

Introdução a imunologia clínica

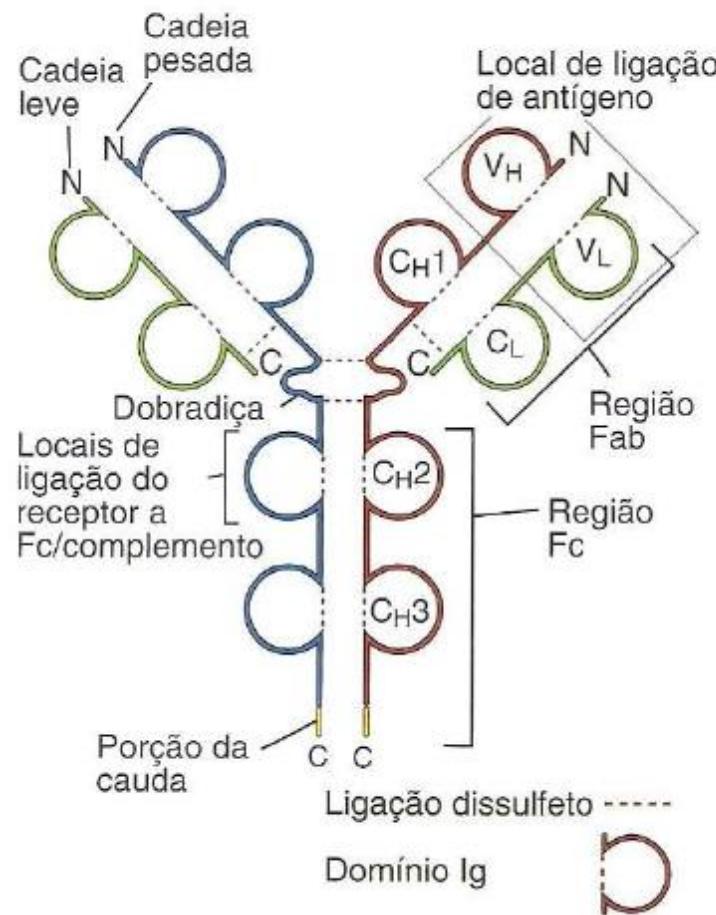
Alessandra Barone

Definições

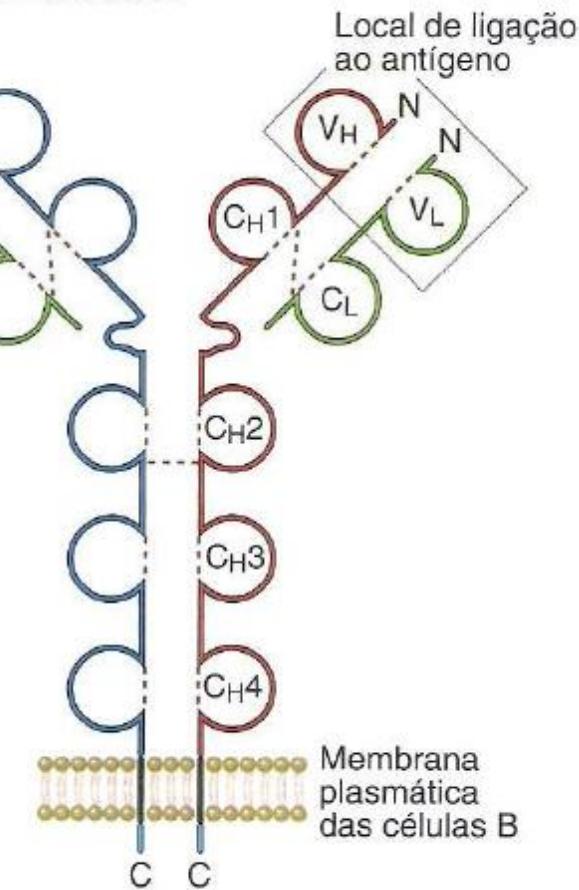
- Imunógeno:
 - Substância que induz uma resposta imune específica.
- Antígeno (Ag):
 - Substância que reage com os produtos de uma resposta imune específica.
- Hapteno:
 - Moléculas de baixo peso molecular, não imunogênica que pode reagir com os produtos de uma resposta imune específica quando ligada a uma proteína transportadora de maior peso molecular
 - Haptenos têm a propriedade de antigenicidade, mas não imunogenicidade.
- Epítopo ou Determinante Antigênico:
 - Porção do antígeno que combina com os produtos de uma resposta imune específica.

Estrutura do anticorpo

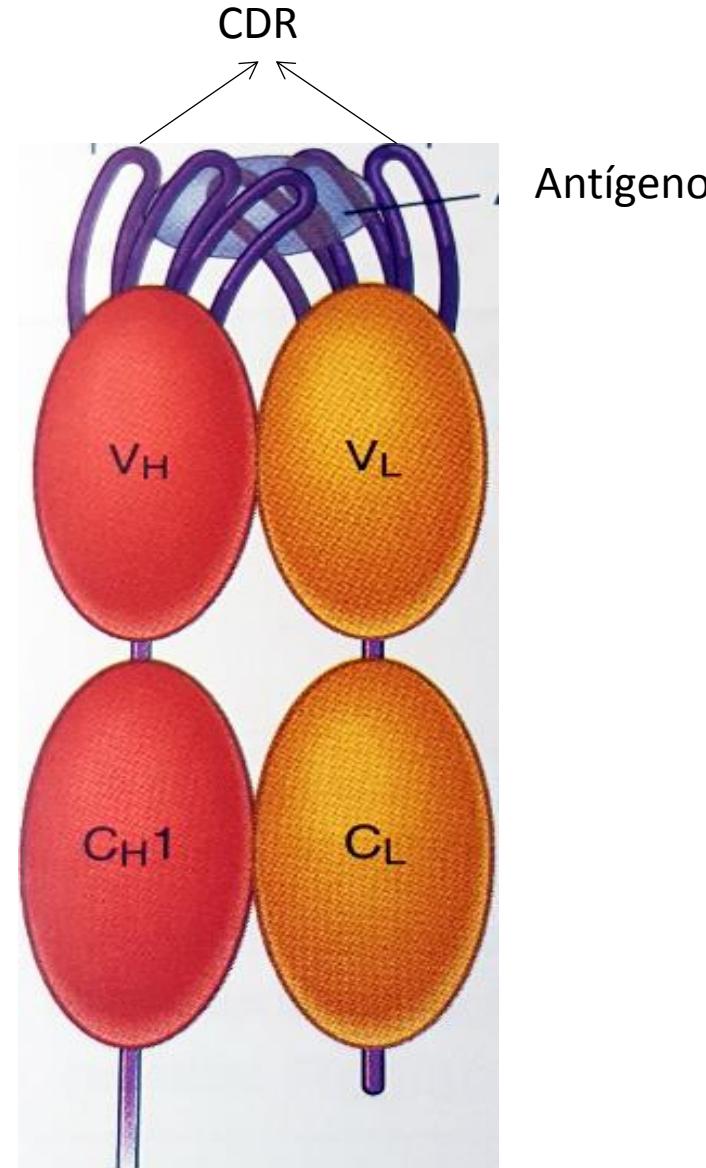
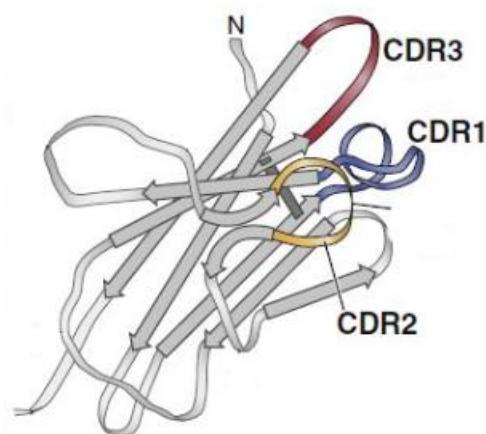
A IgG secretada



B IgM de membrana

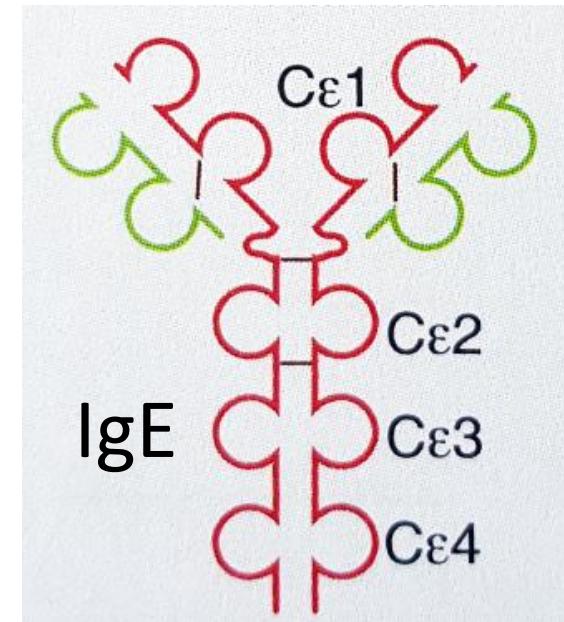
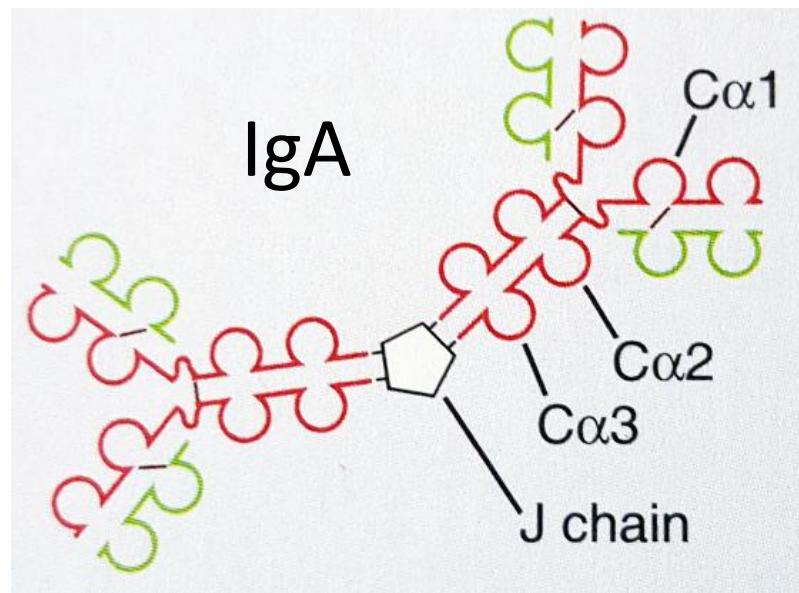
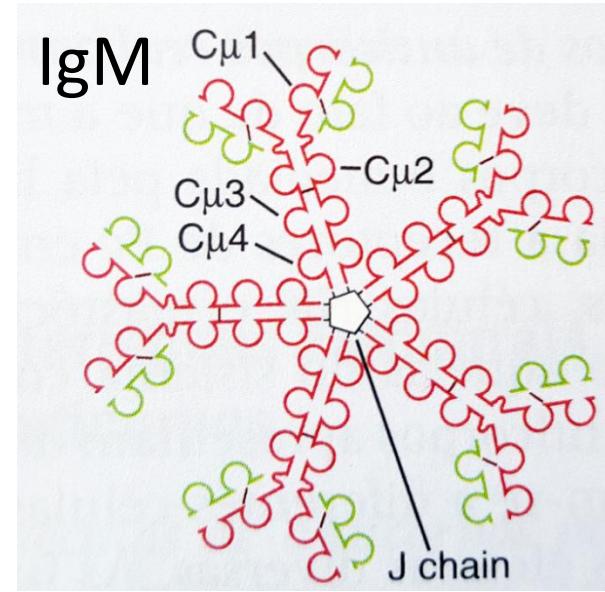
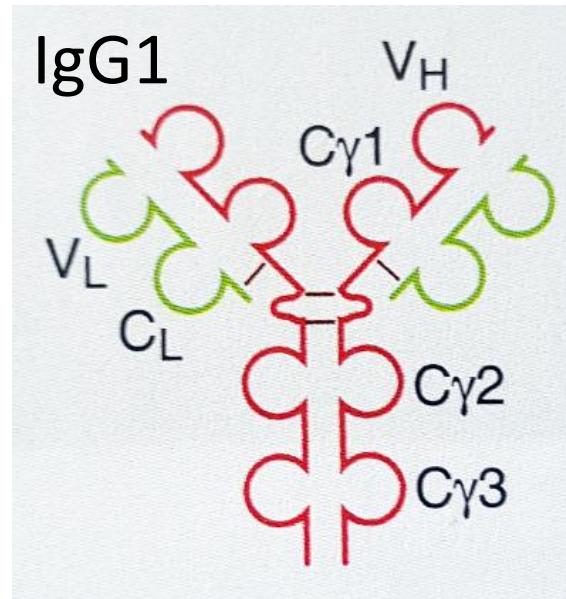


Regiões determinantes de complementariedade



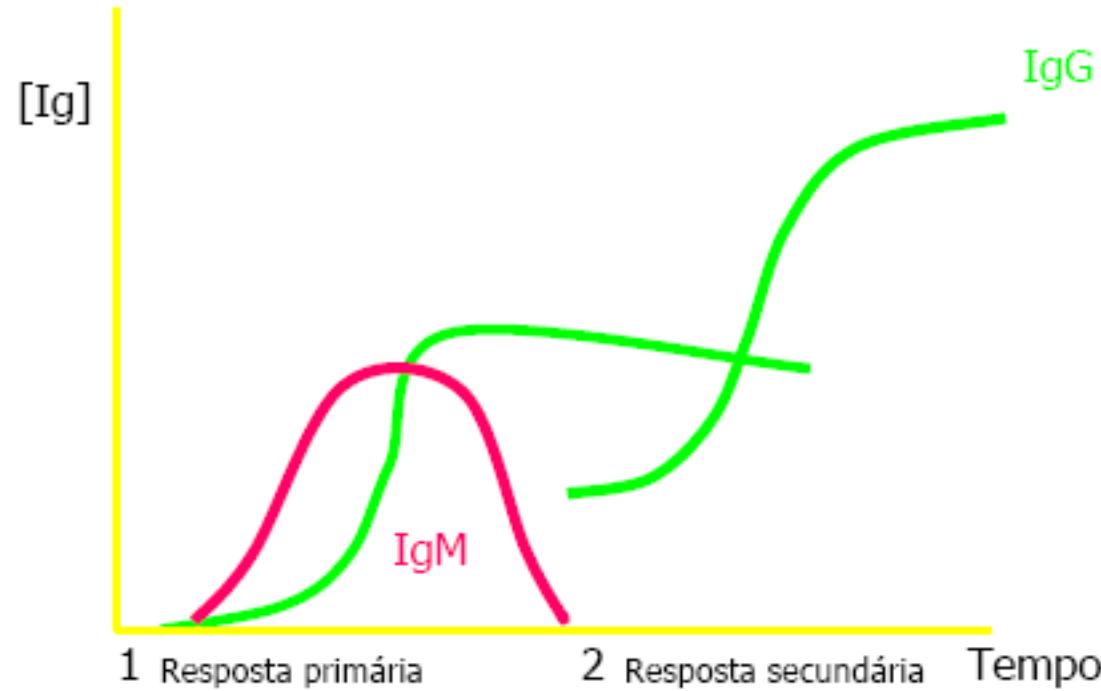
Estrutura dos anticorpos

- As diferenças entre as porções constantes da cadeia pesada criam os isótipos e subtipos de anticorpos.
 - IgA – IgA1 e IgA2: cadeias pesadas do tipo α (alfa)
 - IgD: cadeia pesada do tipo δ (delta)
 - IgE: cadeia pesada do tipo ϵ (epsilon)
 - IgM: cadeia pesada do tipo μ (mi/miú)
 - IgG – IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 – cadeia pesada do tipo γ (gama)



Anticorpos

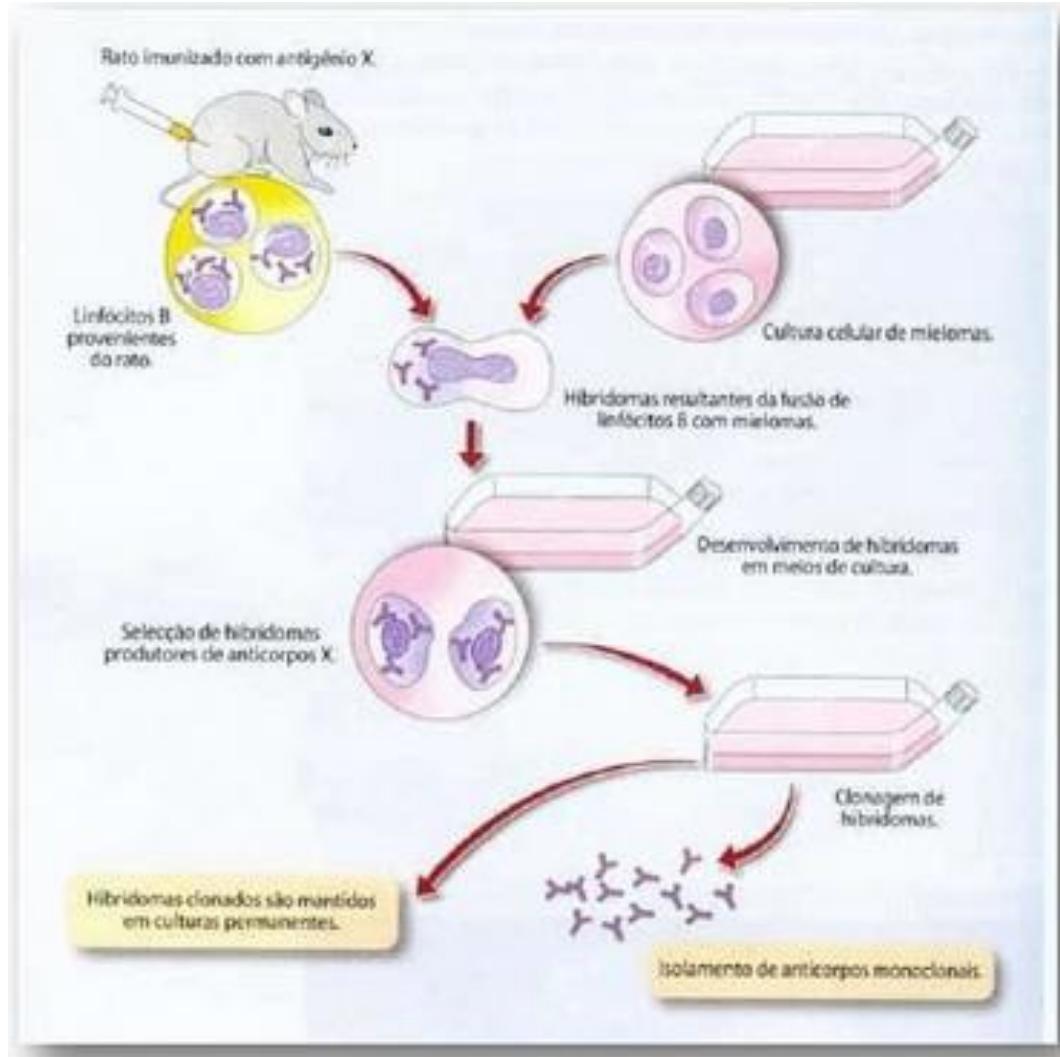
IgG E IgM NA INFECÇÃO / RE-INFECÇÃO
(imunocompetentes)



Anticorpos

- Anticorpos monoclonais
 - Produzidos a partir de um único clone de um único linfócito B que passa a produzir sempre os mesmos anticorpos, em resposta a um agente patogênico
 - O procedimento foi descrito pela primeira vez em 1975 na revista *Nature*, por César Milstein e Georges Köhler.
 - Produzidos em laboratório a partir de linfócitos B gerados por camundongos, cujos sistemas imunológicos foram estimulados pelos抗ígenos de interesse.

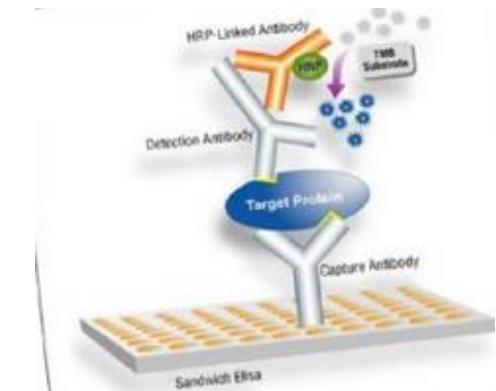
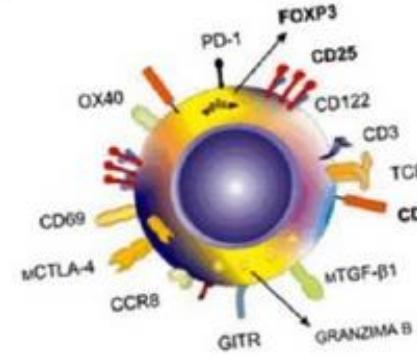
Anticorpos



- Após imunizarem ratinhos com determinado antígeno, as células do baço são colhidas.
- São selecionadas as células B normais, produtoras de anticorpos, que são fundidas com uma célula de mieloma gerando uma célula híbrida, denominada **hibridoma**.
- Os clones resultantes de células de hibridoma, que segregam grandes quantidades de anticorpos monoclonais, podem ser cultivados indefinidamente.
- Os **hibridomas que produzem anticorpos da especificidade desejada** são identificados e **clonados para uma cultura de células individuais**.
- Uma vez que cada clone de hibridoma é um derivado da fusão com uma única célula B, todas as moléculas de anticorpo que ela produz são idênticas em estrutura, incluindo o seu local de ligação ao antígeno e isótipo.

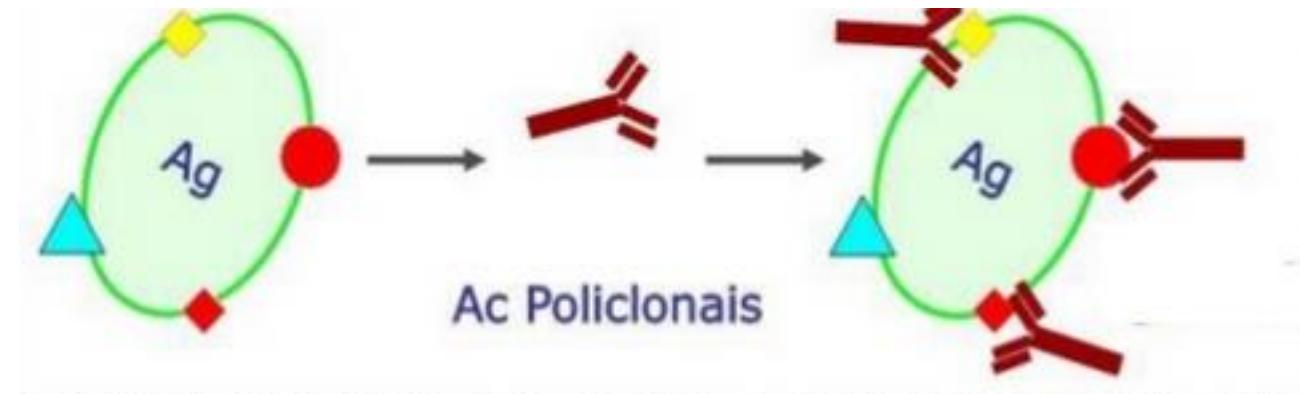
Anticorpos

- Aplicações:
 - Identificação de marcadores fenotípicos
 - Imunodiagnóstico
 - Diagnóstico e terapia de tumores
 - Análise funcional de moléculas de superfície celular e secretadas



Anticorpos policlonais

- Anticorpos derivados de diferentes linhagens de células B.
- Produzidos por uma variação de moléculas de imunoglobulinas secretadas contra um antígeno específico, cada uma reconhecendo um epítopo diferente.



Ligaçāo entre antígenos e anticorpos

- Moléculas que podem ser reconhecidas por anticorpos:
 - Metabólitos intermediários de carboidratos, lipídeos, hormônios.
 - Macromoléculas: carboidratos complexos, fosfolipídeos, ácidos nucleicos e proteínas

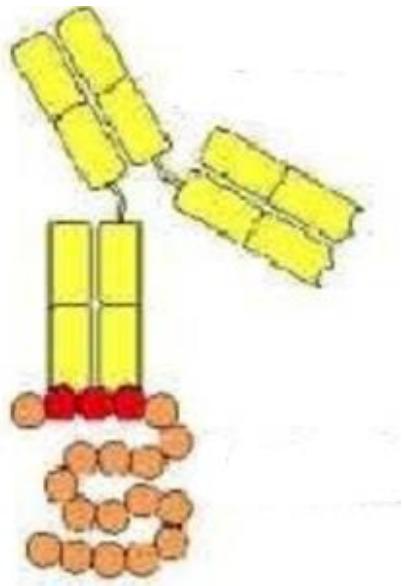
Ligação entre antígenos e anticorpos

- A ligação do anticorpo ocorre em um sítio específico no antígeno – **EPÍTOPO** ou determinante
- Uma macromolécula que apresente muitos epítopos iguais é chamada de polivalente

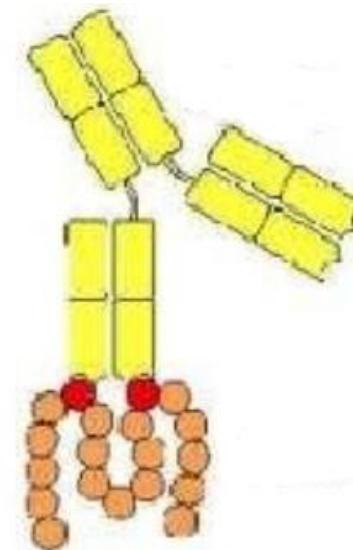
Ligaçāo entre antígenos e anticorpos

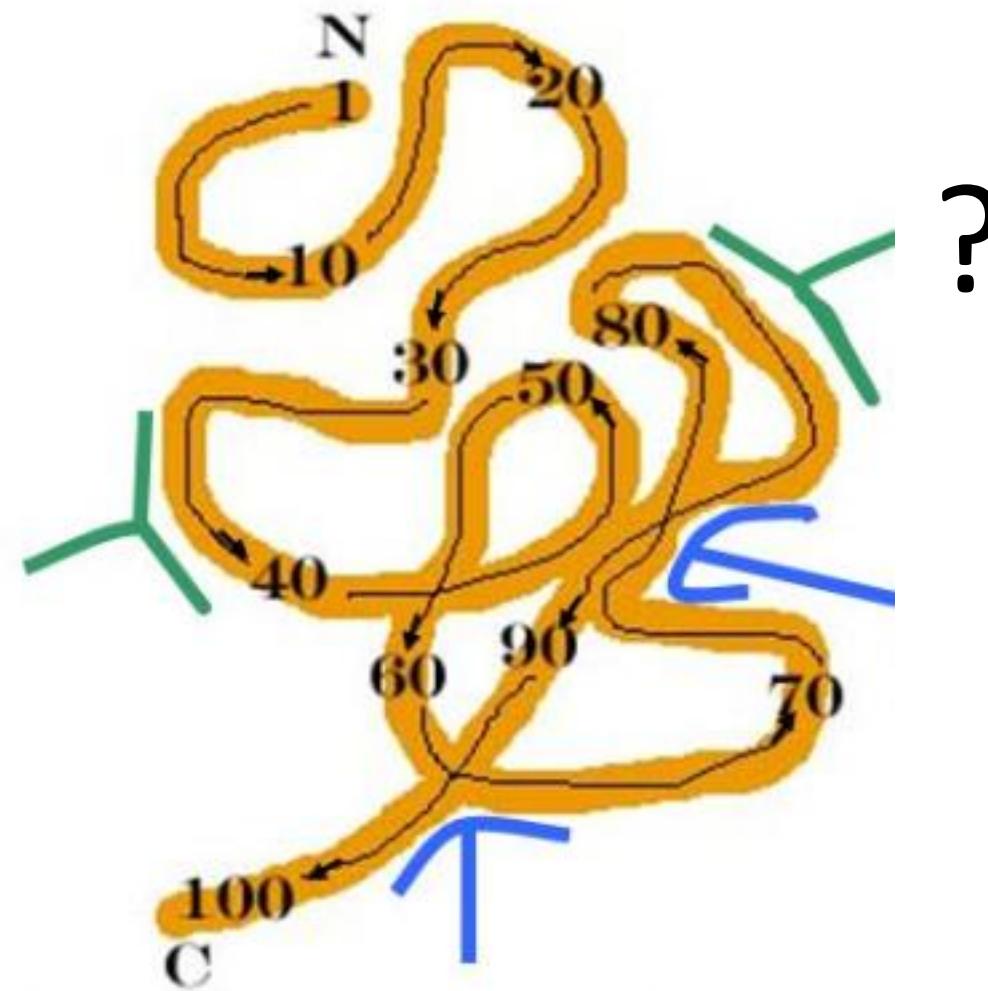
- Tipos de epítópos ou determinantes:
 - Determinante linear: epítópos formados por sequências lineares de aproximadamente 6 aminoácidos
 - Determinantes conformacionais: epítópos formados por aminoácido que não estão em sequência. Encontrados na forma proteína dobrada.

Determinante linear



Determinante conformacional



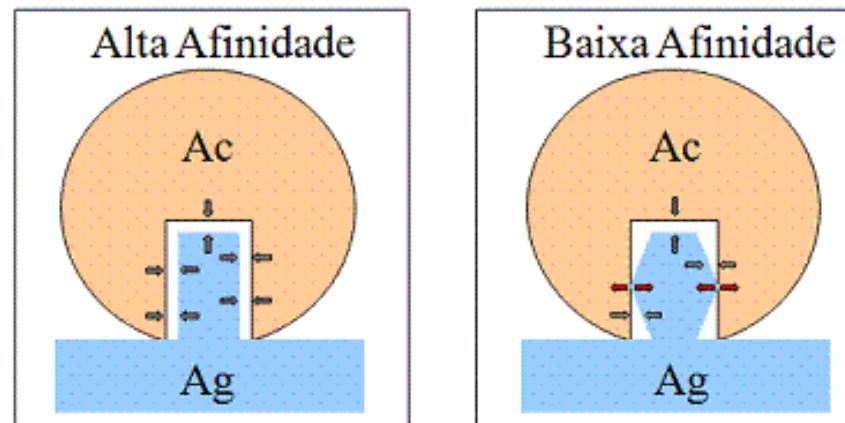


Ligaçāo entre antígenos e anticorpos

- Reconhecimento do antígeno pelo anticorpo
 - Ligação não covalente e reversível
 - Forças de Van der Waals, pontes de hidrogēnio, interações hidrofóbicas
 - Ligações múltiplas entre o antígeno e o anticorpo garantem que o antígeno seja ligado fortemente ao anticorpo.
- Força de ligação de um único sitio de ligação: afinidade
 - Representada pela constante de dissociação
 - Quanto mais baixa a K_d , maior a afinidade
 - Ac produzidos em resposta imune: K_d 10^{-7} a 10^{-11}

Ligação entre antígenos e anticorpos

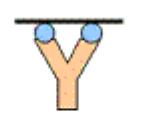
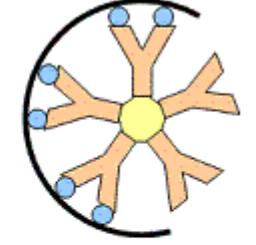
- Afinidade de um anticorpo
 - Força da reação entre um único determinante antigênico e um único sítio de combinação no anticorpo.
 - É a soma das forças de atração e repulsão que operam entre o determinante antigênico e o sítio de combinação do anticorpo



Ligaçāo entre antígenos e anticorpos

- Avidez

- Somatória de todas as forças de ligação
- Força de ligação a todos os sítios:

	$K_{eq} = 10^4$ Afinidade		10^6 Avidez		10^{10} Avidez
---	------------------------------	---	------------------	---	---------------------

Ex: IgM

- Uma molécula de IgM de baixa afinidade pode ter alta avidez em antígenos polivalentes

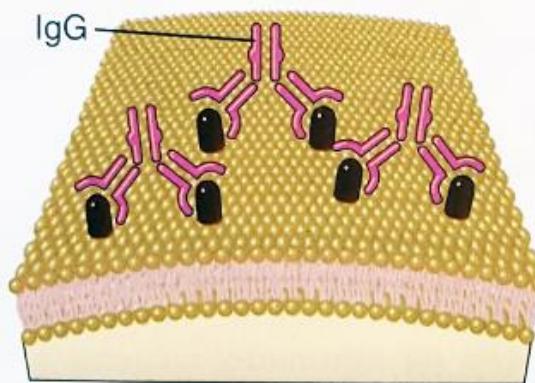
Valênci
a da interaç
ão

Avidez da
interaç
ão



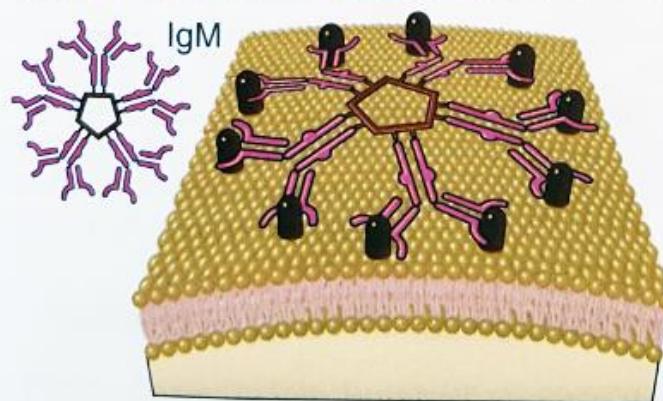
Monovalente

Baixa



Bivalente

Alta



Polivalente

Muito
alta

Características para o reconhecimento de antígeno

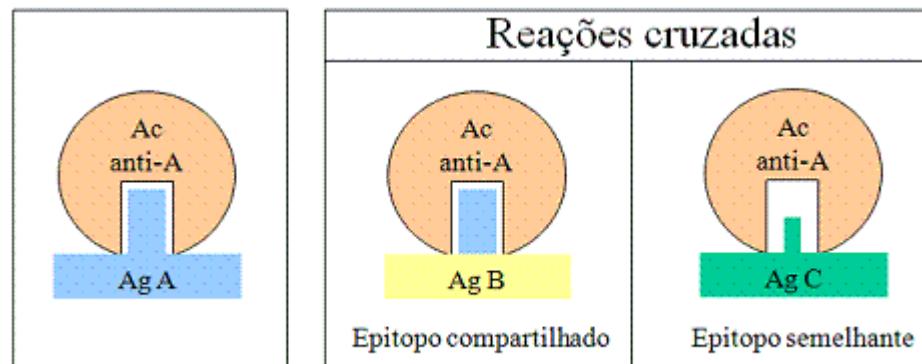
- Especificidade
 - Habilidade de um sítio de combinação de anticorpo em particular de reagir com apenas um antígeno.
 - Capacidade de distinção de alteração em apenas um aminoácido
- Diversidade
- Maturação de afinidade
 - Especialização na produção de anticorpos a cada exposição antigênica
 - Anticorpo de resposta primária: $K_d 10^{-7}$ a 10^{-9}
 - Anticorpo de resposta secundária: $K_d 10^{-11}$

Características para o reconhecimento de antígeno

- Alteração de isótipo durante a resposta imune ou *switch*
 - Alterações de segmentos gênicos da **região constante** sem modificação da **região variável** alteram as funções efetoras
 - Ex: IgG para bactérias e vírus, IgE para helmintos, IgA em secreções, etc..

Características para o reconhecimento de antígeno

- Reações cruzadas:
 - Habilidade de um sítio de combinação de anticorpo em particular de reagir com mais de um determinante antigênico ou a habilidade de uma população de moléculas de anticorpos de reagir com mais de um antígeno

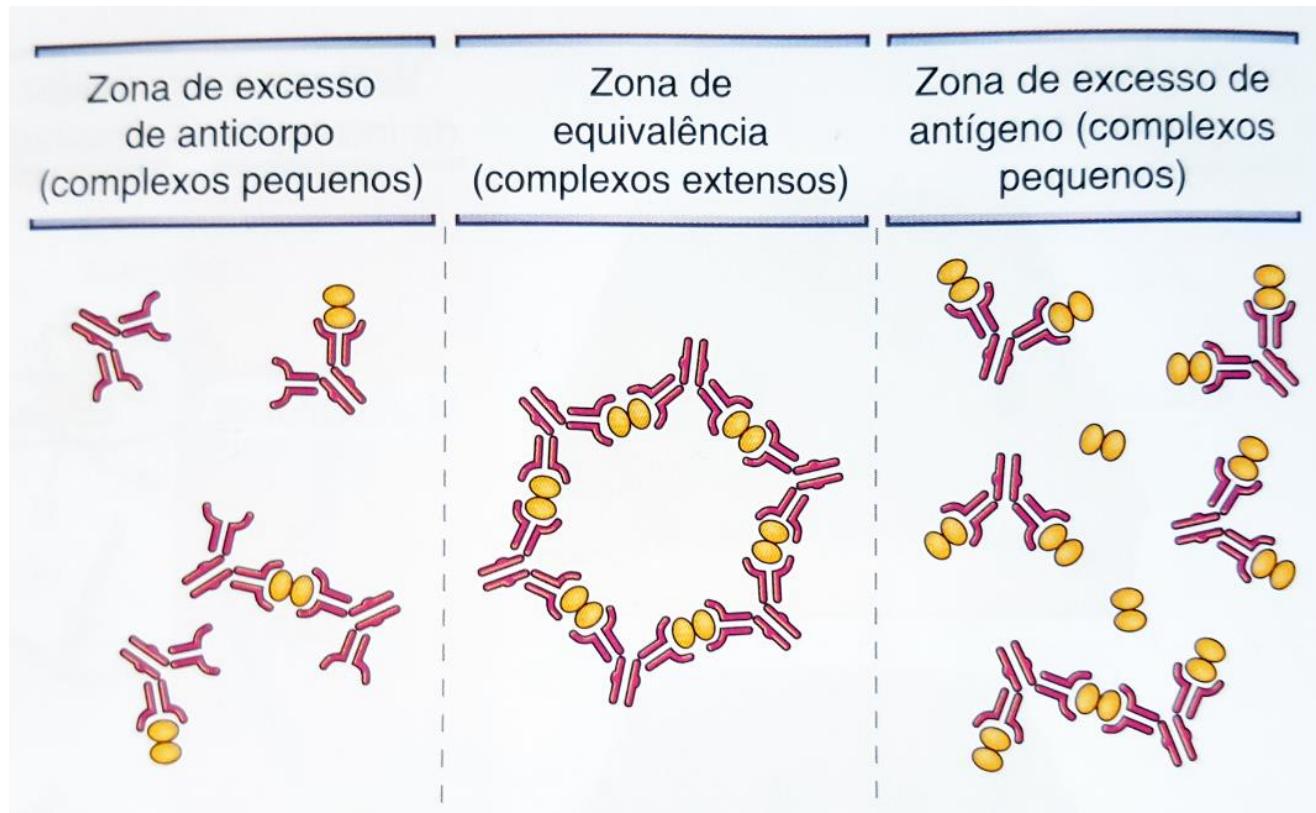


Testes de reação antígeno /anticorpo

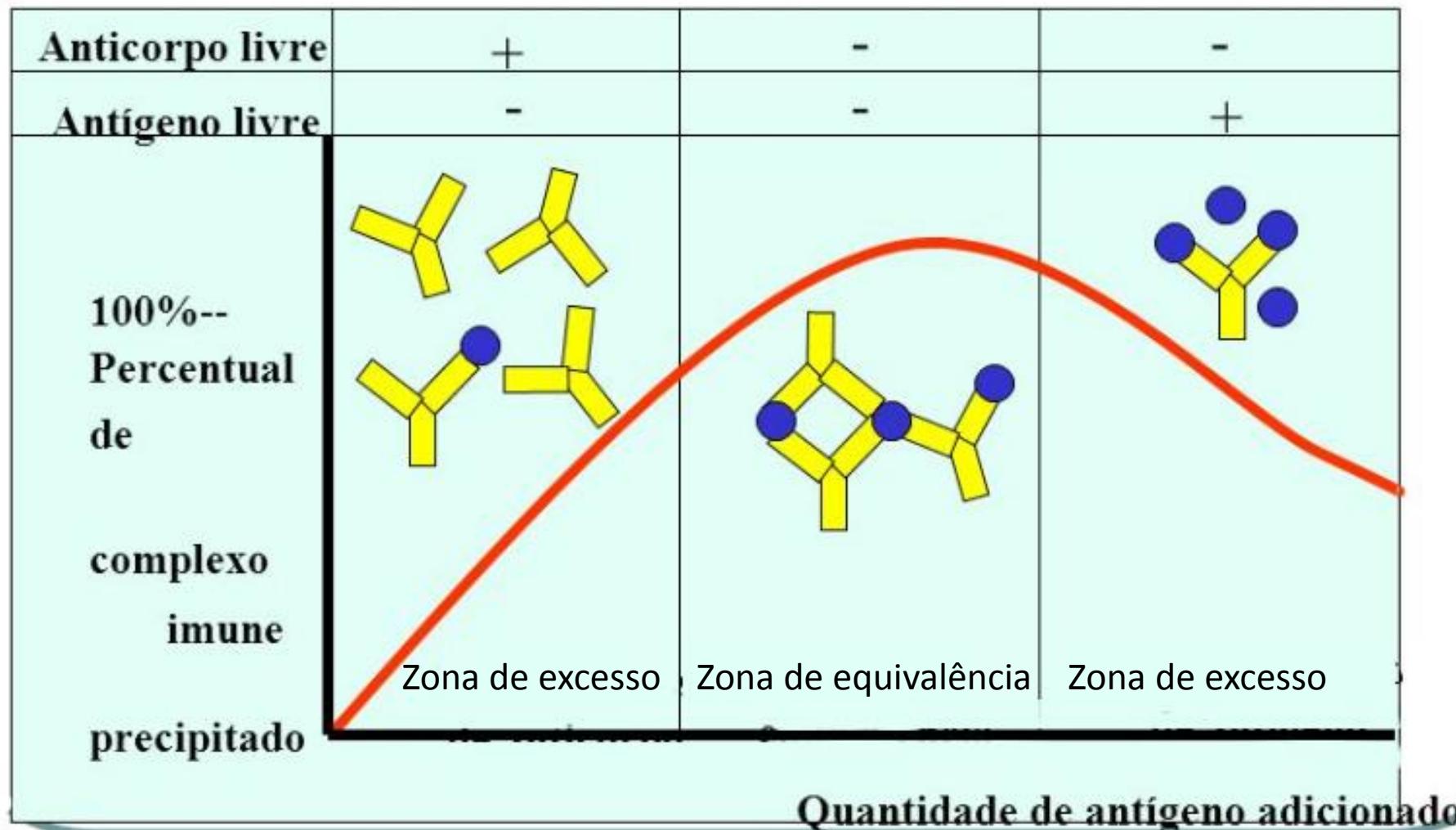
- Fatores que afetam a medição de reações antígeno-anticorpo
- Afinidade
 - Quanto maior a afinidade do anticorpo pelo antígeno, mais estável será a interação
- Avidez
 - Reações entre antígenos multivalentes e anticorpos multivalentes

Testes de reação antígeno /anticorpo

- Razão entre antígeno e anticorpo

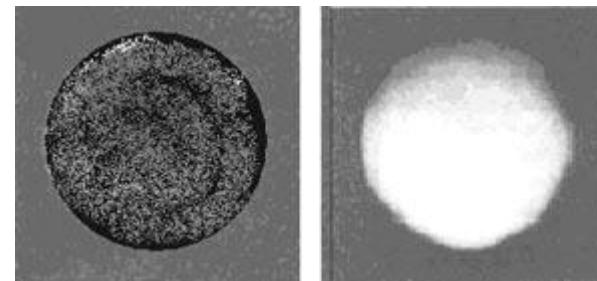


Resposta imune eficaz quando duas ou mais moléculas de anticorpos estão unidas pela proximidade dos sítios抗原的

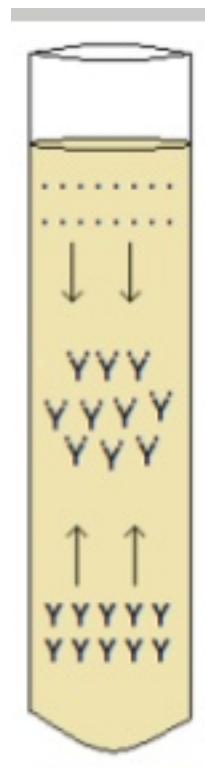


Testes de reação antígeno /anticorpo

- Forma física do antígeno
 - Antígeno particulado - geralmente se observa a aglutinação do antígeno pelo anticorpo.



- Antígeno solúvel - geralmente se pesquisa a precipitação de um antígeno após a produção de grandes complexos antígeno-anticorpo insolúveis.



Imunoensaios

- Precipitação e aglutinação
- Imunofluorescência
- Radioimunoensaio
- ELISA
- Western blotting
- Quimioluminescência e eletroquimioluminescência
- Imunocromatografia
- Citometria de fluxo

Imunoensaios

- **Sensibilidade diagnóstica:** incidência de resultados verdadeiramente positivos, obtidos quando um teste é aplicado em indivíduos sabiamente portadores da doença em estudo
- **Sensibilidade metodológica:** Propriedade do método analítico de detectar pequenas diferenças na concentração do analito ou menor quantidade, diferente de zero, que o método consegue medir.

$$S = VP / VP + FN$$

VP: verdadeiro +

$$S = 48 / 48 + 2$$

FN: falso -

$$S = 0,96 \cdot 100 = 96\%$$

Imunoensaios

- **Especificidade diagnóstica:** incidência de resultados verdadeiramente negativos, obtidos quando o teste é aplicado em indivíduos sabiamente não portadores da doença
- **Especificidade metodológica:** capacidade do método de mensurar somente o que se propõe medir.

VN: verdadeiro -

$$E = VN / VN + FP$$

FP : falso +