeiffer e Isayen en relación con el fenómeno de lisis señalaban que, además de los cuerpos inmunes específicos estables al calor (hoy conocido como anticuerpos), se requería la presencia de suero normal - no calentado - para la efectiva lisis de los microorganismos (1).

En 1889, Hans Buchner describió un principio bactericida lábil al calor, en la sangre, el cual fue posteriormente identificado como el sistema de C. En 1894, Jules Bordet trabajando en el laboratorio del Dr. Metchnikoff descubrió que la acción bactericida o lítica de la sangre fresca, la cual era destruida por calentamiento, era rápidamente restaurada cuando se añadía suero fresco, normal y sin calentar. Entonces, Bordet llamo a esta sustancia "Alexina". Paul Ehrlich las llamo "das komplement" para definirlo como "la actividad del suero que completa la acción del anticuerpo". En 1901, Bordet y Gengou desarrollaron el test de fijación de complemento para medir las reacciones antígeno-anticuerpo (1-3).

Ferrata en 1907 reconoció que el complemento era un sistema de múltiples componentes, un complejo de sustancias protéicas de la fracción de las globulinas presentes en el suero normal de muchas especies animales. Cuando los electrolitos fueron removidos del suero por diálisis contra agua destilada, la fracción euglobulina de proteínas séricas precipito. Una porción de la actividad del C estaba presente en esa fracción y una parte en el sobrenadante. Ferrata demostró que las fracciones de la euglobulina y pseudoglobulina por separado eran hemolíticamente inactivas. La actividad hemolítica se restauraba cuando las dos fracciones se combinaban. El componente presente en la euglobulina se combinaba con el complejo antígeno-anticuerpo, pero no producía lisis. Por su parte la fracción soluble no podía combinarse con el complejo antígeno-anticuerpo, a menos que la fracción euglobulina se agregara al sistema. Fue así como en la literatura de la época se designó a la fracción euglobulina como la parte

media del complemento, en tanto que la otra fracción fue designada como pieza final de este sistema (4,5).

Bordet, hacia 1900, proponía que la alexina (hoy conocida como complemento) era un estado coloidal transitorio del suero. Por el contrario Ehrlich pensaba que el C representaba una sustancia específica, presente el suero, con capacidad de inducir la lisis (4).

En esa misma década, en la Universidad de Columbia, un grupo de investigadores dirigidos por Heidelberger, diseñaban una investigación para determinar si el C era en realidad una sustancia, distinta a las ya estudiadas y presente en la sangre, mediante las determinaciones de su peso y tamaño. Este grupo de investigadores demostró que aquellos sueros que contenían C poseían una mayor peso y que esto estaba relacionado con precipitados específicos constituidos por anticuerpos anti-polisacáridos o anti-proteína. Este experimento clásico demostró que el C era una sustancia o sustancias real, compuesta de nitrógeno y con un tamaño molecular específico (6). Desde entonces la propuesta inicial de Erlich prevaleció sobre la hipótesis de Bordet. Partiendo de esta premisa, el grupo de Pillemer y Ecker intentaron purificar y obtener la sustancia alexina y ya para 1941, estos investigadores reportaban la purificación del primer componente del C, actualmente denominado C1. Esta experiencia exitosa estimuló a otros investigadores para analizar y purificar las otras proteínas que constituían este sistema (7).

Coca et al. describieron el tercer componente del C, hoy denominado C3, y propusieron además la existencia de una vía alterna para la activación del C mediante experimentos usando la pared de las levaduras que no tenían C1 ni C2 (4,7).

La vía clásica de activación del C fue descrita usando glóbulos rojos de carnero sensibilizados con anticuerpos específicos, añadiendo complemento humano o de acures y midiendo la lisis de los glóbulos. Además de la lisis, el C tiene otras funciones y es importante en los mecanismos de amplificación biológica que nos confieren resistencia contra agentes infecciosos.

Desde 1954, Pillemer et al. proponían la existencia de mecanismos de activación del sistema de C a través de alguna proteína no dependiente de anticuerpos, presente en el suero y que constituía una defensa temprana del huésped contra bacterias y virus agresores. Esta proteína fue denominada Properdin y en combinación con iones orgánicos y otros componentes formaban parte de las defensas naturales de la sangre. El Properdin participa, de una manera inespecífica, en varios tipos de reacciones inmunológicas (8).

La hipótesis de una vía alterna o vía del properdin que nos defiende de los agentes infecciosos y de las neoplasias, apareció a finales de los años 50, pero solo fue aceptada en los años 60 con el hallazgo de la existencia de sueros genéticamente deficientes en C2 y C4, que sin embargo preservaban el fenómeno de lisis celular. Parecía entonces que cuando las células blanco inducían la producción de anticuerpos fijadores de C, como es el caso de IgG e IgM, la vía clásica era activada. Por el contrario la presencia de anticuerpos incapaces de fijar al C por la vía clásica, como la IgA o sustancias no relacionadas a IgG e IgM, utilizan la vía alterna para activar el sistema e inducir la lisis celular. Ya para los años 70 la vía alterna era aceptada y sus componentes estaban identificados bioquímica e inmunológicamente. También se tenía un esquema de los eventos que ocurren en esta vía (9).

Hoy en día, con más de un siglo de investigación se afirma que el C es un sistema complejo de proteínas plasmáticas o tisulares, que por su mecanismo de acción pertenece a los sistemas enzimáticos cuya activación se produce en forma de cascada, siendo similar al sistema de las cininas y al sistema de la coagulación. El complemento es el principal mecanismo efector de la inmunidad humoral y tiene un gran poder inflamatorio. En la actualidad se sabe que más de 30 proteínas, presentes en el suero y en la superficie de numerosas células, forman parte de este sistema. Debido a que su activación puede causar inflamación y daño tisular, su papel en la patogénesis de muchas enfermedades es de gran relevancia para la inmunología clínica.

Las proteínas del C cuando se activan desarrollan o favorecen un conjunto de acciones resumidas como:

- Incremento de la actividad fagocítica.
- Lisis de células blanco susceptibles y de microorganismos patógenos (bacterias o virus).
- Solubilización y eliminación de complejos inmunológicos.
- Regulación de la producción de anticuerpos.

La activación del C lleva a la eliminación de agentes agresores extraños, sin producir, en la mayoría de los casos, lesión de los tejidos propios.

1.- La activación del Complemento por la vía clásica: Cuando el C se activa, independientemente de la vía implicada, se desarrollan tres etapas:

1.1.- Formación de la convertasa de C3: Es una de las etapas de mayor importancia en la activación del C, ya que constituye el evento central de la actividad del mismo: la fragmentación de C3. Las convertasas de C3 tienen estructuras diferentes en función de la vía por la cual se activa el sistema. Para el caso de la vía clásica, la convertasa de C3 está formada por un dímero denominado C4b2a.

1.2.- Formación de la convertasa de C5: Se produce después que las convertasas de C3 actúan y generan los fragmentos C3a y C3b. El fragmento C3b formado se une a la convertasa de C3 para formar la convertasa de C5, es decir, C4b2a3b.

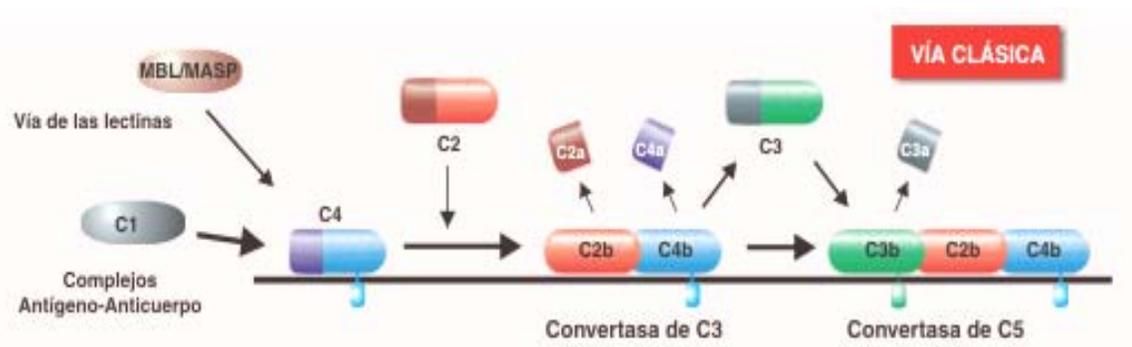
1.3.- Formación del Complejo de Ataque a la Membrana (CAM): Constituye la etapa final del fenómeno. Se inicia con la formación de C5b por acción de su convertasa. Una vez formado C5b se inicia la incorporación progresiva de los componentes finales del sistema, que son C6, C7, C8 y C9. El CAM final, ya formado, se designa como C5b-9.

El proceso de activación de la vía clásica se inicia con C1, la cual es un complejo trimolecular compuesto por las subunidades denominadas C1q ó unidad de

reconocimiento, C1r y C1s ó unidades catalíticas. C1q se une al complejo inmunológico (antígeno-anticuerpo) y sufre un cambio conformacional que da lugar a la activación enzimática del C1r asociado, este escinde y activa a C1s. El C1s activado escinde la siguiente proteína de la cascada, C4, originándose los fragmentos C4a y C4b. Este último permanece adherido a la membrana celular. Es importante destacar, que una sola molécula de C1s puede generar múltiples moléculas de C4 activado. C1s también actúa sobre C2, el cual, es degradado en dos componentes denominados C2a y C2b. El primero de ellos permanece unido a C4b para formar la convertasa de C3 (C4b2a). Por acción de esta convertasa, C3 sufre una ruptura proteolítica generando dos fragmentos, uno corto llamado C3a y uno largo ó C3b. La gran mayoría de las moléculas C3b se unen, por enlaces covalentes, a las membranas celulares, en sitios muy cercanos a la convertasa de C3 y forman un nuevo complejo multimolecular denominado convertasa de C5 ó C4b2a3b (1,3).

La acción de esta convertasa de C5, escinde este compuesto en sus derivados C5a y C5b. El segundo fragmento permanece adherido a la membrana celular donde da inicio a la etapa final de la activación del C, la formación del CAM (1,3,5).

El siguiente gráfico esquematiza la activación del C a través de la vía clásica:



Esquema de la activación de la vía clásica del Complemento.

2.- Componentes de la vía clásica del Complemento:

Con la finalidad de establecer la relación estructura-función de los componentes del C, dedicaremos las siguientes líneas para describir, de manera breve, los distintos elementos que constituyen la cascada de esta vía de activación del C.

2.1.- C1: Este componente es una proteasa multimolecular con capacidad para unirse a microorganismos patógenos y convertir una señal de reconocimiento en eventos proteolíticos altamente específicos. Tradicionalmente se acepta que el reconocimiento entre C1 y el microorganismo requiere la presencia de anticuerpos de la clase IgG ó IgM fijados al patógeno (10). Sin embargo, algunos invasores, como las bacterias gram negativas y los virus, pueden ser reconocidos por C1, en ausencia de anticuerpos específicos (11-13). La unidad de reconocimiento o C1q sufre, tras la unión con el anticuerpo (a través del fragmento Fc), un cambio conformacional que activa las subunidades catalíticas, dependientes de calcio, que están acopladas a C1q y forman el tetrámero C1s-C1r-C1r-C1s, las cuales tienen actividad de proteasas. El proceso involucra dos pasos, el primero que consiste en la autoactivación lítica de la proenzima C1r. Este una vez activado convierte a la proenzima C1s en una proteasa activa, responsable de fragmentar las dos siguientes proenzimas del C, a saber, C2 y C4 (3,14,15).

La molécula C1q humana consta de tres cadenas diferentes, compuesta de 18 polipéptidos, denominados 6A, 6B, 6C, que tienen similitud en su longitud, así como en la secuencia de sus aminoácidos (16). En el extremo amino-terminal (N-terminal) se forman uniones disulfuro entre las cadenas A-B y C-C. Esta región es seguida por una secuencia parecida a la del colágeno y desde ella emergen seis estructuras parecidas a una hélice con tres aspas muy próximas entre sí. Las hélices se unen a un tallo y todo el conjunto adopta la forma de 6 brazos (algunos la llaman en "forma de bouquet"). Cada brazo terminando en una hélice de tres aspas es denominado "modulo C1q" y seis modulos juntos forman una molécula de C1q (Unidad de reconocimiento). Esta región constituye el sitio de unión al fragmento cristalizante (Fc) de las inmunoglobulinas (1,17-19).

Los otros dos constituyentes de C1, C1r y C1s, son serina-proteasas con una organización estructural muy parecidas. En la forma de proenzima, C1r y C1s son glicoproteínas de una sola cadena compuestas por 688 y 673 aminoácidos (a.a), respectivamente (4,20). La forma activada se genera cuando un enlace entre una arginina y una isoleucina es cortado (Unidad catalítica). Las interacciones entre C1r y C1s son dependientes de calcio y en el modelo estudiado por microscopía electrónica las unidades se ensamblan formando un tetrámero (C1s-C1r-C1r-C1s). En el tetrámero, las regiones catalíticas carboxiterminal de ambos C1r se ubican en el centro y las de C1s en los extremos (21,22). Esta disposición espacial permite el contacto entre las regiones catalíticas de C1r y C1s y de esta manera el último puede ser escindido cuando el primero se activa.

2.2.- **C4**: Es un complejo formado por tres cadenas polipeptídicas, llamadas α , β y γ . La estructura de su cadena α se asemeja a la del C3, por la presencia de un enlace tioéster.

Este componente es codificado en el brazo corto del cromosoma 6 y forma parte de las moléculas clase III del complejo mayor de histocompatibilidad. Es el primer componente sobre el cual ejerce su acción C1s activado fragmentándolo, a nivel de la cadena α , dando origen a una porción pequeña ó C4a y un fragmento grande ó C4b. Esta proteólisis descubre un sitio para la unión con C2, localizado en C4b (23).

2.3.- **C2**: Esta molécula contiene la subunidad catalítica de la llamada “convertasa de C3” de la vía clásica de activación del C. Esta formada por una cadena polipeptídica de 732 a.a y al igual que el C4 es una molécula clase III del complejo mayor de histocompatibilidad (24,25).

Los estudios realizados con microscopía electrónica han revelado que C2 presenta tres dominios globulares. Cada uno de esos dominios tiene propiedades funcionales relacionadas con su estructura. Así encontramos que el dominio N-terminal contiene el principal sitio de unión a la proteína C4b y está formada por tres secuencias cortas que se repiten (SCRs). El dominio medio presenta un sitio adicional para la unión de esta molécula, completa o fragmentada, a C4b. El último

dominio, el carboxiterminal, representa la porción catalítica de la molécula, que actúa rompiendo a C3. Este dominio tiene homología estructural con la familia de las proteasas serina (24-26).

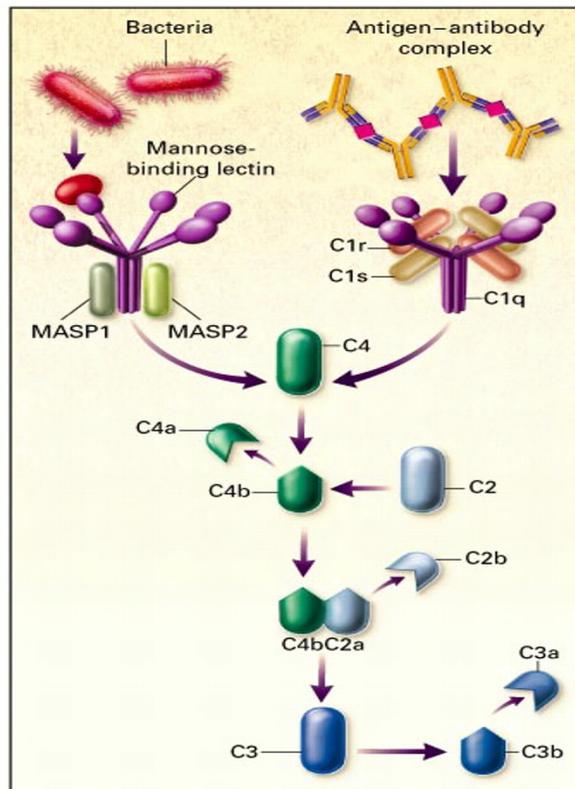
La molécula C2 es escindida en dos fragmentos, C2a y C2b. El primero permanece unido a la superficie celular, muy cerca de C1 y el segundo queda en la fase fluida (3).

3.- La activación del Complemento por la vía alterna: La vía alterna es evolutivamente más antigua que la vía clásica, ya que esta presente en organismos inferiores como el erizo de mar. Esta forma alterna de activación del complemento no requiere de la presencia de complejos antígeno-anticuerpo en la superficie del patógeno. El C3, en la fase fluida, sufre una hidrólisis basal y espontánea en presencia del agua formando un intermediario inestable llamado C3i ó C_3H_2O , el cual tiene una vida media muy corta a menos que sea estabilizado mediante la unión con el factor B, formando el C3iB. Un nuevo elemento, el factor D, actúa sobre este complejo C3iB, específicamente sobre el factor B, degradándolo en Bb y Ba. El Bb sigue unido a C3i (C3iBb) en tanto que Ba es liberado al intersticio. El complejo C3iBb, aún en la fase fluida, actúa como una convertasa inicial sobre nuevas moléculas de C3, las cuales son escindidas en los componentes C3a y C3b. El C3b se une a las membranas de los patógenos y atrae nuevas moléculas de factor B y factor D; estas dos últimas interactúan y generan más componentes Bb, el cual se une de manera estable al C3b recién formado, originando C3bBb. Algunos C3bBb, unidos a la membrana, se asocian con el factor P o properdina transformándose en la convertasa de C3 de la vía alterna (C3bBbP) en la fase sólida. Esta nueva convertasa genera más fragmentos C3a y C3b.

En este sistema de recambio, transformación y expansión algunas de las moléculas de C3b se unen a algunos dímeros de C3bBb y forman el complejo C3bBb3b, que actúa como convertasa de C5. La acción de esta convertasa genera los fragmentos C5a y C5b; este último inicia la secuencia de eventos de la formación del complejo de ataque a la membrana.

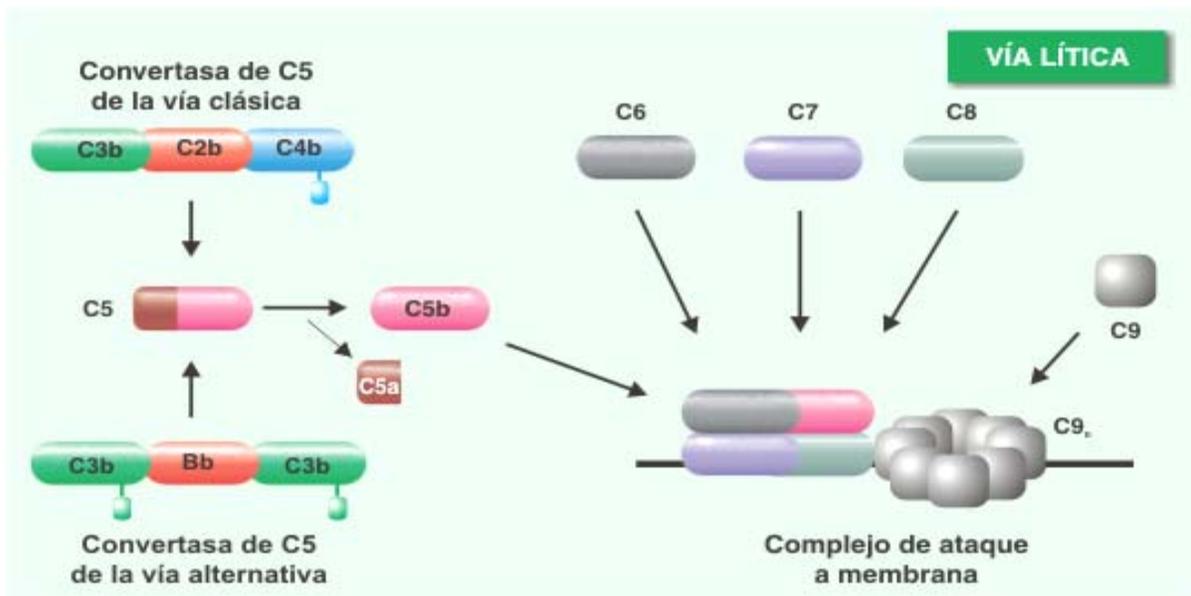
La lectina de unión a la manosa (MBL) pertenece a la familia de las colectinas; esta MBL es capaz de unirse a una gran variedad de hidratos de carbono como manosa, N-acetil glucosamina, L-lactosa, entre otros; presentes en la superficie de muchos microorganismos, principalmente: *Bifidobacterium*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β-hemolítico grupo A*, *Propionibacterium acnes*, *Neisseria*, *Salmonella*, *Listeria*, *Criptococcus neoformans*, entre otros.

La interacción entre MBL y el patógeno induce la unión y la activación de enzimas con actividad proteasa-serina, denominadas serina-proteasas asociadas a MBL ó MASP-1 y MASP-2. Al activarse MASP-2 escinde a los componentes C4 y C2, lo que origina la formación de la convertasa para C3. El resto de la activación se corresponde con lo descrito para la vía clásica, como lo señala este esquema:



Esquema de la vía de las lectinas.

5.- La vía final común del Complemento: En la última etapa C6 se une directamente a C5b. Luego se incorpora una molécula de C7 y se forma un complejo trimolecular, el C5b67. Este complejo tiene gran capacidad para insertarse en las membranas celulares que forman los tejidos y en los microorganismos, por lo que puede favorecer la formación del CAM en células diferentes a aquellas donde está ocurriendo la activación del C, originando el fenómeno de lisis reactiva o de células “inocentes”. Posterior a este evento el siguiente componente, C8 se une al complejo C5b67, insertandose por su cadena γ en la membrana de la célula. Este complejo inicia el daño de esta membrana y la célula comienza a perder, mediante “goteo”, el contenido de su citoplasma. La molécula C9 con su alta capacidad de polimerizar permite que, un número variable de moléculas (de 4 a 18 unidades de C9), se inserten en la membrana celular formando poros o canales que facilitan la entrada de agua, sodio extracelular y otros iones, con pérdida del potasio y calcio intracelular. El arrastre de sodio permite el paso de agua al interior de la célula y en consecuencia esta célula blanco se hincha y sufre un fenómeno de lisis osmótica (1,3,5). El gráfico siguiente resume los eventos que llevan a la formación del CAM:



Esquema de la vía final común del complemento.

6.- Componentes de la vía final del complemento:

La vía clásica se conecta con la vía final común por los siguientes componentes:

6.1.- **C3**: Constituye el punto de intersección en la activación de las tres vías descritas para el C (clásica, alterna y de las lectinas) y es el componente más versátil y multifuncional de todo el sistema ya que es capaz de interactuar con, al menos 25 proteínas diferentes en el organismo (27).

El C3 humano es la proteína del C más abundante, aproximadamente 1,2 mg/mL, presente en el suero y consta de dos cadenas, una β y otra α , unidas por enlaces covalentes. La proteína es codificada por un gen de 41 Kb de longitud, localizado en el cromosoma 19 (28).

El heterodimero de C3 es progresivamente escindido durante la activación del C. Es así como se van generando los fragmentos C3a, C3b, iC3b1, iC3b2, C3f, C3d, C3g y C3c, los cuales tienen diferentes funciones en el proceso inflamatorio. El segmento C3d contiene un enlace tioéster intramolecular que es capaz de unirse, una vez expuesto, de forma covalente a moléculas aceptoras presentes en la superficie de una gran variedad de células. La condición para que esto ocurra es la presencia de un enlace éster o amida en la superficie celular (29). Este enlace tioéster, de capital importancia para la función de la molécula, se encuentra oculto en un sitio hidrofóbico y solamente queda expuesto cuando C3 es escindido, por la convertasa, en C3a y C3b (esto evita la unión innecesaria del C3 nativo a la célula). Por razones desconocidas C3b, a través del enlace tioéster, reacciona con los grupos OH presentes principalmente en la IgG1 y en C4b. Esta unión es aleatoria y con cierto grado de especificidad, pero la molécula no discrimina entre lo propio y lo no propio (30). En ausencia de reguladores, la molécula puede igualmente unirse a la célula del huésped, causando daño a estas células.

6.2.- **C5**: Forma parte de la etapa final de la activación del C y es la molécula con la que se inicia la formación del “complejo de ataque a la membrana”. A partir de C5 todos los eventos que se suceden son comunes para las vías de activación clásica, alterna y de las lectinas.

C5 es un heterodimero, con un peso molecular de aproximadamente 180 kD, formado dos cadenas, una α y otra β que están unidas por enlaces disulfuro. Los estudios moleculares en el cerdo han demostrado que la proteína precursora de C5 consta de aprox. 1.677 a.a. (31).

C5 tiene una región no enzimática que se une al componente C3b. Esta unión acerca la región catalítica de C3b al C5, produciéndose una ruptura del extremo aminoterminal de la cadena α generándose los dos fragmentos, C5a y C5b. La fragmentación de C5 es la última etapa enzimática de la activación del C. El componente C5b es extremadamente lábil e inestable y requiere de la unión de C6 para estabilizarse. Se estima que una molécula de C5b debe unirse a una molécula de C6 dentro de los 2 minutos posterior a su formación. Después de este breve tiempo, si la unión no ocurre, C5b se inactiva y sale de la membrana celular.

En relación con C5a, este fragmento parece actuar a distancia del sitio donde se origina, interactuando con un receptor presente en los macrófagos hepáticos para inducir mensajes pirogénicos al cerebro (32).

6.3.- **C6 y C7**: Son componentes del C, formados por una única cadena polipeptídica, de 128 y 121 kD, respectivamente.

6.4.- **C8**: Es un trímero, de 150 kD, formado por las cadenas α , β , y γ . La incorporación de C8 al CAM inicia la lesión de la membrana celular induciendo una pérdida pequeña del contenido intracelular.

6.5.- **C9**: Es el componente final de la cascada del C. Es una proteína formada por una sola cadena polipeptídica (79 kD), con capacidad de polimerización y que al incorporarse a la célula completa la lisis iniciada por C8. En general, se incorporan entre 4 y 18 cadenas de C9 para la formación del poro en la membrana celular.

El complejo C5b-9 puede, bajo determinadas condiciones rescatar a la célula de la muerte y se cree que los mecanismos implicados para esto incluyen incremento del flujo de calcio, activación de fosfolipasas, aumento del diacilglicerol y de las ceramidas, activación de protein-kinasa C, entre otros (34).

7.- Participación del Complemento en la homeostasis y la enfermedad: Las funciones biológicas del C son de gran importancia para la acción y la regulación del sistema inmunológico, especialmente, en los aspectos relacionados con la respuesta inflamatoria, de la cual, es el más poderoso efector humoral. La acción del C va más allá de lo dicho en las líneas anteriores y el sistema participa en procesos fisiológicos como la opsonización, fagocitosis, transporte y eliminación de los complejos inmunológicos y regulación de la respuesta inmunológica. Desde hace varios años, se han venido señalado nuevos roles para este sistema, que incluyen la modulación de la muerte celular programada en células diferenciadas, el daño tisular por isquemia-reperfusión y la acción facilitadora en la propagación del virus de la inmunodeficiencia humana, entre otros (35-39).

7.1.- Adherencia opsónica y actividad fagocítica: La activación del C, por cualquiera de sus vías, genera moléculas, como C3b, iC3b y C4b, que actúan como opsoninas (marcadores) que facilitan la fagocitosis de los microorganismos recubiertos por ellas. Las células fagocíticas reconocen a estos invasores, por la expresión de receptores para el C (CR1, CR4) y capturan a estos agentes, iniciando así el fenómeno de la fagocitosis. La fagocitosis mediada por fragmentos del C es uno de los mecanismos más importantes de eliminación de agentes bacterianos, algunos hongos y virus (35).

7.2.- Actividad lítica: Cuando el C se activa, por cualquiera de sus vías, sobre las membranas de un microorganismo, se produce, generalmente la formación del CAM. La inserción de la cadena γ de C8, seguida de la polimerización de C9 en la membrana celular, determina la formación de canales que llevan a la lisis osmótica del patógeno. Este mecanismo es de suma importancia en la defensa contra las enfermedades infecciosas (23).

Las bacterias más susceptibles a la acción del CAM son las del género *Neisseria*. Algunos patógenos han desarrollado mecanismos de resistencia a la lisis, inactivando el CAM en alguno de sus constituyentes (40).

7.3.- Actividad pro-inflamatoria: La fragmentación de los componentes C3, C5 y C4 del C, genera las fracciones C3a, C5a y C4a que actúan como anafilotoxinas. Ellas pasan al medio fluido y al torrente sanguíneo para mediar importantes funciones. Estas funciones son:

- Inducción de la liberación de sustancias vasoactivas como histamina, prostaglandinas, leucotrienos, entre otros. La función de ellas es bien conocida en la inducción y mantenimiento del proceso inflamatorio. C5a estimula la liberación de citocinas por varias células. La potencia de cada una de estas anafilotoxinas es, en orden decreciente, C5a>C3a>C4a (1,3).
- Incremento de la quimiotaxis y quimioquinesis en células del sistema inmunológico, como los neutrófilos y macrófagos. Los fragmentos C5a y C3a construyen un gradiente que sirve de referencia a las células, en dirección al sitio de la inflamación. Cuando la concentración de C5a es elevada se produce la estimulación de los neutrófilos, el estallido respiratorio y la producción de intermediarios reactivos del oxígeno (ROI). También incrementa la expresión de receptores para el C (1,3,35).

7.4.- Transporte y eliminación de complejos inmunológicos: Algunos componentes del C participan en la recolección y traslado de los complejos inmunológicos (CI) recién formados, hacia los sitios donde estos deben ser degradados, evitando de esta manera la formación de macroagregados de CI que pueden depositarse en los vasos sanguíneos y en algunos órganos, como el riñón, e inducir la activación del C y producir daño tisular.

La secuencia de eventos incluye la captura de los CI que posean adheridos moléculas de C3b, iC3b o C4b, por medio de los receptores 1 del C (CR1), altamente expresados en los glóbulos rojos. Los complejos eritrocito-CR1-CI son entonces transportados a sitios donde serán degradados, como por ejemplo al hígado donde las células de Kupffer los fagocitan y los eliminan. El eritrocito una vez que suelta los CI regresa a la circulación general para recolectar nuevos complejos (35).

Por otra parte, componentes propios de las vías clásica y alterna, interactúan con los CI y los solubilizan, es decir, los transforman en CI de menor tamaño molecular disminuyendo su depósito en los tejidos.

7.5.- Regulación de la respuesta inmunológica adaptativa: El C participa en la regulación de la respuesta inmunológica de tipo humoral. La síntesis de anticuerpos, así como la activación del linfocito B requieren de algunas señales coestimuladoras donde participan el C3d (unido al antígeno) y el complejo CD21-CD19-CD81 (presente en la célula B) (41,42).

CD21 pertenece a la familia de receptores para complemento (también designado CR2), es una proteína de 145 kDa expresada en las células B y en las células dendríticas foliculares. Su porción extracelular está formada por 15 a 16 unidades repetidas de aminoácidos (Short consensus repeats, SCR). Los ligandos para CD21 son iC3b, C3dg, C3d (todos fragmentos de C3), la proteína de envoltura gp350/220 del virus Epstein-Barr y CD23. CD21 por sí solo no induce activación celular pero al estar asociado a la IgM de membrana (sIgM), presente en la célula B, incrementa transitoriamente los niveles de calcio inducidos por la sIgM y facilita la activación de estas células para transformarlas en células plasmáticas productoras de anticuerpos. Esta señal también parece participar en el desarrollo de los centros germinales en los órganos linfoides secundarios (43).

La importancia del C en las respuestas de inmunidad humoral queda reflejada por la grave afectación de la producción de anticuerpos y de la formación de centros germinales en ratones con inhibición génica selectiva de C3, C4 o del receptor CR2 (44,45).

Por otra parte, la relación entre las deficiencias genéticas de los componentes del C y el desarrollo de enfermedades autoinmunes, como el lupus eritematoso sistémico, sugiere que el C juega un papel importante en el desarrollo de la tolerancia frente a los autoantígenos.

Nuevas funciones han sido añadidas al C en los últimos años y un breve resumen de las más importantes serán señaladas en las próximas líneas.

7.6.- El Complemento en el fenómeno de isquemia-reperfusión: La isquemia-reperfusión es un evento que ocurre cuando un tejido sometido a una isquemia, por trauma, infarto de miocardio, cirugía o accidente cerebro-vascular, sufre una reperfusión trayendo como consecuencia un daño tisular severo. En 1990, Weisman et al demostraron la participación del C en la injuria por reperfusión. Ellos evidenciaron que una forma soluble del receptor del C, denominado sCR1, el cual inhibía la activación del C a nivel de C3b, tenía un efecto protector en el daño crónico que ocurre en el infarto de miocardio después de la isquemia (46).

Weiser et al usaron un modelo experimental para demostrar la participación del C en este fenómeno, el cual consistió en inducir isquemia, colocando un torniquete en una extremidad inferior, en ratones deficientes en C3 y en ratones no deficientes, durante 2 horas. Previo a la liberación del torniquete para inducir reperfusión, a los animales les fue inyectado albumina marcada con un radioisótopo y el grado de edema e inflamación fue medido determinando la cantidad de albumina marcada, en el tejido y en la sangre. Los animales deficientes en C3 presentaron una reducción importante en el grado de inflamación, comparado con los animales no deficientes. El mismo experimento usando ahora ratones deficientes en C4 mostró igual resultado. Este hecho permitió establecer que, en ausencia de la activación del C, los ratones estaban protegidos del daño post-reperfusión. La similitud de los resultados usando ratones deficientes en C4, señala la participación de la vía clásica de activación del C en el daño por isquemia-reperfusión, ya que esta vía de activación requiere de C4 (47).

Los anticuerpos, de la clase IgM e IgG, son necesarios para la activación de la vía clásica y por ende participan en el fenómeno de isquemia-reperfusión. La IgM es la inmunoglobulina involucrada en esta forma de inducción de daño tisular (48,49). Al parecer, la IgM reconoce neo-antígenos, expresados en el endotelio, tras la reperfusión. El complejo neo-antígeno-IgM activa a C1, luego se activa C4 y C2, iniciando de esta forma el daño tisular por activación de la vía clásica y vía final común del C (49).

En conclusión, la injuria por reperfusión es una respuesta inflamatoria dependiente del C, que resulta de la reperfusión de un tejido isquémico, en donde participan la IgM y los linfocitos B, principalmente los del tipo B-1 CD5 positivos. Este hallazgo pudiera ser usado como herramienta terapéutica para el tratamiento de las enfermedades trombóticas, a fin evitar la necrosis adicional por el fenómeno de isquemia-reperfusión y así preservar más tejido funcional en el paciente.

7.7.- Participación del C en la regulación del ciclo celular y la muerte celular programada (apoptosis) : Hasta ahora, la evidencia mostrada ha reflejado una acción lítica para el C. Sin embargo, la formación del CAM (C5b-9) no siempre implica la formación de poros transmembrana que llevan a lisis osmótica celular. Cuando el número de moléculas C5b-9 es limitado, la célula puede escapar de la muerte celular mediante la rápida endocitosis de estos recién formados complejos C5b-9 (50,51).

En células post-mitóticas, como los oligodendrocitos (OLG) y el músculo esquelético (ME), C5b-9 puede revertir el fenotipo diferenciado de estas células. El C5b-9 sublítico induce proto-oncogenes, activa el ciclo celular e incrementa la sobrevivencia por inhibición de la apoptosis.

Los OLG son células, que en un 80% se encuentran en la fase G₀/G₁ (reposo) del ciclo celular, pero cuando estas células son expuestas a bajas cantidades del complejo C5b-9 (sublíticas), se observa que, entre 10 a 12 hrs, estas células pasan a la fase S (división), medido en términos de incorporación de timidina-H₃ ó bromodeoxyuridin (BrdU). Esta fase de transición de G₁ a S requiere la activación de algunas enzimas llamadas kinasas dependientes de ciclinas (cdk). Después del ensamblaje del C5b-9 sublítico sobre la célula, se aprecia un incremento de algunas de estas cdk, como lo son cdk4 y cdc2 (52,53). El mismo efecto ha sido observado en las células de músculo liso de la aorta, pero además en estas células se demuestran niveles bajos de los inhibidores de las cdk, especialmente de las proteínas 21 (p21) y 27 (p27). Esto parece indicar que el C puede inducir el ciclo celular alterando los reguladores negativos (p21 y p27) y activando las kinasas relacionadas con este ciclo (cdk4 y cdc2) (54-56).

El C5b-9 sublítico es capaz de inhibir la apoptosis de los OLG, en cultivos sin suero. La inhibición de la apoptosis por este complejo involucra una detención en la liberación del citocromo-c mitocondrial, inhibición de la activación de la caspasa -9 y de la caspasa-3, procesos involucrados en la señal de la muerte celular programada (57).

7.8.- El C como facilitador de la enfermedad: Dada la importancia del C en los mecanismos iniciales de defensa contra los patógenos bacterianos, parasitarios y virales, parece lógico suponer que dichos patógenos evolucionan y desarrollan mecanismos, que le permiten burlar la acción del C, o peor aún, le permiten su entrada a la célula y su diseminación en el huésped. El ejemplo más claro lo constituye, la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), ya que este virus es capaz de usar el C, en los diferentes compartimientos corporales (mucosas, tejido linfoide, sangre periférica, cerebro y otros) para protegerse del ataque inmunológico.

Cuando la infección ocurre por contacto sexual, el C a nivel del fluido vaginal y seminal se activa, esto produce opsonización, por los fragmentos de C3 adheridos al virus, y fagocitosis por células dendríticas y macrófagos. De esta forma, el HIV puede ser transportado desde la mucosa hasta el tejido linfoide y pasar de esta célula dendrítica a una célula T permisiva para la replicación (58-61). Desde el nodo linfoide, el virus puede diseminarse a otros órganos linfoides y a la sangre periférica.

En el tejido linfoide, nodo linfático y centros germinales, el C contribuye con el atrapamiento del HIV en la red de células dendríticas foliculares (FDC) favoreciendo la formación del reservorio viral más importante en sujetos bajo terapia supresora altamente efectiva (HAART). Una vez que el virus se une a anticuerpos específicos o a fragmentos del C, principalmente C3d, es capaz de interactuar con los receptores para complemento expresados en la superficie de las FDC, especialmente CR2. El virus atrapado en estos reservorios es infeccioso y puede pasar a una célula T que interactúa con las FDCs en este sitio anatómico. Más aún, se estima que el C puede facilitar la infección de células CD4-negativas

asi como de los linfocitos B usando el mecanismo anteriormente descrito, ya que las células B expresan receptores para el complemento (62-65).

Otros patógenos como el *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania sp* y el *Shistosoma mansoni* han desarrollado mecanismos para evadir la lisis inducida por el C y así poder diseminar la infección (66).

Este breve recorrido por los aspectos más resaltantes de la biología del Complemento, permiten inferir que este sistema multifuncional, multimolecular y ancestral juega un papel importante en los mecanismos de defensa innato y en el control de diversas funciones celulares, por lo que las mediciones adecuadas serían de utilidad para definir los trastornos del C y sus consecuencias en la salud y la enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

1. Frank M. The complement system. In: Samter M, Talmage D, Frank M, Austen KF, Claman H, editors. Immunological diseases. 4Th ed. Little Brown and Co: Boston; 1988. p. 2-205.
2. Brown EJ, Joiner KA, Frank MM. Complement. In: Paul WE, editor. Fundamental Immunology. 3th ed. Raven Press: New York; 1985. p. 645-647.
3. Goldsby RA, Thomas JK, Osborne BA. Kuby immunology. 4th ed. Freeman: New York; 2000. p. 329-350.
4. Walport MJ, Lachmann PJ. Complement. In: Lachmann PJ, Peters K, Rosen F, Walport M, editors. Clinical aspects of immunology. 5th ed. Blackwell Scientific Publications;1993. p. 347-350.
5. Ferrata A. Die unwirksamkeit der komplexen hamolysine in salzfreien losungen und ihre ursache. Berl Klin Wochenschr. 1907;44:366-370.
6. Heidelberger M. Lectures in immunochemistry. New York Academic Press; 1956. p. 1-150.
7. Cruse JM, Lewis RE. The complement system: Chronology and Mystique. In: Cruse JM, Lewis RE, editors. Complement profiles. Vol 1. Karger; 1993. p. 1-4.
8. Pillemer L, Blum L, Lepow IH, Ross OA, Todd EW, Wardlaw AC. The properdin system and immunity: demostration and isolation of a new serum

protein, properdin, and its role in immune phenomena. *Science* 1954;120:279-285.

9. Maves KK, Weiler J. Properdin: approaching four decades of research. *Immunol Res* 1993;12:233-243.
10. Frank MM. Complement in the pathophysiology of human disease. *New Eng J Med* 1987;316:1525-1530.
11. Loos M. Antibody-independent activation of C1, the first component of complement. *Ann Immunol Inst Pasteur* 1982;133C:165-179.
12. Cooper NR, Jensen FC, Welsh RM Jr, Oldstone MBA. Lysis of RNA tumor viruses by human serum: direct antibody-independent triggering of the classical complement pathway. *J Exp Med* 1976;144:970-984.
13. Ebenbichler CF, Thielens NM, Vornhagen R, Marschang P, Arlaud GJ, Dierich MP. Human immunodeficiency virus type I activates the classical pathway of complement by direct C1 binding through specific sites in the transmembrane glycoprotein gp41. *J Exp Med* 1991;174:1417-1424.
14. Schumaker VN, Zavodszky P, Poon PH. Activation of the first component of complement. *Annu Rev Immunol* 1987;5:21-42.
15. Arlaud GJ, Colomb MG, Gagnon J. A functional model of the human C1 complex. *Immunol today* 1987;8:106-111.
16. Sellar GC, Blake DJ, Reid KBM. Characterization and organization of the genes encoding the A-, B- and C-chains of human complement subcomponent C1q: the complete derived amino acid sequence of human C1q. *Biochem J* 1991;274:481-490.
17. Reid KBM. Proteins involved in the activation and control of the two pathway of human complement. *Biochem Soc Trans* 1983;11:1-12.
18. Reid KBM. C1q and mannose-binding lectin. In: Volanakis JE, Frank MM, editors. *The human complement system in health and disease*. New York:Marcel Dekker, Inc; 1998. p. 33-48.
19. Strang CJ, Siegel RC, Phillips ML, Poon PH, Schumaker VN. Ultrastructure of the first component of human complement: electron microscopy of the crosslinked complex. *PNAS* 1982;79:586-590.
20. Tschoop J, Villiger W, Fuchs H, Kilchherr E, Engel J. Assembly of subcomponents C1r and C1s of first component of complement: electron microscopy and ultracentrifugal studies. *PNAS* 1980;77:7014-7018.

21. Arlaud GJ, Thielens NM. Human complement serine proteases C1r and C1s and their proenzymes. *Methods Enzimol* 1993;223:61-82.
22. Gregory LA, Thielens NM, Arlaud GJ, Fontecilla-Camps JC, Gaboriaud C. X-ray structure of the Ca²⁺-binding interaction domain of C1s. Insights into the assembly of the C1 complex of complement. *J Biol Chem* 2003;278:32157-32164.
23. Frank MM. Complement: A brief review. *Allergy Clin Immunol* 1989;84: 411-420.
24. Bentley DR. Primary structure of human complement component C2. Homology to two unrelated protein families. *Biochem J* 1986;239:339-345.
25. Tomana M, Niemann M, Garner C, Volanakis JE. Carbohydrate composition of the second, third, and fifth components and factors B and D of human complement. *Mol Immunol* 1985;22:107-111.
26. Oglesby TJ, Accavitti MA, Volanakis JE. Evidence for a C4b binding site on the C2b domain of C2. *J Immunol* 1988;141:926-931.
27. Lambris JD, Sahu A, Wetsel R. The chemistry and biology of C3, C4 and C5. In: Volanakis JE, Frank M, editors. *The human complement system in health and disease*. New York: Marcel Dekker. 1998. p. 83-118.
28. Whitehead AS, Solomon E, Chambers S, Bodmer WF, Povey S, Fey G. Assignment of the structural gene for the third component of complement to chromosome 19. *PNAS* 1982;79:5021-5025.
29. Law SKA, Dodds AW. The internal thioester and the covalent binding properties of the complement proteins C3 and C4. *Protein Sci* 1997;6:263-274.
30. Carrol MC. The rol of complement and complement receptors in induction and regulation of immunity. *Annu Rev Immunol* 1998;16:545-568.
31. Kumar KG, Ponsuksili S, Schellander K, Wimmers K. Molecular cloning and sequencing of porcine C5 gene and its association with immunological Traits. *Immunogenetics* 2004;Feb 10. Paper 1432-1211 (Online).
32. Blatteis CM, Li S, Li Z, Perlik V, Feleder C. Signaling the brain in systemic inflammation: the role of complement. *Front Biosci* 2004; 9:915-931.
33. Carney DF, Lang TJ, Shin ML. Multiple signal messengers generate by terminal complement complexes and their role in terminal complement complexes elimination. *J Immunol* 1990;145:623-629.

34. Cybulsky AV, Takano T, Papillon J, Khadir A, Bijjian K, Le Berre L. The actin cytoskeleton facilitates complement-mediated activation of cytosolic phospholipase A2. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;3:F466-F476.
35. Abbas A, Lichtman A, Pober J. Mecanismos efectores de la inmunidad humoral. In: Abbas A, Lichtman A, Pober J, editors. *Inmunología celular y molecular*. 4ta ed. McGraw-Hill Interamericana; 2002. p. 322-347.
36. Rus HG, Niculescu F, Shin ML. Sublytic complement attack induces cell cycle in oligodendrocytes. *J Immunol* 1996;156:4892-4900.
37. Halperin JA, Taratusca A, Nicholson-Weller A. Terminal complement complex C5b-9 stimulate mitogenesis in 3T3 cells. *J Clin Invest* 1993;91:1974-1978.
38. Williams JP, Pechet TT, Weiser MR, Reid R, Kobzik L, Moore FD Jr, Carroll MC, Hechtman HB. Intestinal reperfusion injury is mediated by IgM and complement. *J Appl Physiol* 1999;86:938-942.
39. Tortorella D, Gewurz BE, Furman MH, Schust DJ, Ploegh HL. Viral subversion of the immune system. *Annu Rev Immunol* 2000;18:861-926.
40. Deng J, Gold D, LoVerde PT, Fishelson Z. Inhibition of the complement membrane attack complex by *Schistosoma mansoni* paramyosin. *Infect Immun* 2003;71:6402-6410.
41. Matsumoto A., Kopicky-Burd J., Carter R., Tuveson D., Tedder T., Fearon D. Intersection of the complement and immune systems: a signal transduction complex of the B lymphocyte-containing complement receptor type 2 and CD19. *J Exp Med*. 1991; 173: 55-64.
42. Kansas G., Tedder T. Transmembrane signals generated through MHC class II, CD19, CD20, CD39 and CD40 antigens induce LFA-1-dependent and independent adhesion in human B cells through a tyrosine kinase-dependent pathway. *J Immunol*. 1991; 147: 4094-4102.
43. Weis J., Toothaker L., Smith J., Fearon D. Structure of the human B lymphocyte receptor for C3dg and the Epstein-Barr virus and relatedness to other members of the family of C3/C4 binding proteins. *J Exp Med*. 1988; 168: 1953-1954.
44. Wessels MR, Butko P, Ma M, Warren HB, Lage AL, Carroll MC. Studies of group B streptococcal infection in mice deficient in complement component C3 or C4 demonstrate an essential role for complement in both innate and acquired immunity. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1995;92:11490-11494.
45. Croix DA, Ahearn JM, Rosengard AM, Han S, Kelsoe G, Ma M, Carroll MC. Antibody response to a T-dependent antigen requires B-cell expression of complement receptors. *J Exp Med* 1996;183:1857-1864.

46. Weisman HF. Soluble human complement receptor type 1: *In vivo* inhibitor of complement suppressing post-ischemic myocardial inflammation and necrosis. *Science* 1990;249:146-151.
47. Weiser MR, Williams JP, Moore FD Jr, Kobzik L, Ma M, Hechtman HB, Carroll MC. Reperfusion injury of ischemic skeletal muscle is mediated by natural antibody and complement. *J Exp Med* 1996;183:2343-2348.
48. Shinkai Y. Rag-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V(D)J rearrangement. *Cell* 1992;68:855-867.
49. William JP. Intestinal reperfusion injury is mediated by IgM and complement. *J Appl Physiol* 1999;86:938-942.
50. Carney DF, Koski CL, Shin ML. Elimination of terminal complement intermediates from the plasma membrane of nucleated cells. *J Immunol* 1985;134:1804-1809.
51. Scolding NJ, Morgan BP, Houston WA, Linington C, Campbell AK, Compston DA. Vesicular removal by oligodendrocytes of membrane attack complexes formed by activated complement. *Nature* 1989;339:620-622.
52. Rus HG, Niculescu F, Shim ML. Sublytic complement attack induces cell cycle in oligodendrocytes. *J Immunol* 1996;156:4892-4900.
53. Rus HG, Niculescu F, Shin ML. Sublytic complement activation induces cell cycle and reduce apoptotic cell death in oligodendrocytes. *Exp Clin Immunogenet* 1997;14:85-87.
54. Shankland SJ, Pippin JW, Couser WG. Complement (C5b-9) induces glomerular epithelial cell DNA synthesis but not proliferation *in vitro*. *Kidney Int* 1999;56:538-548.
55. Niculescu F, Badea T, Rus H. Sublytic C5b-9 induces proliferation of aortic smooth muscle cells. Role of mitogen activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Atherosclerosis* 1999;142:47-56.
56. Dashiell SM, Rus H, Koski CL. Terminal complement complexes concomitantly stimulate proliferation and rescue of Schwann cells from apoptosis. *Glia* 2000;30:187-198.
57. Rus H, Niculescu F, Shin M. Role of C5b-9 complement complex in cell cycle and apoptosis. *Immunol Rev* 2001;180:49-55.
58. Collins KB, Patterson BK, Naus GJ, Landers DV, Gupta P. Development of an *in vitro* organ culture model to study transmission of HIV-1 in the female genital tract. *Nat Med* 2000;6:475-479.

59. Vanderpuye OA, Laberriere CA, McIntyre JA. The complement system in human reproduction. *Am J Reprod Immunol* 1992;27:145-155.
60. Hu J, Gardner MB, Miller Ch. Simian immunodeficiency virus rapidly penetrates the cervicovaginal mucosa after intravaginal inoculation and infects intraepithelial dendritic cells. *J Virol* 2000;74:6087-6095.
61. Frank I, .Human immunodeficiency virus type I derived from cocultures of immature dendritic cells with autologous T cell carries T-cell-specific molecules on its surface and is highly infectious. *J Virol* 1999;73:3449-3454.
62. Burton GF, Masuda AS, Heath L, Smith BA, Tew JG, Szakal AK. Follicular dendritic cells in retroviral infection: Host/Pathogen perspectives. *Immunol Rev* 1997;156:185-197.
63. Frank KI, Stoiber H, Godar S, Most J, Stockinger H, Dierich MP. Acquisition of host cell-surface-derived molecules by HIV. *AIDS* 1996;10:1611-1620.
64. Fujiwara M, Tsunoda R, Shigeta S, Yokota T, Baba M. Human follicular dendritic cells remain uninfected and capture Human Immunodeficiency Virus type 1 through CD54-CD11a interaction. *J Virol* 1999;73:3603-3607.
65. Kacani L. Detachment of Human Immunodeficiency Virus type 1 from germinal centers by blocking complement receptor type 2. *J Virol* 2000;74:7997-8002.
66. Sacks D, Sher A. Evasion of innate immunity by parasitic protozoa. *Nature Immunol* 2002;3:1041-1047.