

Complement en ontsteking

A.J. HANNEMA¹ en C.E. HACK²

Het complementsysteem omvat meer dan 30 plasma- en membraanewitten die een taak hebben bij de verdediging van het lichaam tegen pathogene micro-organismen. Naast hun rol bij de opsonisatie van deze organismen, leidt complementactivatie tot het ontstaan van producten met tal van pro-inflammatoire effecten zoals bijvoorbeeld chemotaxie. Tot voor kort werd het complementsysteem onderscheiden in twee activatieroutes, de klassieke en de alternatieve activatieroute. Recent is daar een derde activatieroute, de lectine-activatieroute, aan toegevoegd. In dit artikel wordt aan de hand van de drie verschillende activatieroutes de rol van complement als ontstekingsmediator besproken. Hierbij wordt ook ingegaan op afwijkende complementactivatie in relatie tot ziekte en op potentieel therapeutische mogelijkheden van complementfactoren.

Trefwoorden: complement activatie; klassieke route; alternatieve route; lectine route; MBL

Ontstekingen hebben tot doel om binnendringende micro-organismen of beschadigd weefsel op te ruimen. Ontstekingen worden gekenmerkt door pijn, lokale roodheid en verhoging van de temperatuur als gevolg van vasodilatatie, en door zwelling als gevolg van oedeemvorming en migratie van leukocyten naar de plaats van ontsteking. Systemisch kunnen er ook verschijnselen optreden, zoals veranderingen van het eiwitspectrum, een verhoging van de lichaamstemperatuur en hormonale veranderingen. Deze systemische verschijnselen zijn bekend als de acutefasereactie. Ontstekingsreacties ontstaan als gevolg van het vrijkomen en activeren van ontstekingsmediatoren. Cytokinen worden als de belangrijkste ontstekingsmediatoren beschouwd, omdat zij de gebeurtenissen die plaats vinden wanneer micro-organismen het lichaam binnendringen, of wanneer weefsel beschadigd wordt, voor een belangrijk deel regisseren. Naast cytokinen zijn er nog vele andere ontstekingsmediatoren, waaronder het complementsysteem.

Ontstekingsreacties zijn niet altijd onschuldig, maar kunnen zelf ook schade aan de weefsels berokkenen. Bij tal van humane ziekten, zoals sepsis, artritis, vasculitis, CARA, inflammatoire darmziekten, lijkt dit

negatieve effect van ontstekingsreacties te domineren. Het is daarom van belang de precieze rol van de verschillende ontstekingsmediatoren bij dergelijke ziekten te kennen om gericht ingrijpen in het ontstekingsproces mogelijk te maken. Het doel van dit artikel is inzicht te verschaffen in de rol van complement als ontstekingsmediator en het nut van complementbepalingen in de diagnostiek bij infectie en ontstekingsreacties. Tevens wordt besproken hoe manipulatie van het complementsysteem therapeutisch nuttig kan zijn.

Complement als ontstekingsmediator

Het complementsysteem is een verzameling van ruim 30 plasma- en membraanewitten die een taak hebben bij de verdediging van het lichaam tegen pathogene micro-organismen. Een belangrijke functie van complement tijdens ontstekingsreacties is het merken (opsonisatie) van deze organismen voor fagocyterende cellen, zoals macrofagen en granulocyten. Laatstgenoemde cellen bezitten verschillende receptoren welke fragmenten van complementfactoren herkennen die op bacteriën zijn gebonden. Via deze receptoren worden door complement gemerkte organismen gebonden en gefagocyteerd. De belangrijkste complementfactor verantwoordelijk voor opsonisatie is C3, oftewel de derde complementfactor. Complement-activeringsproducten zoals C3a en C5a, en C5-9-complexen bevorderen chemotaxie, leiden tot activatie en degranulatie van neutrofielen en mestcellen, verhoging van endotheelpermeabiliteit, inductie van adhesiemoleculen zoals ICAM-1 op endotheel, contractie van gladde spiercellen in de bronchiaalboom, relaxatie van gladde spiercellen in arteriolen en versterking van cytokinenproductie door macrofagen. Insertie van C5-9-complexen in een celmembraan kan tot lysis van de targetcel of bacterie leiden.

Activatieroutes

Slechts één decennium geleden werd nog algemeen geaccepteerd dat er twee activatieroutes van complement bestonden: de klassieke route, die geactiveerd werd door Fc-fragmenten van de immunoglobulines IgG en IgM in antistof-antigeencomplexen en de alternatieve route, waarvan de activatie direct via membraanstructuren op de bacteriecelwand plaatsvindt. De eerste route behoort tot de verworven immuniteit, omdat hierbij eerst een antistofrespons tegen een pathogeen opgewekt moet worden, de tweede route maakt onderdeel uit van de aangeboren immuniteit, die onmiddellijk kan reageren op lichaamsvreemde structuren, in de vorm van suikers, die op de bacteriecelwand herkend worden. De klassieke route kan ook

Sanquin Diagnostiek, Afdeling Immunochemie¹ en Sanquin Research, Afdeling Immunopathologie², Amsterdam

Correspondentie: Prof.dr. C.E. Hack, Afdeling Immunopathologie, Sanquin Research, Postbus 9190, 1006 AD Amsterdam
E-mail e.hack@sanquin.nl

door eiwitten als C-reactief proteïne (CRP) geactiveerd worden, en vormt dan weer een effectormechanisme van het aangeboren immuunsysteem.

De derde activatieroute, eveneens onderdeel uitmakend van de aangeboren immuniteit, is de lectine-route. Deze route wordt geactiveerd door binding van het eiwit MBL (mannosebindend lectine) aan bacteriën of andere micro-organismen met mannose op het oppervlak. MBL lijkt qua structuur op C1q, het eiwit van de klassieke route dat aan immuuncomplexen bindt, en heeft een collageenachtig deel en een lectine-deel, dat in staat is aan suikers van de bacteriecelwand te binden. Er zijn inmiddels meer MBL-achtige eiwitten bij de mens ontdekt, zoals ficoline. Activatie van de lectineroute kan dus vermoedelijk door verschillende eiwitten geïnduceerd worden. De verschillende eiwitten betrokken bij de activatie van de verschillende complementroutes staan aangegeven in figuur 1.

Alternatieve route

Deze wijze van activatie werd fylogenetisch als de oudste complementroute gezien, maar tegenwoordig denkt men dat de lectineroute feitelijk eerder ontstond tijdens de evolutie. Alternatieve-route-activatie leidt tot fixatie van een afbraakproduct van C3, C3b, op pathogene organismen. In natief C3 zit een interne thio-ester die na activatie van het molecuul tot C3b aan de oppervlakte komt en via hydroxyl- of aminogroepen covalent aan een activator kan fixeren. Het merendeel van de C3b-moleculen zal echter niet fixeren aan de activator omdat watermoleculen ook efficiënt met de thio-ester reageren en deze hydrolyseren voordat C3b gefixeerd is, wat leidt tot 'fluid-phase'-C3b. Zelfs in natieve C3-moleculen blijkt de thio-ester na verloop van tijd door water te worden gehydrolyseerd. Dit gehydrolyseerde C3 lijkt qua con-

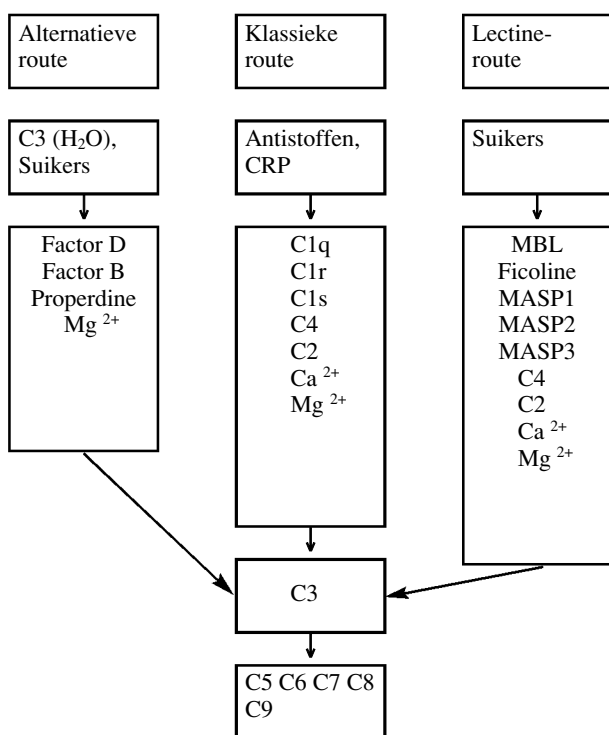
formatie erg op C3b en kan met factor B en D reageren waardoor een C3Bb-complex ontstaat dat weer natief C3 omzet in C3a en C3b. Via dit mechanisme wordt er dus continu een klein beetje C3 geactiveerd (de zogenaamde 'tick-over' van C3). De factoren H en I voorkomen dat C3 te erg wordt geactiveerd: factor H door Bb uit het C3bBb-complex te verdringen, en I door in het C3bH-complex C3b te inactiveren tot C3bi. Een alternatieve-route-activator is een stof die een beetje C3b op zodanige wijze bindt dat dit beschermd is tegen de remmers I en H, en een interactie met B en D kan aangaan. Deze interactie leidt tot de vorming van een C3bBb-complex op de activator wat weer meer natief C3 activeert, dat weer fixeert, factor B bindt, enz. Aangezien, zoals gezegd, deze activatie niet te controleren is door de remmers I en H, leidt fixatie van een klein beetje C3b op zo'n activator ineens tot een sterke C3-activatie. Polysacchariden op bacteriën, gistcellen, schimmels e.d. kunnen op een dergelijke wijze uitstekend de alternatieve route activeren.

C3b dat op lichaamcellen van de mens fixeert, wordt geïnactiveerd door factor H, waardoor verdere activatie stopt. Hierdoor kan geen schade aan de eigen cellen aangericht worden, ook al bevinden ze zich dicht bij de bron van de activatie. Verdergaande activatie van C3 leidt uiteindelijk tot de fixatie van een extra C3b-molecuul op het C3bBb-converterase, dat daardoor van specificiteit verandert: het gaat nu C5 in plaats van C3 activeren. C5-activatie leidt uiteindelijk tot de vorming van het zgn. MAC ('membrane attack complex') dat is samengesteld uit de complementfactoren C5b, C6, C7, C8 en meestal meerdere moleculen C9. Het MAC nestelt zich in de lipidenlaag van de bacteriemembraan, die daardoor permeabel wordt. Door het grote verschil in osmotische druk binnen en buiten de cel zal deze vloeistof aanzuigen en barsten (bacteriolysis) en wordt de bacterie vernietigd.

Naast de remmers I en H, en de factoren B, D en C3b, kent de alternatieve route nog een factor, P (properdine), die zorgt voor stabilisatie van het C3bBb-complex, waardoor dit langer werkzaam kan zijn. P is dus in dit opzicht een tegenpool van factor H.

Bij de verschillende activatiestappen waarbij complementfactoren enzymatisch gesplitst worden, ontstaan kleine fragmenten die een sterke biologische werking hebben, zoals de anafylatoxinen C3a en C5a. Dit zijn chemotactisch actieve stoffen die leukocyten naar de plaats van de ontsteking dirigeren. Het C3b zelf is, behalve een onderdeel van het alternatieve-route-converterase, ook een opsonine dat verantwoordelijk is voor binding aan complementreceptoren op fagocyterende cellen. Het legt hiermee een verbinding met de cellulaire immuniteit via het fagocytoseproces.

In het laboratorium wordt de activiteit van deze route gemeten d.m.v. de AP50-titerbepaling, waarbij konijnen- of cavia-erythrocyten in afwezigheid van Ca^{2+} door complement gelyseerd worden. De afwezigheid van C3, factor H, factor I of factor D zal leiden tot een sterk verlaagde titer. Het ontbreken van factor P leidt eveneens tot een verlaagde AP50-titer, echter minder sterk dan bij factor-H-, -I-, of -D-deficiëntie. Verder onderzoek van de afzonderlijke alternatieve-route-



Figuur 1. Schematische weergave van de complementactivatieroutes.

factoren kan van belang zijn om deficiënties hiervan vast te stellen. Het is bekend dat het ontbreken van een van de alternatieve-route-factoren kan leiden tot meningococcon-ziekte. Ook in Nederland zijn deze deficiënties, gepaard gaande met infectie met *Neisseria meningitidis* bekend: factor H (1), factor D (2), factor P (3, 4). Ook twee factor-I-deficiënties zijn inmiddels bekend geworden. Deze deficiëntie gaat eveneens gepaard met recidiverende meningococcon-infecties. Alvorens onderzoek naar een factor-H- of -I-deficiëntie te doen is het gewenst de concentraties van C3, factor B en het afbraakproduct C3d te meten. Bij de factor-H-deficiëntie zullen C3 en factor B (sterk) verlaagd zijn, terwijl de C3d-concentratie juist sterk verhoogd is ten gevolge van een continue, ongecontroleerde afbraak van C3, vanwege het ontbreken van factor H (de 'tick-over' van C3, zie boven, is ongeremd). Bij een factor-I-deficiëntie zien we iets dergelijks voor C3 en factor B, maar in dit geval is er geen toename van de C3d-concentratie. Dat vindt zijn oorzaak in het feit dat factor I noodzakelijk is voor de afbraak van C3b in C3c en C3d. Zonder aanwezigheid van factor I vindt deze splitsing niet plaats (5).

Behalve de associatie met meningococconinfecties is de deficiëntie van factor H betrokken bij een atypische vorm van het hemolytisch-uremisch-syndroom (HUS). HUS wordt gekarakteriseerd door hemolytische anemie, trombocytopenie, diarree en acute nierinsufficiëntie. Bij de atypische vorm, waarbij vooral puntmutaties gevonden worden in het C-terminale deel van de factor-H-keten (78%) of door mutatie een stopcodon ontstaat (22%), is er geen voorafgaande diarree. Deze mutaties, die in veel gevallen een erfelijk karakter hebben, leiden tot een inactieve vorm van factor H, of ze blokkeren de uitscheiding van factor H, waardoor het zich in de cel ophoopt. Omdat de gebruikelijke testmethoden geen onderscheid kunnen maken tussen de actieve en de inactieve vorm, zal een afwijkende (verlaagde) concentratie lang niet in alle gevallen gevonden worden (6). In tegenstelling tot de meeste andere deficiënties van complementfactoren zijn de patiënten met atypische HUS meestal heterozygoot en maken ze naast de afwijkende vorm ook normaal, functioneel-actief factor H aan.

Klassieke route

Later ontstaan in de evolutie, maar veel bekender door de vroege ontdekking door Bordet in 1895, is de klassieke complementactivatieroute. Deze is afhankelijk van het opwekken van specifieke antistoffen tegen organismen die het lichaam binnengedrongen zijn. Hierdoor komt dit verdedigingsmechanisme later (\pm 5-7 dagen) op gang dan de alternatieve route. Het werkt echter veel efficiënter, omdat alleen immunocomplexen en cellen waaraan IgM, IgG₁, IgG₂ of IgG₃ gebonden is, door complement herkend en opgeruimd worden.

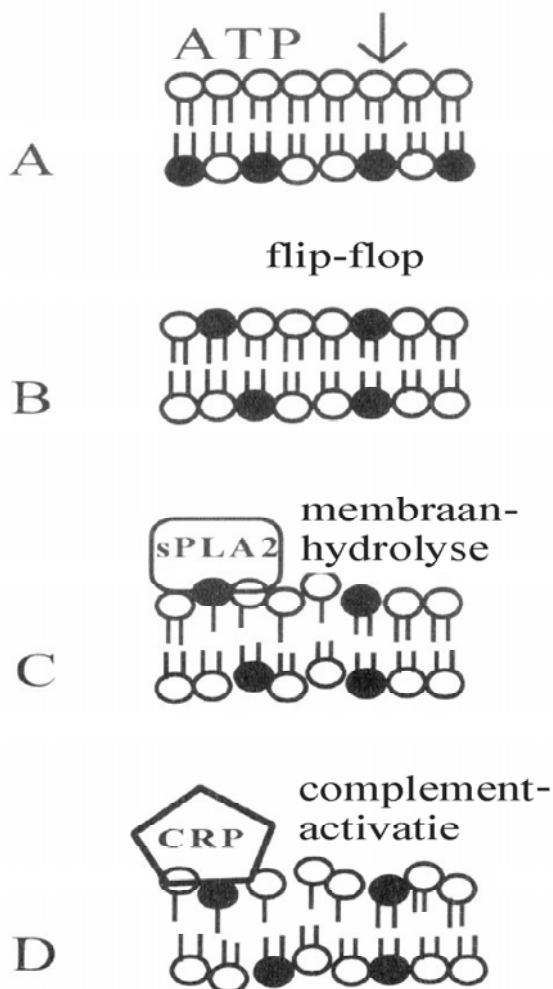
De reactievolgorde, te zien in figuur 1, loopt via de binding van C1q aan het Fc-fragment van immunoglobulines en activatie van het aan C1q gebonden C1r en C1s. Geactiveerd C1s splitst C4 en C2, waarbij het C3-convertase C4b2a gevormd wordt. C1-esteraseremmer zorgt ervoor dat na de activatie door immuun-

complexen de activatie beperkt blijft tot de directe omgeving van het complex en zich niet over het gehele bloedvolume uitbreidt. Tekort aan C1-esteraseremmer, zoals dat bij het hereditair angio-oedeem gevonden wordt, leidt tot het vrijkomen van grote hoeveelheden vasoactieve peptiden, deels uit geactiveerde complementfactoren, maar deels ook uit het contactactivatiesysteem van de intrinsieke stollingsroute. Dit laatste wordt verklaard uit het feit dat C1-esteraseremmer ook de belangrijkste remmer is van kallikreïne en geactiveerde Hageman-factor (factor XII), de twee actieve proteasen van het contactactivatiesysteem van de bloedstolling. De excessief gevormde vasoactieve peptiden geven vaatverwijding en oedeemvorming.

Het klassieke-route-convertase C4b2a splitst C3, waarbij het grootste fragment C3b voor een deel via de thio-ester aan het oppervlak van het micro-organisme of immunocomplex gebonden blijft en via complementreceptoren op b.v. granulocyten tot fagocytose leidt. Net als bij de alternatieve route zal bij verdergaande activatie van C3 op een gegeven moment een C3b-molecuul op het C4b2a-convertase fixeren, waardoor de specificiteit van laatstgenoemde verandert en het C5 gaat omzetten. Dit leidt uiteindelijk ook tot de vorming van het MAC. Voorts is op te merken dat het C3b dat op een klassieke activator fixeert, ook een interactie met factoren B en D kan aangaan waarbij net als boven beschreven voor de alternatieve route via het C3bBb-convertase natief C3 geactiveerd kan worden. De alternatieve route amplificeert dus als het ware op C3-niveau de activatie van de klassieke route. Omdat bacteriën en immunocomplexen complement kunnen activeren, gaat men er meestal van uit dat zij de oorzaak van complementactivatie bij ontstekingsziekten zijn. Toch wordt er bij een aantal ziektebeelden complementactivatie gevonden, zonder dat deze activatoren aanwezig zijn. Activatie van complement tijdens behandeling van kankerpatiënten met interleukine-2 is een voorbeeld hiervan. Deze patiënten ontwikkelen (als ongewenst bijeffect) een gegeneraliseerde ontstekingsreactie op de toediening van dit interleukine, welke het gevolg is van het vrijkomen van TNF (7) en IL-6. Opmerkelijk genoeg wordt bij deze patiënten ook een sterke complementactivatie gevonden. Er is hier echter geen sprake van een infectie door bacteriën, of aanwezigheid van immunocomplexen. Aangevoeld kon worden dat de complementactivatie in dit geval door het eiwit C-reactief proteïne (CRP) gemedieerd wordt.

CRP is een acuutfase-eiwit dat o.a. aan fosfocholine kan binden. Fosfocholine komt voor in koolhydraten van bacteriekapsels en op lipopolysacchariden van micro-organismen, zoals *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* en *Aspergillus fumigatus*. Gebonden CRP kan vervolgens, net als een IgG- of IgM-antistof, de klassieke complementroute activeren. Ook wordt fosfocholine gevonden in fosfatidylcholine, een fosfolipide van celmembranen. In de membraan van gezonde cellen is het fosfocholine niet bereikbaar voor CRP, maar op necrotische cellen en ook op reversibel beschadigde cellen kan CRP wel aan het fosfocholine in de membraan binden. Deze

bereikbaarheid van fosfocholine heeft te maken met de fosfolipidsamenstelling van de celmembranen. Het aan een ligand geassocieerd CRP wordt herkend door C1q en via de vorming van C3-convertase activeert dit de klassieke route. Het lijkt erop dat er voor C1q-binding meerdere CRP-moleculen in elkaars directe omgeving nodig zijn, zoals dat ook geldt voor de activatie van complement door IgG-moleculen. Het vermogen van CRP zich te binden aan pathogene organismen en het verwijderen hiervan door complementactivatie en rekrutering van fagocyterende cellen is belangrijk voor de aangeboren immuniteit. Verder heeft het een duidelijke rol in het opruimen van necrotische en apoptotische cellen en draagt zo bij aan het herstel van beschadigde weefsels (8). Activatie van de klassieke complementroute

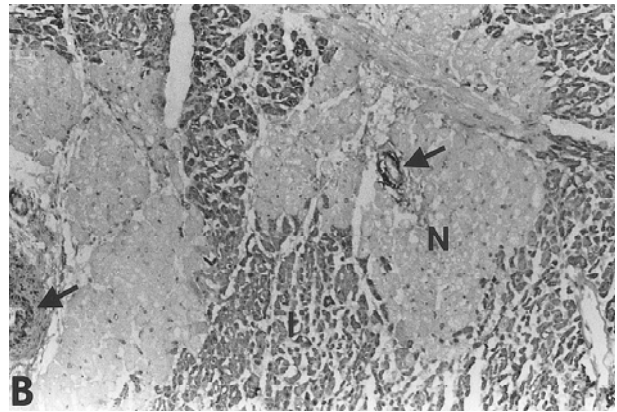
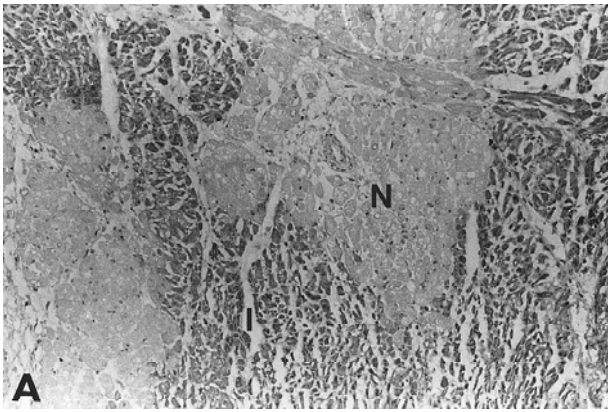


Figuur 2. Mogelijke rol van sPLA₂ en CRP bij de bevordering van fagocytose van beschadigde cellen in een vroeg stadium van de acuutfasereactie. A. Fosfatidylserine, en in mindere mate fosfatidylethanolamine (zwarte rondjes), komen vooral in de binnenlaag van de celmembranen voor. B. Fosfolipiden in de membranen van beschadigde cellen kunnen uitgewisseld worden van het binnendeel naar het buitendeel van de membranen, de zogenaamde flip-flop. C. Na deze uitwisseling zijn deze membranen gevoelig geworden voor hydrolyse door sPLA₂ en wordt er lysofosfatidylcholine in de buitenmembranen gegenereerd. D. Het gevormde lysofosfatidylcholine zorgt voor bindingsplaatsen voor CRP. Het gebonden CRP activeert complement via de klassieke route. De complementactivatie veroorzaakt 'influx' van neutrofielen die de cellen vervolgens fagocyteren.

door beschadigde en apoptotische cellen, al dan niet door adaptormoleculen als CRP, kan op verschillende manieren tot ziekten leiden. Excessieve activatie speelt een rol bij bijvoorbeeld het acute myocardinfarct, te geringe activatie leidt tot het ziektebeeld systemische lupus erythematosus (SLE). Beide beelden worden hieronder besproken.

Bij het acuut myocardinfarct (AMI) raken cardiomyocyten ischemisch waardoor de fosfolipidsamenstelling van hun celmembranen verandert. De normale asymmetrie van hun lipidenmembranen, die ontstaat omdat de fosfolipiden aan de binnen- en buitenzijde van de membranen onder normale omstandigheden niet hetzelfde zijn, kan niet worden gehandhaafd. Het gevolg hiervan is dat deze cellen negatief geladen fosfolipiden in hun buitenmembranen krijgen. Secretair fosfolipase-A₂ (sPLA₂) kan hierdoor de membranen van beschadigde en dode cellen hydrolyseren, waarbij CRP zich aan de gevormde lysofosfolipiden bindt en het complement systeem activeert (figuur 2). Oxidatie van de fosfolipiden kan een vergelijkbaar effect hebben. Fagocyten zullen zo worden aangezet de met complement gemerkte cellen op te ruimen met als gevolg een verergering van de ontsteking (9).

Lagrand et al. (10) onderzochten 17 patiënten die overleden waren aan AMI. Zij vonden depositie van CRP, tezamen met de complementfactoren C3 en C4, in het geïnfarcteerde gebied en niet in normaal uitzienend weefsel van het myocardium (figuur 3). Nijmeijer et al. (11) vonden bij 56 patiënten die aan een acuut myocardinfarct waren overleden een duidelijke correlatie tussen geactiveerd complement in het aangedane weefsel en de aanwezigheid van CRP-complexen welke specifiek worden gevormd tijdens activatie van complement door CRP. Deze gegevens duiden erop dat CRP een belangrijke rol speelt bij activatie van complement in het myocardweefsel tijdens een hartinfarct. Dit onderzoek is van belang bij het zoeken naar therapeutische mogelijkheden om de weefselbeschadiging bij AMI te beperken. Zo was uit dierexperimenteel onderzoek bij honden gebleken dat de toediening van hoge dosis C1-esteraseremmer de uitbreiding van het necrotische gebied van het myocard doet verminderen. De Zwaan et al. (12) toonden aan dat bij 22 patiënten met een hartinfarct de vorming van de C4-afbraakproducten C4b/c na toediening van C1-esteraseremmer significant afnam in vergelijking met een controlegroep. Nog belangrijker was de bevinding dat patiënten die C1-esteraseremmer toegediend hadden gekregen een kleiner infarct hadden dan historische controles. Dat duidt erop dat remming van complementactivatie bij patiënten met AMI therapeutisch zinvol kan zijn. Dit gunstige effect wordt gevonden zelfs als de remmer pas 6 uur na optreden van het AMI wordt toegediend, wat suggereert dat remming van complementactivatie zelfs in een relatief laat stadium nog zinvol kan zijn. Niet alleen teveel, maar ook te geringe activatie van complement door apoptotische cellen kan tot ziekte leiden. Reeds lang is bekend dat genetische deficiënties van de klassieke route van het complementsysteem een sterke associatie vertonen met het ontwikkelen van SLE. Feitelijk hebben personen met een



Figuur 3. Immunohistochemische lokaliserende van CRP (A) en van het complement afbraakproduct C3d (B) in het aangedane myocard. I geeft het infarctgebied en N het niet geïnfarcteerde deel aan. C3d is ook gelokaliseerd in de vaten (pijl).

deficiëntie van het C1-complex (C1q, C1r of C1s) vrijwel 100% kans om SLE te ontwikkelen. Men heeft altijd gedacht dat de ontwikkeling van SLE bij een tekort aan een van de C1-onderdelen komt door een gestoorde opruiming van immuuncomplexen. Sinds een paar jaar is bekend dat apoptotische cellen ook de klassieke route van het complementsysteem activeren. Bovendien is gebleken dat vele auto-antistoffen die bij SLE voorkomen feitelijk antistoffen zijn tegen afval van apoptotische cellen (o.a. nucleosomen en fosfolipiden). Derhalve denkt men nu dat deficiënties van de klassieke route leiden tot een verminderde opruiming van apoptotische cellen, waardoor deze het specifieke immuunsysteem stimuleren tot de vorming van antistoffen. Die antistoffen vormen vervolgens immuuncomplexen, die met betrokken auto-antigenen immuuncomplexen vormen die in de vaten neerslaan en daar via fagocyterende cellen en mogelijk ook de alternatieve route van het complementsysteem tot ontstekingen leiden. In een dergelijk scenario is te verwachten dat ook deficiënties van CRP en serumamyloidcomponent P (SAP), die immers als adaptormoleculen functioneren voor de activatie van complement door apoptotische cellen, tot SLE leiden. Recente studies in muizen duiden daar inderdaad op.

Lectineroute

Tamelijk recent in de geschiedenis van het complementonderzoek werd ontdekt dat het mannosebindend lectine (MBL) een component was van een nieuwe complementactivatieroute. Hierbij wordt zonder medewerking van antistof, maar ook met uitsluiting van C1, de klassieke route in gang gezet, te beginnen met C4 en C2.

Het in de lever gesynthetiseerde MBL heeft een oligomere structuur en bestaat uit drie identieke peptidketens die elk een Ca^{2+} -afhankelijk en polysaccharidebindend lectinedeel, een hydrofoob deel, een collageendeel en een cysteïnerijk N-terminaal deel bezitten. Tezamen vormen de drie ketens een klassieke tripelhelixstructuur. Het MBL kan in verschillende oligomere structuren voorkomen. Tetrameren zijn nodig voor activatie van complement, di- of trimeren hebben vermoedelijk geen biologische activiteit. MBL bindt aan verschillende suikers zoals mannose, N-acetylgalactosamine, N-acetylglucosa-

mine en maltose. Door de lage bindingsaffiniteit van de afzonderlijke bindingsplaatsen is het noodzakelijk dat meerdere lectinedelen van één MBL-molecuul tegelijkertijd aan de repeterende suikerstructuren op micro-organismen hechten om een sterke functionele binding te krijgen. Wat functie betreft lijkt MBL sterk op C1q. Beide behoren dan ook tot een familie van structureel verwante eiwitten. Recent is bekend geworden dat ook verschillende andere leden van deze familie, zoals de verschillende ficolines, het complementsysteem kunnen activeren.

De gemiddelde concentratie van MBL in plasma is $\pm 1,7 \mu\text{g/ml}$, maar kan sterk variëren. De concentratie is erfelijk bepaald en wordt sterk beïnvloed door polymorfismen in exon 1 van het MBL-gen op chromosoom 10. De polymorfismen worden aangetroffen in codon 52 (arginine \rightarrow cysteïne), codon 54 (glycine \rightarrow asparaginezuur) en codon 57 (glycine \rightarrow glutaminezuur). Er is sprake van een opmerkelijke geografische variabiliteit bij de polymorfismen; de codon-52-variant wordt hoofdzakelijk in het Eurazische gebied gevonden en de codon-57-variant vooral in Afrikaanse populaties ten zuiden van de Sahara. Ook z.g. promotorpolymerfismen van het MBL-gen, speciaal een basenpaarsubstitutie in codon -221 (G \rightarrow C), kunnen leiden tot zeer uiteenlopende en vaak verlaagde concentraties. Het gevolg van deze polymerfismen is dat de secundaire structuur van de tripelhelix niet gevormd kan worden en er een niet functionerend eiwit ontstaat. Hierdoor is zelfs bij heterozygoten de plasmaconcentratie van het functioneel actieve (suikerbindende) molecuul slechts 1/8 van de normale waarde. Deficiënties zijn dan ook bepaald niet zeldzaam: bij $\pm 15\text{-}20\%$ van de bevolking wordt een sterk verlaagde concentratie gevonden. Voor het meten van de MBL-concentratie is het van belang een functionele bepaling te doen die gebruik maakt van binding aan mannose, daar anders de niet functionerende MBL-moleculen mee bepaald worden.

Omdat MBL als opsonine van diverse bacteriën functioneert en tevens complementactiverende eigenschappen heeft, levert een MBL-deficiëntie een verhoogd risico op infectieziekten op. Een MBL-deficiëntie in geïsoleerde vorm hoeft geen belangrijk gezondheidsrisico op te leveren, maar kan problemen opleveren bij individuen waarbij andere deficiënties van het immuunsysteem aangetroffen worden, zoals

mucoviscoïdosis of een neutropenie als gevolg van het gebruik van cytostatica. Vanwege de hoge frequentie van MBL-deficiënties, is het moeilijk te begrijpen dat deze mutaties in de loop van de evolutie niet verdwenen zijn, omdat de betrokken individuen in het nadeel zijn t.o.v. soortgenoten. Het is echter bekend dat bepaalde micro-organismen die zich binnen de cel vermenigvuldigen mogelijk gebruik maken van complementactivatie door MBL om de gastheercellen (fagocyten) binnen te dringen. Dit is onder meer het geval bij *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae* en *Leishmania*-soorten. In gebieden waar de ziekten tengevolge van deze pathogene organismen voorkomen, zullen individuen met een lage MBL-concentratie in het voordeel zijn. Het is dus aantrekkelijk om te veronderstellen dat MBL-deficiëntie onder bepaalde omstandigheden ook gunstig kan zijn, namelijk bescherming biedt tegen intracellulaire ziekteverwekkers (13, 14).

De activatie van complement via MBL wordt in gang gezet door de meervoudige binding van MBL aan repeterende suikers van oppervlaktestructuren van bacteriën, schimmels en virussen (15). Door associatie van MBL met de serineproteases MASP-1, MASP-2 en MASP-3, die wat structuur betreft op de complementfactoren C1r en C1s lijken, worden C4 en C2 geactiveerd, waardoor het klassieke-route-C3-converterase-C4b2a gevormd wordt. Met name MASP-2 lijkt sterk op C1s in zijn C4- en C2-activerende eigenschappen, waarbij opgemerkt moet worden dat dit serineprotease niet zoals C1s via een andere factor (C1r) geactiveerd wordt, maar direct na binding van MBL aan een substraat zijn enzymatische activiteit t.o.v. C4 en C2 verkrijgt (16). De C3-activatie vindt vervolgens op de gebruikelijke wijze plaats.

Conclusie

Het complementsysteem is een belangrijke mediator van de humorale immuniteit en ontstekingsreacties, waarbij het via opsonisatie een brugfunctie vervult tussen humorale en cellulaire afweer. De alternatieve en lectineroute zijn direct te activeren via suikerstructuren op pathogenen, terwijl de klassieke route pas na het opwekken van antistoffen of CRP op gang komt, maar hiermee wel een grotere selectiviteit en hogere efficiëntie bezit. Hoewel een goed functionerend complementsysteem als onderdeel van de afweer tegen ziekteverwekkers voordelig is voor het individu, kan het in andere gevallen doorslaan in zijn werking en daarmee verergering van ontstekingsreacties geven of het binnendringen van micro-organismen bevorderen.

Literatuur

- Fijen CA, Kuijper EJ, Te Bulte M, van de Heuvel MM, Holdrinet AC, Sim RB, Daha MR, Dankert J. Heterozygous and homozygous factor H deficiency states in a Dutch family. *Clin Exp Immunol* 1996; 105: 511-516.
- Biesma DH, Hannema AJ, van Velzen-Blad H, Mulder L, van Zwieten R, Kluijdt I, Roos D. A family with complement factor D deficiency. *J Clin Invest* 2001; 108: 233-234.
- Fijen CA, van den Bogaard R, Daha MR, Dankert J, Mannens M, Kuijper EJ. Carrier detection by microsatellite haplotyping in 10 properdin type 1-deficient families. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 902-906.
- Fijen CA, Derkx BH, Kuijper EJ, Mannens M, Poort SR, Peters M, Daha MR, Dankert J. Fulminant meningococcal septic shock in a boy with combined inherited properdin and protein C deficiency. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 290-296.
- Leitao MF, Vilela MM, Rutz R, Grumach AS, Condino-Neto A, Kirschfink M. Complement factor I deficiency in a family with recurrent infections. *Immunopharmacol Trends* 1997; 38: 207-213.
- Zipfel F. Hemolytic uremic syndrome: how do factor H mutants mediate endothelial damage? *Immunol* 2001; 22: 345-348.
- Mier JW, Vachino G, van der Meer JW, Numerof RP, Adams S, Cannon JG, Bernheim HA, Atkins MB, Parkinson DR, Dinarello CA. Induction of circulating tumor necrosis factor (TNF alpha) as the mechanism for the febrile response to interleukin-2 (IL-2) in cancer patients. *J Clin Immunol* 1988; 8: 426-436.
- Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 2001; 38: 189-197.
- Hack CE, Wolbink GJ, Schalkwijk C, Speijer H, Hermens WT, van den Bosch H. A role for secretory phospholipase A2 and C-reactive protein in the removal of injured cells. *Immunol Today* 1997; 18: 111-115.
- Lagrand WK, Niessen HW, Wolbink GJ, Jaspars LH, Visser CA, Verheugt FW, Meijer CJ, Hack CE. C-reactive protein colocalizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction. *Circulation* 1997; 95: 97-103.
- Nijmeijer R, Lagrand WK, Lubbers YT, Visser CA, Meijer CJ, Niessen HW, Hack CE. C-reactive protein activates complement in infarcted human myocardium. *Am J Pathol* 2003; 163: 269-275.
- Zwaan C de, Kleine AH, Diris JH, Glatz JF, Wellens HJ, Strengers PF, Tissing M, Hack CE, Dieijen-Visser MP van, Hermens WT. Continuous 48-h C1-inhibitor treatment, following reperfusion therapy, in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2002; 23: 1670-1677.
- Garred P, Richter C, Andersen AB, Madsen HO, Mtoni I, Svejgaard A, Shao J. Mannan-binding lectin in the sub-Saharan HIV and tuberculosis epidemics. *Scand J Immunol* 1997; 46: 204-208.
- Soborg C, Madsen HO, Andersen AB, Lillebaek T, Kok-Jensen A, Garred P. Mannose-binding lectin polymorphisms in clinical tuberculosis. *J Infect Dis* 2003; 188: 777-782.
- Turner MW. Mannose-binding lectin (MBL) in health and disease. *Immunobiology* 1998; 199: 327-339.
- Hajela K, Kojima M, Ambrus G, Wong KH, Moffatt BE, Ferluga J, Hajela S, Gal P, Sim RB. The biological functions of MBL-associated serine proteases (MASPs). *Immunobiology* 2002; 205: 467-475.

Summary

Complement and Inflammation. Hannema AJ and Hack CE. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2004; 29: 145-150.

The complement system consists of more than 30 plasma and membrane proteins that play a role in the defence of the body against pathogenic microorganisms. Besides their role in opsonisation of these organisms, complement activation also leads to products with pro-inflammatory effects such as for instance chemotaxis. Until recently the complement system was divided into two activation pathways, the classical and the alternative activation pathway. Recently a third activation pathway, the lectin activation pathway, has been added. In this article the role of the complement system as mediator of inflammation will be discussed in the light of the three complement-activation pathways. In addition, abnormal complement activation in relation to disease and potential therapeutic possibilities of complement components will be discussed.

Keywords: complement activation; classical pathway; alternative pathway; lectin pathway, MBL