

فصل پنجم: کمپلمان

اهداف این فصل: دانشجو پس از مطالعه این

فصل باید بتواند:

- ۱- تاریخچه کشف کمپلمان را بنویسد.
- ۲- اجزاء کمپلمان را با شماره و حروف نام ببرد.
- ۳- سلول های سازنده کمپلمان را نام ببرد.
- ۴- فعال شدن کمپلمان از راه کلاسیک را توضیح دهد.
- ۵- فعال شدن کمپلمان از راه فرعی را توضیح دهد.
- ۶- فعال شدن کمپلمان از راه لکتین را توضیح دهید.
- ۷- چگونگی رسیدن به عمل Lysis را توضیح دهد.
- ۸- اجزاء اپسونین و چگونگی اپسونیزاسیون را توضیح دهد.
- ۱۰- آنافیلاتوکسین ها را نام ببرد.
- ۱۱- نقش آنافیلاتوکسین ها را در فعالیت سیستم ایمنی توضیح دهد.
- ۱۲- چگونگی شروع کمپلمان در هر دو مسیر کلاسیک و فرعی را توضیح دهد.

فصل پنجم: کمپلمان

سیستم کمپلمان، بازوی مهم ایمنی ذاتی و اکتسابی است، این سیستم با برخورداری از بیش از 30 پروتئین محلول و متصل به غشاء سلول، در واکنشهای دفاعی مختلف نظیر التهاب و هموستاز ایفای نقش می‌کند. فی Pfoiffer در سال 1894 متوجه شد که میکروب ویبریوکلرا (عامل وبا) در اثر اضافه نمودن آنتی سرم کلرا خوکچه هندی حل و تخریب می‌شود. حرارت دادن سرم مزبور در 56 درجه سانتی گراد بمدت 30 دقیقه، این خاصیت را از بین می‌برد، در حالیکه فعالیت آنتی بادیهای ضدباسیل در این حرارت حفظ می‌شود. فیفر متوجه شد که افزودن سرم تازه و طبیعی به آنتی سرم حرارت دیده موجب بازگشت قدرت تخریبی این ماده می‌شود. او نتیجه گرفت که عامل تخریبی ماده‌ای غیر از آنتی بادی بوده، بدلیل اینکه انتقال سرم حرارت دیده به خوکچه هندی غیرایمن بطور غیرفعال، باعث انتقال ایمنی همورال شد. بنابراین ماده مزبور، به حرارت حساس و برای تخریب میکروب در آزمایشگاه ضروری است. بوخنر قبلاً این ماده را الکسین نامیده بود و بورده بعداً همین مطالعات را با باکتریها و گلبول‌های قرمز تکرار نمود. بعداً ارلیخ نام این ماده را به مکمل و یا کمپلمان تغییر داد.

اجزاء کمپلمان توسط سلولهای کبدی (هپاتوسیت ها)، ماکروفاژهای بافتی، سلولهای اپی تلیال مجاری گوارشی و مونوسیت‌های خونی ساخته می‌شود. غلظت این ماده در سرم به ایمونیزاسیون بستگی نداشته و در اثر تکرار عفونت یا برخورد سیستم ایمنی با آنتی ژن مقدار آن افزایش نشان نمی‌دهد. بعبارتی برای

آن خاطره ایمونولوژیک وجود ندارد. اجزای اصلی سیستم کمپلمان 9 جزء پروتئینی است که بسادگی از C1-C9 نشان داده می‌شود. بیشتر این پروتئین‌ها زیموژن بوده، یعنی اینکه پیش آنزیم‌هایی هستند که برای فعال شدن نیاز به شکاف یا شکسته شدن پروتئولیتیک دارند. جزئی که فعال شده با علامتی بر روی آن مشخص می‌شود. بنابراین از لحاظ نام و علامت گذاری هر جز کمپلمان با حرف C و یک شماره معین می‌شود. چنانچه اشاره به جز فعالی از کمپلمان باشد، جزء مزبور را با یک خط روی حرف نشان می‌دهند. اجزاء غیرفعال کمپلمان در سرم موجود و برای انجام اثر بیولوژیک خود ضرورتاً باید فعال شود. بعضی اجزاء کمپلمان، حین فعال شدن دچار شکستگی می‌شوند، که در این صورت جزء کوچکتر را با حرف a و جزء بزرگتر را با حرف b نشان می‌دهند. در مورد جزء 2 بعضی همکاران جزء کوچکتر را با حرف b و جزء بزرگتر را با حرف a نشان داده اند. کمپلمان پس از فعال شدن، سه اثر بیولوژیک یعنی لیز هدف، ایمونیزاسیون و فعال کردن لکوسیت‌ها را از خود نشان می‌دهد. اجزاء غیرفعال کمپلمان را با علامت i مشخص می‌کنند مثل C3bi و هنگامی که بحث روی کمپلکس فعال از دو یا چند جزء کمپلمان باشد از تکرار حرف C صرف نظر نموده و مجموعه مورد نظر را بصورت مثلاً C4b2a نشان می‌دهند. برای فعال شدن کمپلمان تاکنون سه مسیر اصلی، فرعی و لکتین شناخته شده است. فعال شدن کمپلمان یک فرآیند سه مرحله‌ای شامل شناسایی، فعال شدن آنزیمی و ظهور آثار بیولوژیک است. در این فرایند دینامیک، اجزاء مسیرهای مختلف با

یکدیگر و سایر سیستمهای آنزیمی و سلولی پلاسما واکنش می‌دهند. اگرچه برخی مواد عمدتاً تنها از یک مسیر کمپلمان را فعال می‌سازند، برخی دیگر از راههای مختلف اقدام به فعال کردن کمپلمان می‌کنند.

1- راه کلاسیک فعالیت کمپلمان

فعالیت کمپلمان از این راه در اکثر مواقع با اتصال آنتی ژن - آنتی بادی آغاز می‌شود. IgM یا دو مولکول IgG از زیرکلاس خاص در کنار هم روی یک سطح آنتی ژنیک، قادر به فعال نمودن C1 می‌باشد. C1 ماکرومولکولی است وابسته به کلسیم و مرکب از سه پروتئین $C1q, C1r, C1s$ که با حضور یون کلسیم به هم متصل باقی می‌مانند. $C1q$ دارای 6 جایگاه اتصال به آنتی بادی است. $C1q$ از طریق حوزه CH_2 در IgG و یا CH_3 در IgM به آنتی بادی متصل می‌شود (شکل 1-5). اگر تعداد شاخص‌های آنتی ژنیک سطح سلول هدف یا میکروارگانیسم آنقدر کم باشد، که دو شاخص در فاصله زیاد از هم قرار گیرند، ممکن است اتصال $C1q$ بدرستی انجام نشود. این پدیده در مورد گلبول‌های قرمز پوشیده از آنتی D بخوبی دیده می‌شود. هرچند آنتی بادهای نوع IgG علیه Rh از زیرکلاسه‌ای قادر به فعال نمودن کمپلمان می‌باشد ولی معمولاً در چنین شرایطی تخریب گلبول قرمز از طریق کمپلمان صورت نمی‌گیرد. پس از اتصال $C1q$ یک تغییری در کمپلکس $C1$ ایجاد و منجر به فعالیت $C1r$ می‌شود. $C1q$ خود متشکل از 18 زنجیره پلی پپتیدی مجزا از سه نوع مختلف (از هر نوع 6 زنجیره) است که در انتهای هر یک از کلافهای شش گانه یک جایگاه اتصال به Fc ایمونوگلوبولین

وجود دارد. جزء C_{1r} در حین فعال شدن، دچار تغییر شکل شده و سائیتی از آن آزاد می‌شود که خاصیت پروتئولیتیک دارد. این سایت، یک اتصال پپتیدی را در جزء C_{1s} شکسته و آن مولکول را از نظر آنزیمی به شکل فعال درمی‌آورد. (شکل 2-5).

در مسیر کلاسیک، برخی از عوامل غیرایمونولوژیک نظیر باکتری اشرشیاکلی، سالمونلاهای با شدت بیماری‌زایی ضعیف، ویروس پارآنفلوآنزا، بدون نیاز به آنتی‌بادی با جزء C_{1q} وارد واکنش شده و آنرا فعال می‌نمایند. گرچه اجزای کمپلمان به ترتیب شماره گذاری شده اند، ولی با ترتیب شماره وارد واکنش نمی‌شوند، بدین ترتیب که C_1 فعال شده بر روی C_2, C_4 اثر کرده و سپس C_3 فعال می‌شود.

جزء چهارم کمپلمان: C_4 گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی حدود 180 کیلودالتون مرکب از سه زنجیره آلفا با وزن مولکولی 93، بتا با وزن مولکولی 78 و گاما با وزن مولکولی 33 کیلودالتون است. C_{1s} فعال شده در مرحله قبل با اثر بر روی زنجیره آلفا، انتهای آمینی زنجیره را شکسته و قطعه کوچکی از آن بنام C_{4a} جدا و قطعه بزرگی از زنجیره بنام C_{4b} باقی می‌ماند. بنابراین زنجیره بتا، گاما و قسمت اعظم زنجیره آلفا، جزء C_{4b} کمپلمان را تشکیل می‌دهند. C_{4a} در بقیه آبشار کمپلمان نقشی نداشته ولی با فعالیت آنافیلاتوکسیک در بسیاری از واکنش‌ها از جمله فعالیت بازوفیل‌ها دخالت دارد. C_{4b} توانایی اتصال به گیرنده‌های کمپلمان (CR) را در سطح نوتروفیل‌ها - پلاکت‌ها و بازوفیل‌ها دارد.

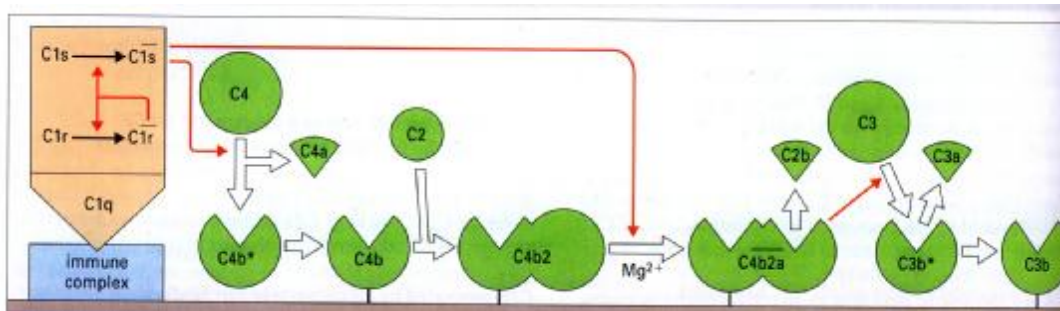
انواع دیگری از مولکول C4 با تفاوت آنتی ژنیک مشخص شده که بطور معمول به غشاء سلول اتصال می‌یابند. در انسان دو شکل C4 بنام C4F یا آنتی ژن رجز و C4S یا آنتی ژن کیدو شناسایی شده اند. این مولکولها توسط دولوکوس ژنی موجود در کمپلکس نسجی رمز گذاری می‌شوند. در موش یک شکل غیرهمولیتیک از جزء C4 بنام پروتئین وابسته به جنس (SLP)¹ وجود دارد. این مولکول از نظر ساختمانی و آنتی ژنیکی مشابه C4، اما سه زنجیره پپتیدی آن از نظر وزن مولکولی کمی با C4 تفاوت دارد.

جزء دوم کمپلمان: C2 گلیکوپروتئینی به وزن مولکول 117 کیلودالتون است که در حضور یون منیزیم روی سلول هدف به جزء C4b اتصال و به صورت سوبسترای برای جزء C1S درمی‌آید (شکل 1-5). در این حالت جزء C2 به دو قطعه C2a و C2b شکسته می‌شوند. در اینجا برخلاف نامگذاری معمول جزء کوچکتر را که در آبشار کمپلمان شرکت نداشته با C2b و جزء بزرگتر که به C4b متصل می‌شود را با نام C2a می‌شناسند (شکل 1-5). ولی کمپلکس C4b2a همزمان با غیرفعال شدن C2a و تبدیل آن به C2ai خودبخود می‌شکند.

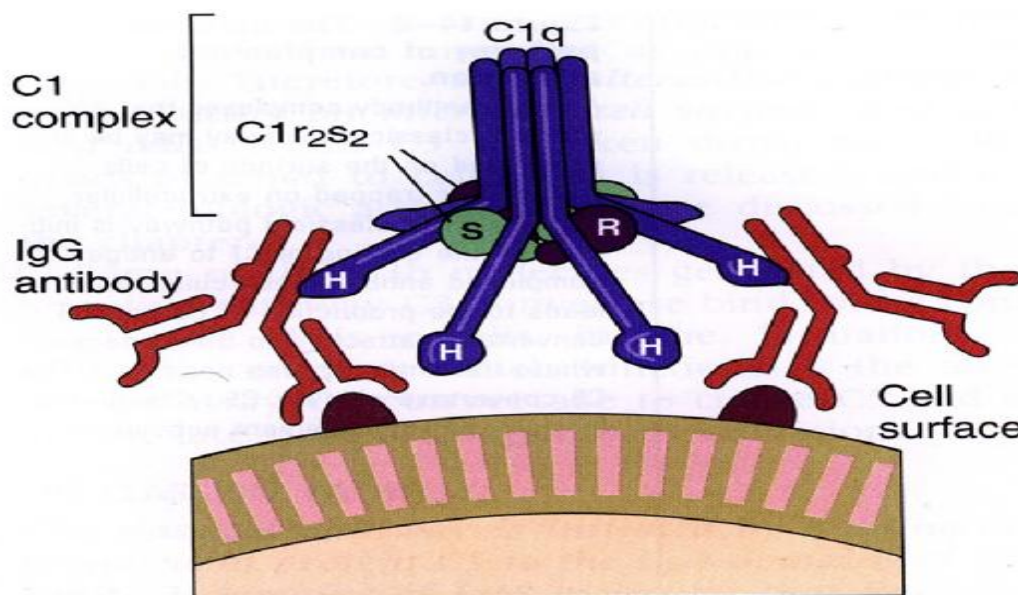
بنابراین C4b2a کمپلکس ناپایداری است و در صورت الحاق به پروتئین متصل شونده به C4b یعنی C4bBp بصورت غیرفعال درآمده و سپس به عنوان کوفاکتوری برای فاکتور I عمل و با همدیگر C4b را کاتوبولیزه می‌کنند، C4b2d بدست آمده در این مسیر را C3 کونورتاز راه کلاسیک می‌گویند که قادر به شکستن جزء C3 کمپلمان می‌باشد.

1 - Sex Linked Protein(SLP)

جزء سوم کمپلمان: C3 بتاگلوبولینی است با وزن مولکولی 180 کیلودالتون که توسط ماکروفاژها ساخته می‌شود. C3 تحت تأثیر C4b2a (C3 کونورتاز راه کلاسیک) شکسته شد و بدو مولکول C3a (جزء کوچکتر) و C3b (جزء بزرگتر شکسته می‌شود). یک مولکول کمپلکس C4b2a قادر به شکستن صدها مولکول C3 است. قطعه C3a در بقیه مسیر آبشار کمپلمان نقشی نداشته ولی یک آنافیلاتوکسین قوی می‌باشد و در فصول مربوط، درباره اعمال بیولوژیک آن صحبت خواهد شد. یکی از خواص مهم C3b اتصال به غشاء سلول هدف است. گلبول‌های قرمز، سلولهای پلی مورفونوکلئر، ماکروفاژها، پلاکت‌ها، باکتریها، مخمرها و بعضی از ویروس‌ها برای قطعه C3b گیرنده داشته و برای آن هدف می‌باشند. قسمت دیگری از C3b به کمپلکس قبلی آبشار کمپلمان یعنی C4b2a اتصال و کمپلکس جدید C4b2a3b را بوجود می‌آورد که به آن C5 کونورتاز راه اصلی می‌گویند که قادر به تجزیه جزء بعدی کمپلمان یعنی C5 می‌باشد. در میان اجزای سیستم کمپلمان، C3 بالاترین غلظت را در سرم داشته و مهمترین جزء کمپلمان در هر دو مسیر کلاسیک و فرعی می‌باشد.



شکل 1-5- راه کلاسیک فعال شدن کمپلمان (منبع شماره 4).

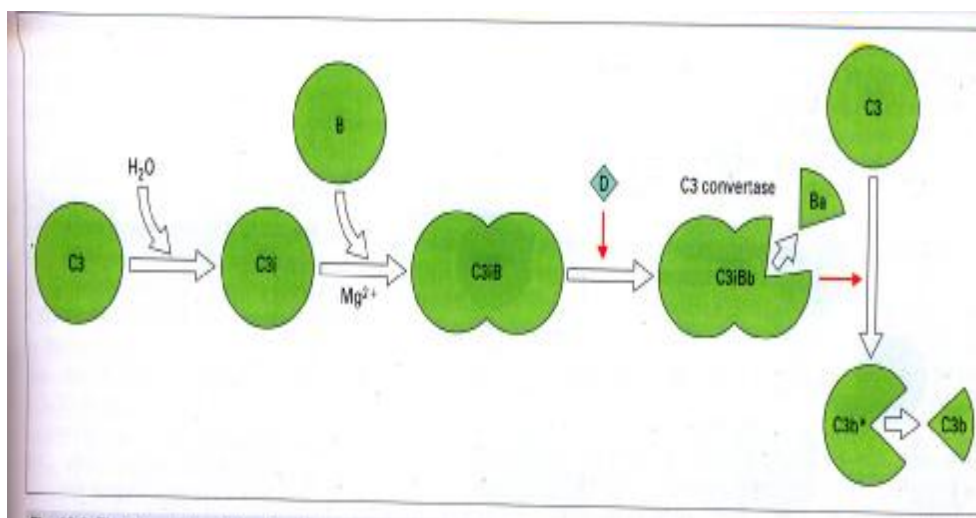


شکل 2-5- فعال شدن جزء C1.

فعال شدن کمپلمان در مسیر فرعی (آلترناتیو):

علاوه بر مسیر کلاسیک که در آن فعال شدن کمپلمان، نیازمند حضور آنتی بادی و یا کمپلکس آنتی ژن آنتی بادی است، عوامل دیگری همچون لیپوپلی ساکارید باکتریها، اندوتوکسین دیواره باکتریهای گرم منفی، دیواره بعضی مخمرها تجمع IgA و سم مارکبری نیز قادرند کمپلمان را در مسیر فرعی فعال نمایند. در حالت طبیعی C3 با هستگی و بطور خودبخودی در پلاسما می شکند و بدین ترتیب در یک سرم طبیعی C3b بطور مداوم تولید می شود. C3b در سرم در حضور یون منیزیم با پروتئین دیگری بنام فاکتور B کمپلکسی تشکیل داده و بصورت C3bB₃ (شکل 3-5). پیوند تیواستر داخلی در C3 اصلی، مستعد

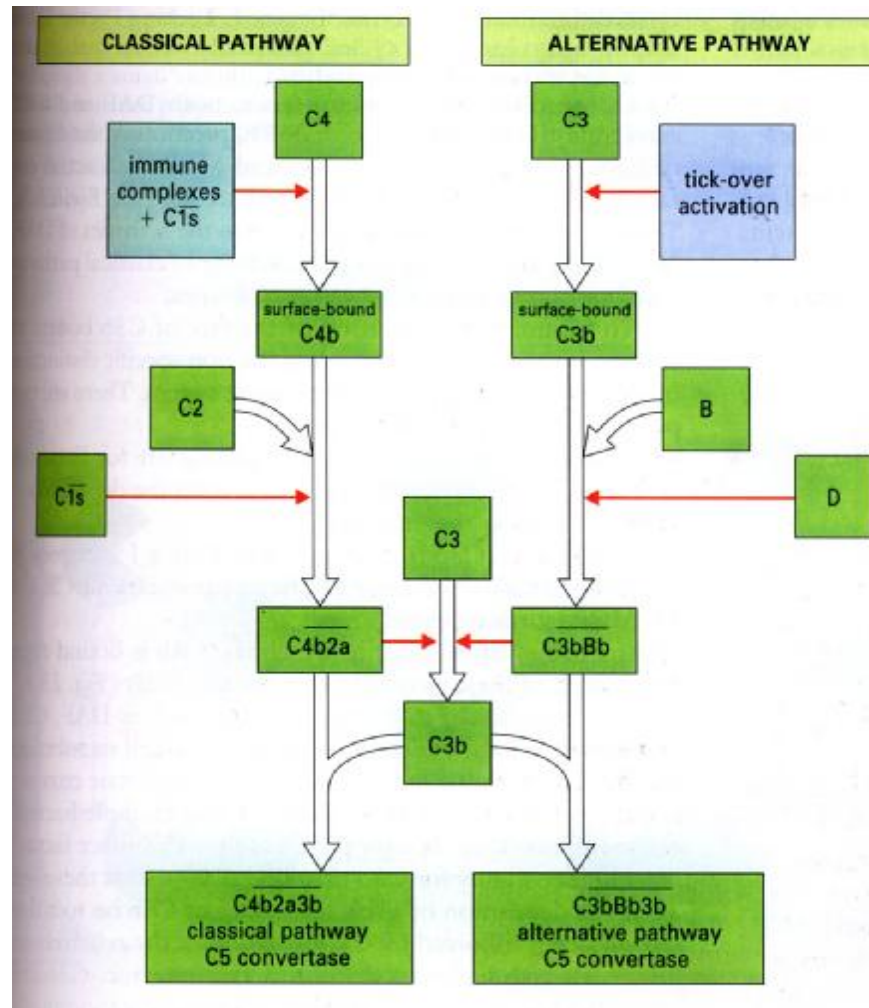
هیدرولیز خودبخودی توسط آب است که در نتیجه این هیدرولیز، شکل فعال شده‌ای از C3، بنام C3i یا همان C3H2O تولید می‌شود. C3i بعنوان نقطه اتصال برای فاکتور B عمل نموده که در نتیجه این اتصال، C3iB بوجود می‌آید. این واکنش مشابه اتصال C2 به C4b است. در مرحله بعد، فاکتور B متصل شده به C3i توسط فاکتور D شکسته شده و قطعه کوچکی از آن بنام Ba جدا می‌شود (شکل 3-5). باقیمانده مجموعه، یعنی C3iBb که در اصل همان C3bBb است بعنوان مبدل فاز مایع C3 در مسیر فرعی عمل می‌کند (C3 کونورتاز راه فرعی).



شکل 3-5- شکست C3 و تشکیل C3b در مسیر فرعی (منبع شماره 4).

C3bBb متصل به غشاء، ناپایدار بوده و خیلی زود تجزیه می‌گردد. اتصال این مجموعه به پروپدین و تشکیل C3bBbp باعث پایداری مجموعه خواهد شد. C3bBbp تعداد بیشتری از مولکولهای C3 در سطح مربوطه ایجاد می‌کند. با

اتصال یک مولکول C3b به مجموعه قبلی، ترکیب جدید C3bBb3b می‌آید که به آن C5 کونورتاز و یا آنزیم مبدل C5 در مسیر آلترناتیو می‌گویند (شکل 4-5)



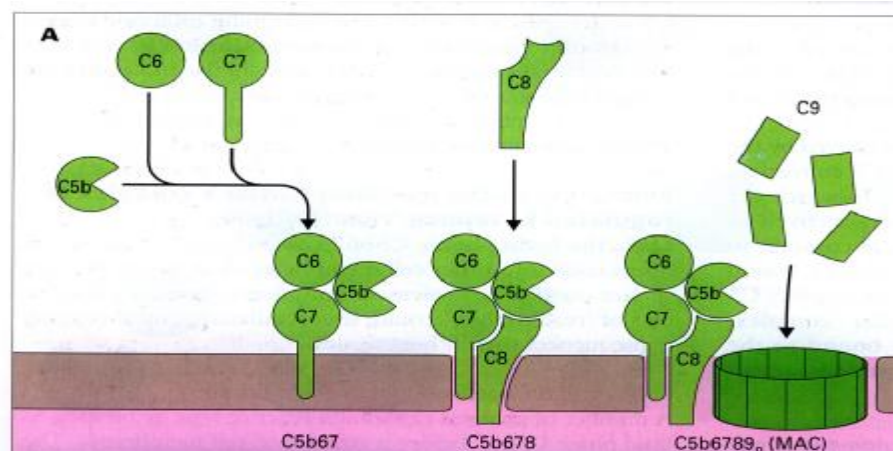
شکل 4-5- چگونگی فعال شدن جزء C3 در مسیر فرعی، و مقایسه دو مسیر فعال شدن کمپلمان تا به وجود آمدن مجموعه C5 کونورتاز (منبع شماره 4).

از طرف دیگر، C3b به محض تشکیل، به یکی از دو فاکتور H یا B متصل می‌شود. این فاکتورها، هر دو یک سایت مشترک را بر روی مولکول C3b اشغال می‌کنند، در شرایط طبیعی اتصال C3b به فاکتور H ارجحیت دارد. اما در حضور بعضی از سطوح خارجی، جذب فاکتور B و اتصال آن به C3b در ارجحیت قرار می‌گیرد و فاکتور B جایگزین فاکتور H می‌شود.

مسیر انتخابی کمپلمان: کمپلکسهای C4b2a و C3bBb که به ترتیب مبدل‌های C3 در مسیر کلاسیک و فرعی می‌باشند، با اثر بر روی C3 آن را به دو قطعه کوچک C3a و بزرگ C3b می‌شکنند. C3b آغازگر مسیر انتهایی کمپلمان در هر دو مسیر می‌باشد. C3b با اتصال به C4b2a در مسیر کلاسیک و یا C3bBb در مسیر فرعی، کمپلکسهای جدید C3bBb3b, C4b2a3b را که به آن C5 کونورتاز می‌گویند بوجود می‌آورد. (شکل 4-5).

جزء C5، بتاگلوبولینی از دو زنجیره است که وزن مولکولی آن حدود 206 کیلودالتون می‌باشد. با شکسته شدن C5 در هر یک از دو مسیر - قطعه کوچک C5a بوجود می‌آید که در مسیر آبشار کمپلمان نقش نداشته و بعنوان یک آنافیلاتوکسین عمل می‌کند. قطعه C5b در حالت آزاد ناپایدار و بسرعت از بین می‌رود. و با اتصال به جزء C6 کمپلکس C5b6 را تشکیل می‌دهد. C6 بتاگلوبولینی با وزن مولکولی حدود 130 کیلودالتون و پروتئین کروی است که در اثر اتصال به C5b دچار شکستگی نمی‌شود (شکل 5-5). بعد از آن جزء C7 که بتاگلوبولینی با وزن مولکولی تقریباً 160 کیلودالتونی است به کمپلکس C5b6

اتصال می‌یابد. این اتصال هم در سطح غشاء سلولی و هم در محیط محلول انجام می‌شود. این کمپلکس شدت هیدروفوبیک بوده و وارد لیپید دو لایه دیواره سلولی می‌شود. در این صورت کمپلکس C5b6,7 یک مولکول C8 و چند مولکول C9 را بخود جذب می‌کند. C8 پروتئینی با وزن مولکولی 80 کیلودالتون و C9 پروتئینی با وزن مولکولی 160 کیلودالتون و C9 به داخل کمپلکس C5b6,7,8 در غشاء باعث ایجاد سوراخ کوچکی در سلول هدف می‌شود. با پلی مریزه شدن جزء C9، تشکیل کمپلکس حمله غشایی (MAC)¹، کامل شده و این ساختمان سیلندری باعث ایجاد سوراخ در سلول هدف، ارتباط محیط خارج و داخل سلول و به هم خوردن تعادل شیمیایی سلول هدف می‌شود. با فشار بالای درون سلول، آب به داخل سلول نفوذ و با تورم آن، سلول هدف متلاشی می‌شود.



شکل 5-5. مرحله انتهایی فعال شدن کمپلمان

1 - Membrane attack complex

3- فعال شدن کمپلمان در مسیر لکتین:

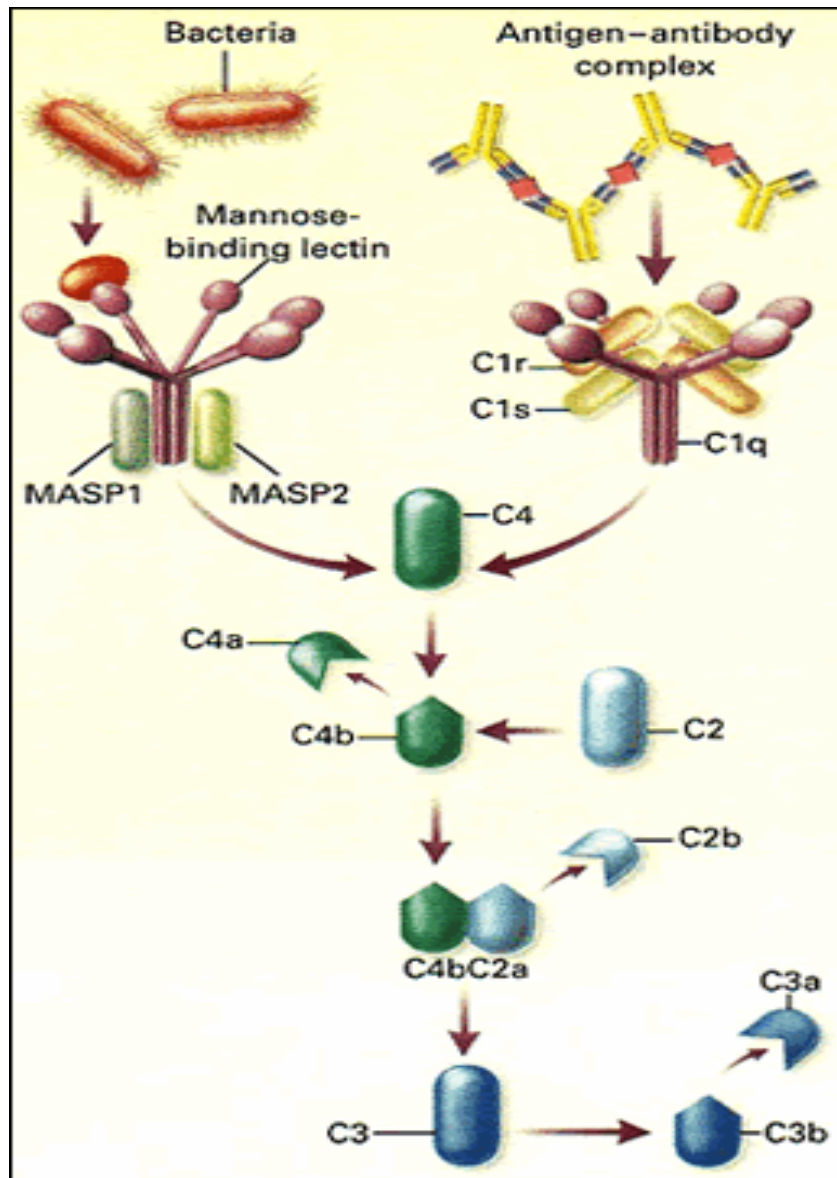
این مسیر شبیه مسیر کلاسیک، اما بصورت غیروابسته به آنتی بادیها فعال می شود. بدین صورت که MBL (mannose Binding Lectin) می تواند در سرم به گروههای پایانی مانوز در سطح باکتریها متصل شود و سپس با دو سرین پروتئاز بنام $MA SP_{1,2}$ به C_1r و C_1s در مسیر کلاسیک شباهت دارند و واکنش MBL با $MA SP_{1,2}$ همانند واکنش C_1q با C_1s, C_1r است. اتصال MBL به قندهای مذکور باعث فعال شدن $MA SP_1$ شده که این به نوبه خود C_2, C_4 را شکسته و در نهایت C_4b_2b ایجاد می شود که خود بعنوان مبدل C_3 عمل می کند. گفته می شود که $MA SP_2$ قادر است مستقیماً C_3 را بشکند. (شکل 5-6)

فعالیت بیولوژیکی کمپلمان:

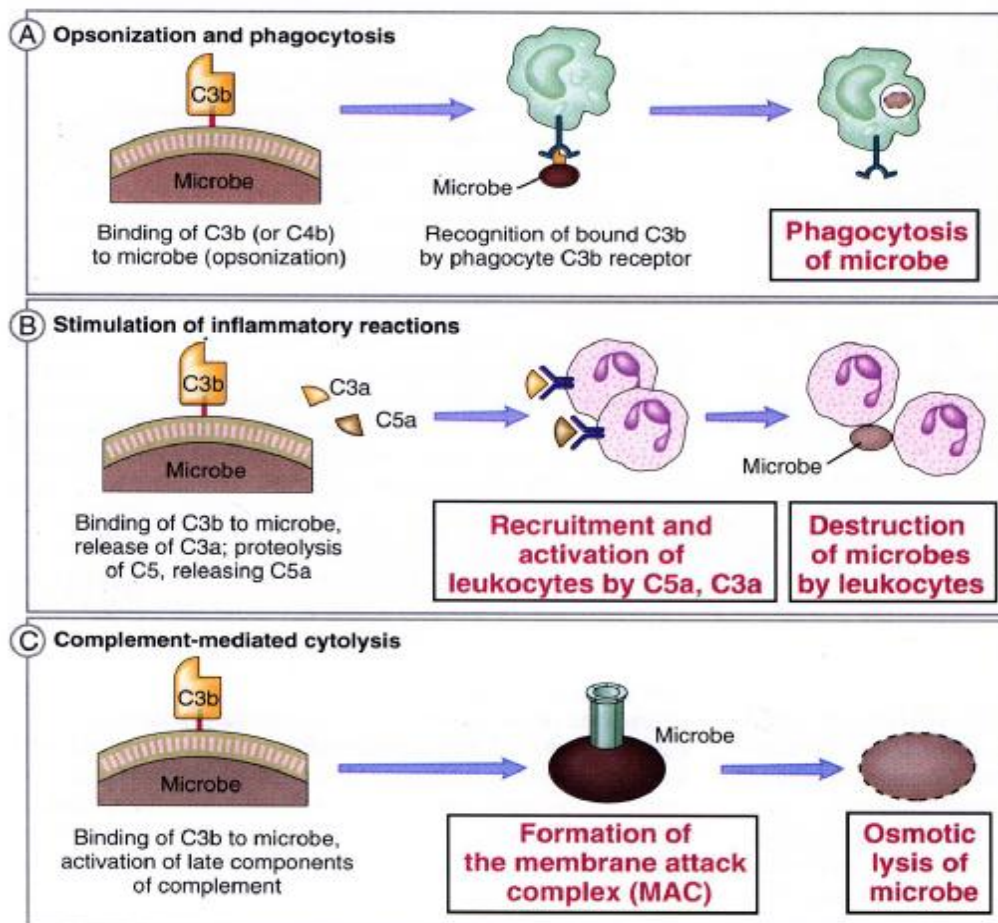
آنافیلاتوکسین ها، مواد با وزن مولکولی کمی هستند که با تاثیر بر ماست سل و بازوفیل، باعث آزادسازی هیستامین می شوند. هیستامین چندین عمل مهم فیزیولوژیک انجام می دهد که مهمترین آنها افزایش نفوذپذیری عروق، انقباض عضلات صاف است. افزایش نفوذپذیری عروق تحت اثر هیستامین منجر به ادم موضعی، افزایش مقدار آنتی بادی و اجزاء دیگر کمپلمان در محل موضع و تشدید واکنش هایی مثل آنافیلاکسی و یا سایر واکنشهای آلرژیک می شود. آنافیلاتوکسین C_3a برای سلولهای فاگوسیت کننده و نوتروفیل ها خاصیت کموتاکتیک داشته و باعث جذب آنها به موضع واکنش می شود. دیگر اجزاء کمپلمان از جمله C_3b خاصیت چسبندگی ایمنی داشته که طی آن آنتی ژنهای

پوشیده شده از Ab در حضور کمپلمان به دیواره عروق خونی چسبیده و زمینه بلع آنها توسط سلول‌های بیگانه خوار موجود در گردش خون فراهم می‌شود. C3b مانند Ab، خاصیت اپسونین داشته و در اثر اتصال به باکتری، بلع آنرا تسهیل می‌کند. سلولهای ماکروفاژی و بعضی دیگر از لکوسیت‌ها برای Fc آنتی بادی و C3b گیرنده دارند. لذا وقتی که باکتری با C3b و یا آنتی بادی پوشیده شود، ماکروفاژها با داشتن گیرنده برای C3b و Fc، عمل فاگوسیتوز را بهتر انجام می‌دهند. به این عمل در تعریف اپسونیزاسیون گویند. اپسونین در لغت به معنی لقمه چرب می‌باشد، و در اینجا منظور آن است که باکتری و یا سلول هدف برای سلولهای بیگانه بصورت یک لقمه چرب در آمده و راحت تر بلع می‌شوند.

بنابراین همانطور که در مقدمه این فصل گفته شد، حاصل فعالیت کمپلمان سه چیز است: تخریب یا لیز سلول هدف با فعال شدن اجزا C9-C1 و تشکیل کمپلکس حمله غشایی، فعال کردن لکوسیت‌ها با تولید آنافیلاتوکسین‌ها و عمل اپسونیزاسیون از طریق اجزایی همچون C3b و C5b و التهاب می‌تواند نتیجه هر سه عملیات فوق باشد (شکل 5-7). کمبود اجزای مسیر کلاسیک و C3 و یا گیرنده آنها منجر به طیف وسیعی از عفونت‌های باکتریهای چرکزا می‌شوند. کمبود اجزای کمپلکس حمله غشایی منجر به افزایش استعداد به عفونت‌های ناشی از نایسر یا منتزیدیس و گنوره می‌شود. کمبود اجزاء مسیر فرعی منجر به افزایش استعداد ابتلا به عفونت با باکتریهای چرکزا می‌شوند. بیماری آنژیوادم ارثی ناشی از کمبود مهار کننده جزء C1 می‌باشد.



شکل 5-6. فعال شدن کمپلمان در مسیر لکتین



شکل 5-7. فعالیت‌های بیولوژیکی کمپلمان (منبع شماره 1).

فصل پنجم: کمپلمان

سوالات:

- 1- اجزاء کمپلمان توسط چه سلولهایی ساخته می‌شوند؟
- 2- فرآیند سه مرحله‌ای فعال شدن کمپلمان کدامند؟
- 3- اولین جزئی که در مسیر کلاسیک فعال می‌شود کدام است؟
- 4- چه سلولهایی برای جزء C3b کمپلمان گیرنده دارند؟
- 5- مهمترین جزء کمپلمان در هر دو مسیر کلاسیک و آلترناتیو کدام است؟
- 6- در کدامیک از مسیرهای فعال شدن کمپلمان، وجود آنتی بادی الزام آور نیست.
- 7- عناصر تشکیل دهنده کمپلکس حمله غشایی کدامند؟
- 8- کدام جزء کمپلمان خاصیت چسبندگی دارد؟
- 9- کدام پدیده بیوشیمیایی، باعث عمل لیز سلول هدف می‌شود؟
- 10- کدامیک از اجزاء کمپلمان باعث تسهیل بیگانه خواری می‌شوند.