

**IMUNOGLOBULINAS**  
**Dr<sup>a</sup> Renata Ramalho**

A desgravação desta aula está organizada da seguinte forma: em Times New Roman é feita a transcrição integral do que foi dito na aula, em **Berlin Sans FB Demi** são acrescentadas informações do 4º capítulo da 6ª edição do Kuby – Immunology. Aconselha-se o recurso aos slides da aula para acompanhar este texto com as imagens.

Terminamos a última aula a saber que a célula B se diferenciava em célula B de memória, importante para resposta adaptativa, e em células produtoras de imunoglobulinas, os plasmócitos.

Hoje vamos aprender qual é a estrutura base das imunoglobulinas e o que é que as diferencia.

Então qual é a diferença entre imunoglobulina e anticorpo?

Correntemente, quando falamos em imunoglobulina referimo-nos tanto a imunoglobulina como a anticorpo. No entanto, *imunoglobulina* é aquela que está expressa na membrana do linfócito B, que lá está acoplada; já ouvimos falar da IgM de membrana bem como da IgD de membrana. No entanto, nós sabemos que por capacidade de mudança de isotopia a célula B vai conseguir produzir imunoglobulinas de isotipos diferentes. Quando estas são secretadas nós chamamos de anticorpos. Portanto *anticorpo* é a forma secretada da imunoglobulina de membrana.

Mas não podemos esquecer que a especificidade do anticorpo que foi secretado é exactamente igual àquela da imunoglobulina membranar.

Se fizermos uma electroforese vamos encontrar as imunoglobulinas predominantemente na zona das gamaglobulinas, nomeadamente a IgG.

***Estrutura básica dos anticorpos***

**Os plasmócitos segregam anticorpos solúveis com uma especificidade para o antigénio idêntica à especificidade do receptor de superfície da célula B que deu origem a esse plasmócito.**

**Globalmente as funções dos anticorpos são: ligar-se a antigénios estranhos e mediar funções efectoras destinadas a neutralizar ou eliminar os agentes invasores.**

**Os anticorpos encontram-se no soro, que é a fase fluida do plasma depois de lhe ter sido permitido coagular. A informação que se segue baseia-se na experiência de Arne Tiselius e A. Kabat. A separação electroforética das proteínas do soro revela 4 componentes: albumina e globulinas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Se antes da electroforese for administrado um antigénio imunizante, constata-se uma**

**descida no pico da globulina  $\gamma$  , o que leva a concluir que esta fracção corresponde às imunoglobulinas. Hoje, sabe-se que a IgG, que é a classe de imunoglobulinas mais frequente, se encontra na fracção das globulinas  $\gamma$ , mas também podem existir na fracção  $\beta$ .**

Embora as imunoglobulinas tenham algumas diferenças na sua estrutura que caracterizam as suas classes, elas têm a uma estrutura básica muito consistente e muito semelhante. Têm uma forma em Y que é constituída por 4 cadeias polipeptídicas: 2 cadeias pesadas e 2 cadeias leves. As ligações de hidrogénio estão presentes entre as cadeias leves e pesadas e nas cadeias pesadas entre si. Estas ligações, bem como as ligações dissulfito vão possibilitar esta estrutura em Y.

Cada isotipo de imunoglobulina tem uma *cadeia pesada* característica; portanto a IgG terá uma cadeia pesada do tipo  $\gamma$ , a IgM terá uma cadeia pesada do tipo  $\mu$ , a IgA terá uma cadeia pesada do tipo  $\alpha$ , a IgE terá uma cadeia pesada do tipo  $\epsilon$  e a IgD terá uma cadeia pesada do tipo  $\delta$ .

A nível das *cadeias leves* vamos poder ter 2 tipos: ou cadeias  $\lambda$  ou cadeias  $\kappa$ , mas têm as duas de ser iguais em cada Ig.

A estrutura da Ig vai determinar a sua função porque os componentes da sua estrutura estão associados de acordo com a sua função. No terminal amina vamos ver umas porções que são as *porções variáveis (V)* da cadeia leve e da cadeia pesada. São variáveis porque vão permitir que haja variabilidade entre as Igs isotópicas e porque vão permitir que haja diferenças na ligação com o antígeno- *porção Fab da Ig*. Portanto são as zonas responsáveis pela ligação ao antígeno. As *porções constantes (C)* da cadeia pesada e da cadeia leve serão responsáveis pelas actividades biológicas da Ig (activar linfócitos T, activar o complemento e promover a fagocitose)- *porção Fc da Ig*.

No caso da IgG do linfócito B esta porção Fc está ligada à membrana do linfócito. A acção efectora corresponde, neste caso, à activação da célula B quando a imunoglobulina se liga a um antígeno. O linfócito B é estimulado a proliferar, a diferenciar-se em plasmócito e a produzir aquele tipo de Ig.

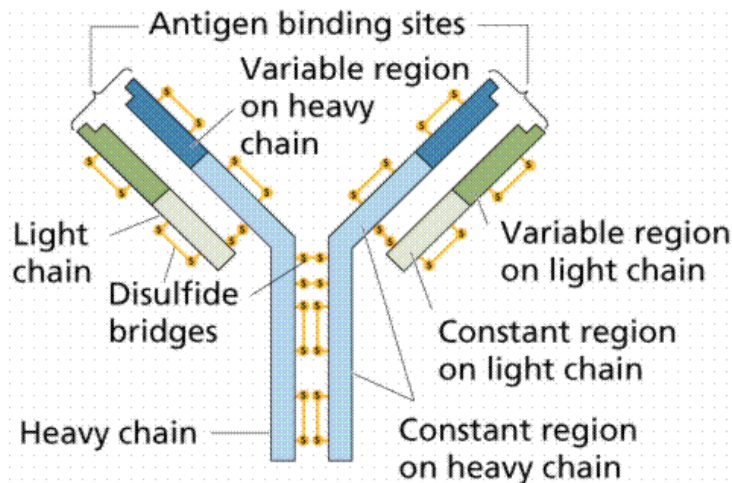
A associação das ligações dissulfito vão determinar a existência de domínios. Vamos ter um domínio variável e um domínio constante para cada cadeia leve e um domínio variável e três ou quatro domínios constantes para cada cadeia pesada. Nas Ig onde está presente a região de charneira (permite à Ig ter uma certa flexibilidade) a cadeia pesada vai ter um domínio variável e três domínios constantes; No caso da IgE e da IgM há ausência da região de charneira e, portanto, na cadeia pesada vamos ter um domínio variável e quatro domínios constantes.

A digestão da Ig pela papaína vai permitir o aparecimento de 2 porções Fab (responsável pela ligação ao antígeno) e 1 porção Fc( responsável pela actividade biológica da Ig).

A digestão pela pepsina produz o aparecimento das porções Fab ligadas e da porção Fc fragmentada.

Com a digestão pelo mercaptoetanol vamos obter a separação das cadeias leves e pesadas.

### ***Os anticorpos são heterodímeros***



Os anticorpos são constituídos por 2 cadeias leves (L) e 2 cadeias pesadas (H) idênticas entre si. Cada cadeia leve encontra-se ligada a uma cadeia pesada, e as cadeias pesadas encontram-se ligadas entre si por ligações não covalentes e pontes dissulfeto. Nas cadeias leves e pesadas, os primeiros aminoácidos do

terminal amina são muito variáveis e constituem a região variável (V), região essa que determina a especificidade para o antígeno. Dentro da região variável, existem áreas particularmente variáveis designadas regiões determinantes de complementaridade (CDRs). As regiões mais próximas do terminal carboxílico são comuns a uma classe de anticorpos e designam-se regiões constantes (C), sendo estas que vão mediar as funções efectoras do anticorpo. Algumas cadeias pesadas ( $\gamma$ ,  $\delta$  e  $\alpha$ ) contêm ainda uma região rica em resíduos de prolina, chamada charneira.

Da digestão da imunoglobulina com a enzima papaína resultam 2 fragmentos com capacidade de ligação ao antígeno (Fab) e um fragmento sem essa capacidade (Fc).

A cadeia L é formada por uma região V e uma região C, cujas duas sequências de aminoácidos possíveis, determinam que a cadeia L seja do tipo  $\kappa$  ou  $\lambda$ .

A cadeia H também é formada por regiões V e C, sendo que a região C pode apresentar 5 padrões de sequência de aminoácidos (aa) diferentes, que determinam os seus 5 isotipos:  $\delta$  e  $\gamma$  com 330 aa,  $\alpha$ ,  $\mu$  e  $\epsilon$  com 440 aa. É este isotipo da região C da cadeia H que vai definir a classe da imunoglobulina. Além disso, existem ainda subisotipos para as cadeias  $\alpha$  ( $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ ) e  $\gamma$  ( $\gamma 1, \gamma 2, \gamma 3$  e  $\gamma 4$ ).

A estrutura global da Ig baseia-se na sua organização proteica primária (sequência de aas), secundária (pregueamento em folhas  $\beta$  antiparalelas), terciária (conformação em domínios globulares compactos ligadas às cadeias vizinhas por cadeias polipeptídicas) e quaternária (formação de domínios funcionais por interacção entre cadeias L e H). Os domínios das Igs têm uma conformação especial como se fossem uma sandwich de 2 folhas pregueadas  $\beta$  ligadas por loops de tamanhos variáveis e estabilizadas por interacções

**hidrofóbicas e por uma ligação dissulfito que se estabelecem entre elas. É nesses loops que se encontram as regiões de máxima variabilidade, as regiões CDR ou determinantes da complementariedade, já faladas anteriormente. Existem 3 nas cadeias L e 3 nas cadeias H.**

Se analisarmos as sequências de aminoácidos ao nível do domínio variável o que vemos é a existência de 3 regiões determinantes de complementariedade (3 CDR), responsáveis por determinar a complementariedade, e 4 regiões sem variabilidade. São as CDRs que determinam a complementariedade com o antígeno.

Vimos na última aula sobre ontogenia da célula B que os anticorpos com maior afinidade para os antígenos seriam seleccionados para contactarem depois com a célula T. A ligação do antígeno com o anticorpo faz com que haja alterações ao nível do antígeno e do anticorpo, que vão otimizar a complementariedade das 2 estruturas (o anticorpo adapta-se em termos conformacionais ao antígeno, o que, como já perceberam, ocorre nas regiões que determinam a complementariedade). E que tipo de forças estão envolvidas nesta ligação? Temos forças não covalentes (ligações de H, ligações de van Waals, ligações hidrofóbicas, ligações electrostáticas) que vão manter unido este complexo antígeno- anticorpo.

**A interacção antígeno-anticorpo é maximizada por alterações conformacionais no anticorpo e no antígeno. Esta é facilitada pelas regiões CL e CH1 que permitem extensão e rotação dos braços Fab.**

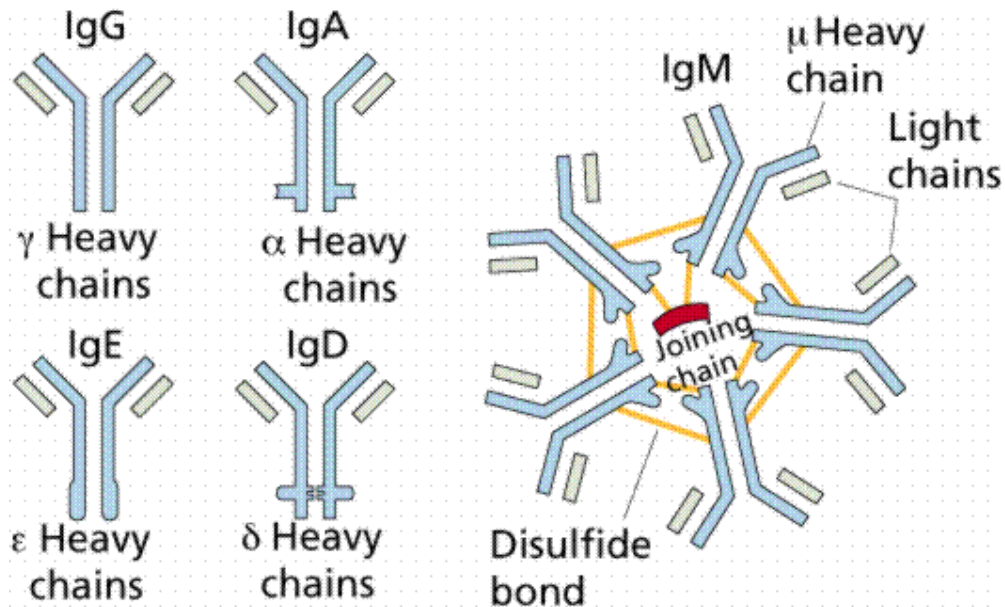
A *zona de charneira* vai permitir à Ig ter alguma flexibilidade para se adaptar na ligação ao antígeno, o que significa que os braços do Y não são rígidos, permitindo aumentar ou diminuir o ângulo por eles formado. Existem polímeros de Ig com diferentes ângulos 0°-lineares, 60°-triangulares e 90°-quadrangulares. Este conceito de flexibilidade é muito importante! Como já vimos nas IgE e IgM não temos esta região de charneira o que faz com que tenham a tal diferença ao nível dos domínios.

**A zona da charneira existe entre os domínios CH1 e CH2 das cadeias  $\gamma$ ,  $\delta$  e  $\alpha$ , o que confere flexibilidade às IgG, IgD e IgA, e também susceptibilidade à clivagem pela papaína e pepsina. Apesar das cadeias  $\mu$  e  $\epsilon$  não tenham charneira, possuem um domínio adicional. Portanto, as IgA, IgD e IgG têm 3 domínios na região constante, enquanto as IgE e IgM têm 4.**

**As Igs secretadas diferem das Igs de membrana no que se refere ao terminal carboxílico: as primeiras têm uma sequência hidrofóbica de aas, enquanto que as segundas têm uma sequência hidrofílica extracelular, uma sequência hidrofóbica transmembranar e uma pequena cauda citoplasmática no terminal carboxílico.**

**A célula B imatura expressa à sua superfície apenas mIgM; mais tarde na maturação passa a exprimir também mIgD. Uma célula B de memória pode exprimir mIgG, mIgA ou mIgE.**

Depois de vermos a estrutura das Ig, vamos então falar das 5 classes de anticorpos que podemos ter: IgM, IgG, IgA, IgE e IgD (não esquecer que cada uma tem uma cadeia pesada própria). Que diferenças têm em relação à estrutura base das Ig?



**IgM**- cadeia pesada com 4 domínios C; não tem charneira; é secretada sob a forma de um pentâmero; polimerização possibilitada pela presença da cadeia J; é um monómero quando está associada ao linfócito B;

**IgG**- é o protótipo da Ig: cadeia pesada com 3 domínios C; tem região de charneira; apresenta 4 subclasses: IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>; secretada sob forma de monómero;

**IgA**- cadeia pesada com 3 domínios C; tem região de charneira; no soro é encontrada sob a forma de monómero mas na forma secretada é polimérica formando principalmente dímeros; tem cadeia J e componente secretor;

**IgE**- cadeia pesada com 4 domínios C; não tem charneira; encontrada sob a forma de um monómero;

**IgD**- cadeia pesada com 3 domínios C; tem região de charneira; encontrada sob a forma de monómero;

Agora vamos debruçar-nos sobre as actividades biológicas de cada uma delas.

**IgM**- **corresponde a 5-10% das imunoglobulinas séricas totais**, pentâmero de valência 10 o que permite a ligação a 10 antígenos; o tamanho restringe a sua distribuição no soro, embora possa ser transportada até às mucosas, **graças à sua cadeia J que permite à IgM ligar-se a receptores nas células secretoras**; presente na superfície da célula B **sob a forma monomérica**; é a 1<sup>a</sup> Ig a ser produzida durante a resposta imunológica pelo que tem baixa afinidade comparativamente à IgG; **é também a 1<sup>a</sup> Ig a ser produzida pelo recém-nascido**; activa o complemento, **de forma mais efectiva que a IgG**; funciona como uma aglutinina (tem a capacidade de agregar antígenos multivalentes); não atravessa a placenta logo não confere imunidade ao recém-nascido.

**As 5 unidades monoméricas que constituem o pentâmero são mantidas juntas graças a ligações dissulfito e apresentam a sua porção Fc voltada para o centro**

**do pentâmero. Cada pentâmero possui uma cadeia polipeptídica J ligada por pontes dissulfito aos terminais carboxílicos de 2 das 10 cadeias  $\mu$ .**

**IgG- é a mais abundante**, corresponde a 80% do total de Ig do soro; é um monómero de valência 2; tem 4 subclasses: IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub> cuja maior diferença entre elas é ao nível da região de charneira; está presente no soro e nos tecidos; é produzida mais tardiamente na resposta imunológica; tem maior afinidade que a IgM; liga-se a receptores Fc na superfície das células (IgG<sub>1</sub>=IgG<sub>3</sub>> IgG<sub>4</sub>>IgG<sub>2</sub>); atravessa a placenta (IgG<sub>1</sub>=IgG<sub>3</sub>=IgG<sub>4</sub>>IgG<sub>2</sub>) logo faz imunização passiva do recém-nascido; activa o complemento (**excepto IgG<sub>4</sub>**); não é secretada nas mucosas; não está presente na superfície das células B quando inactivadas;

**As diferentes subclasses diferem quanto ao tamanho da charneira e quantidade de ligações dissulfito entre as cadeias H. Atravessam a placenta IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub>. A IgG<sub>3</sub> é a mais efectiva a activar o complemento, seguida pela IgG<sub>1</sub>; a IgG<sub>2</sub> é menos eficiente e a IgG<sub>4</sub> não activa de todo o complemento. A IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub> ligam-se com grande afinidade aos receptores Fc nas células fagocíticas, mediando opsonização; a IgG<sub>4</sub> tem uma afinidade intermédia e a IgG<sub>2</sub> tem uma afinidade muito baixa.**

*Quais são as Ig que estão presentes à superfície da célula B madura inactivada? IgM e IgD*

**IgA-** 10 a 20% das Ig séricas; está no soro como um monómero de valência 2 (valência é sinónimo do número de antígenos que liga), mas é secretada sob a forma de um dímero de valência 4; contém um componente secretor (que confere resistência à proteólise do meio) e cadeia J (permite a polimerização da Ig); está presente no soro e secreções; é produzida mais tardiamente na resposta imunológica; tem maior afinidade que a IgM; na forma secretada consegue fazer agregação de antígenos multivalentes como a IgM; não atravessa a placenta; não activa o complemento; tem um papel importante na imunidade das mucosas- relacionado com a capacidade que a IgA tem de fazer *transcitose* (atravessar as células epiteliais): a IgA adquire o componente secretor quando se liga ao receptor poly-Ig das células epiteliais, atravessa-as e ao sair para o lúmen leva acoplado este componente secretor, processo importante na saliva e leite materno;

**É a Ig predominante nas secreções externas: leite, saliva, lágrimas, muco brônquico, genitourinário e digestivo. A sua produção diária é maior do que a de qualquer outra Ig. Tem uma cadeia J e um componente secretor constituído por 5 cadeias da família da Igs. Após a produção, a IgA liga-se, na membrana basolateral das mucosas e epitélios glandulares, a um receptor de imunoglobulinas poliméricas, o receptor poli-Ig. O poli-Ig interage com a cadeia J. Mediada por este receptor é feita a endocitose, transporte directo através do citoplasma e libertação da IgA na membrana luminal. A libertação ocorre depois da clivagem enzimática do poli-ig, que se passa a designar componente secretor e se mantém junto da IgA protegendo-a da acção das muitas proteases existentes no meio. A IgM pentamérica também pode sofrer um processo de transporte para as mucosas semelhante, o que ocorre mais raramente. Já no lúmen, a IgA pode ligar-se a antígenos bacterianos e víricos impedindo que estes patogénios adiram às células da mucosa.**

## **A IgA do leite materno protege o recém-nascido nos primeiros meses de vida.**

*A cadeia J vai portanto permitir a polimerização das Ig, no caso da IgA um dímero; no caso da IgM um pentâmero.*

**IgE**- existe no soro sob a forma de monómeros de valência 2; produzida mais tardiamente na resposta imunológica; distribuição restrita à superfície de mastócitos e basófilos; confere protecção contra parasitas, envolvida em reacções de hipersensibilidade (asma) - ao estar localizada na superfície de mastócitos e basófilos vai permitir a sua desgranulação e posteriormente o aparecimento de todos os sintomas que sabemos estar ligados às alergias; não atravessa a placenta; não activa o complemento; não está presente nas células B maduras inactivadas;

**Pode ligar-se a receptores Fc na membrana de basófilos e mastócitos dos tecidos. A ligação do antigénio a essas IGEs promove a desgranulação dessas células, com libertação de mediadores que desencadeiam manifestações alérgicas e ADCCs de defesa contra parasitas.**

*Qual é a Ig que atravessa a placenta? IgG*

*Qual é a primeira Ig a ser produzida? IgM*

**IgD**- monómero de valência 2; localizado na superfície da célula B; não atravessa a placenta; não activa o complemento; função ainda não esclarecida;

*Quais são as Ig que têm a capacidade de activar o complemento? IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgM*

*Quais as Ig que se ligam a receptores Fc? IgG preferencialmente*

*Quem sofre transporte a nível das mucosas? IgA preferencialmente mas também a IgM*

*Quem induz a desgranulação dos mastócitos? IgE*

Diferenças entre IgG e IgA. Já percebemos que têm diferenças ao nível da cadeia pesada: a da IgG e uma cadeia  $\gamma$ , a da IgA é uma cadeia  $\alpha$ ; são chamadas de **diferenças isotípicas** (distinguem as classes de Ig e as diferenças existem ao nível das cadeias pesadas), e acontece em todas as pessoas.

## **Corresponde ao tipo e subtipo de cadeias L e H.**

Diferenças entre 2 classes de IgG. Podemos lembrar o que acontece com os nossos grupos sanguíneos; aparentemente são iguais, mas entre elas têm pequenas diferenças, chamadas de **diferenças alotípicas** (podem existir na mesma espécie).

As **diferenças idiotípicas** são ao nível dos locais de ligação dos antigénios que podem ser diferentes. **Corresponde à forma como os domínios VH e VL podem ser determinantes antigénicos.**

Vamos então recapitular as funções das Ig:

- algumas têm capacidade de *activar o complemento*
- algumas fazem *opsonização* marcando o antígeno
- neutralização dos antígenos* impedindo que estes se liguem aos receptores (ex: as toxinas bacterianas)

**Os anticorpos não destroem ou removem patógenos apenas por se ligarem a eles. É através da região C da cadeia H que se processam as interações. Os anticorpos podem fazer opsonização, promovendo vias de transdução de sinal que levam à fagocitose, por se ligarem aos receptores para a porção Fc (FcR) à superfície de macrófagos e neutrófilos. Os anticorpos podem activar o complemento, através da via clássica e podem ainda promover a citotoxicidade mediada por células e dependente do anticorpo (ADCC). Alguns conseguem atravessar epitélios por transcitose, IgA e em menor escala IgM, para exercerem funções nas superfícies mucosas, outros atravessar a placenta, IgG, sendo responsáveis por uma imunização passiva do feto.**

**FIM**

*Para ser grande, sê inteiro: nada  
Teu exagera ou exclui.  
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és  
No mínimo que fazes.  
Assim em cada lago a lua toda  
Brilha, porque alta vive.  
Fernando Pessoa*

Com votos de bom Natal,

Inês Almeida e Sofia Marques  
T13 Novembro de 2006