



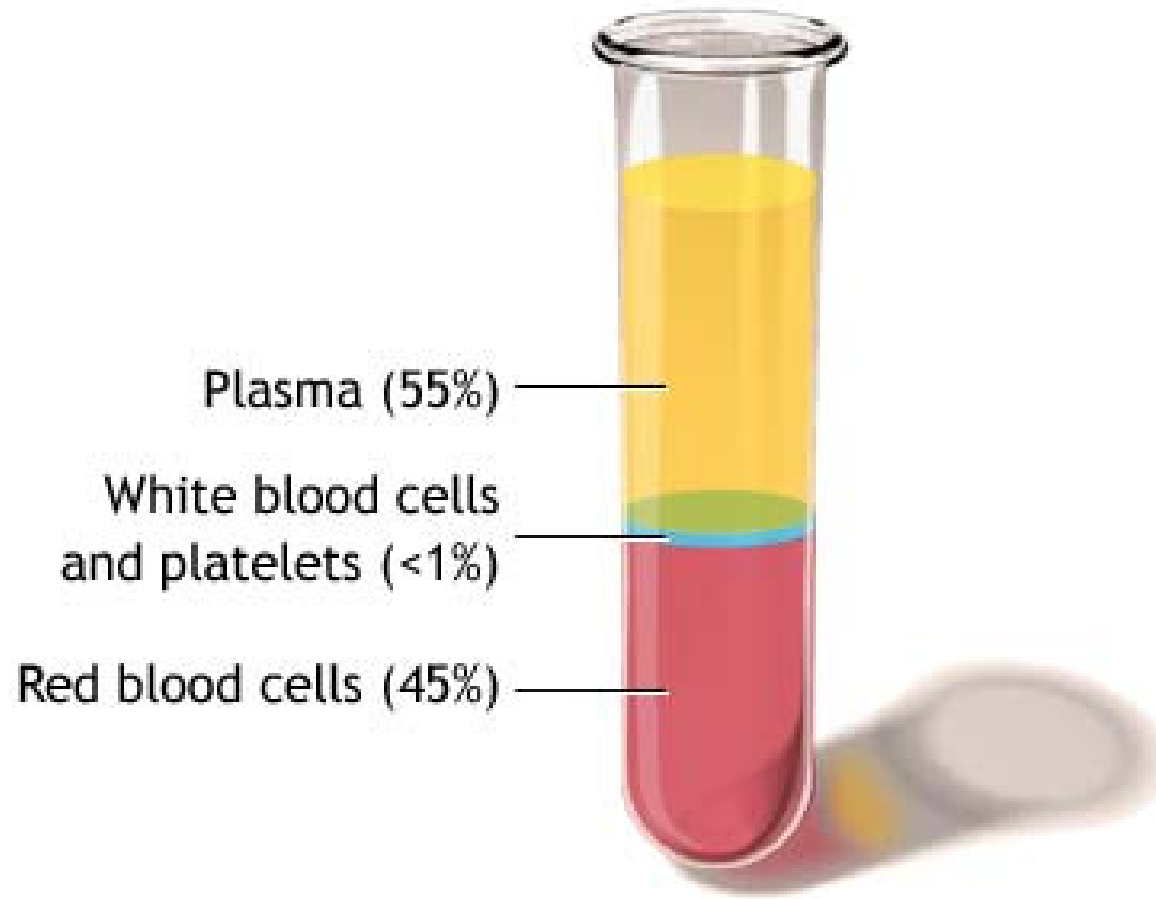
Inmunología Clínica 2010

Bioq Graciela R Svibel



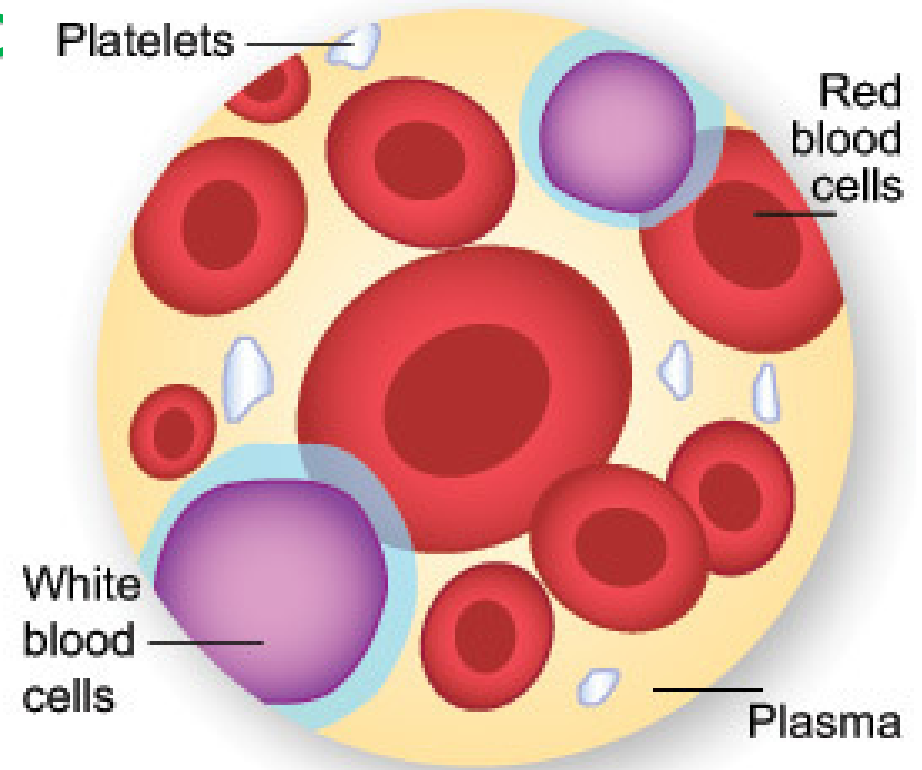
Ontogenia B y anticuerpos

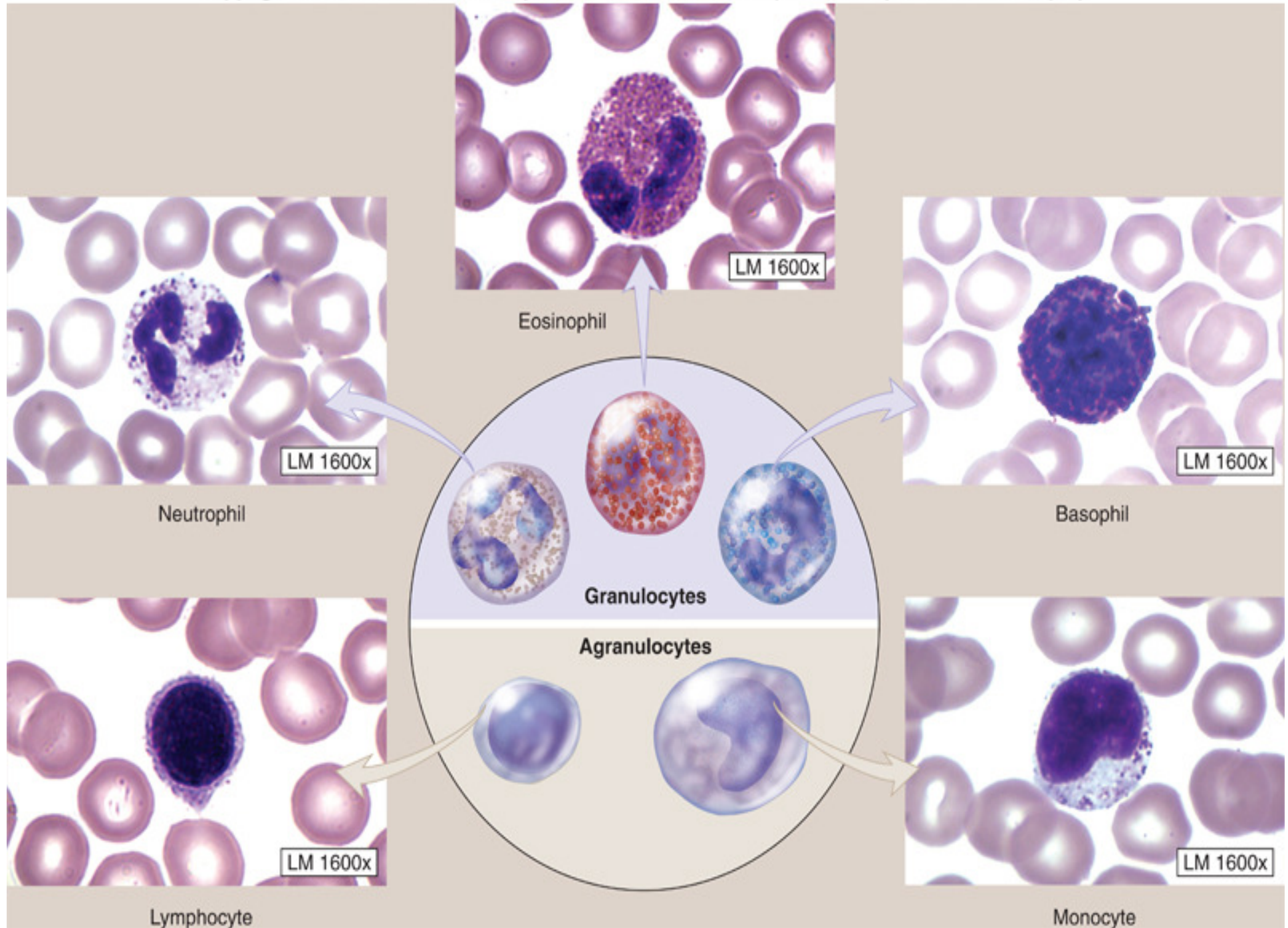
Si obtenemos una muestra de sangre, en este caso anticoagulada.....

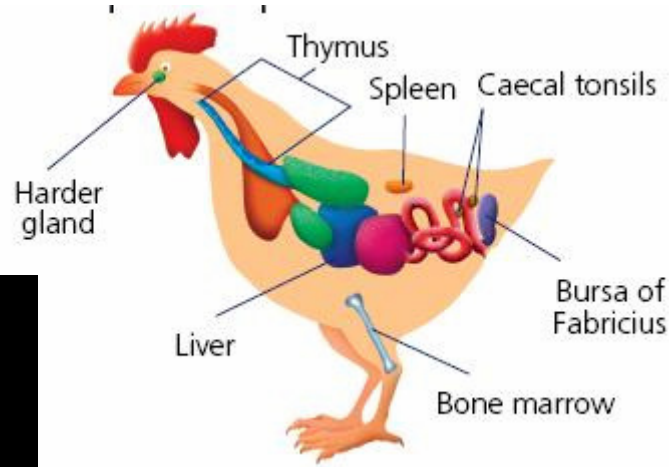
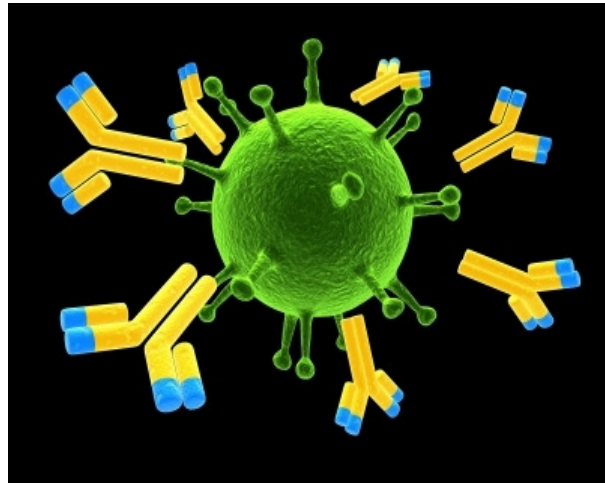


- Más del 90% : agua
- Sustancias disueltas: nutrientes, iones metálicos, gases, proteínas.....
 - **Albúmina: una proteína plasmática que mantiene la presión osmótica**
 - **Factores de la coagulación**
 - **ANTICUERPOS**

Plasma







Generación de la respuesta inmune humoral

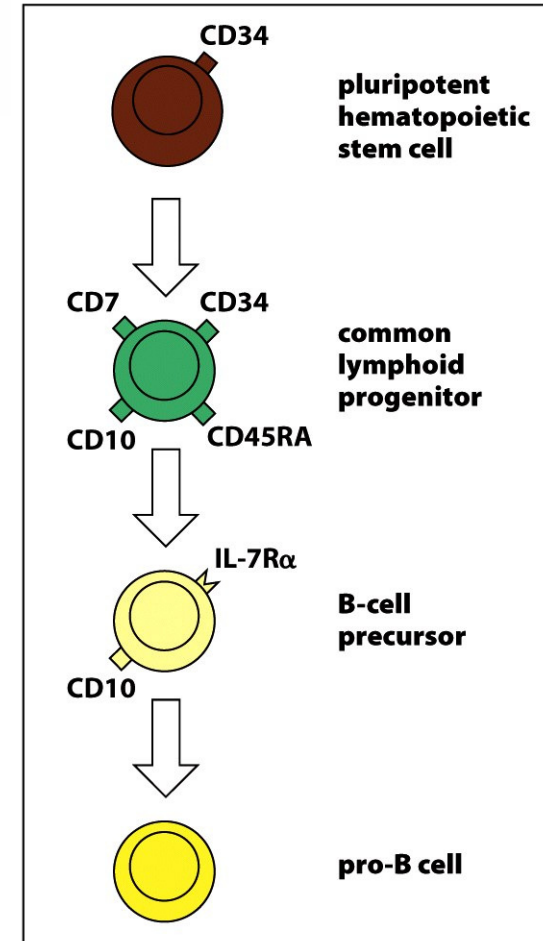
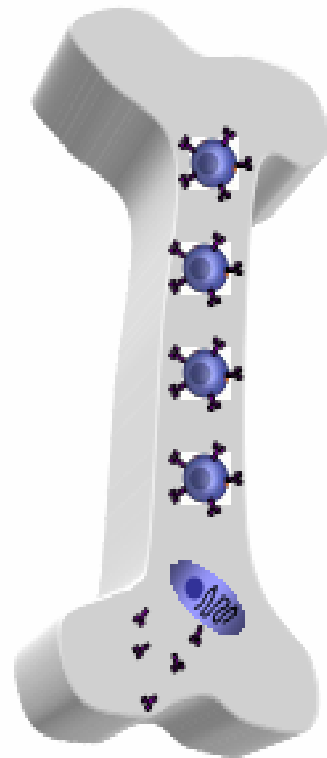


Figure 6.3 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Desarrollo de células B en la médula ósea



Regulación de la expresión de BCR

Cada célula B adquiere solo una especificidad

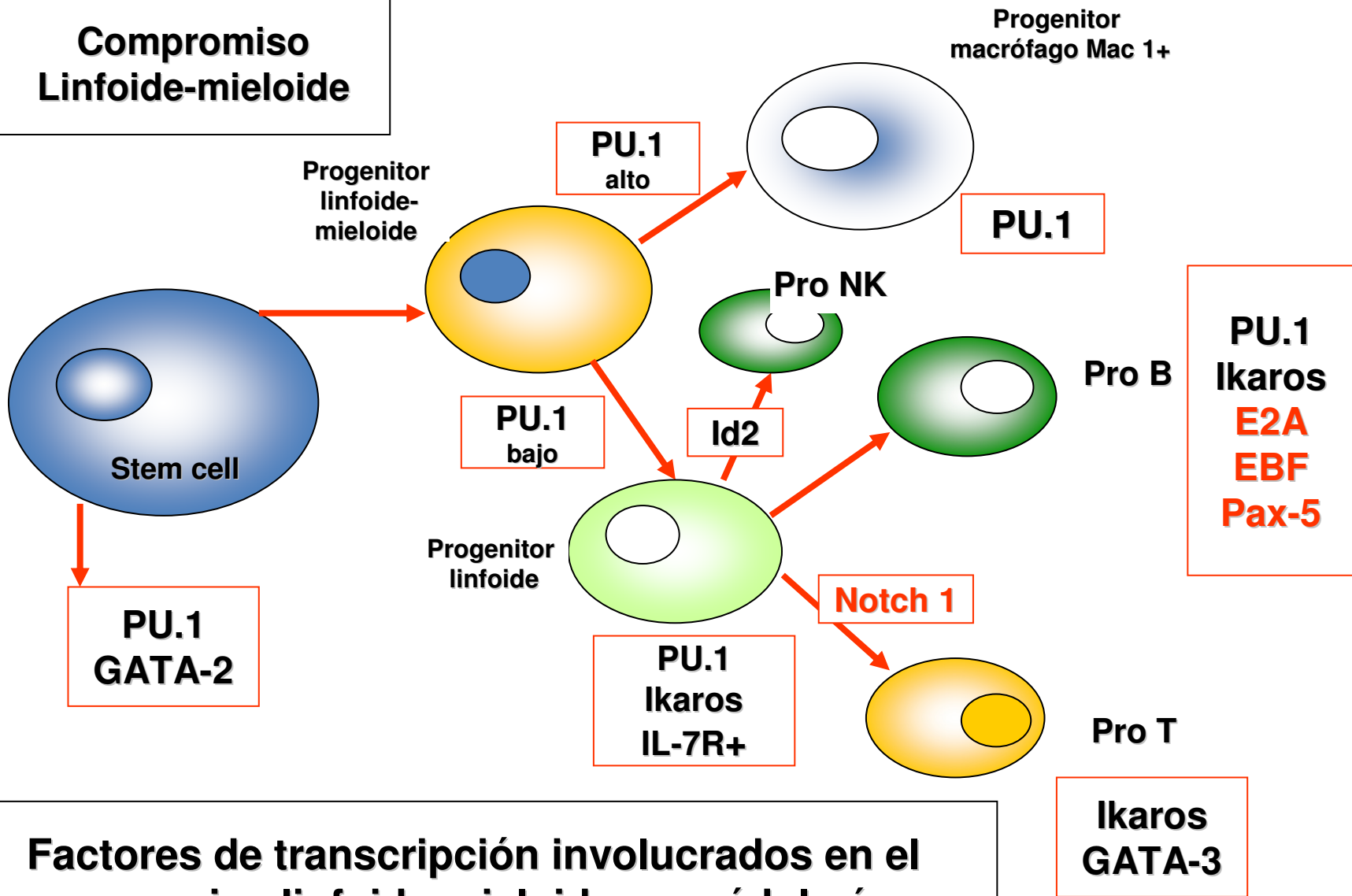
Selección negativa de células B autoreactivas

Aporta células B maduras a la periferia

Proporciona un microambiente para la secreción de acps por células plasmáticas

La médula ósea proporciona el microambiente para la maduración, diferenciación y selección durante el desarrollo de las células B.

Compromiso Linfoide-mieloide

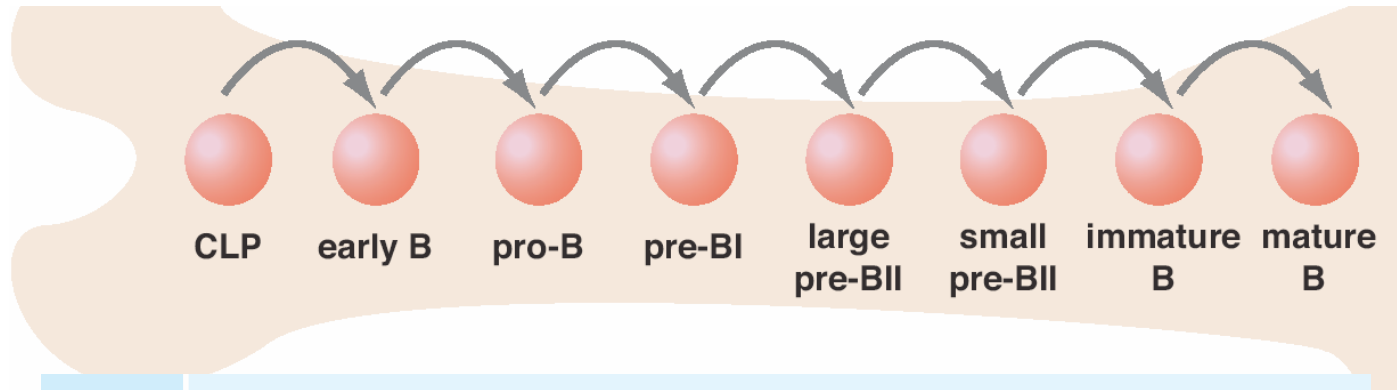


Factores de transcripción involucrados en el compromiso linfoide-mieloide en médula ósea

Para recordar

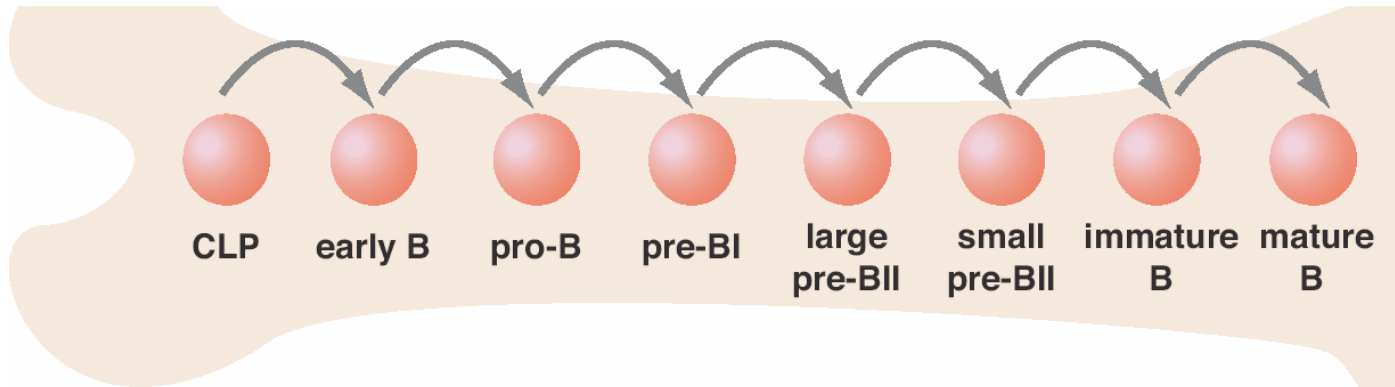
- **PU.1** (pertenece a la familia Ets) ha sido implicado recientemente en la determinación y compromiso temprano hacia linajes mieloides y linfoides.
- **E2A** (pertenece a la familia de factores *hélix-loop-hélix*) y **EBF** (*early-B cell factor*) están implicados en la iniciación de la linfopoyesis B. Estos dos factores regulan la expresión espacio temporal de las recombinasas RAG-1/RAG-2, esenciales en el proceso de recombinación V(D)J de los genes de inmunoglobulinas.
- **Pax-5** es esencial junto a E2A y EBF para lograr un total compromiso hacia el linaje B.
- La señalización vía **Notch 1** permite el desarrollo temprano de células T.
- **Id2** pertenece a la familia *hélix-loop-hélix* y está comprometido en el desarrollo de células NK; actuaría secuestrando E2A controlando así la maduración del linaje NK.

Desarrollo de la célula B

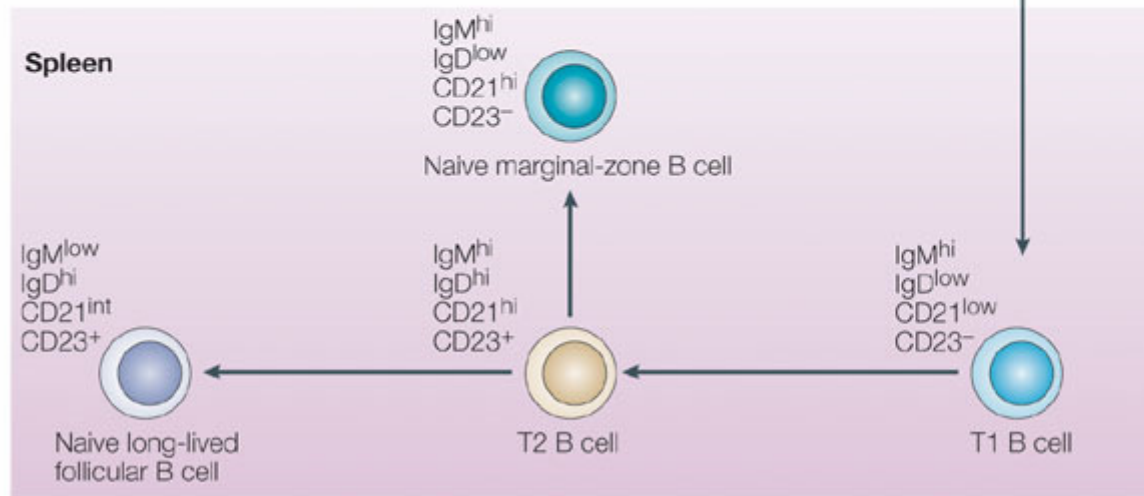
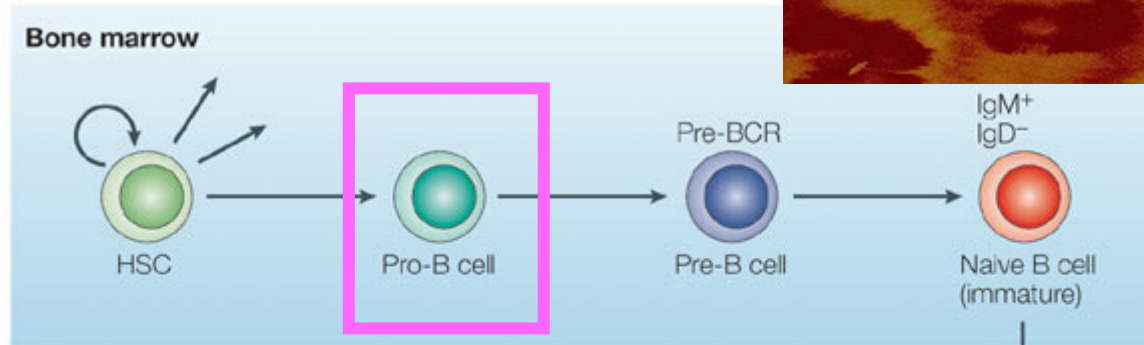
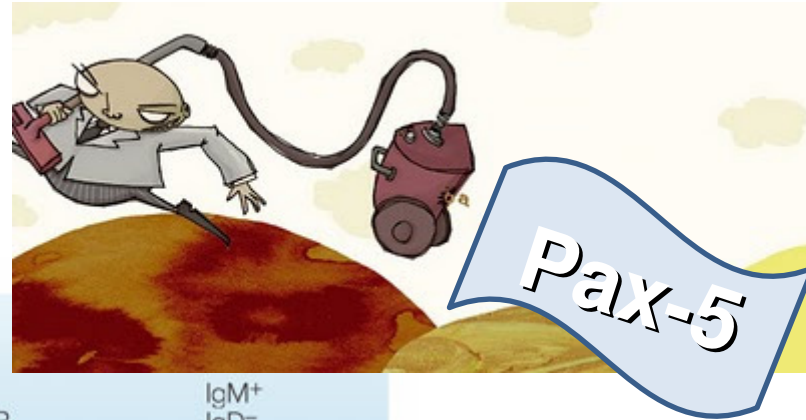


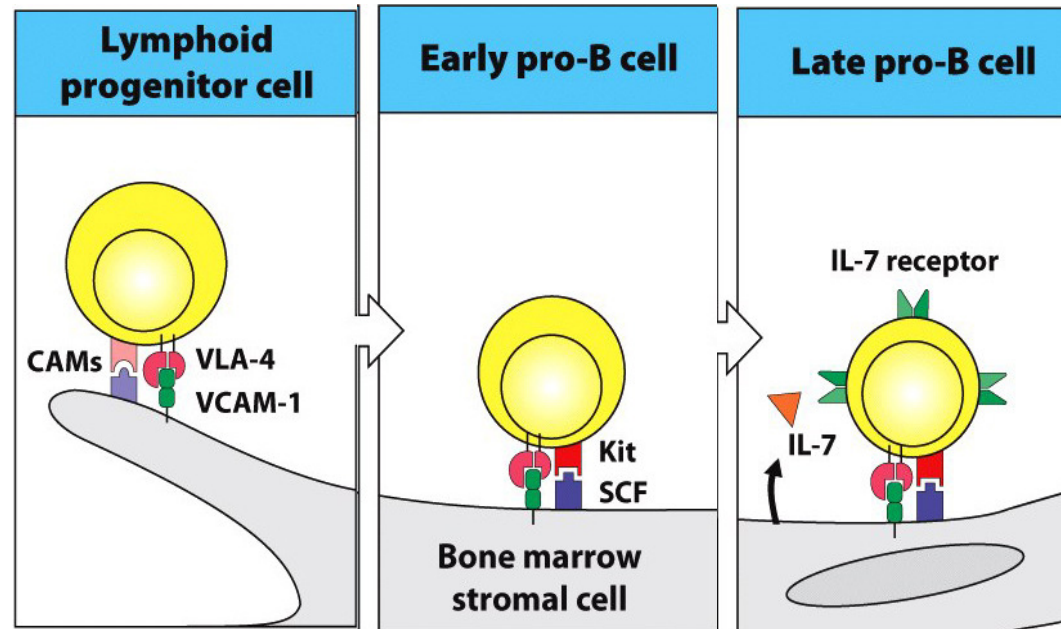
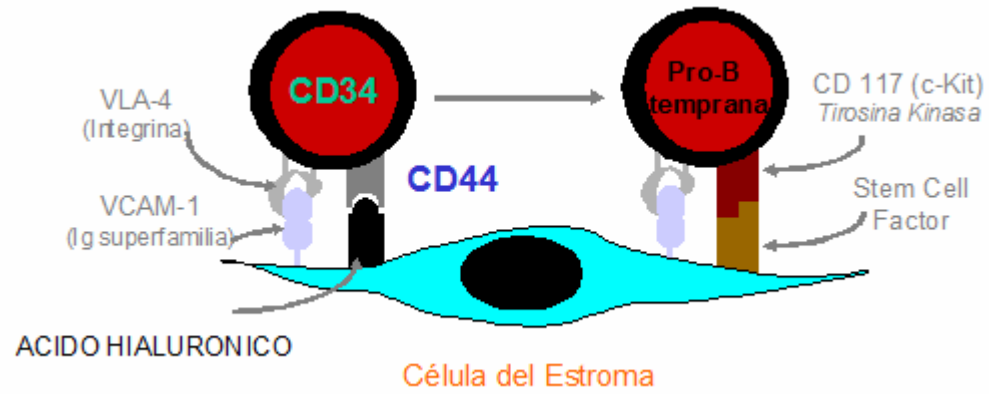
Vpre-B	-	+	+	+	+	-	-	-
μ H	-	-	+/-	+	+	+	+	+
pre-BCR	-	-	-	-	+	-	-	-
IgH	GL	DJ _H	V _H DJ _H	V _H DJ _H	V _H DJ _H	V _H DJ _H	V _H DJ _H	V _H DJ _H
κ L	GL	GL	GL	GL	GL	V _L J _L	V _L J _L	V _L J _L
cycling	-	-	-	+	+	-	-	-
Pax-5	-	-	+	+	+	+	+	+
sIgM	-	-	-	-	-	-	+	+
sIgD	-	-	-	-	-	-	-	+

Desarrollo de células B

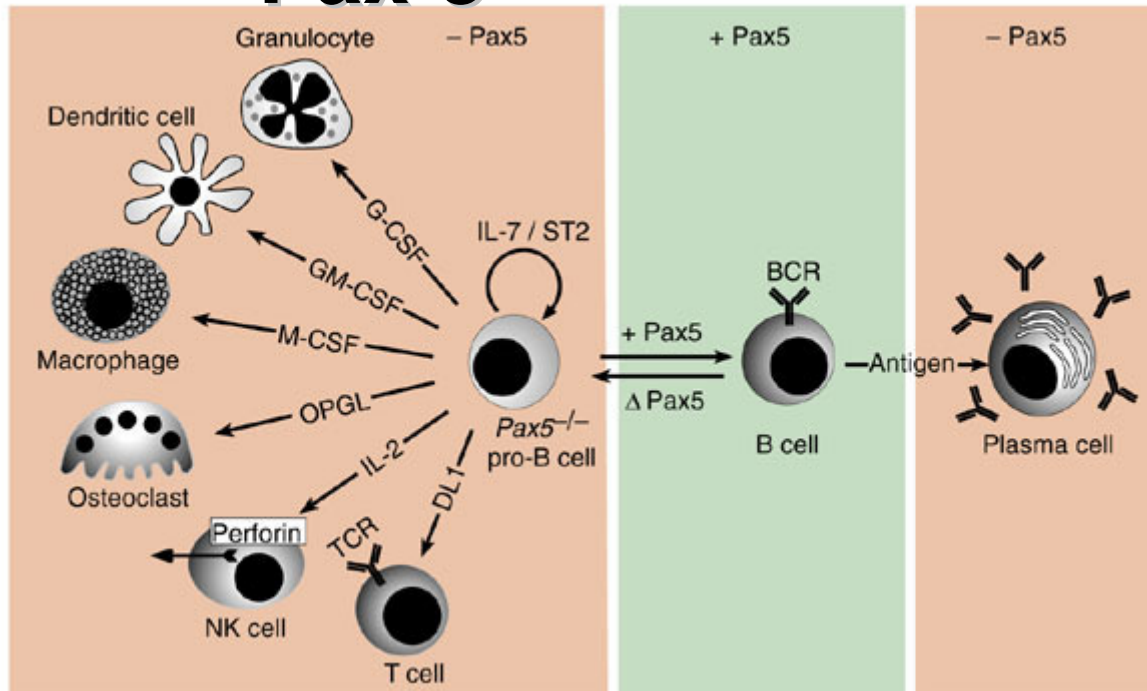


CD34	+	+	+	-	-	-	-	-
CD10	+	+	+	+	+	+	+	-
IL-7R α	+	+	+	-	-	-	-	-
CD19	-	-	+	+	+	+	+	+
CD79a	-	+	+	+	+	+	+	+
TdT	-	-	+	-	-	-	-	-
RAG	-	-	+	+	-	+	+	-
Vpre-B	-	+	+	+	+	-	-	-
μ H	-	-	+/-	+	+	+	+	+
pre-BCR	-	-	-	-	+	-	-	-

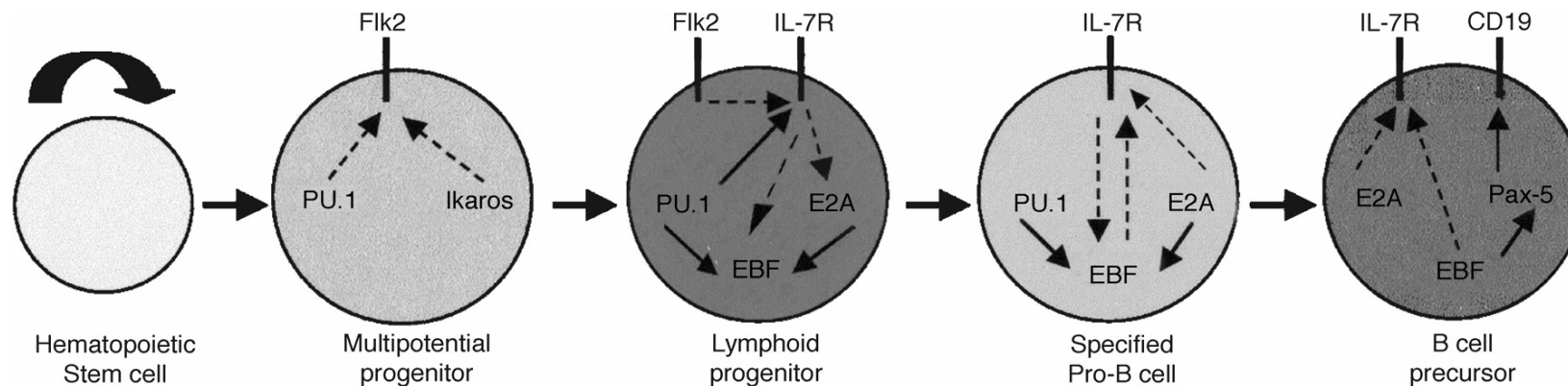


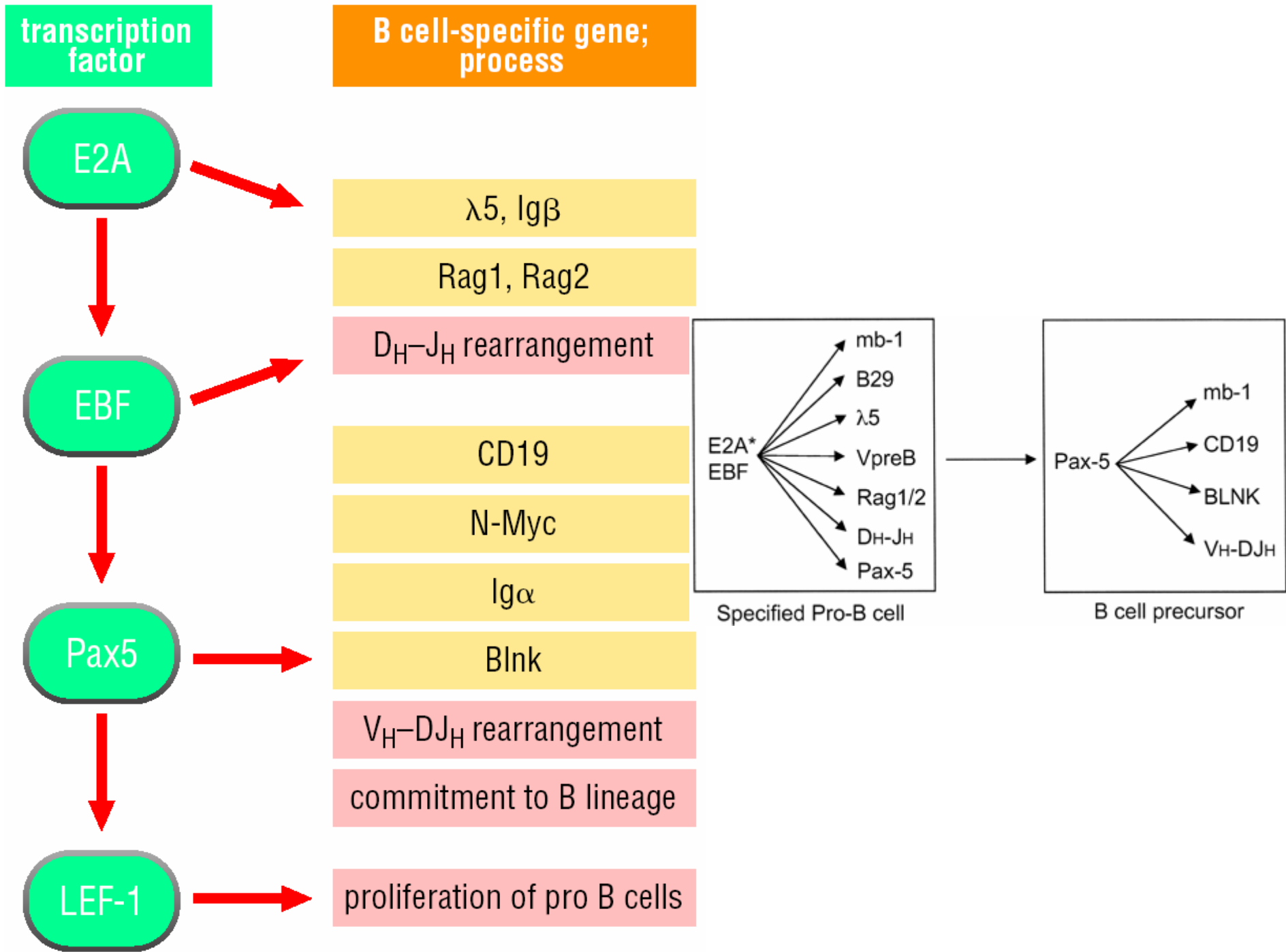


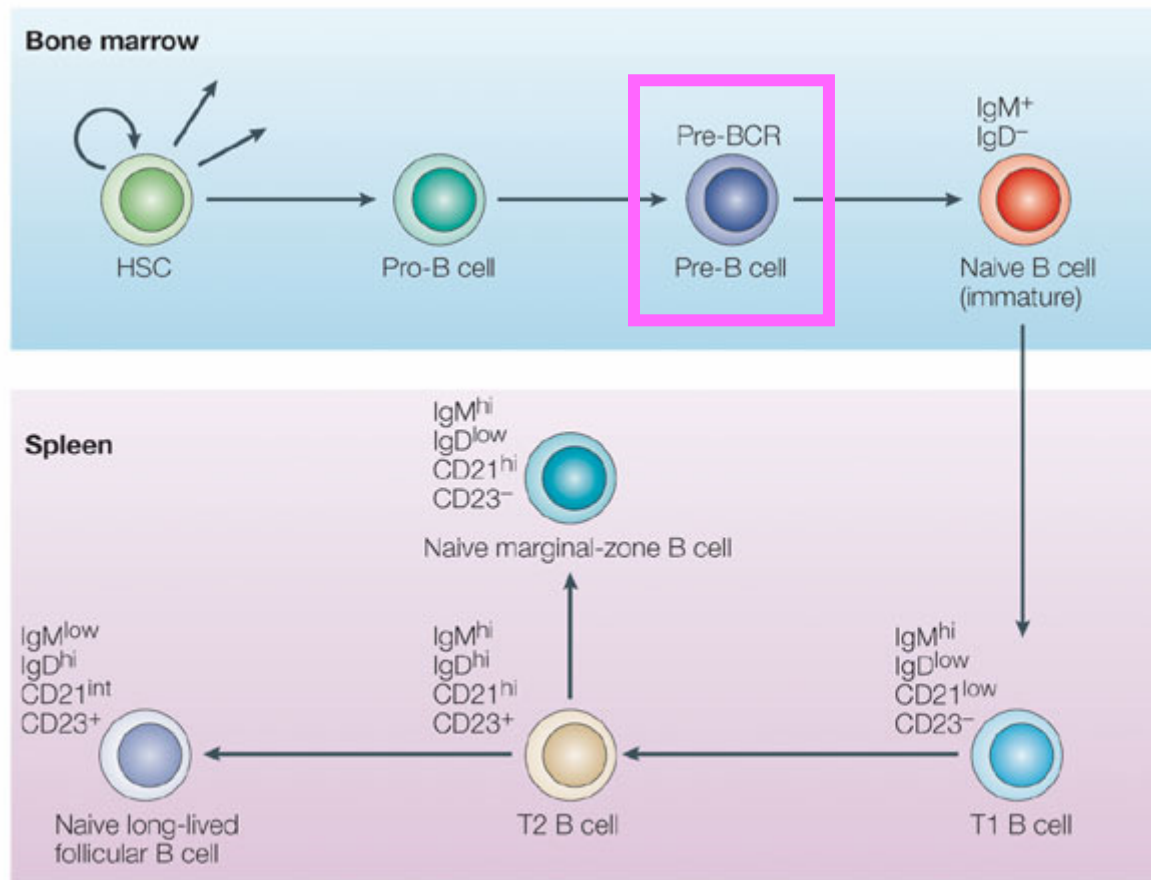
Rol del gen Pax-5

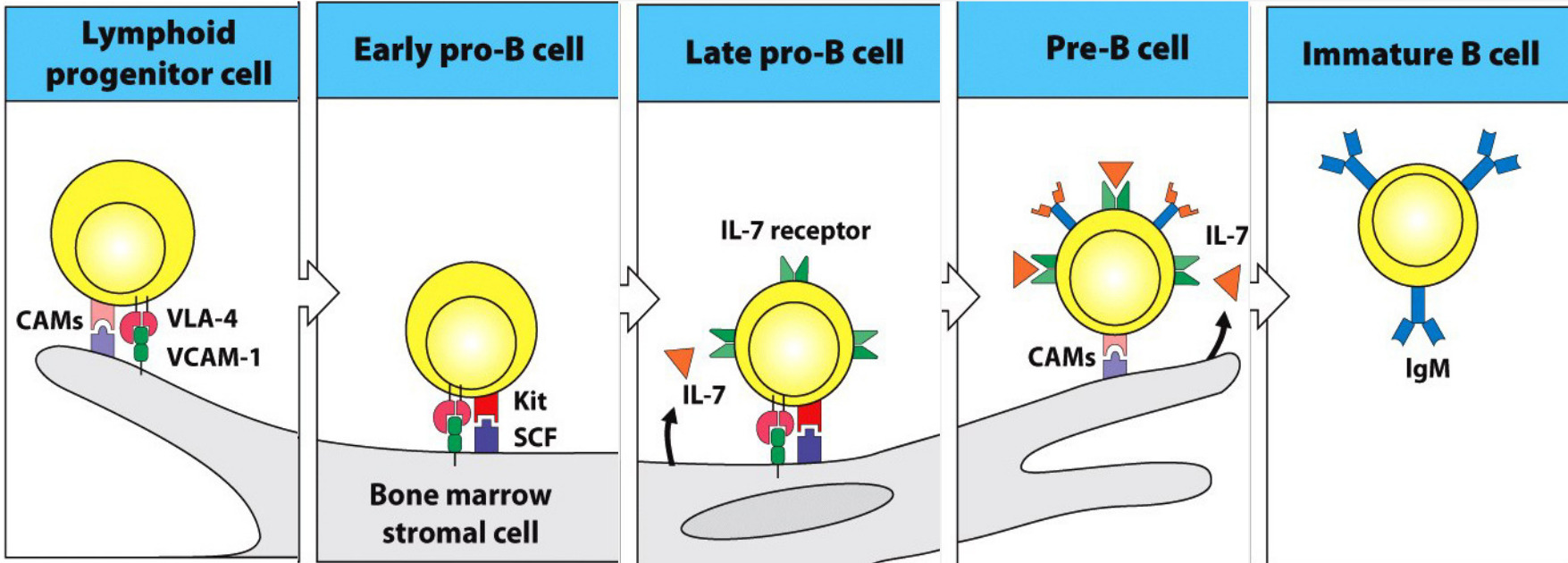
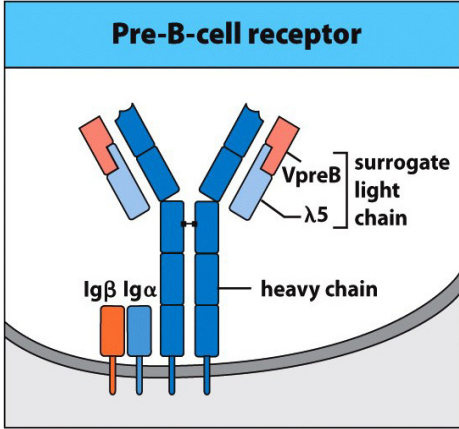


The uncommitted *Pax5*^{-/-} pro-B cells are able to differentiate into several hematopoietic cell types either *in vitro* in the presence of the indicated cytokines or *in vivo* after transplantation into recipient mice. Conditional *Pax5* deletion (*Pax5*^{-/-}) results in retrodifferentiation of B lymphocytes to an uncommitted progenitor cell stage. OPG, osteoprotegerin ligand (also known as RANKL or TRANCE); ST2, stromal ST2 cells; TCR, T cell receptor.









Rearreglos y expresión de los genes de las inmunoglobulinas....

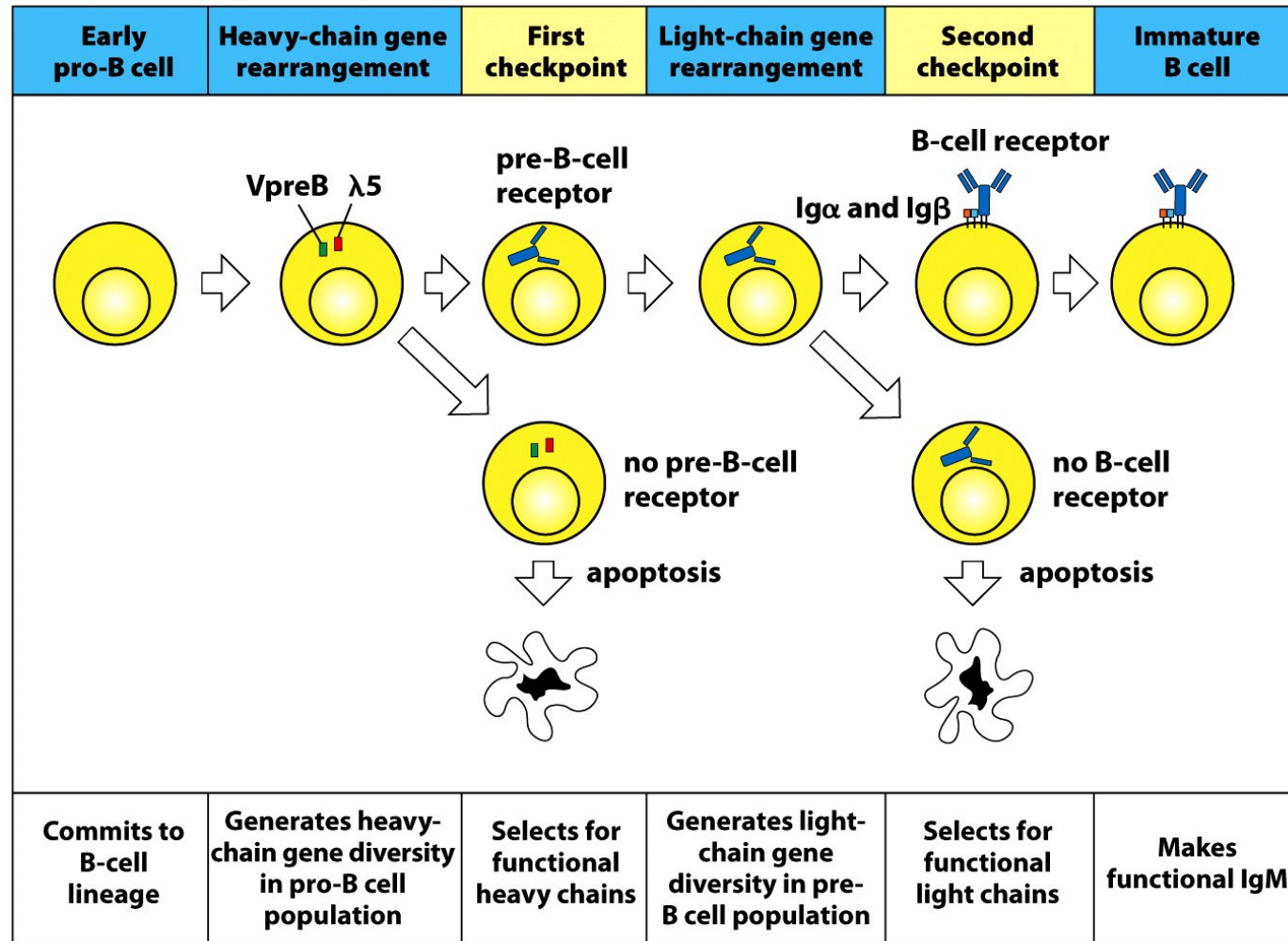
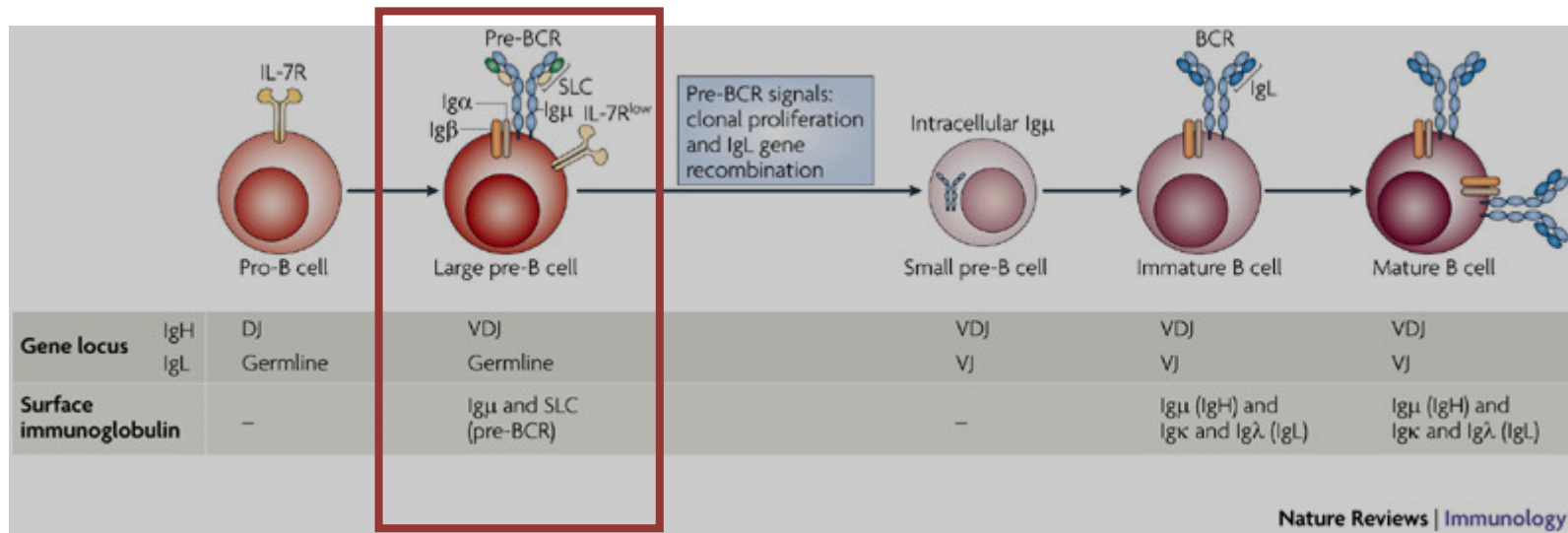


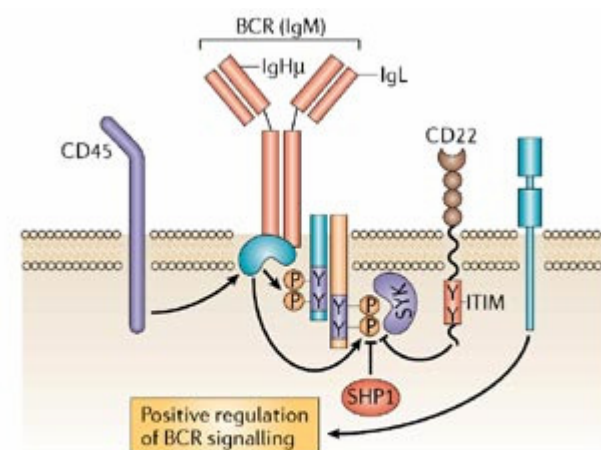
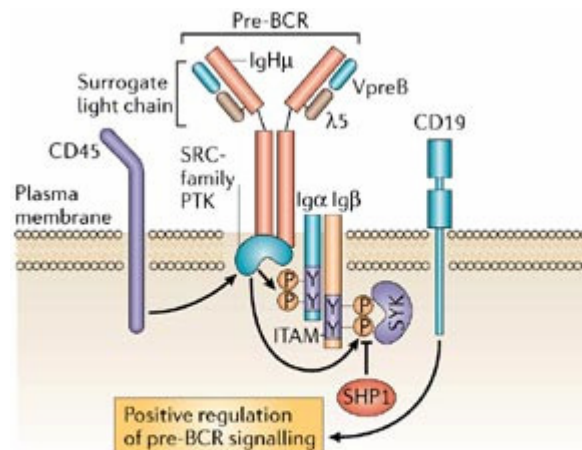
Figure 6.11 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Surrogate light chain (SLC)

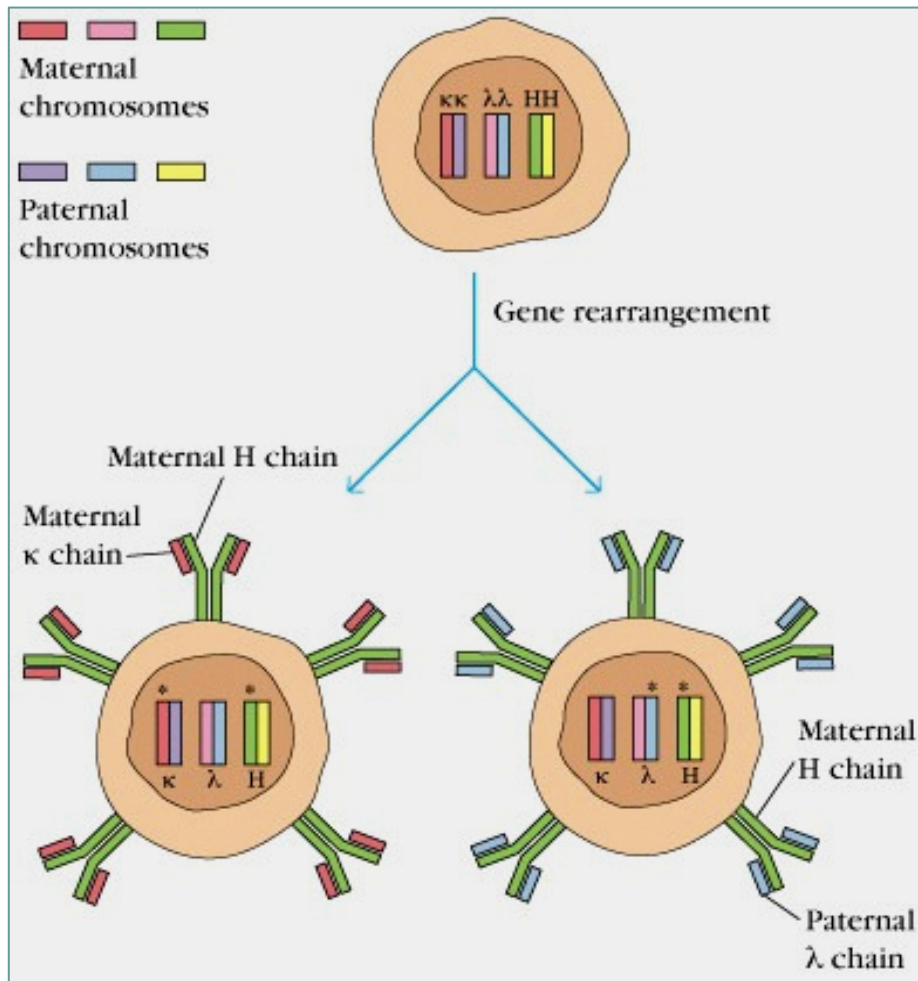


Señalización a través del pre-BCR

1. Expansión clonal
2. Exclusión alélica
3. Rearreglos de genes de cadena liviana



EXCLUSIÓN ALÉLICA



Cada célula expresa solamente los genes de la cadena H y L de la Ig de los cromosomas de un parental: **ESTE PROCESO ASEGURA QUE LAS CÉLULAS B TENGAN UNA ESPECIFICIDAD ANTIGÉNICA ÚNICA.** El alelo seleccionado para el reordenamiento se elige en forma aleatoria.

Eventos en la superficie correlacionan con eventos en el núcleo

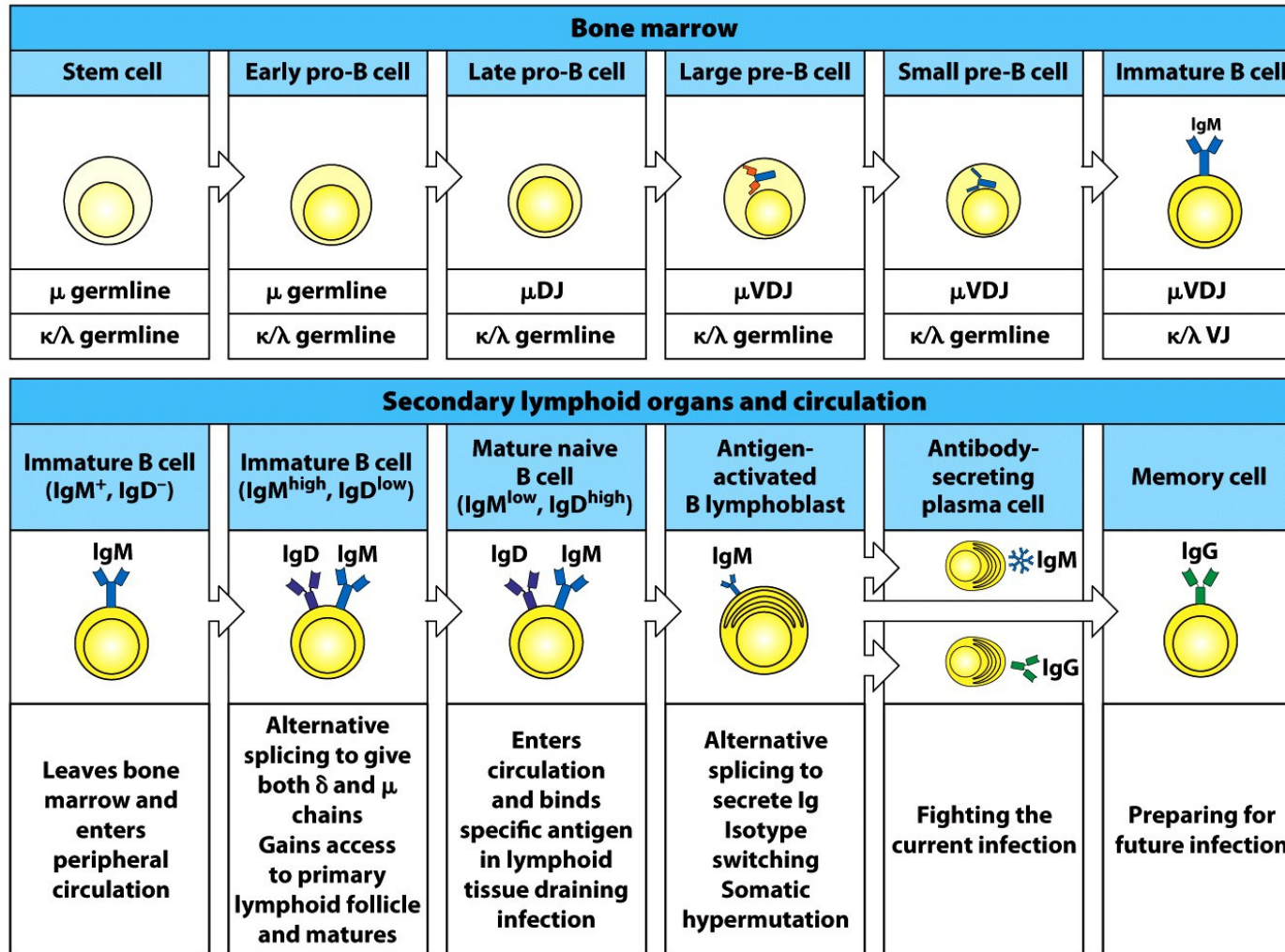
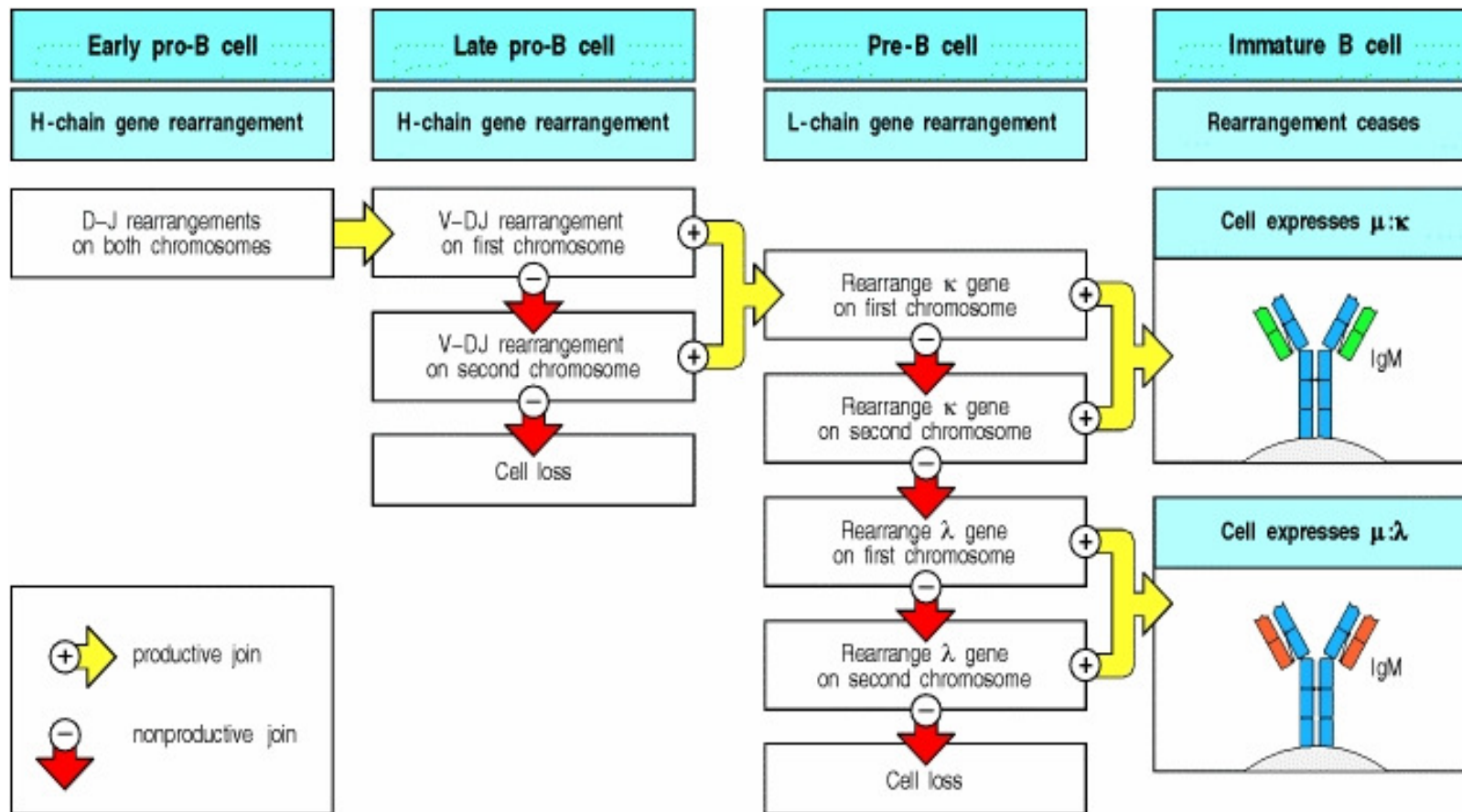
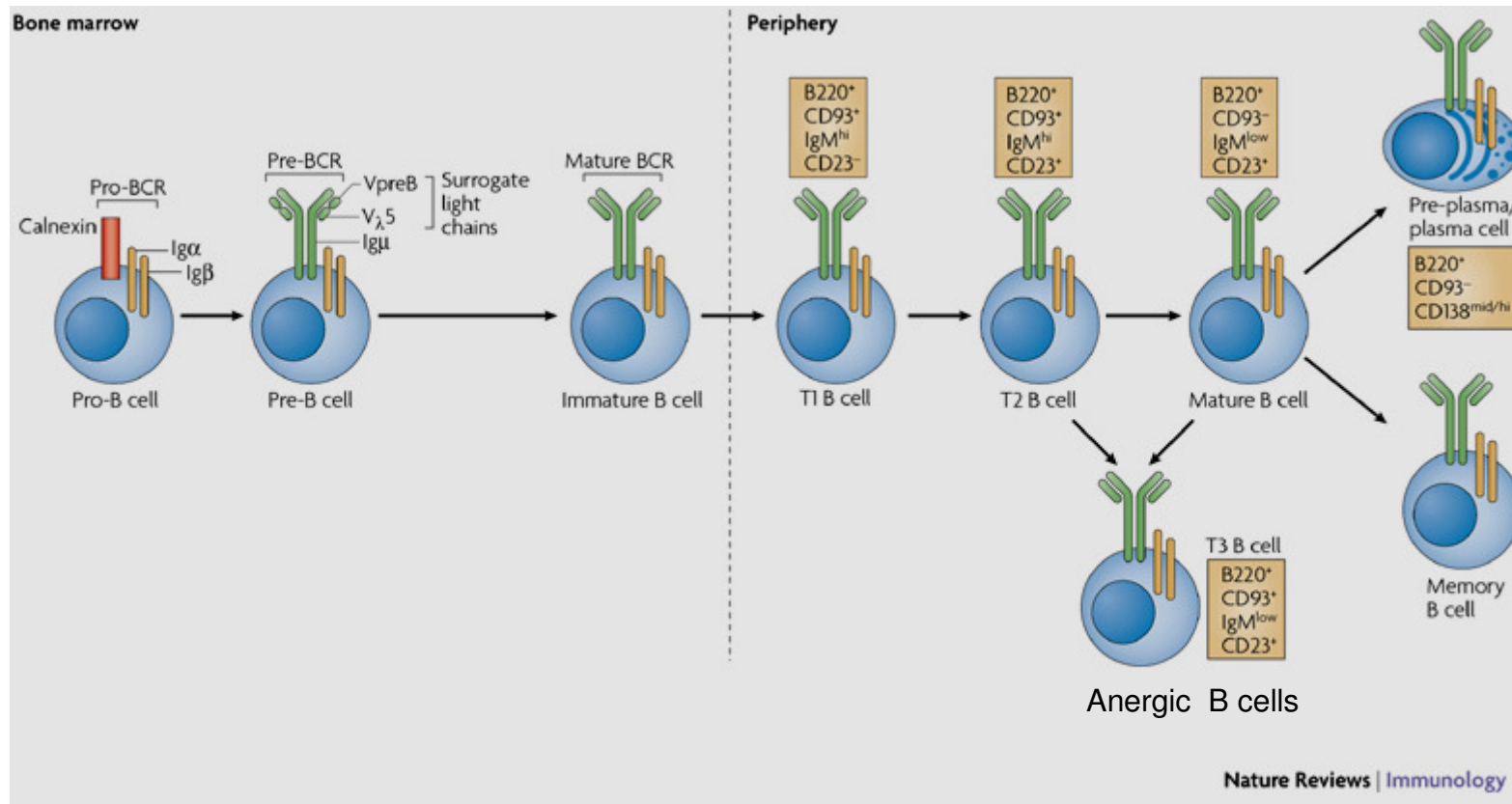


Figure 6.25 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Reordenamientos génicos para generar el BCR



La célula B inmadura abandona la médula ósea.....



Ingresa al Ganglio Linfático....

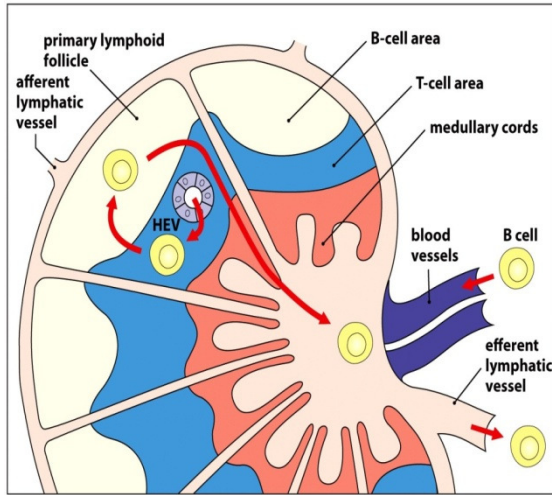


Figure 6.20 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

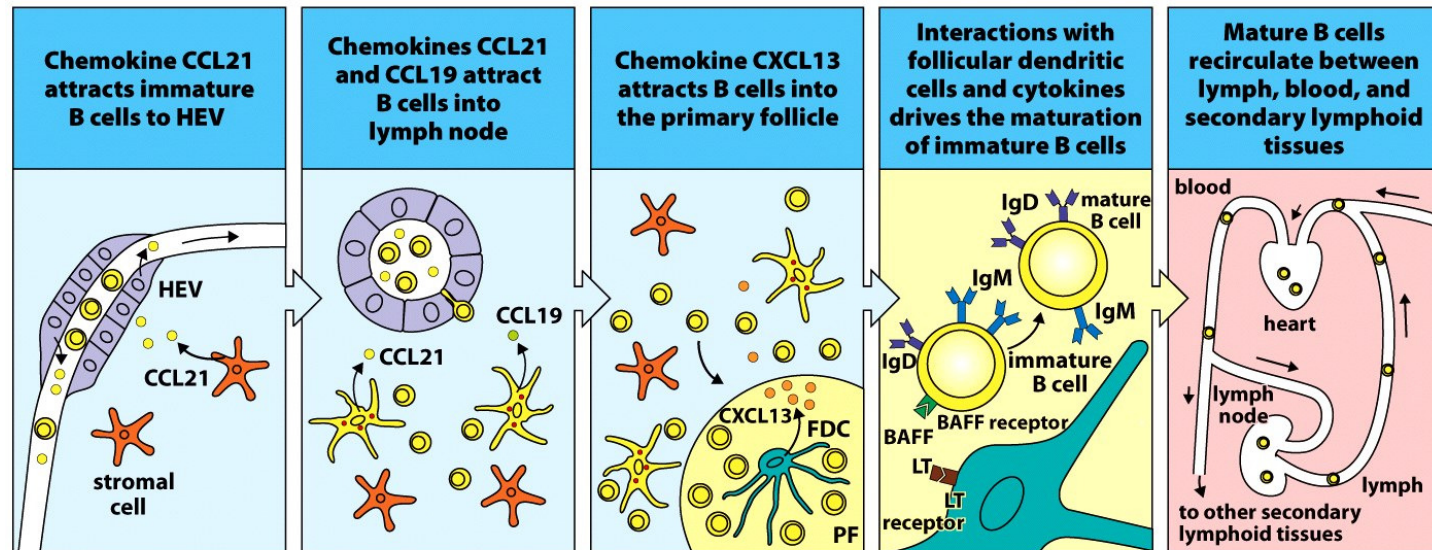


Figure 6.21 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

B-cells secrete Lymphotoxin (LT) – binds to LT receptor
LT bound to FDC helps to maintain functional FDCs
FDC also secretes BAFF (B-cell activating factor in the Tumor Necrosis family)
Immature B-cell binds BAFF -> mature B-cell (IgM^{low} IgD^{high})
Now ready to go to work – FINALLY!!

La célula B inmadura que reacciona con antígenos propios, sufre procesos de selección en la médula ósea.....

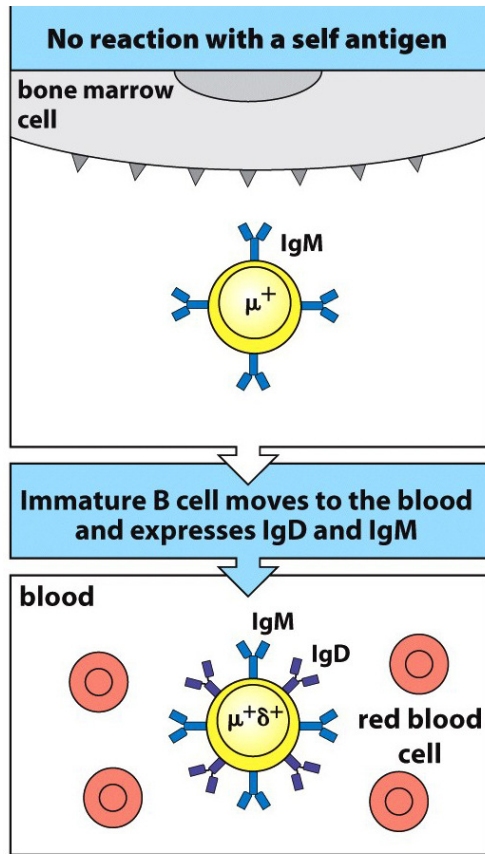
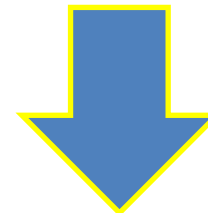
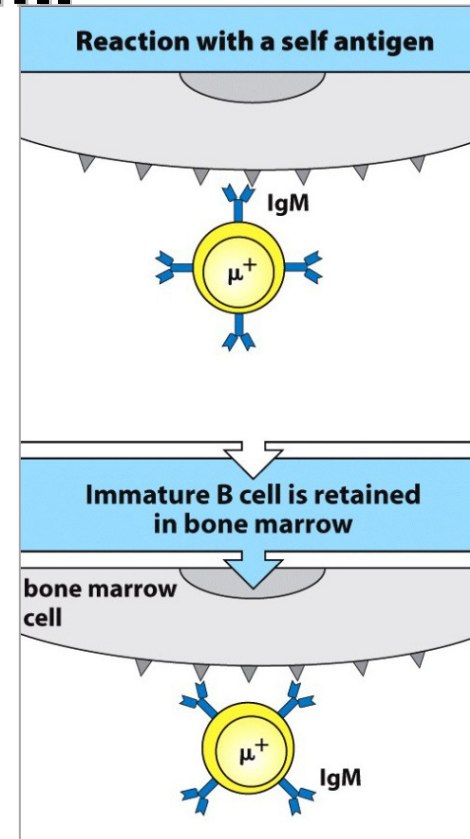
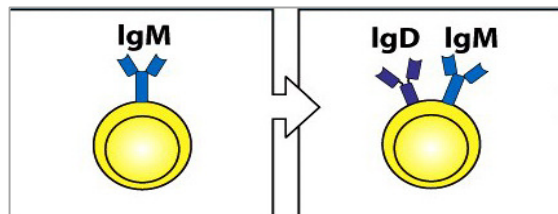
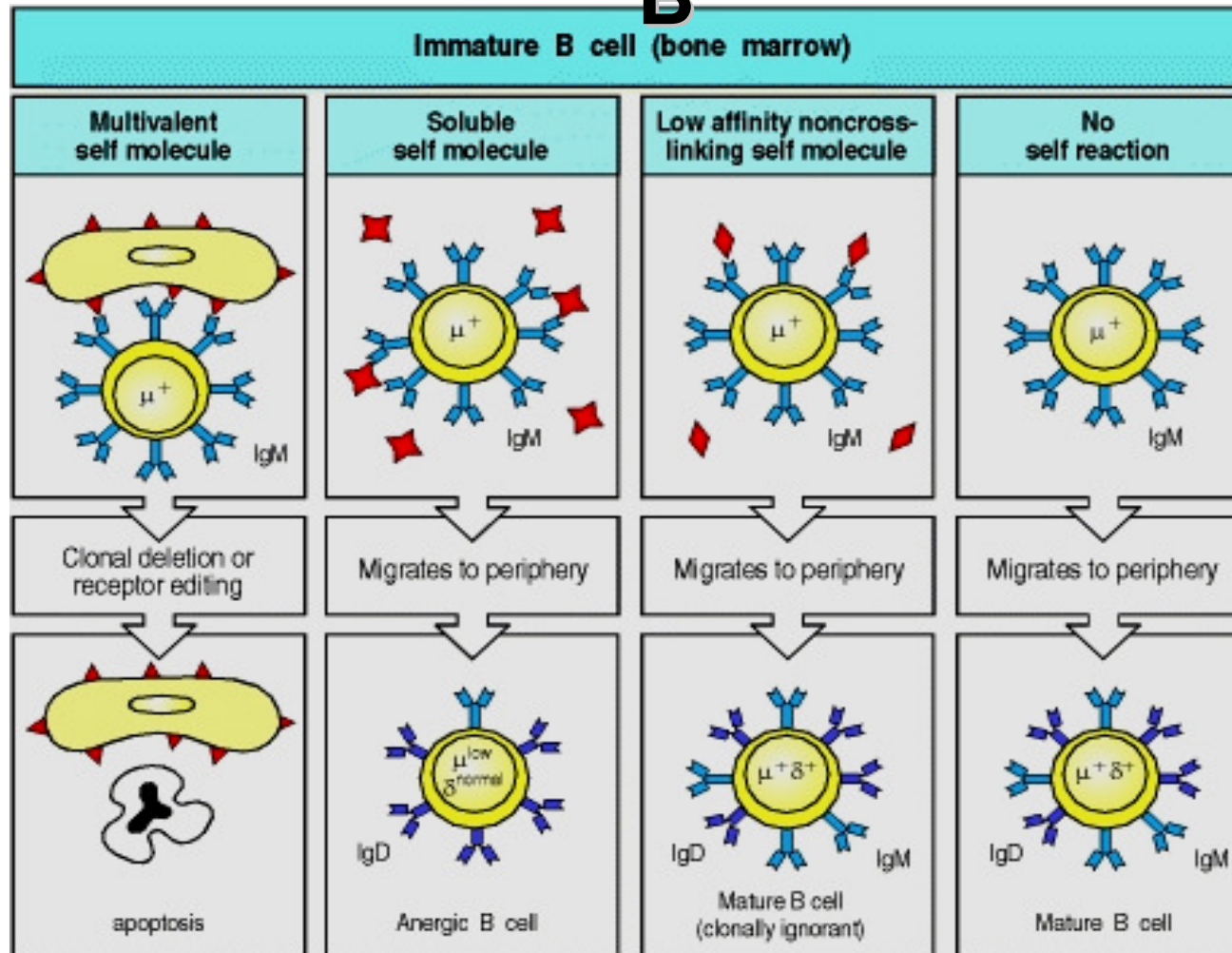


Figure 6.17 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)



Inducción de tolerancia central en células

B



Edición del receptor: permite el rescate de células autorreactivas, cambiando su especificidad de antígeno...

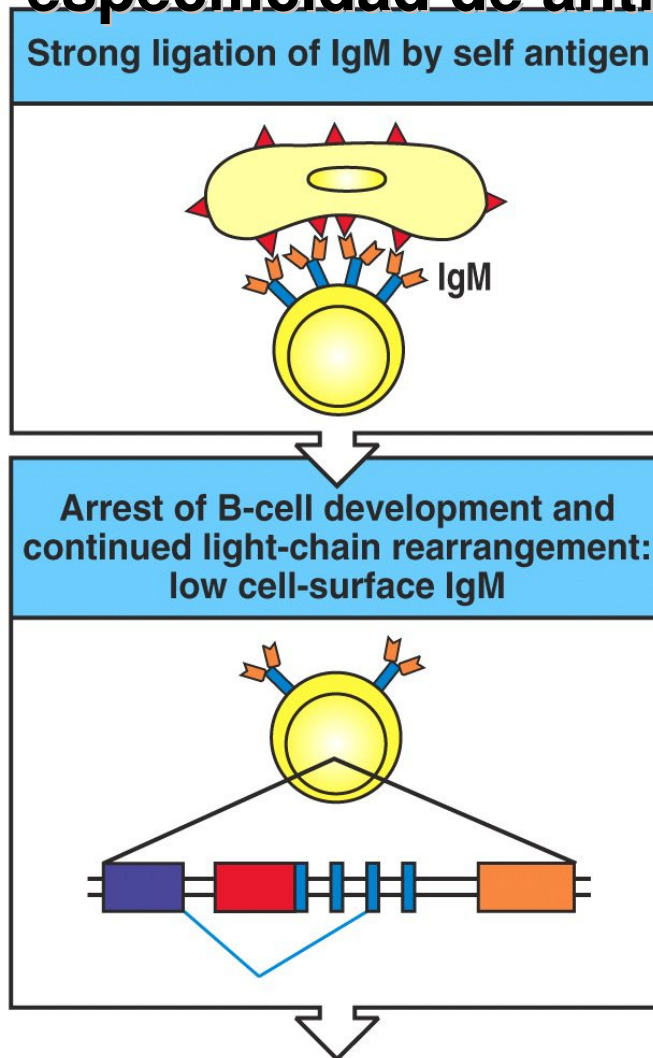


Figure 7-27 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

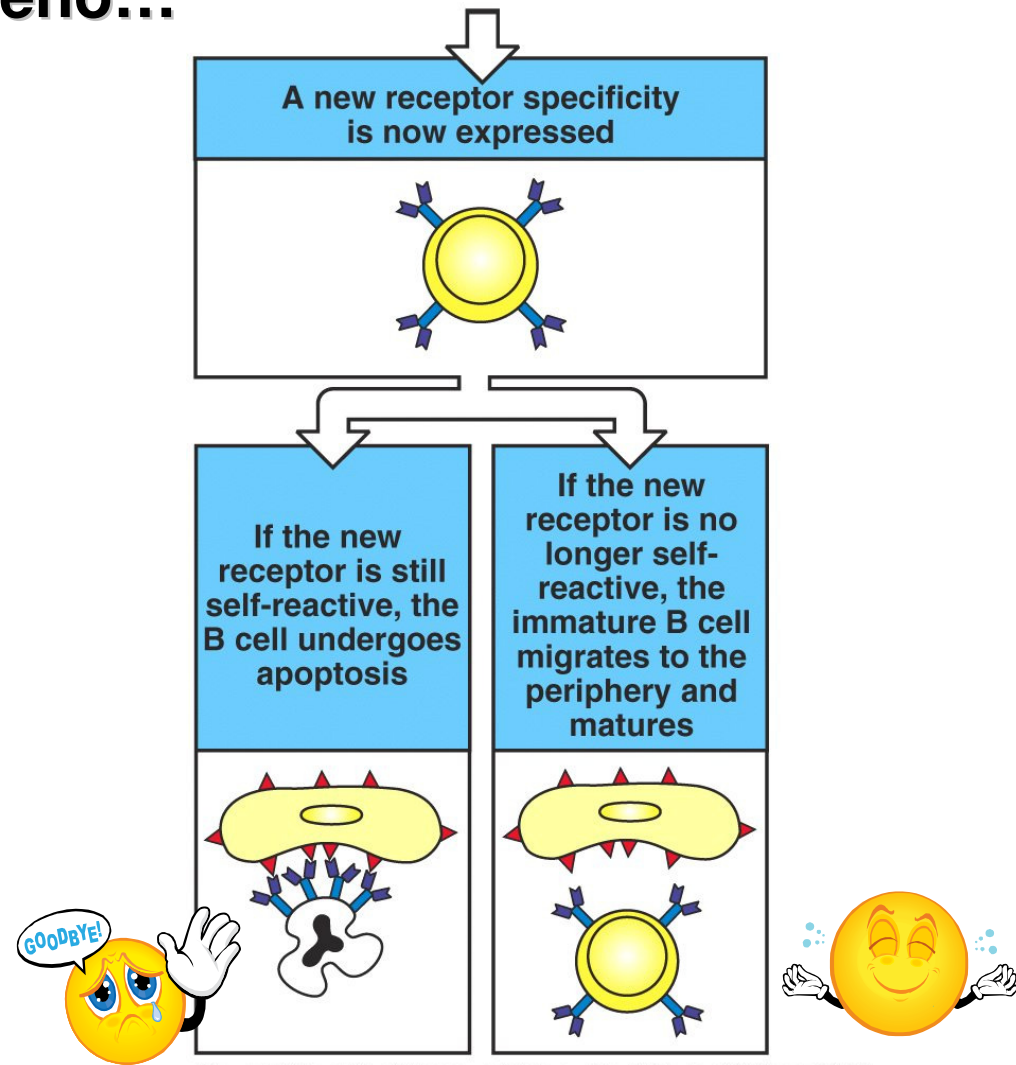
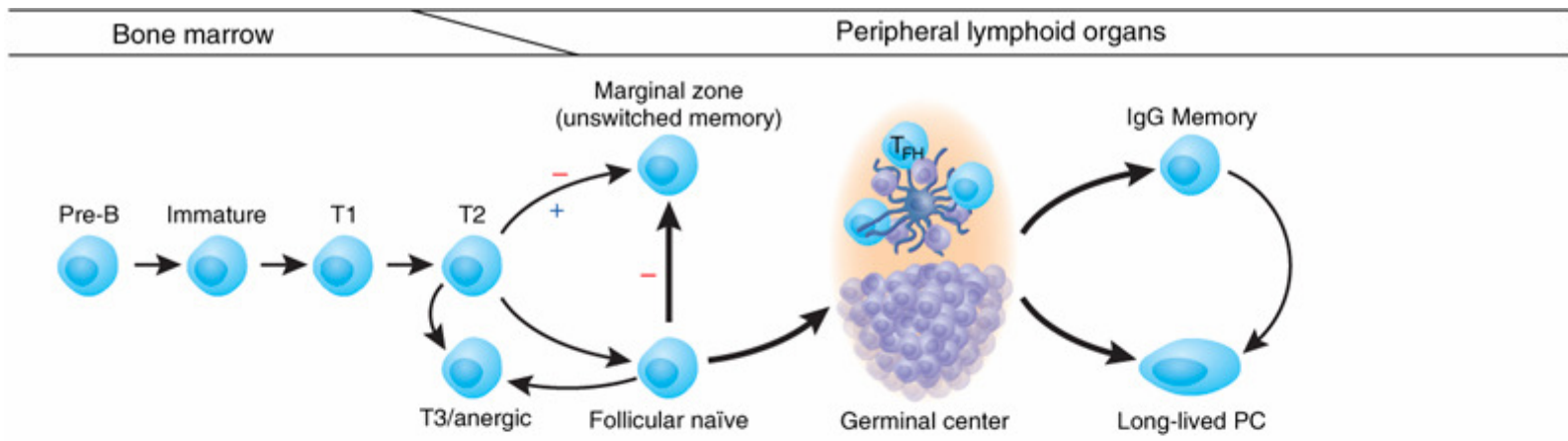


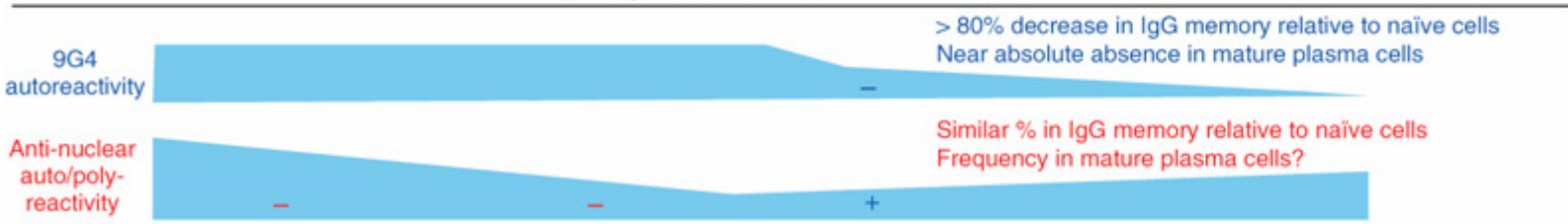
Figure 7-27 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



Mechanisms of tolerance

	Central	Germinal center	Late
Editing	████████████████████	Revision	Memory B cells:
Deletion		Deletion (Ag or Fas mediated)	-Anergy?
Anergy		Anergy	-Block of differentiation into effector B cells
Ignorance	████████████████████	Ignorance	-Block of differentiation into plasma cells (IL-6 and CD40L?)
		Lack of T cell help	Plasma cells:
		Competition for BAFF	-Inability to compete for long-term survival niches
		Somatic hypermutation	-Inhibition of antibody production?

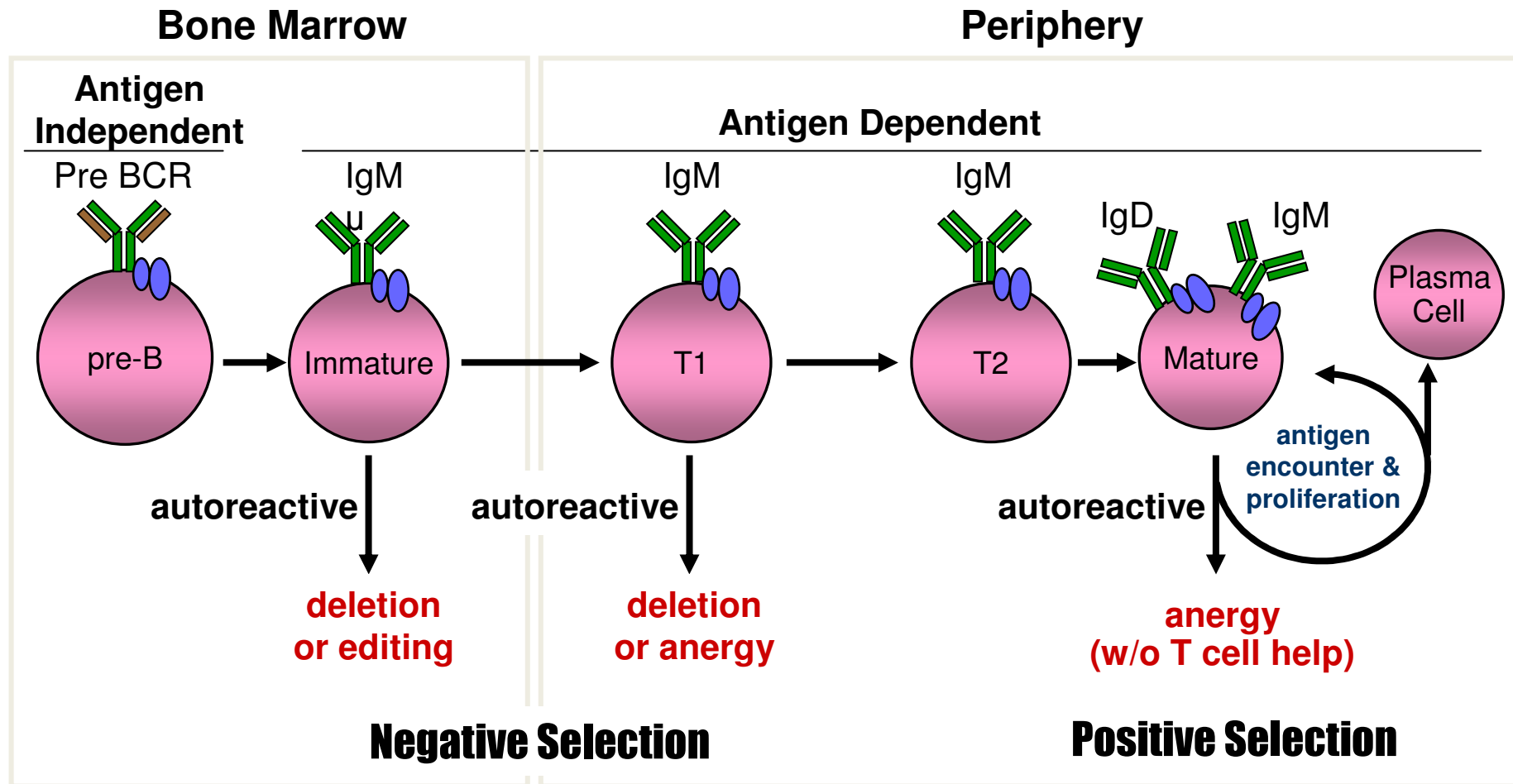
Frequency of autoreactive B cells



Determinants of tolerance mechanisms/checkpoints

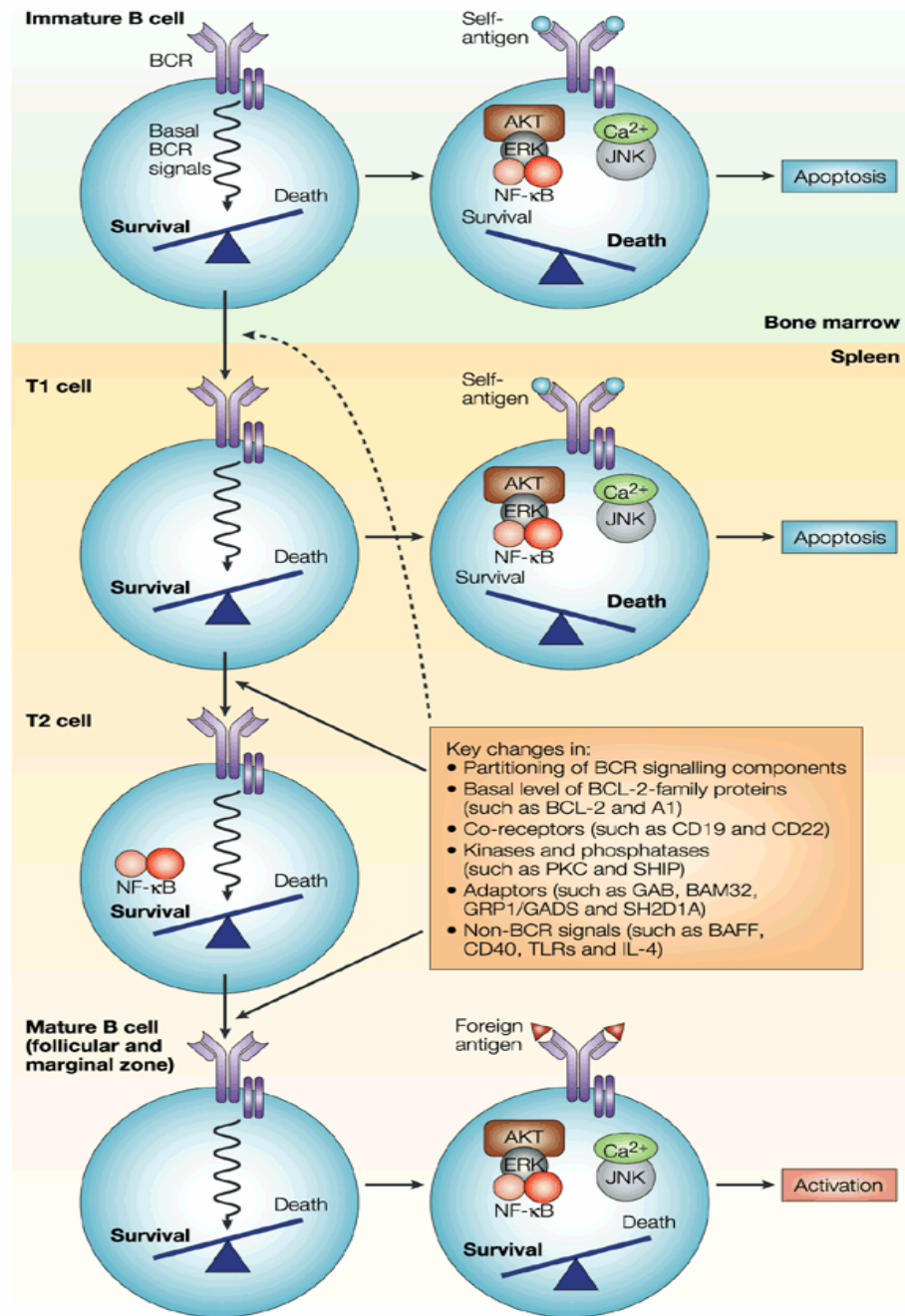
- Nature/availability of antigen
- Binding avidity
- Quality of signal through the BCR
- T cell help/regulation
- Co-stimulation, Survival factors (BAFF)

Tolerancia central células B



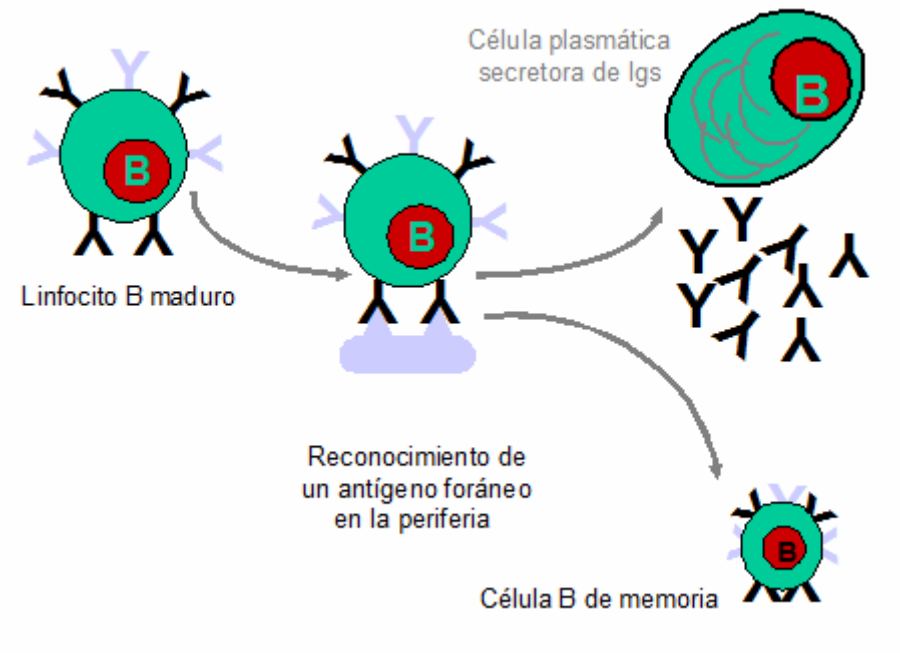
Resumiend

0

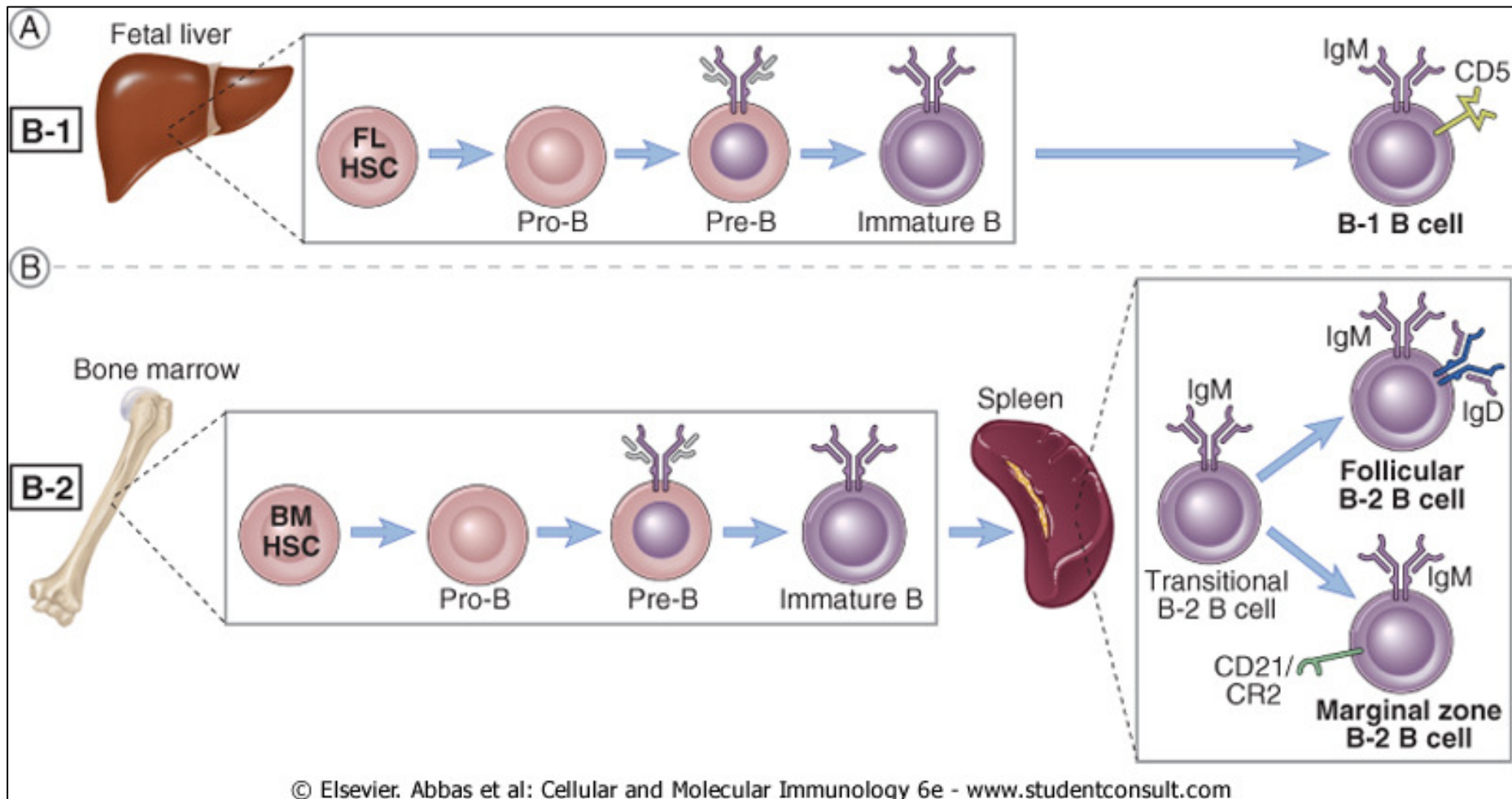


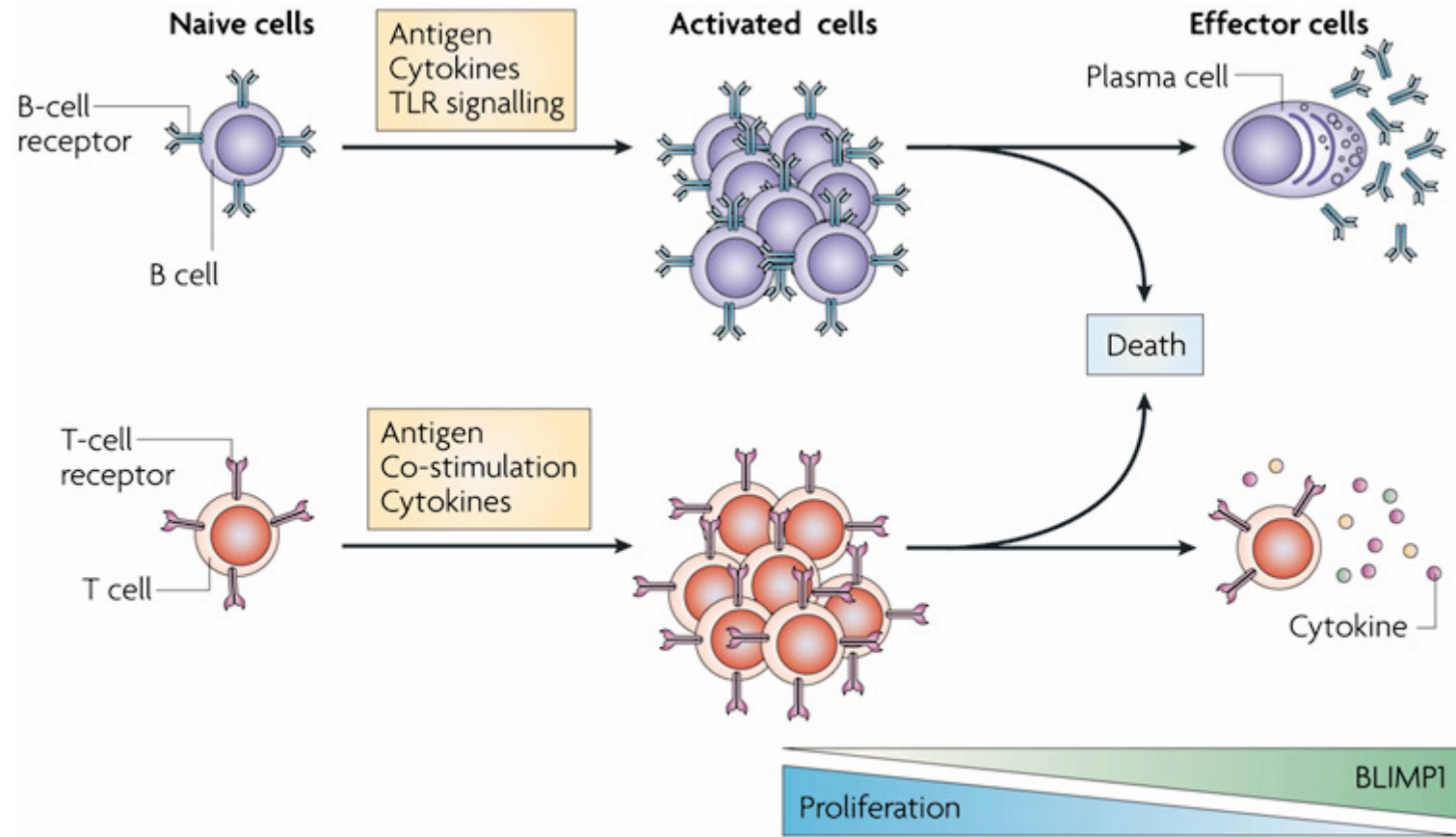


**Activación
de la célula
B**



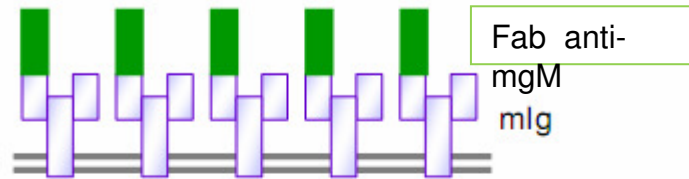
FASE DEPENDIENTE DE ANTÍGENO



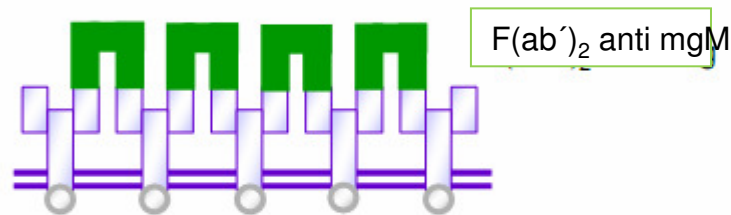


B-lymphocyte-induced maturation protein 1 (BLIMP1)

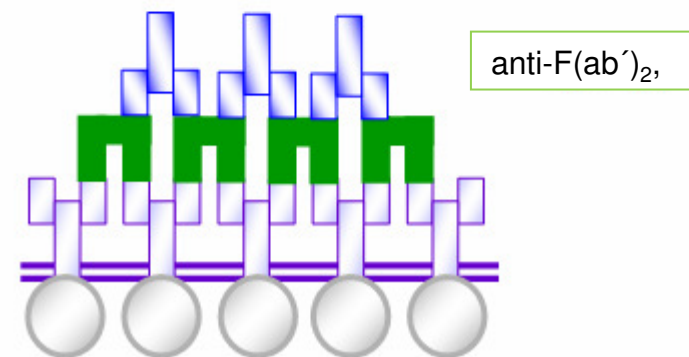
¿Cuáles son las señales externas que activan a los LB maduros?



Unión de fragmentos Fab a mlgM, no genera señal intracelular.

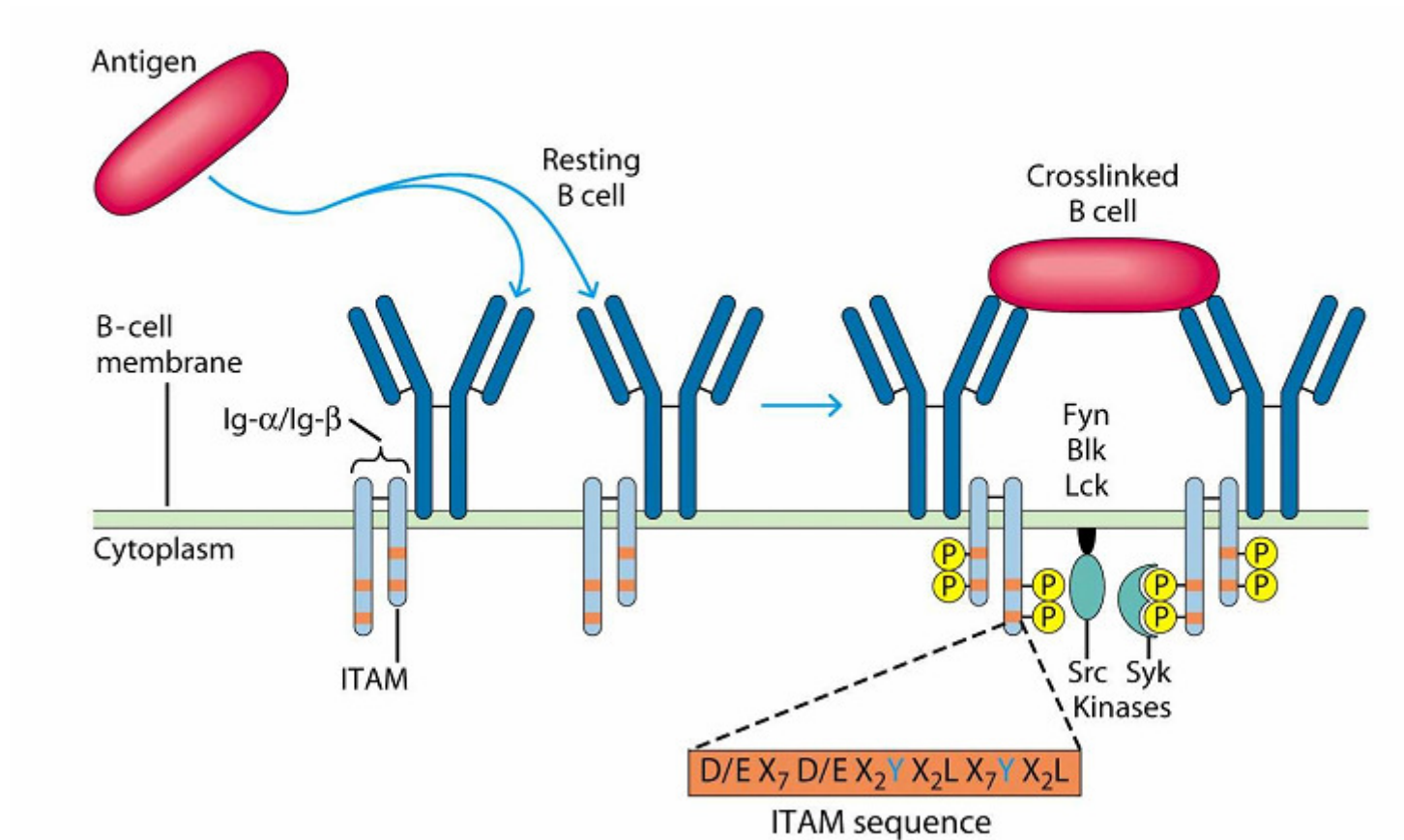


“Cross linking” de diferentes mlgM permiten que el BCR genere una señal intracelular débil.

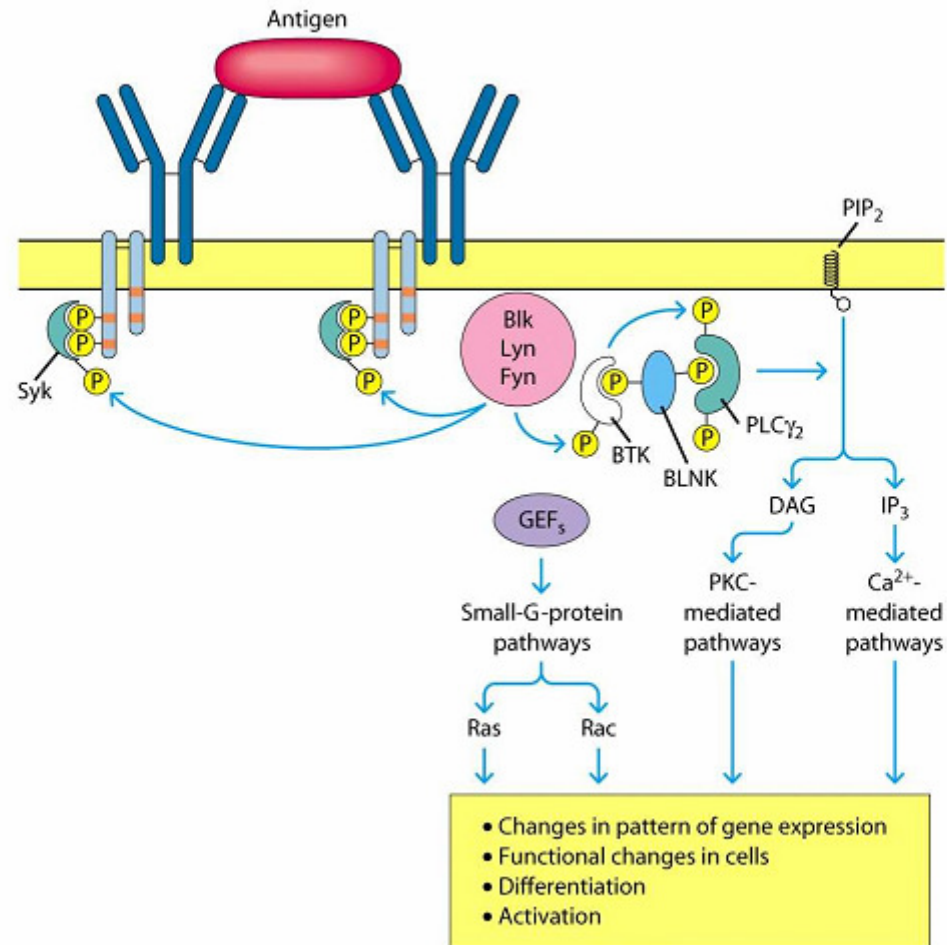


Fuerte “cross linking” de F(ab')₂ unidos a mlgM usando anti-F(ab')₂, aumenta la señal intracelular.

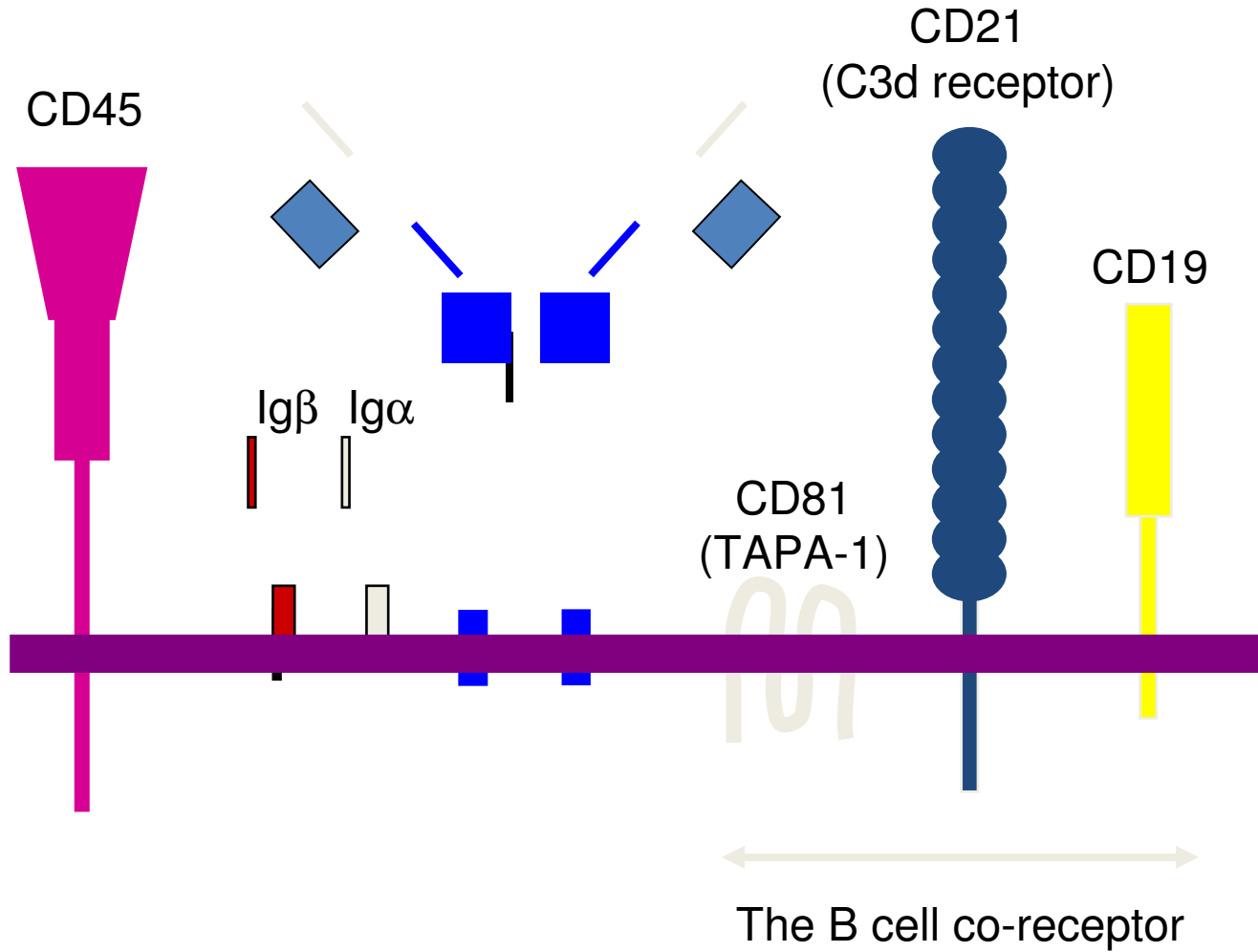
Señalización en células B



Señalización en células B

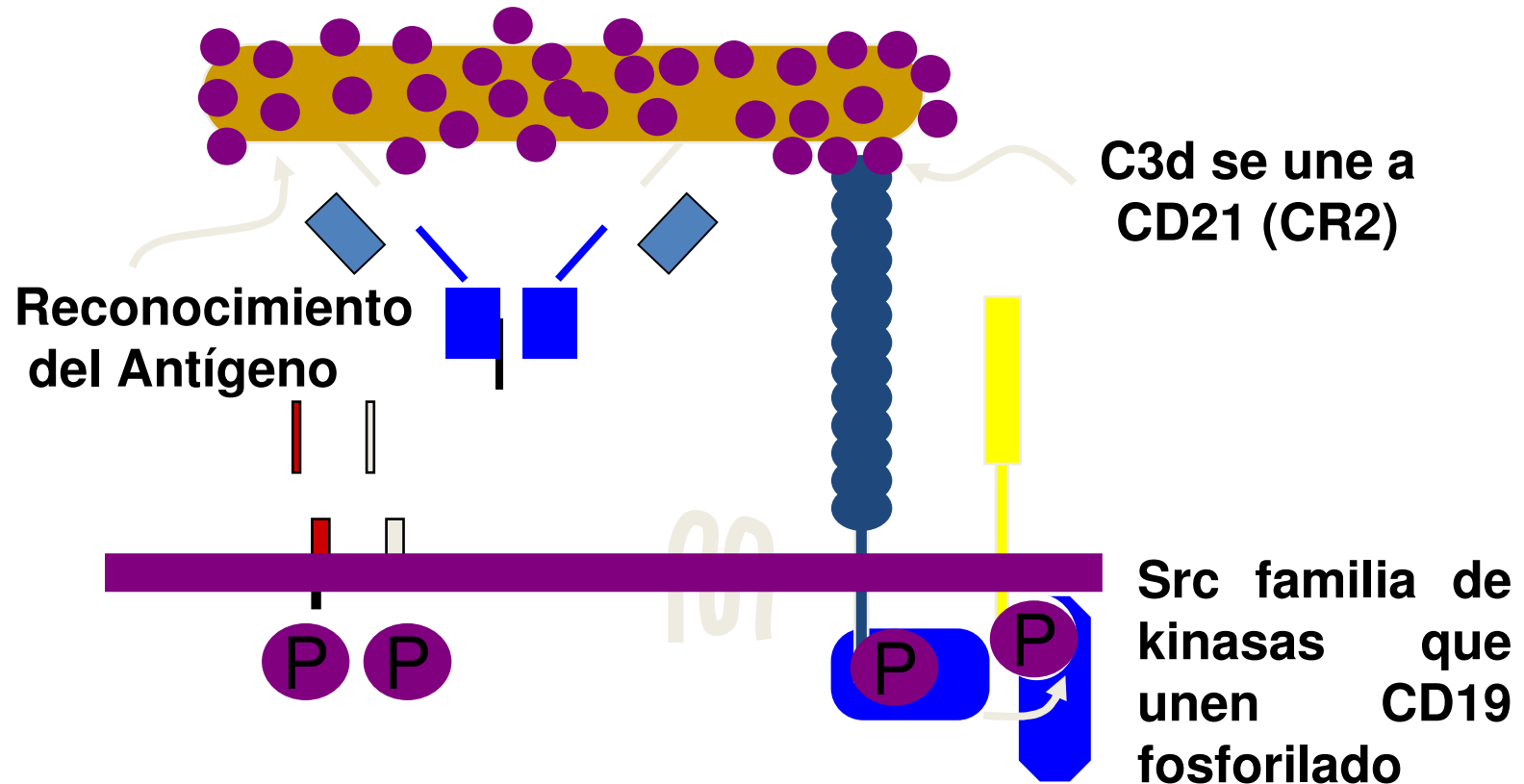


Co-receptor de células B



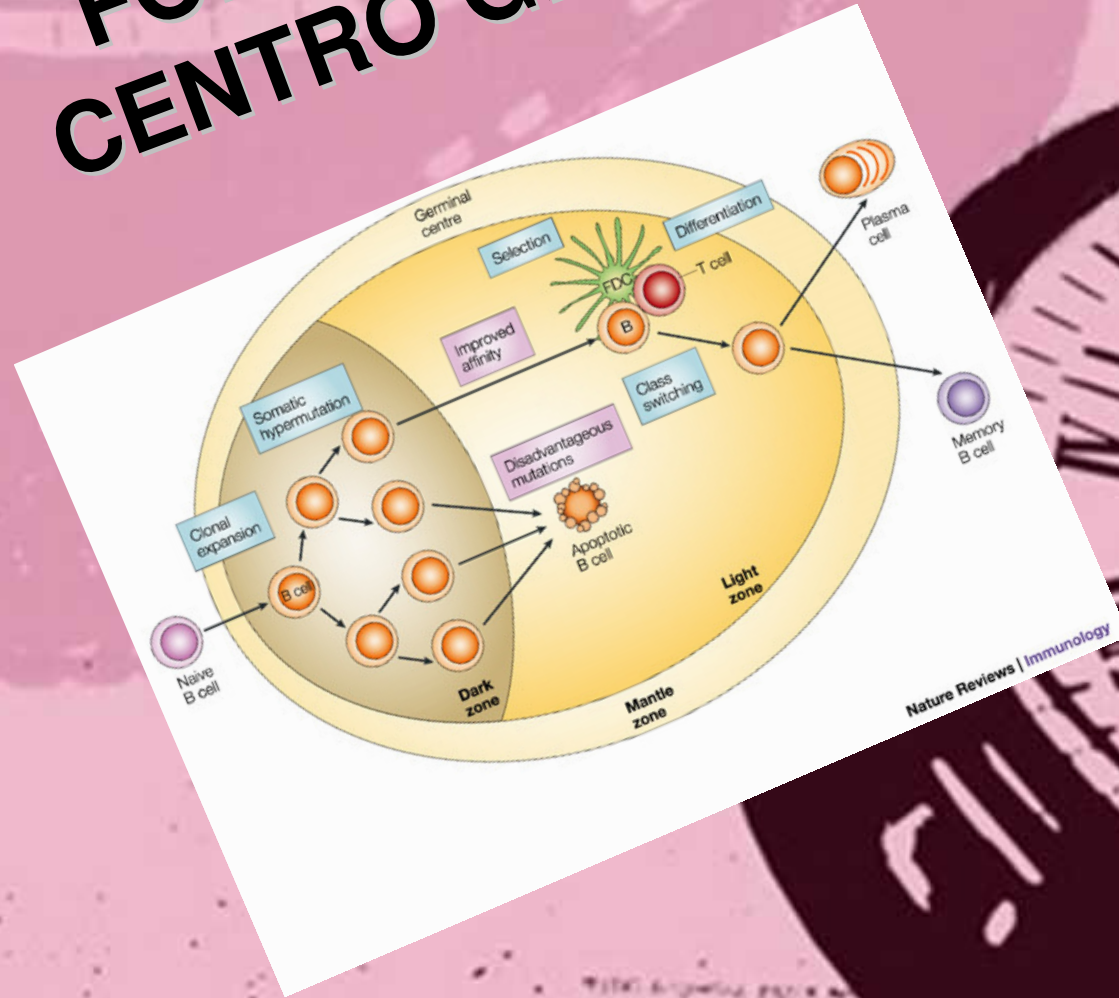
Fosforilación del Co-receptor

Bacteria opsonizada por C3d

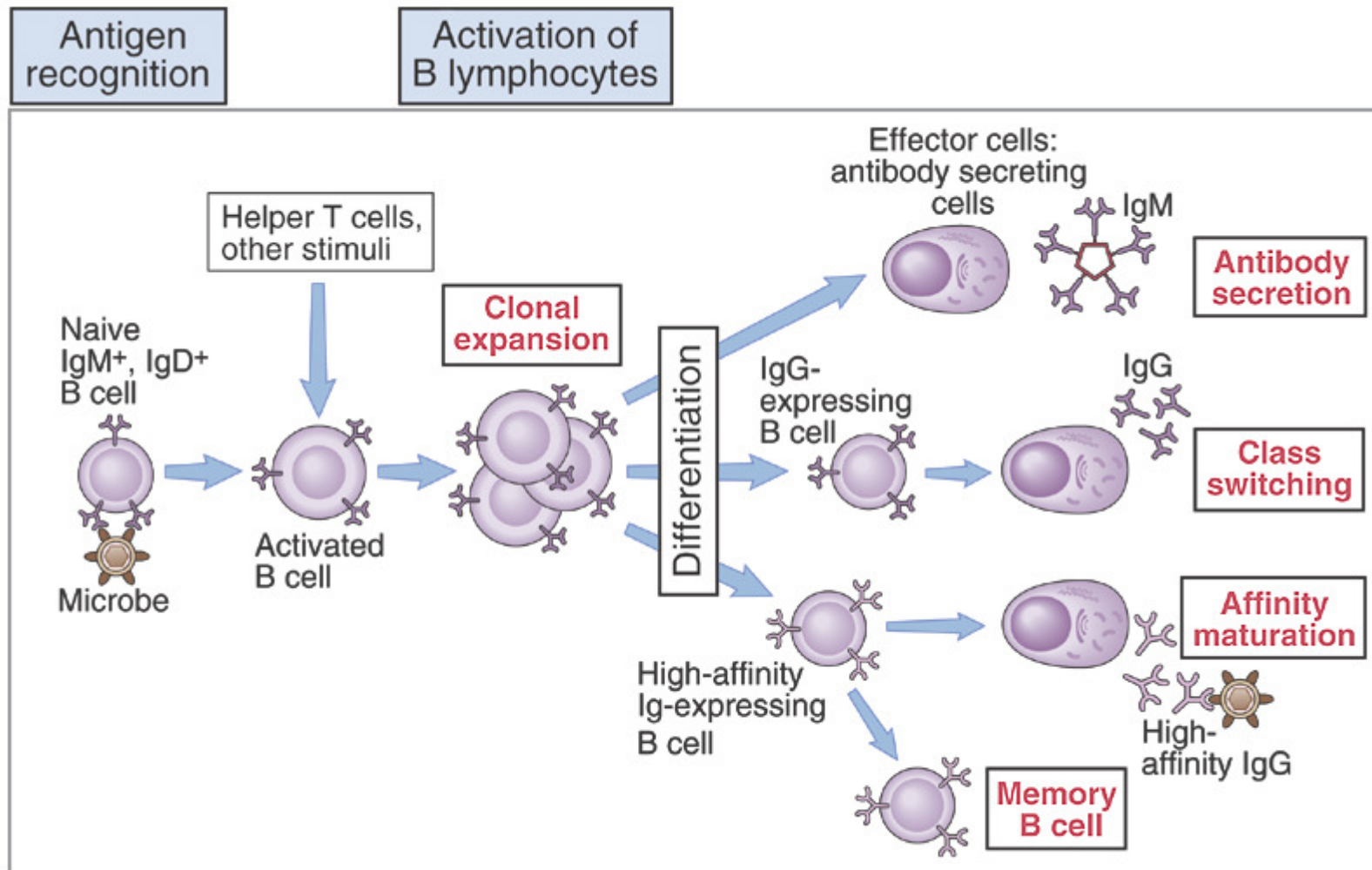


- IgMy CD21 son entrecruzados por el antígeno opsonizado con C3d
- CD21 y CD19 son fosforilados
- CD19 fosforilado activa más Src kinasas
- El co-receptor incrementa las señales del BCR 1000-10000 veces

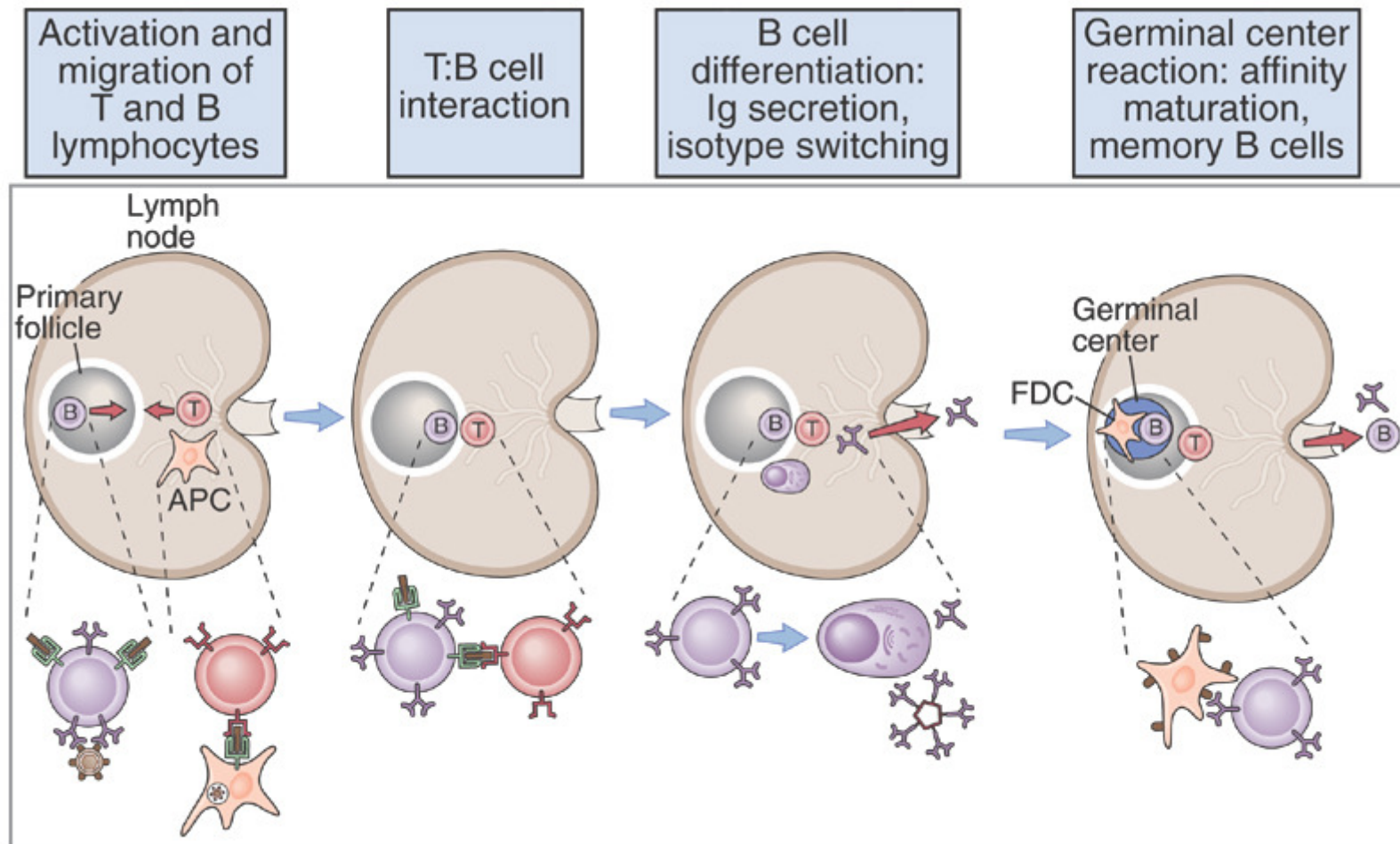
FORMACIÓN DEL CENTRO GERMINAL




Fases de la respuesta humoral frente a antígenos T dependientes

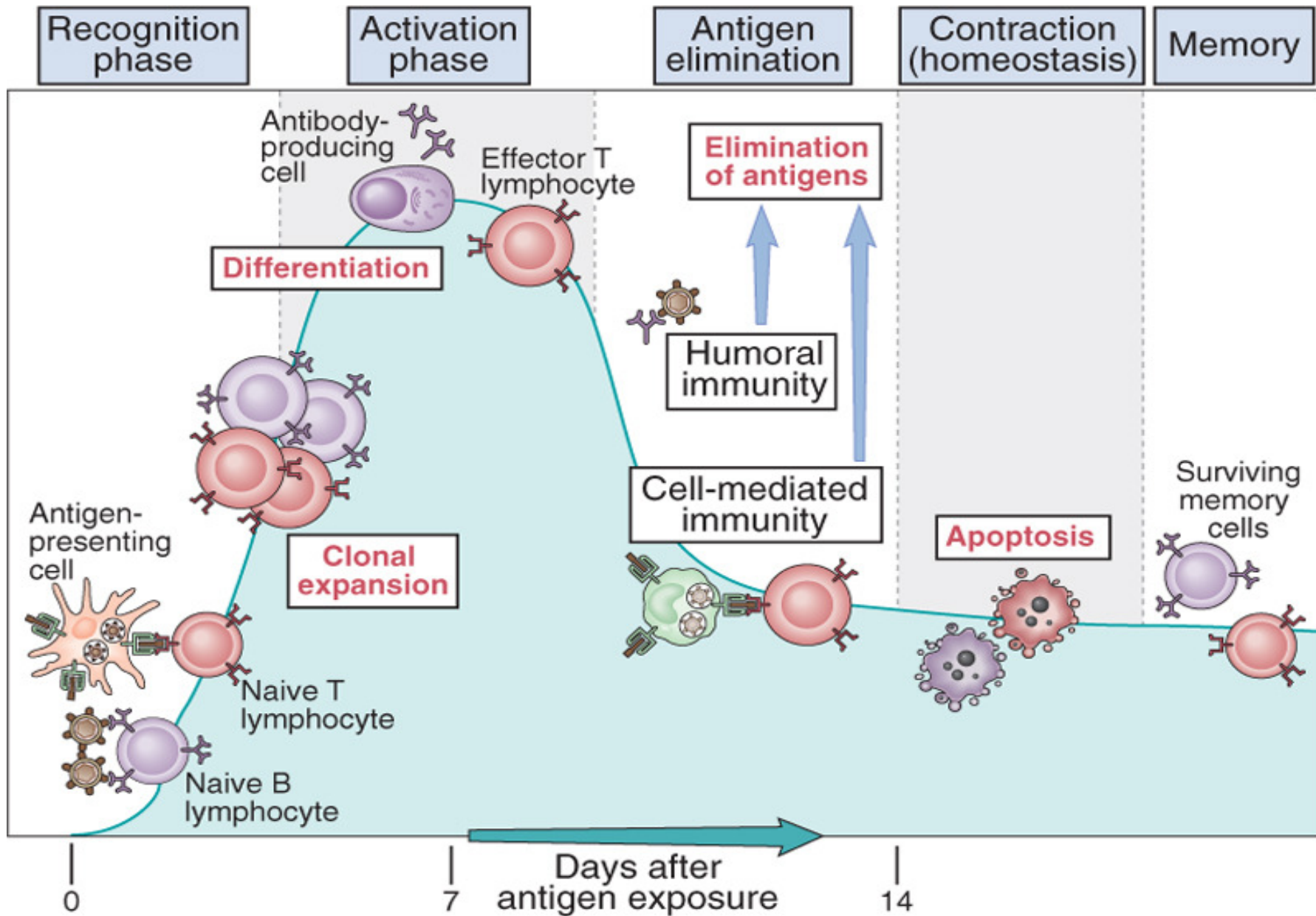


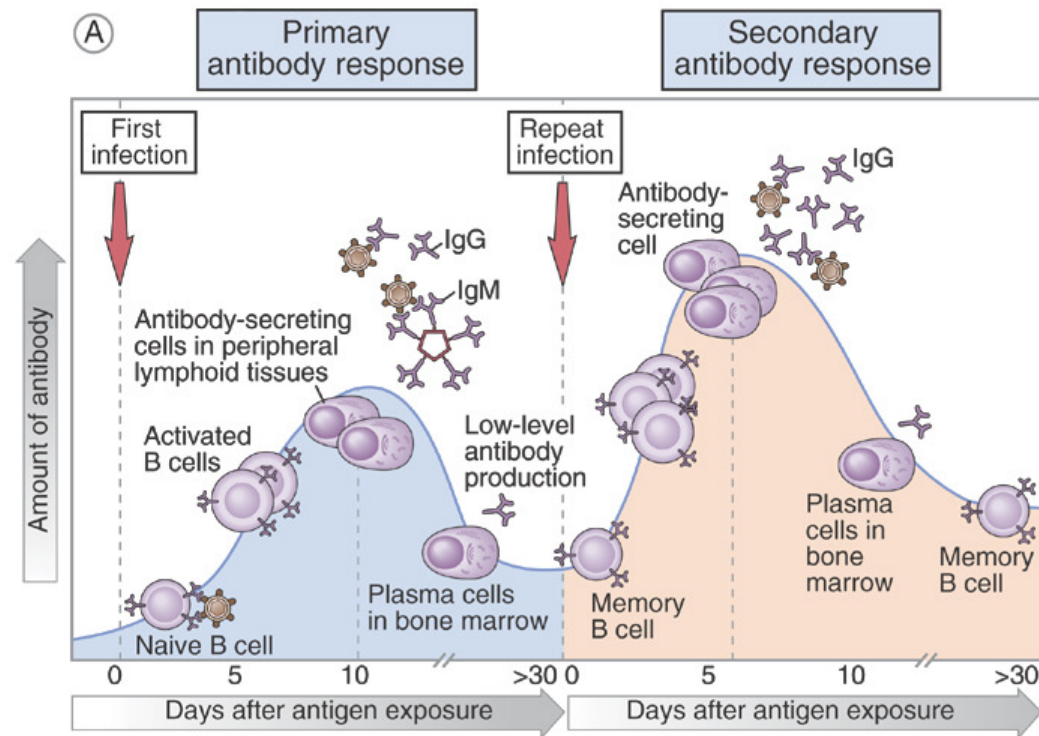
Anatomía de la respuesta inmune humoral



A hand holding a hammer with a wooden handle and a metal head is positioned to strike a transparent orange alarm clock. The clock is on a wooden surface. The background is a blurred red and black fabric.

**Respuesta
primaria y
secundaria**



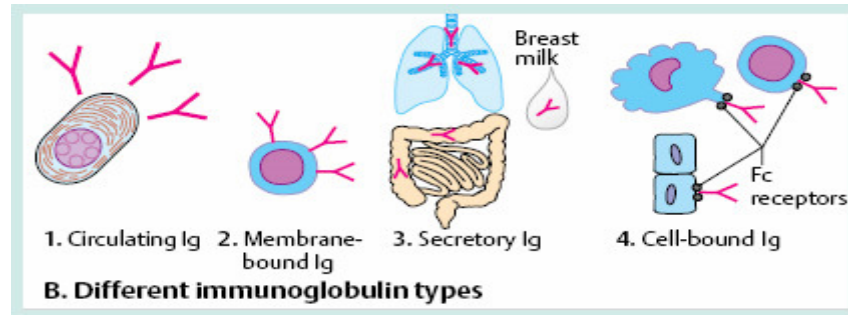


B

	Primary response	Secondary response
Lag after immunization	Usually 5-10 days	Usually 1-3 days
Peak response	Smaller	Larger
Antibody isotype	Usually IgM>IgG	Relative increase in IgG and, under certain situations, in IgA or IgE (heavy chain class switching)
Antibody affinity	Lower average affinity, more variable	Higher average affinity (affinity maturation)



Antibodies/Proteins...



- Libre en el suero (circulantes): **MONÓMERO, DÍMERO, PENTÁMERO.....**
- Unida a la membrana celular(BCR): **MONOMÉRICA**
- **INMUNOGLULINA SECRETADA**
- Unida al receptor celular específico (FcR)

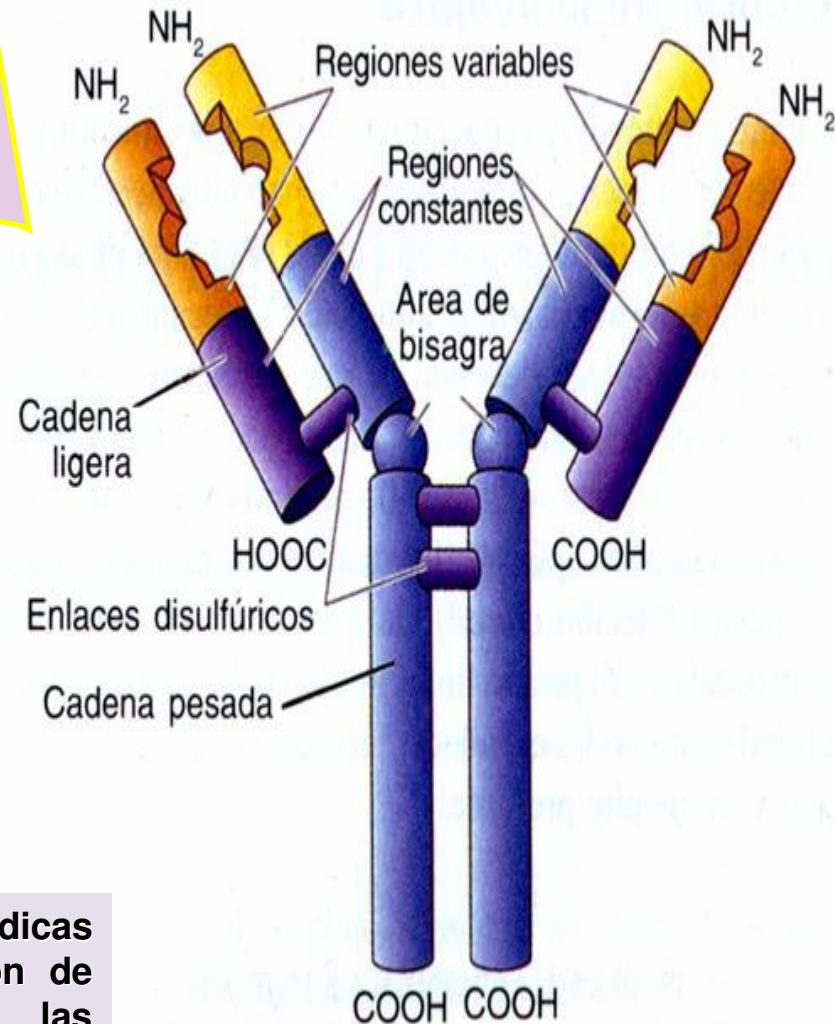
**¿CÓMO PUEDE PRESENTARSE
LA
INMUNOGLOBULINA/ANTICUERPO??**

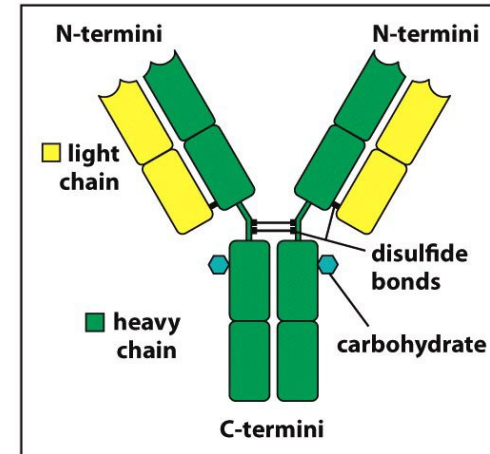
¿Por qué son importantes los anticuerpos???

1. La presencia de anticuerpos específicos protege contra patógenos a los que reaccionamos en el pasado: **MEMORIA.**
2. Su falta provoca **INMUNODEFICIENCIA.**
Incluso deficiencias de algún isotipo (IgA) o déficits cuantitativos pueden comprometer la inmunocompetencia.
3. La presencia de **autoanticuerpos de isotipo IgG** contribuye a la **AUTOINMUNIDAD.**
4. La presencia de **IgE alergenoespecífica** contribuye a las **REACCIONES ALÉRGICAS (HS).**

Estructura de las inmunoglobulinas

Las amino terminales de las cadenas polipépticas tienen una alta variación en la composición de aminoácidos y son consideradas como las regiones variables (V) para distinguirlas de las consideradas relativamente regiones constantes (C).





- ❑ **Dos cadenas livianas (L) idénticas... ~220 aminoácidos en longitud y 25 kDa de PM....**PROTEÍNAS DE BENCE JONES**....**
- ❑ **Las cadenas L podrán ser de tipo κ o λ**
- ❑ **Dos cadenas pesadas (H) idénticas ~440 aminoácidos en longitud y 50 kDa de PM...**
- ❑ **Las cadenas H podrán ser de tipo α , β , γ , δ o ϵ**
- ❑ **Cada cadena presenta un extremo N-terminal y C-terminal...**
- ❑ **Las cadenas están unidas por interacciones no covalentes y covalentes (puentes disulfuro H=H y H-L, cuya cantidad depende del isotipo de Ig)**
- ❑ **Las moléculas actúan como una UNIDAD.**

Codificación de los genes de las cadenas H y L....

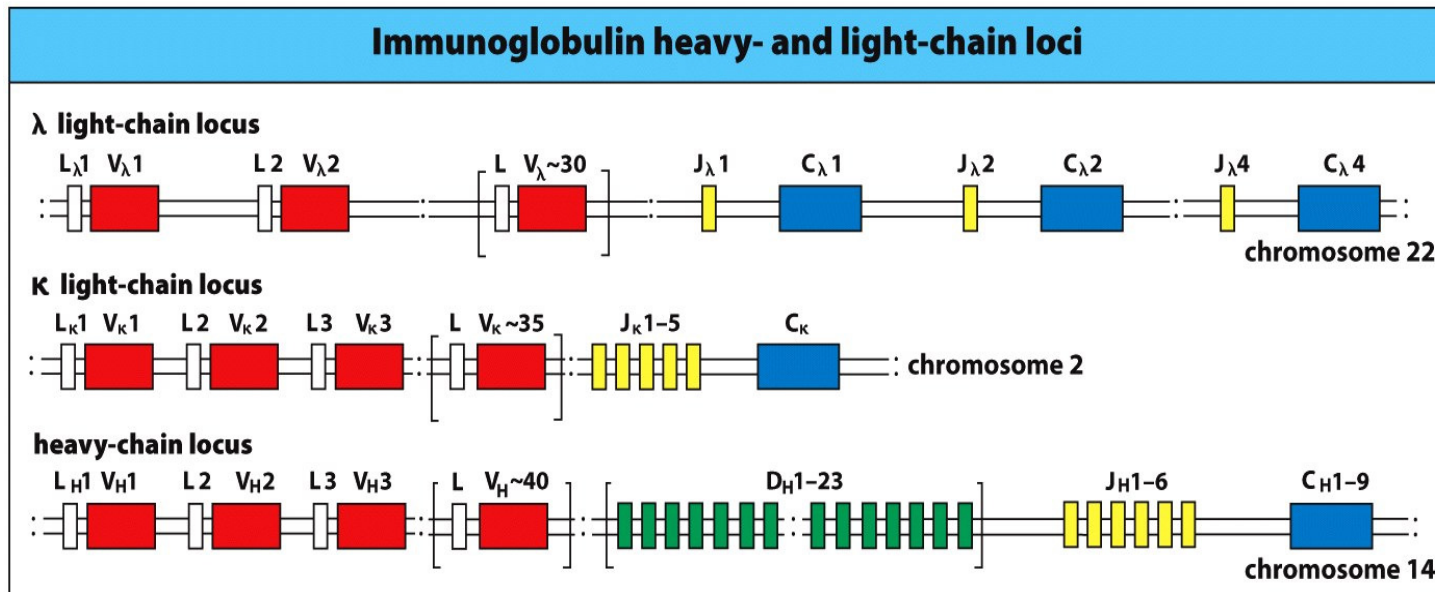


Figure 4.16 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

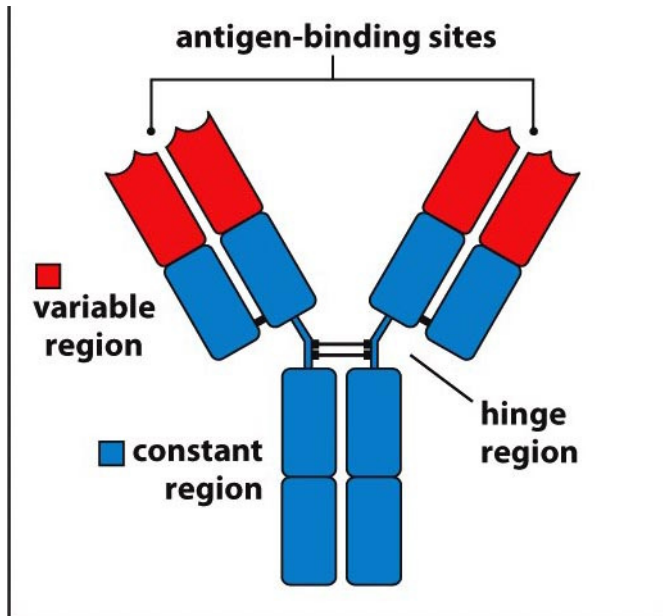
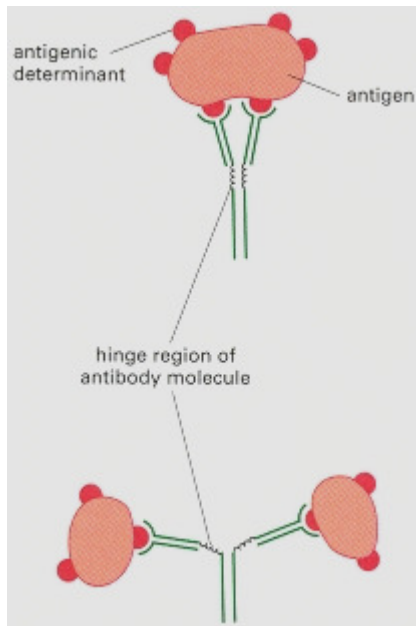


Figure 4.2 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Fragmentos VARIABLES (V_L , V_H)
Fragmentos CONSTANTES (C_H Y C_L)



Región BISAGRA

Expone el sitio que activará al complemento, después de la unión del antígeno....
 Permite el ajuste espacial a diferentes epitopes....

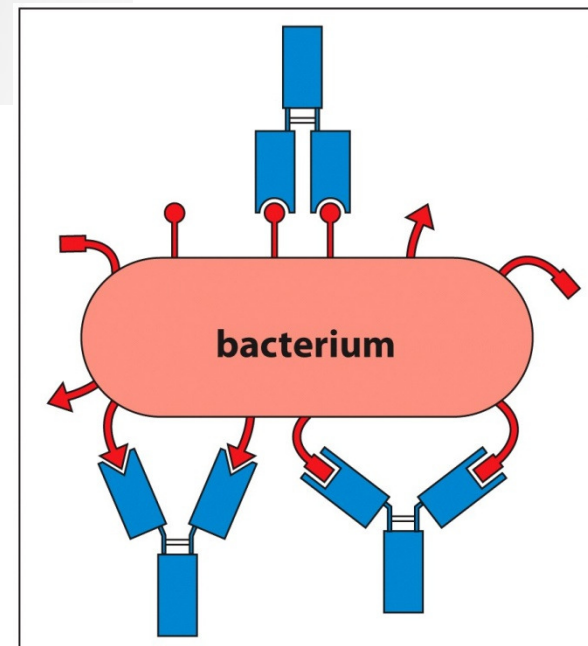
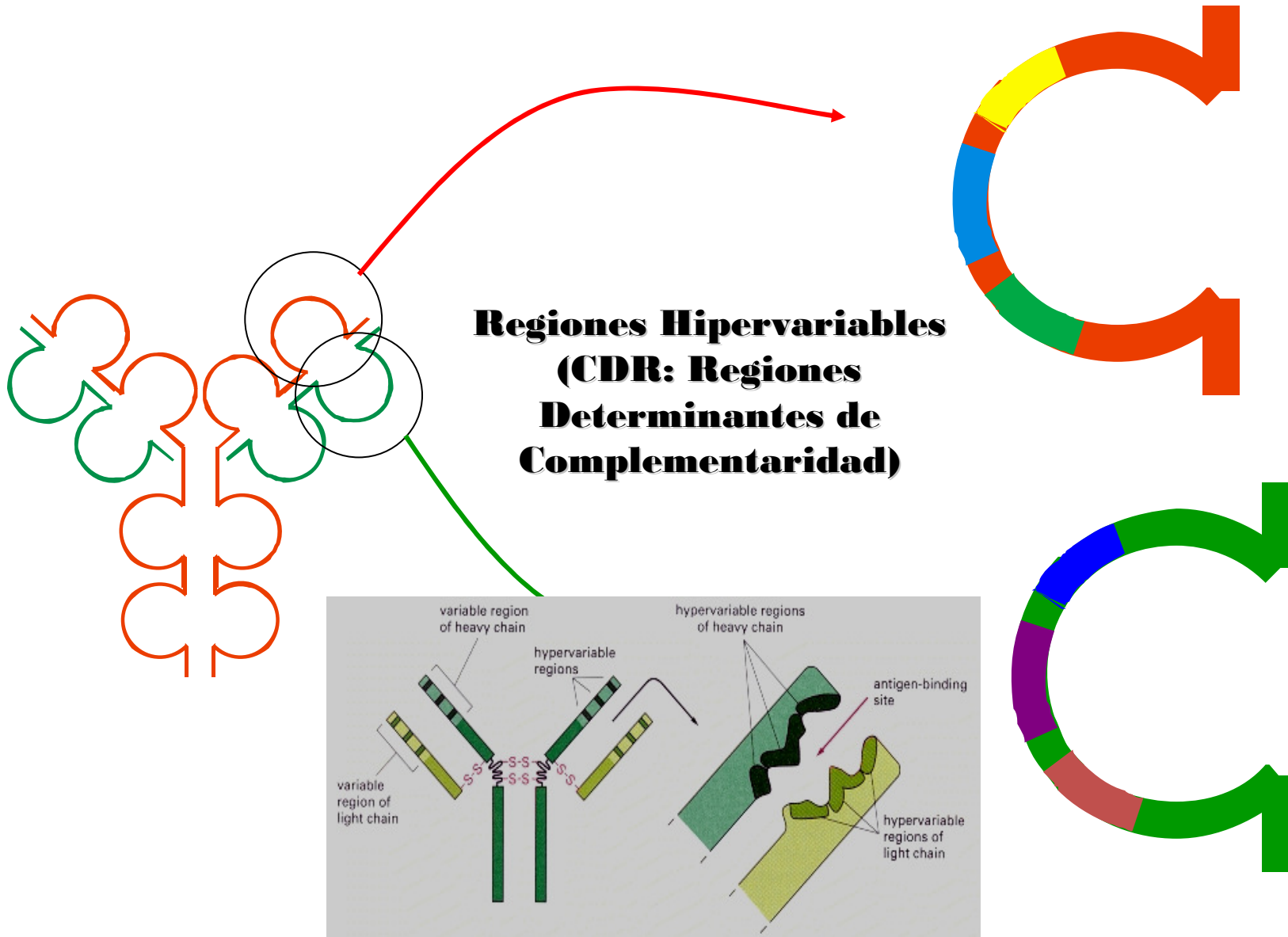


Figure 4.4 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Las regiones hipervariables



- La región hipervariable (HV) incluye 3 CDR...
- Las regiones CDR se disponen próximas entre sí y definen el **SITIO DE RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO**....
- Las regiones CDR están separadas entre sí por secuencias de aminoácidos con alto grado de conservación, denominadas **FRAMEWORK (ARMAZÓN)**....

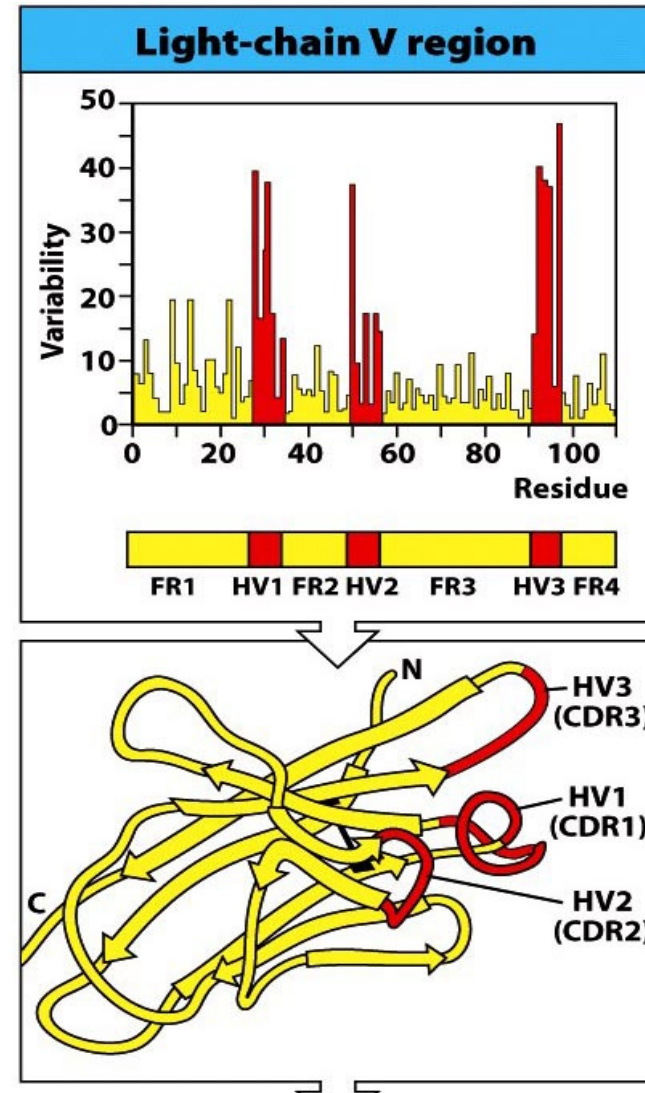
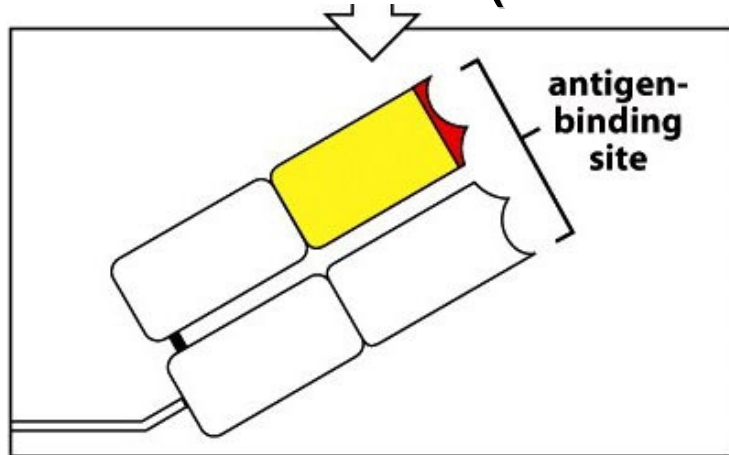


Figure 4.8 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Estudio del plegamiento de las inmunoglobulinas por cristalografía.....

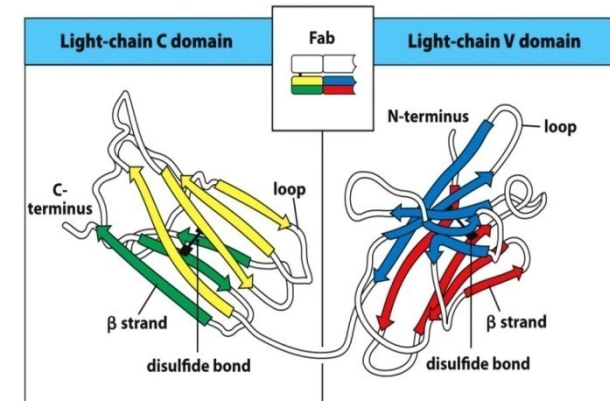
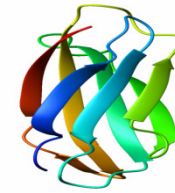
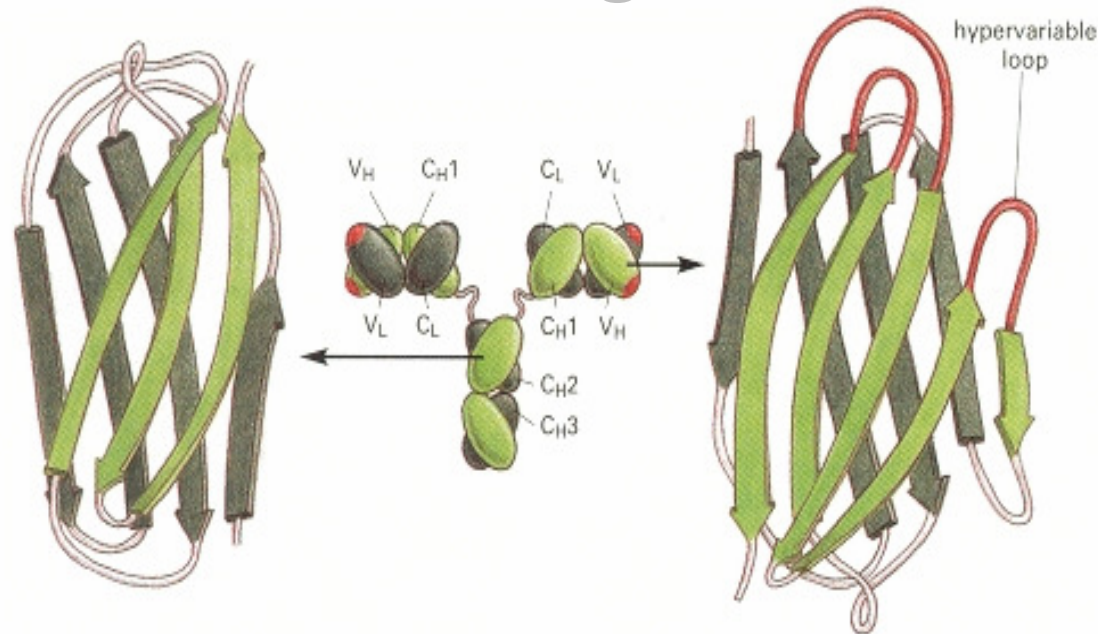


Figure 4.7 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Ambos dominios poseen un **PLEGAMIENTO** característico que es **una estructura en forma de "sandwich" formada por dos láminas β antiparalelas**. unidas entre si por puentes disulfuro....

Las regiones hipervariables forman **loops** (bucles) en el dominio variable, donde se aproximan para formar parte del **SITIO DE UNIÓN AL ANTÍGENO**....

La diversidad se localiza en la zona variables de las cadenas H y L

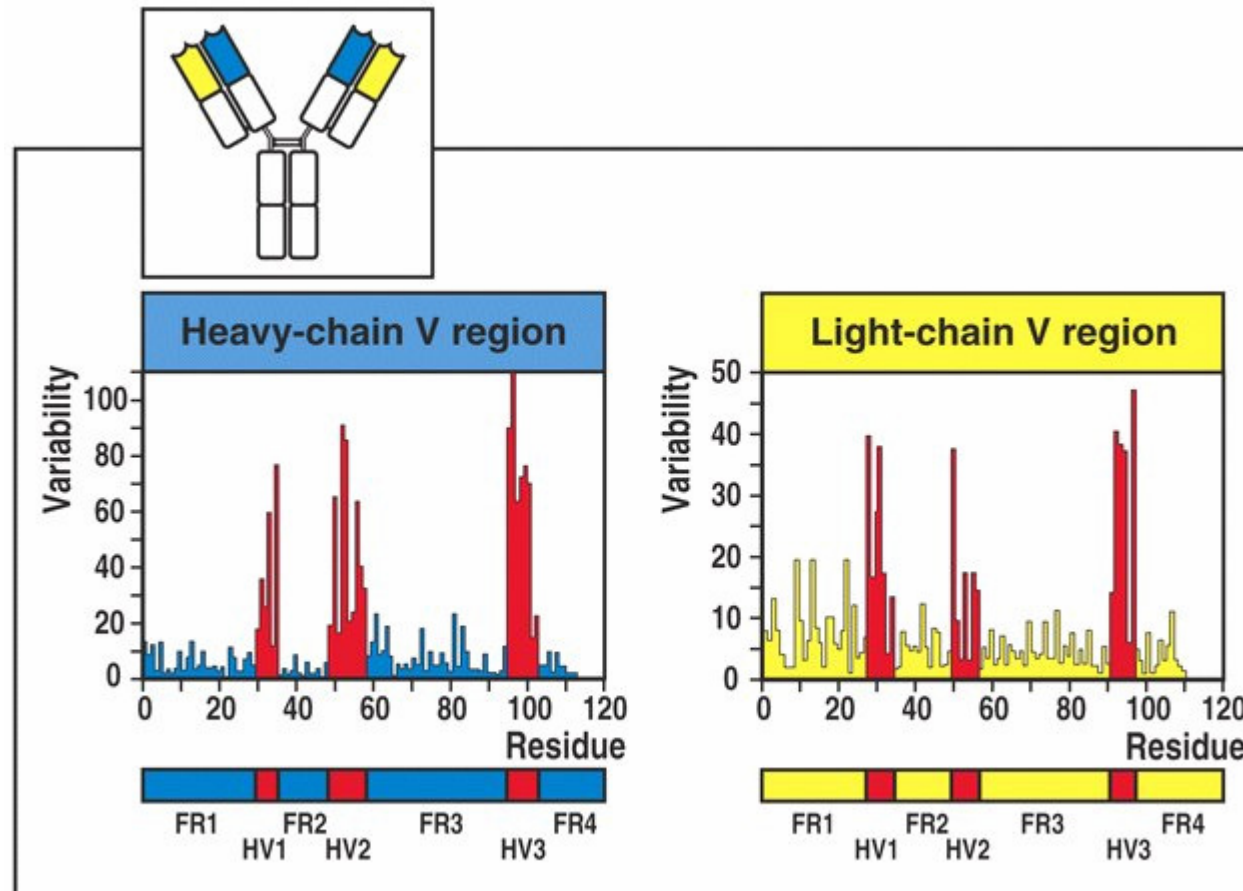


Figure 3-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

EL SITIO DE UNIÓN AL ANTÍGENO....

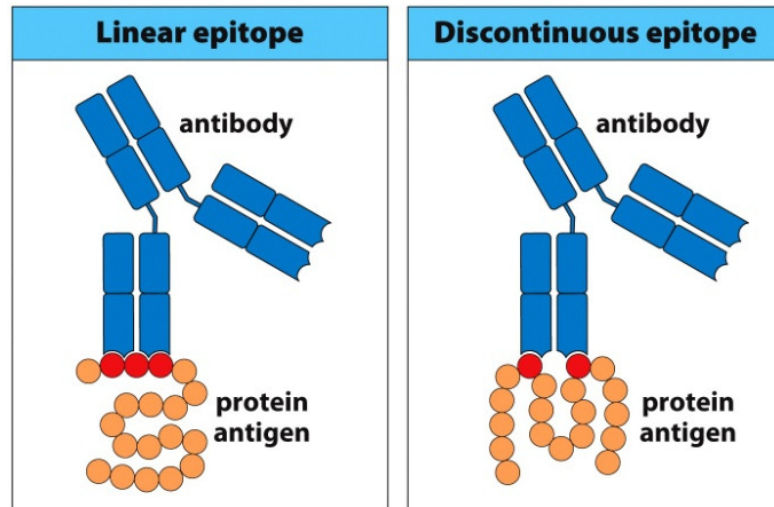
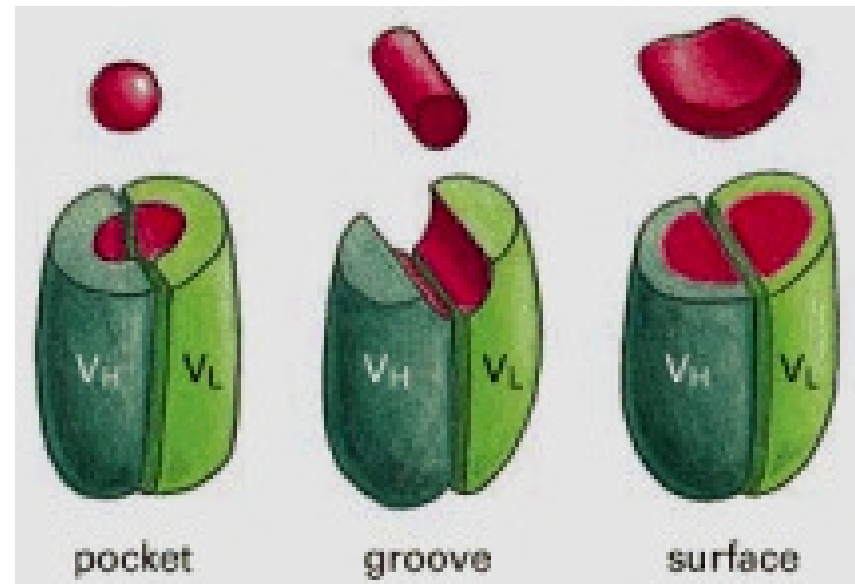
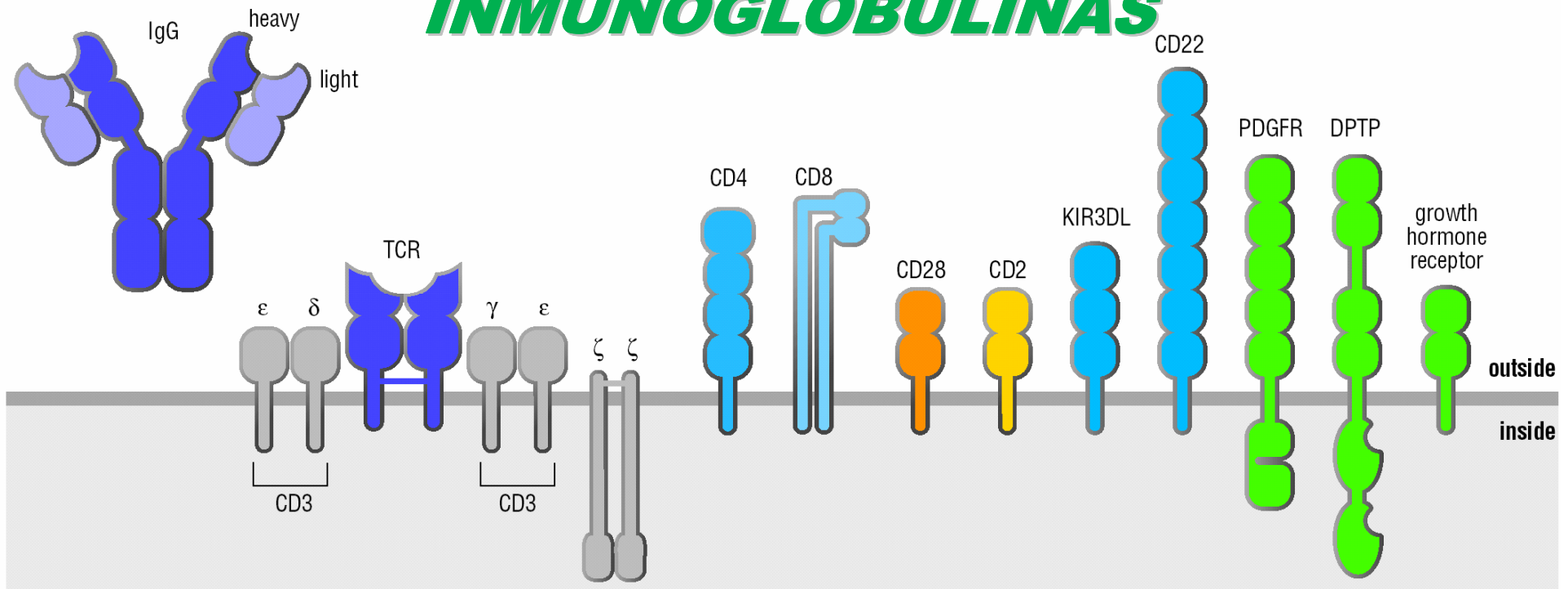


Figure 4.12 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

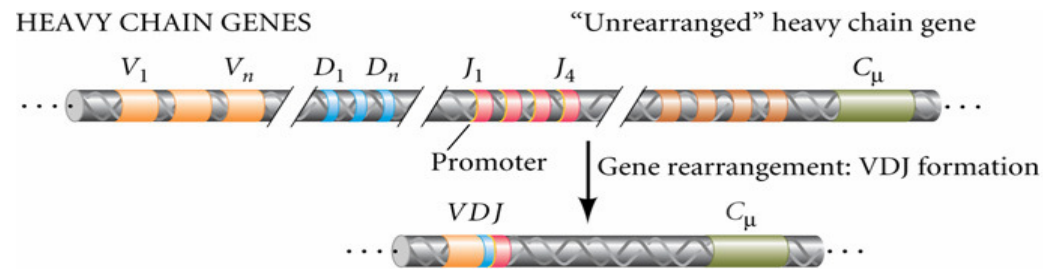


- La presencia de **dominios globulares** no es exclusiva de las inmunoglobulinas....
- Están presentes en una gran variedad de moléculas que participan en la respuesta inmune....
- Su presencia define una familia de moléculas llamada....

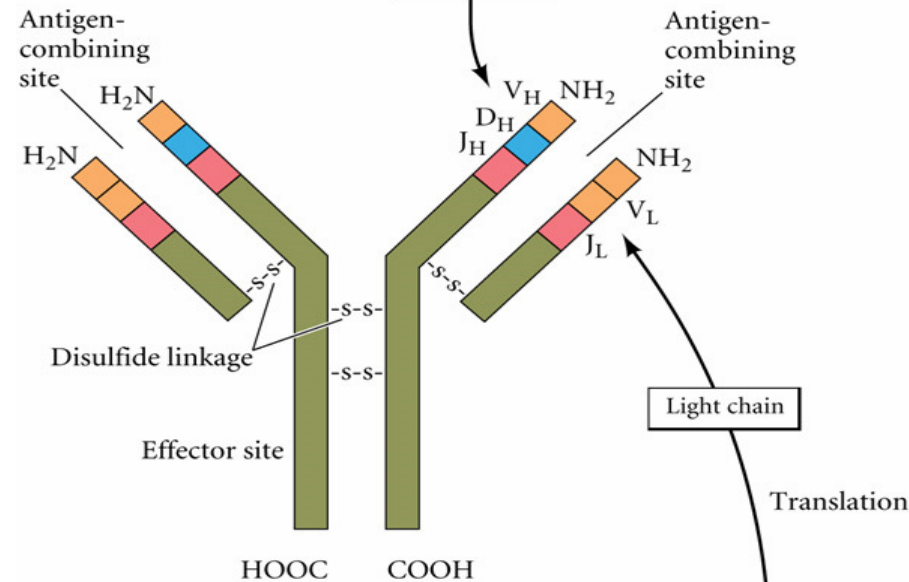
SUPERFAMILIA DE LAS INMUNOGLOBULINAS



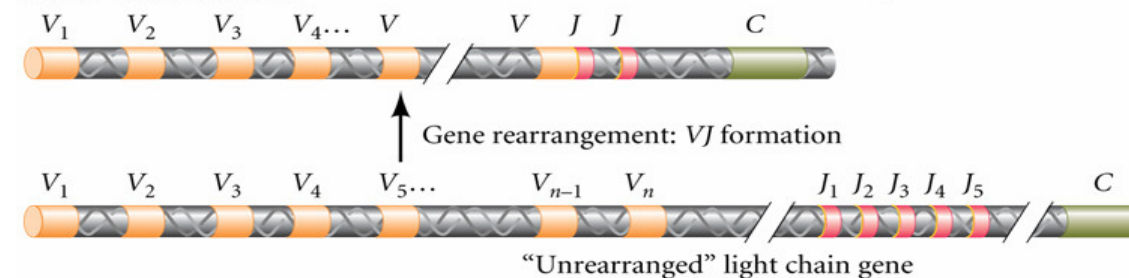
Generación de la diversidad....



IMMUNOGLOBULIN STRUCTURE



LIGHT CHAIN GENES



Number of gene segments in human immunoglobulin loci

Segment	Light chains		Heavy chain
	κ	λ	H
Variable (V)	31-36	29-33	38-46
Diversity (D)	0	0	23
Joining (J)	5	4-5	6
Constant (C)	1	4-5	9

Figure 4.18 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Recombinación somática (rearreglo génico)

Recombinación somática

La asociación combinatoria de diferentes segmentos génicos V (D)J permite una amplia generación de diferentes especificidades de Ac. Cada clon de LB y su progenie expresa sólo una de estas combinaciones V(D)J (Recombinación somática).

EL COMPLEJO ENZIMÁTICO QUE ACTUA EN ESTE PROCESO SE CONOCE COMO **RECOMBINASA V(D)J**. LOS PRODUCTOS DE LOS GENES RAG-1 Y RAG-2 FORMAN PARTE DE ESTE COMPLEJO ENZIMÁTICO.

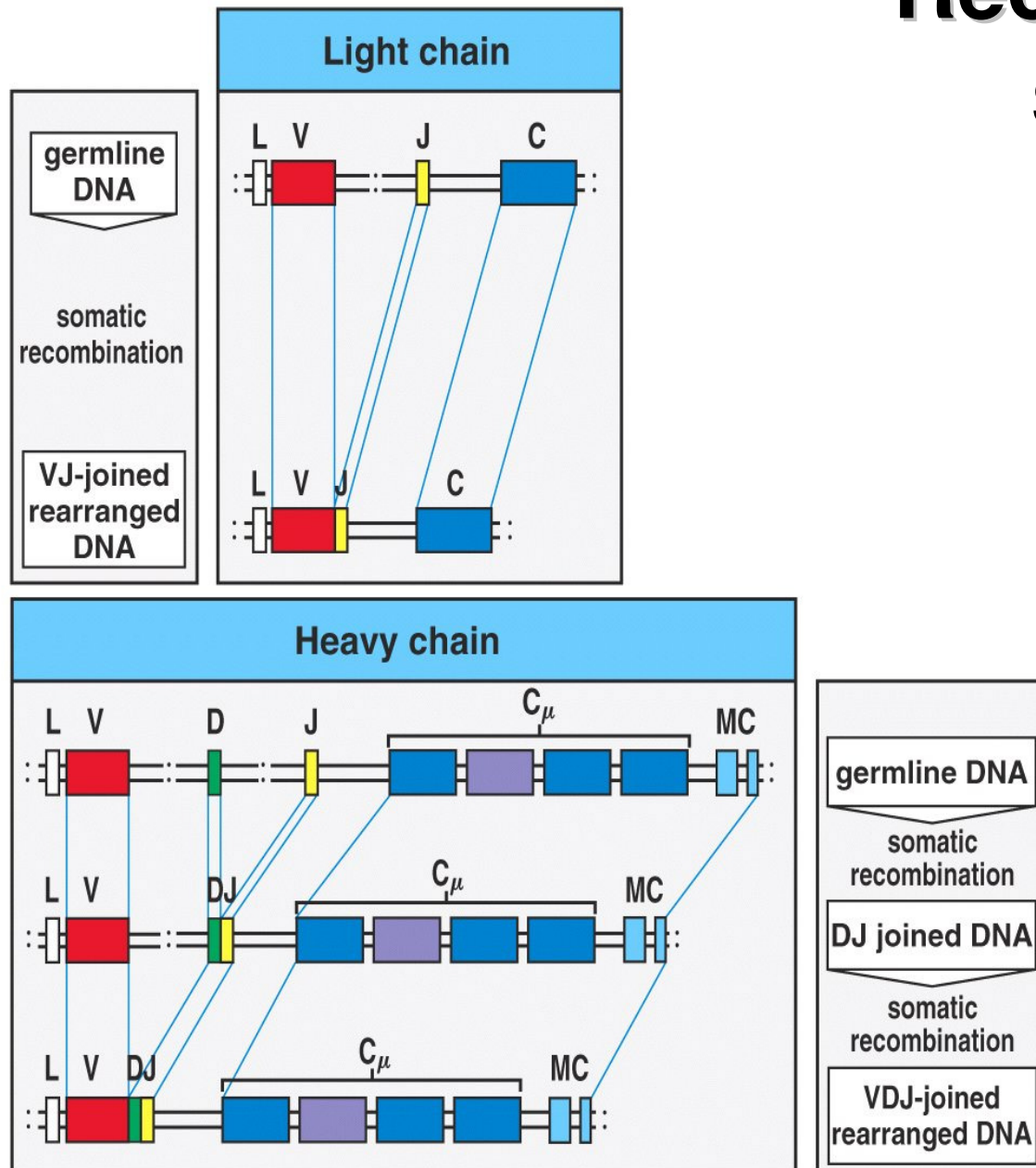


Figure 2-15 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

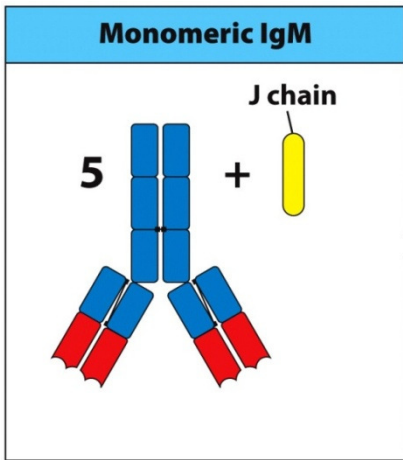
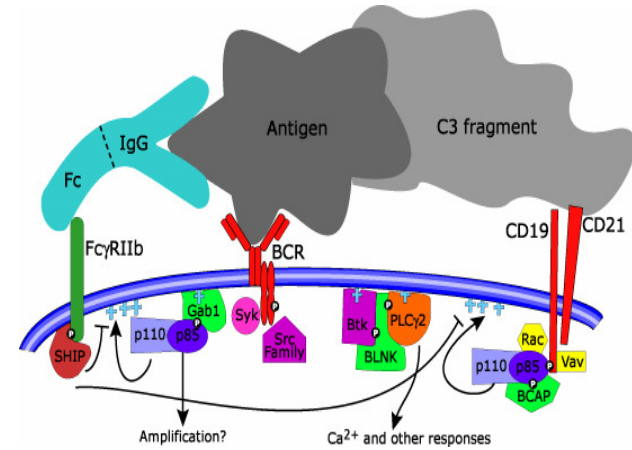
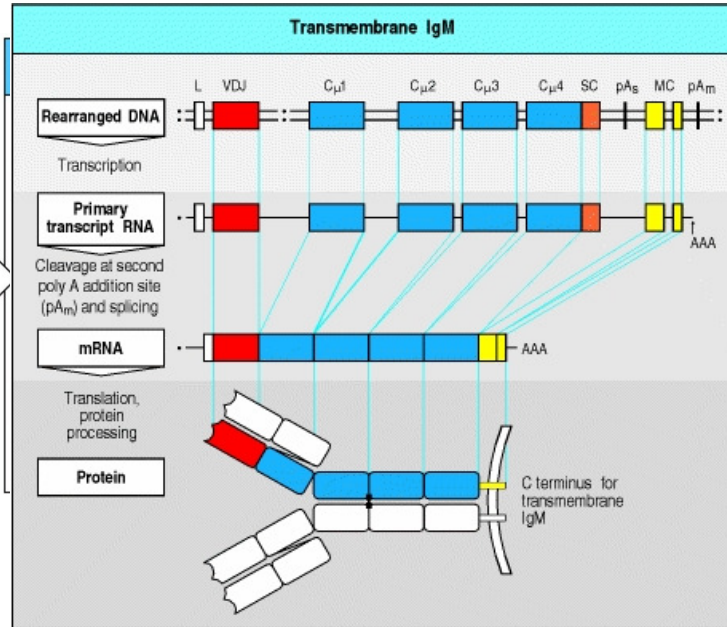
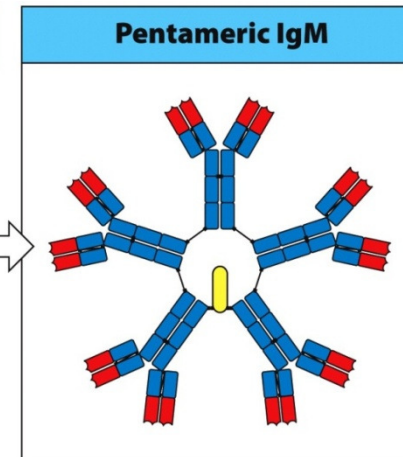
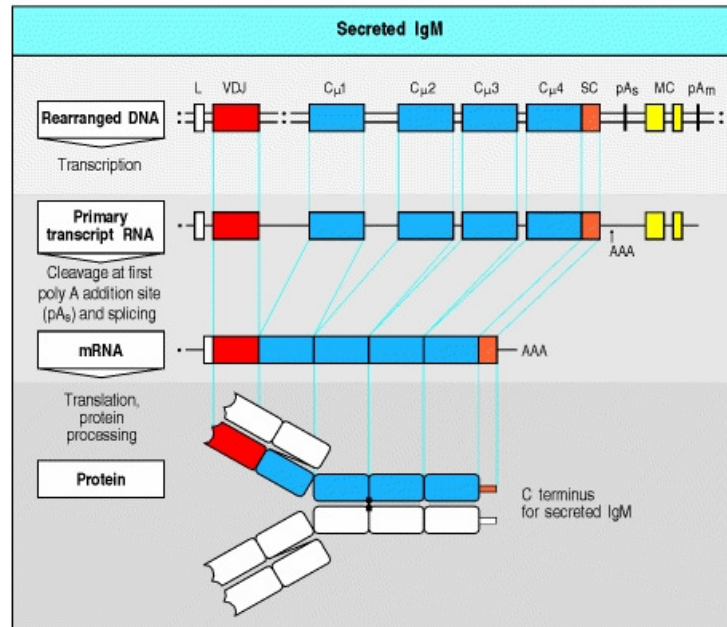


Figure 4.29 part 1 of 2 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)



INMUNOGLOBULIN A DE MEMBRANA VS SECRETADA



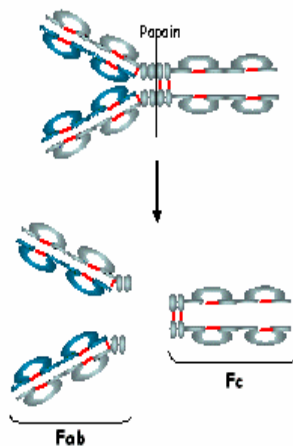
El tratamiento ENZIMÁTICO.....

Para conocer las funciones de los distintos fragmentos de las inmunoglobulinas.....



La **papaína** corta las cadenas pesadas de modo que se obtienen tres fragmentos peptídicos:

- **dos fragmentos F_{ab}** (el nombre procede de *fragment antigen binding*, fragmento ligante del antígeno; cada fragmento F_{ab} separado es aún capaz de unirse a una molécula de antígeno);
- **un solo fragmento F_c** (de *fragment crystallizable*), pues las dos cadenas pesadas se mantienen unidas gracias a enlaces d

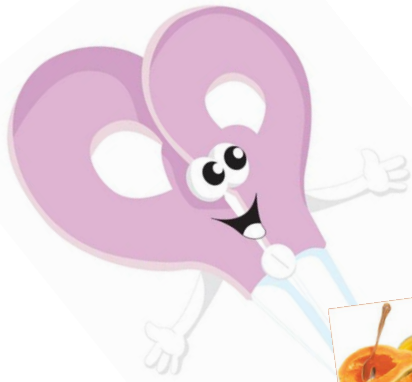


Esta enzima se extrae del jugo del fruto inmaduro de la papaya (*Carica papaya*).

Tiene aplicación:

- como ablandador de carne
- en medicina, como facilitador de la digestión
- para eliminar tejido muerto en heridas (llagas, úlceras, quemaduras, heridas quirúrgicas, quistes,...): mezclada con urea, en forma de pomada de uso tópico (marcas comerciales: Accuzyme, Ethezyme 830, Gladase, Kovia, Panafil, Ziox)
- para coagular la leche
- en la preparación de la lana
- en comida de mascotas, para reducir viscosidad y hacerla más apetecible
- como ingrediente en disoluciones de limpieza de lentes de contacto blandas





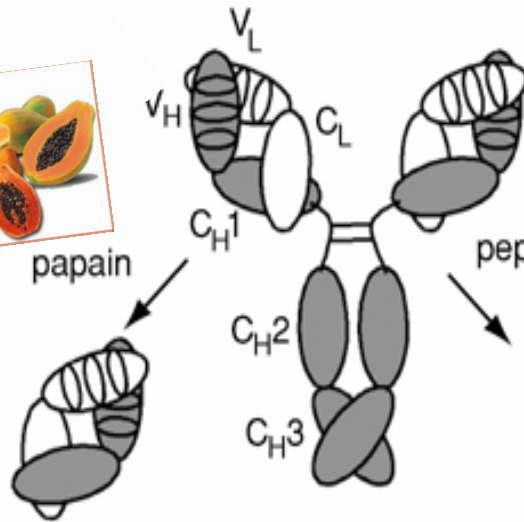
papain



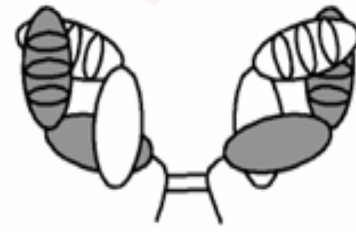
pepsin



b

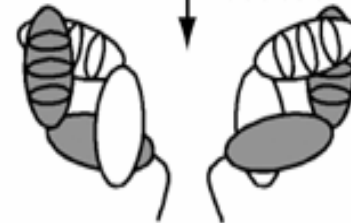


IgG1



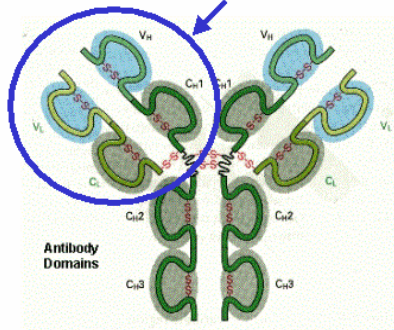
F(ab')₂

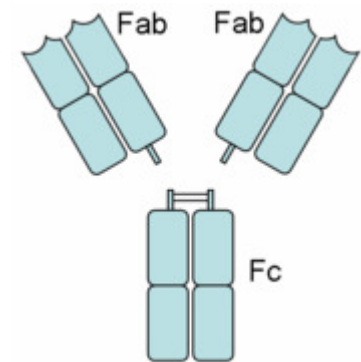
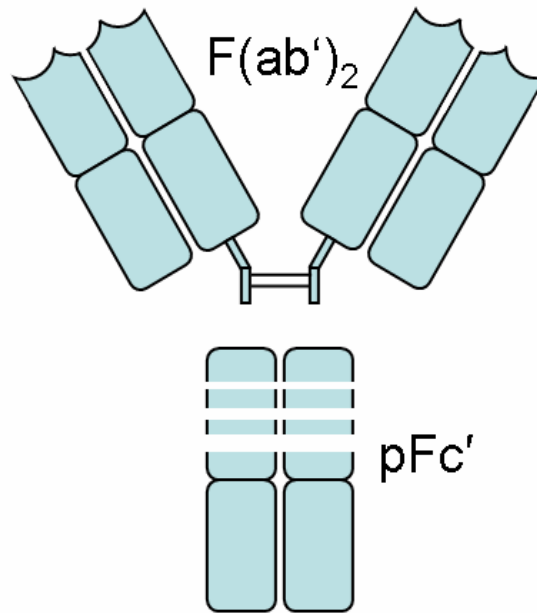
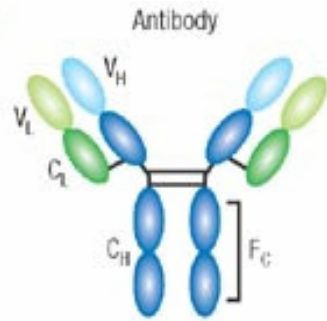
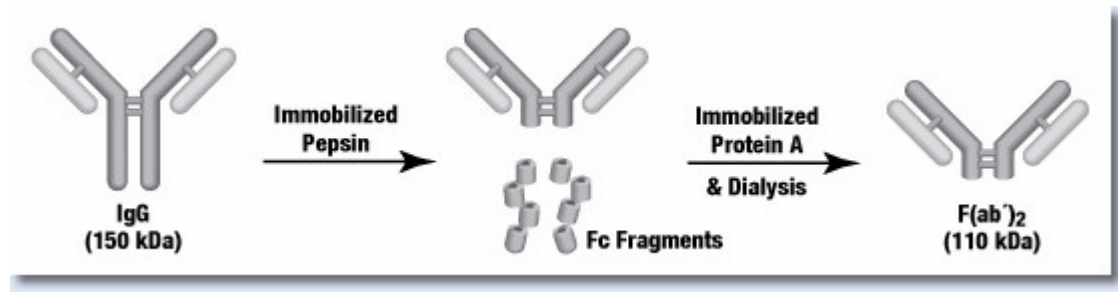
reduction



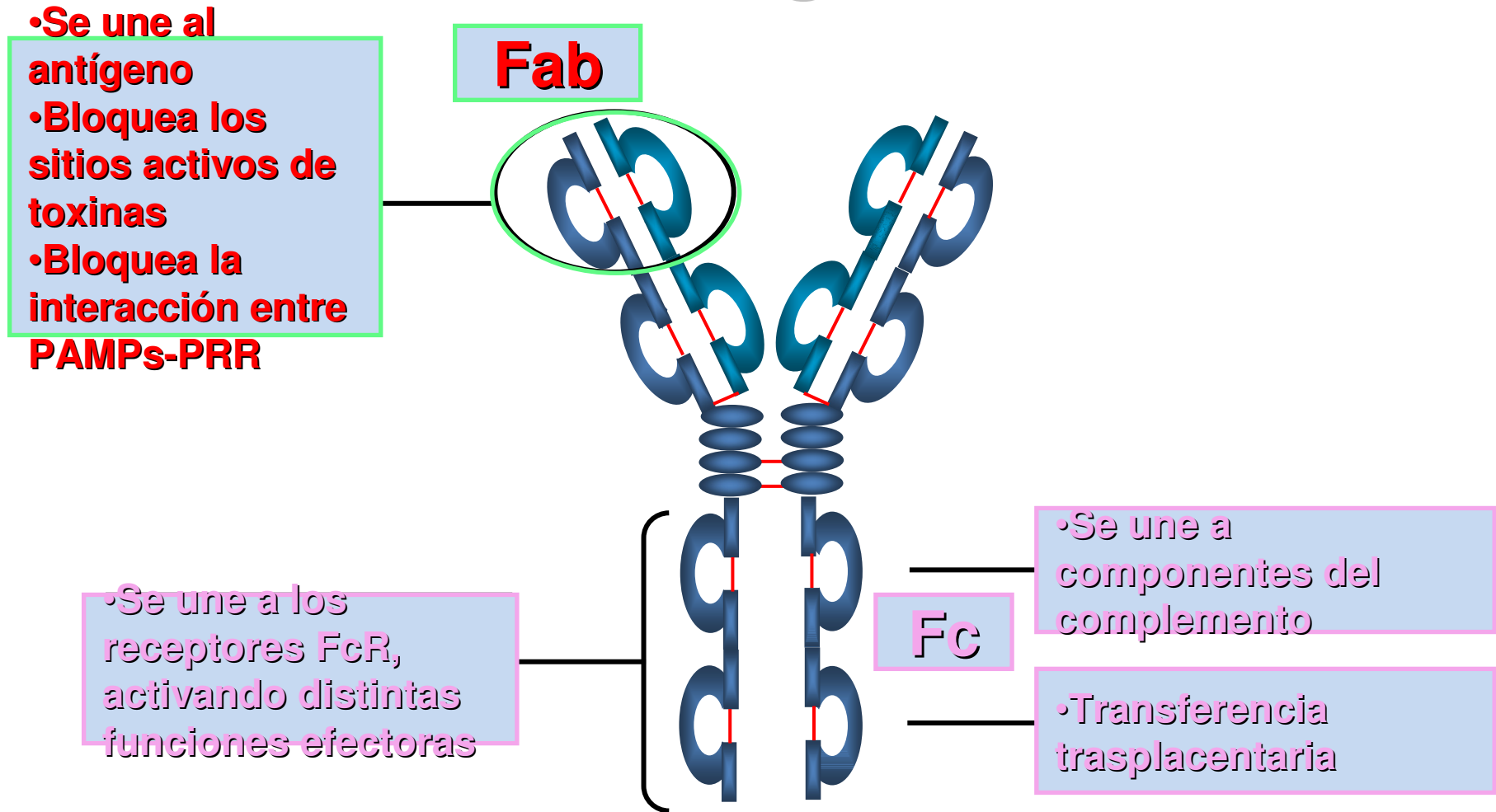
Fab'

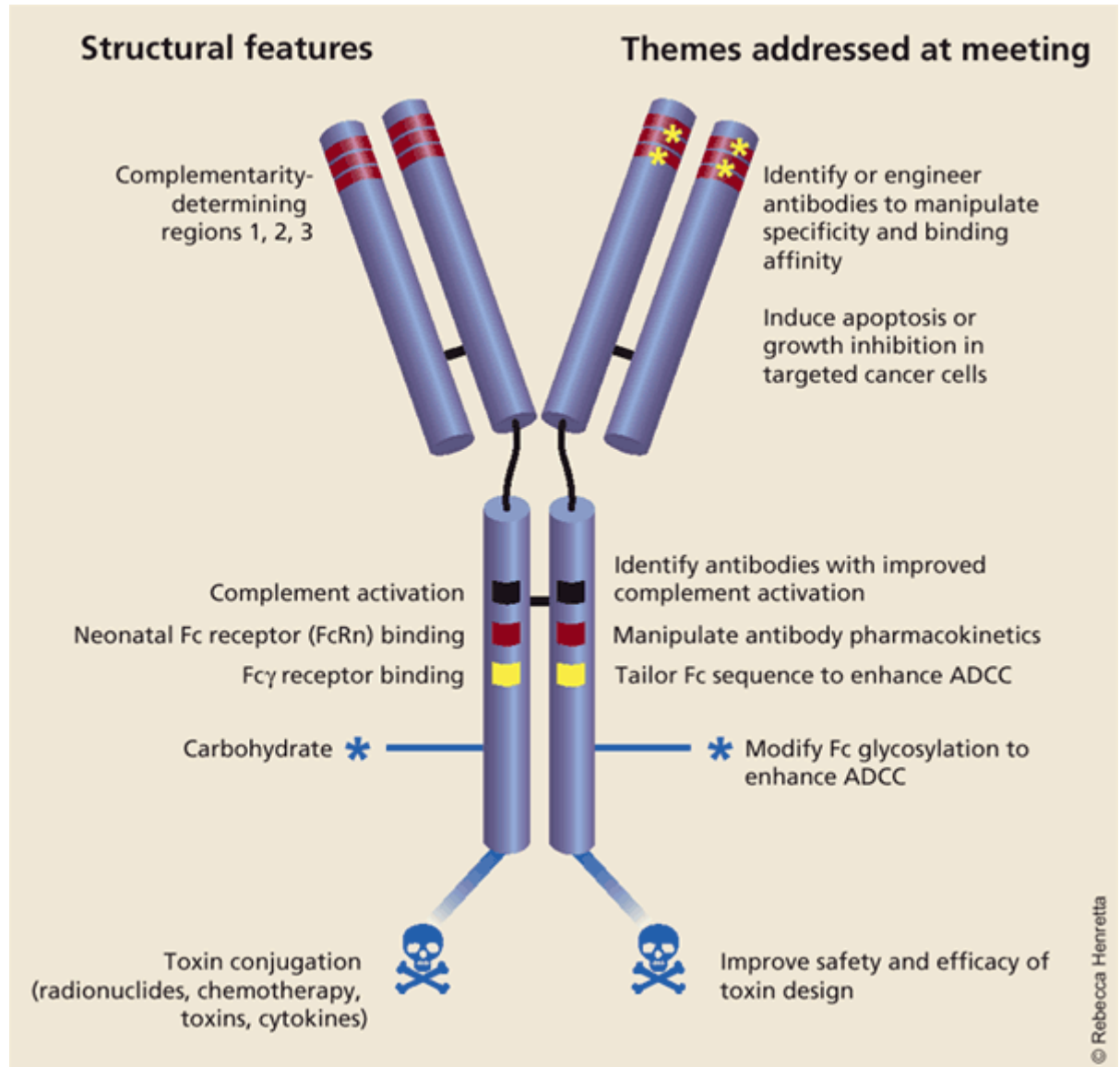
This is the Fab fragment



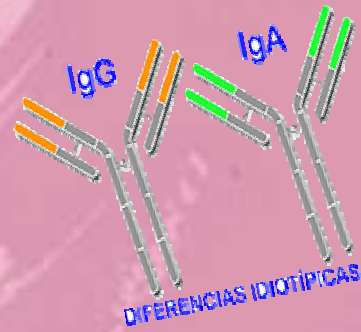
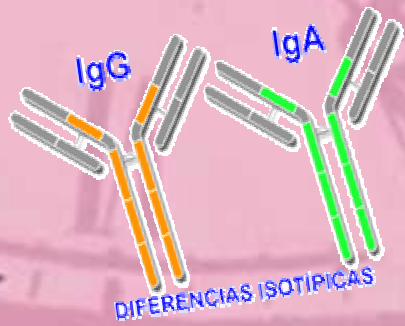


Función de los fragmentos de Ig

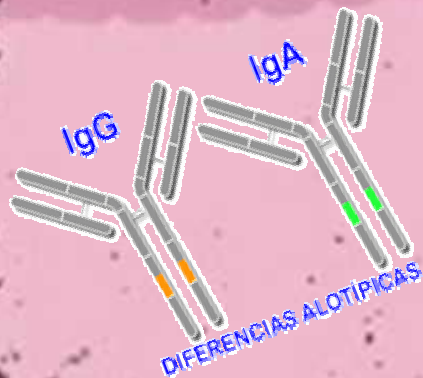






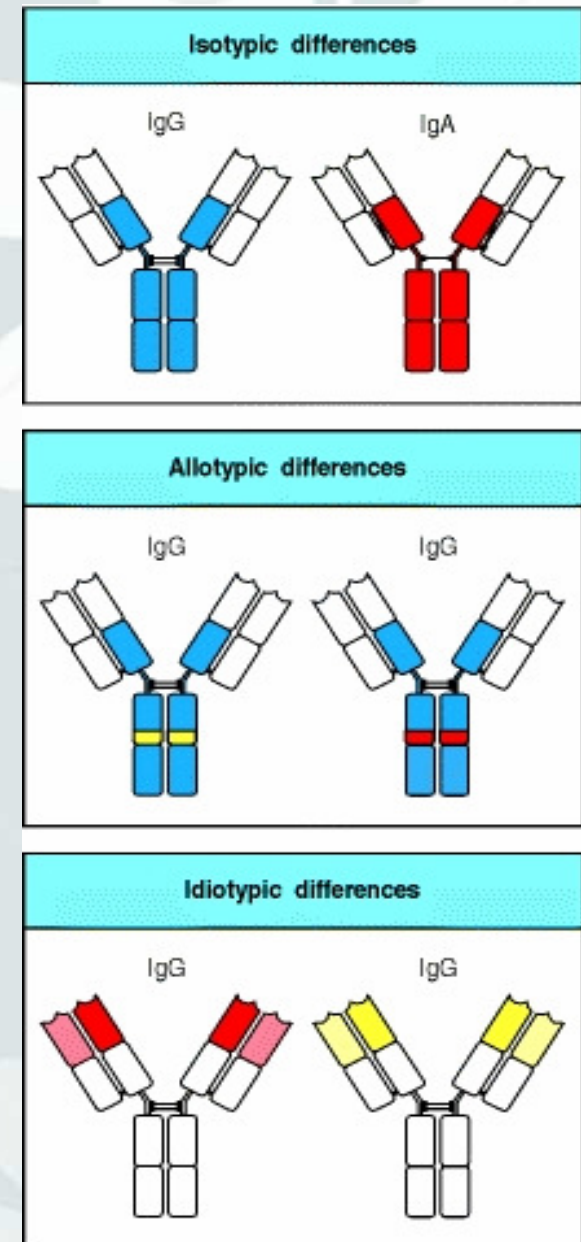


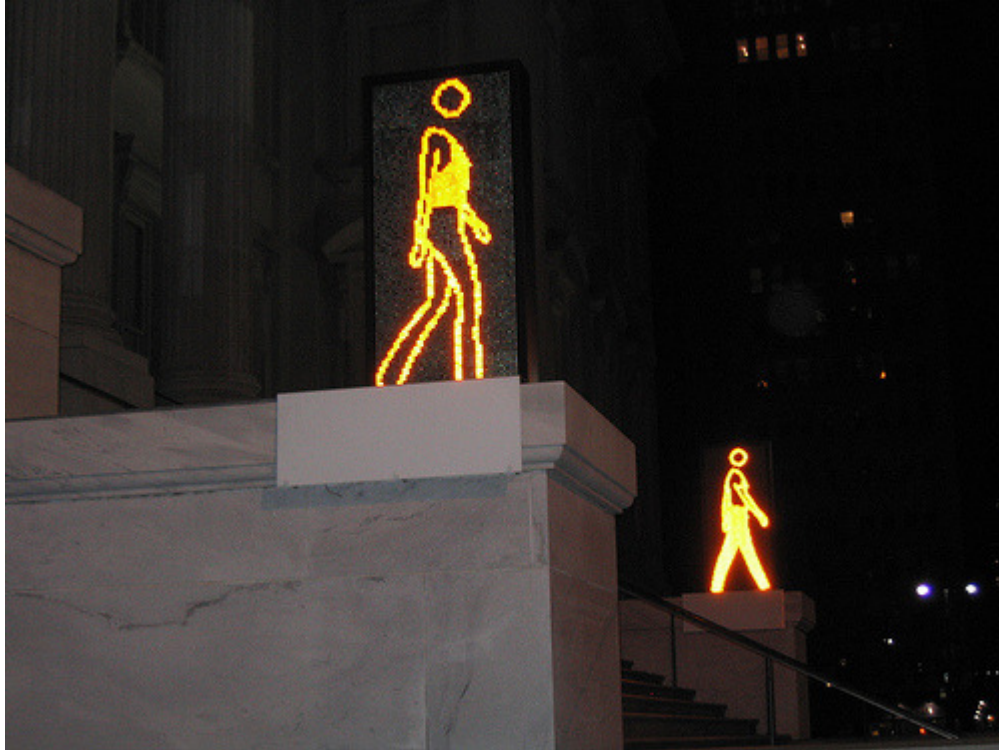
ISOTIPOS ALOTIPOS IDIOTIPOS





Variaciones estructurales....





Isotipos

Se denominan **isotipos** al conjunto de variantes de inmunoglobulinas comunes a todos los miembros sanos de una determinada especie

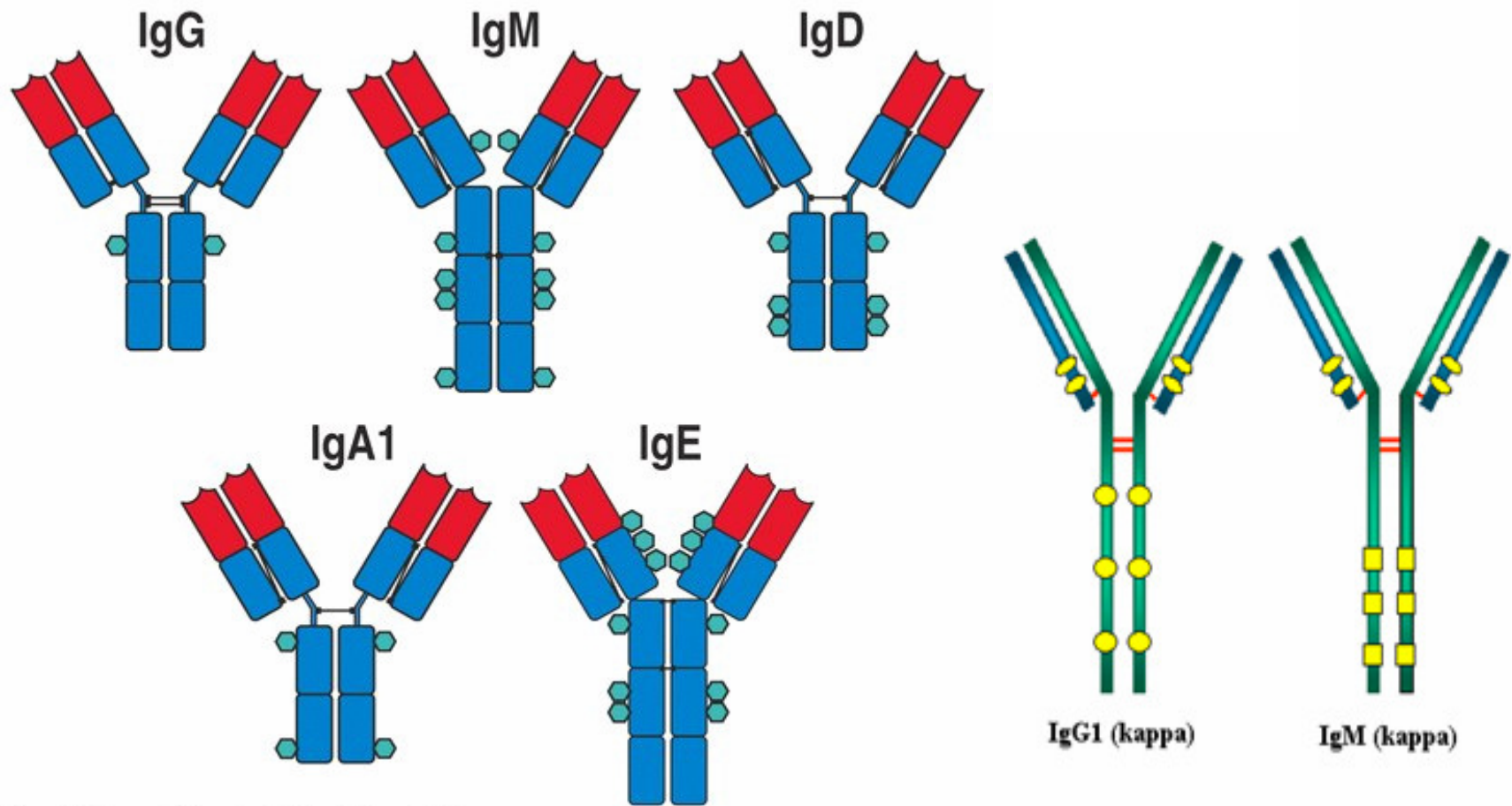
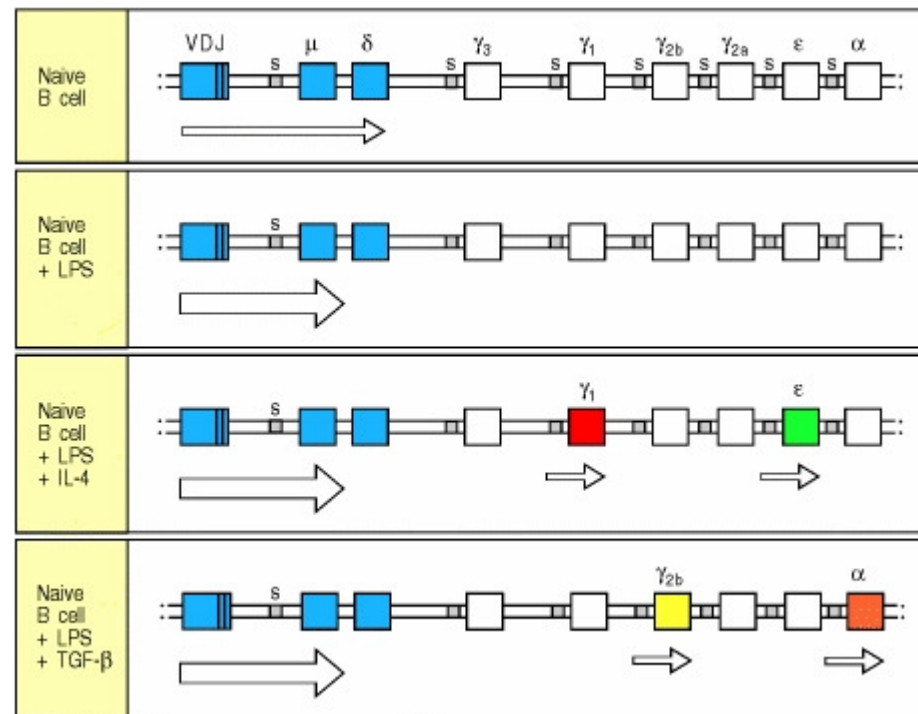


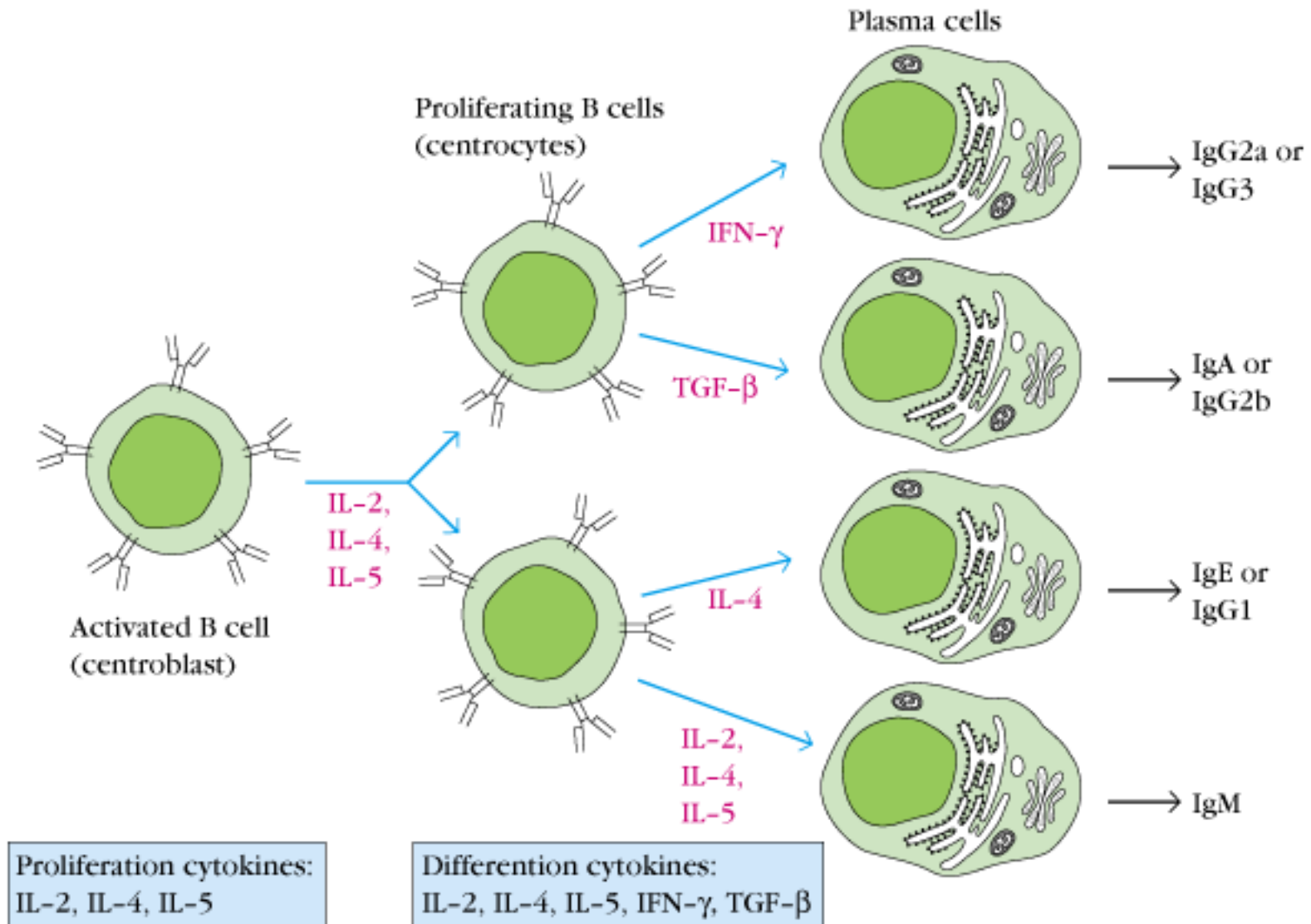
Figure 4-18 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Se denominan **isotipos** al conjunto de variantes de inmunoglobulinas comunes a todos los miembros sanos de una determinada especie

...inducen el cambio de isotipo



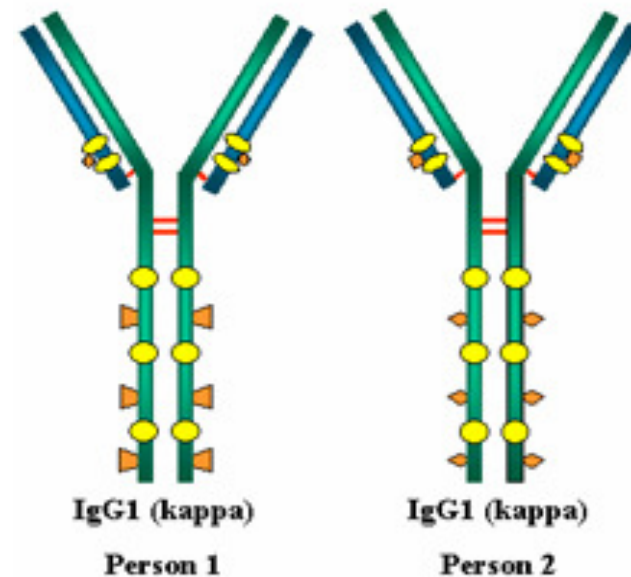
El cambio de isotipo depende de las citocinas secretadas por las Th



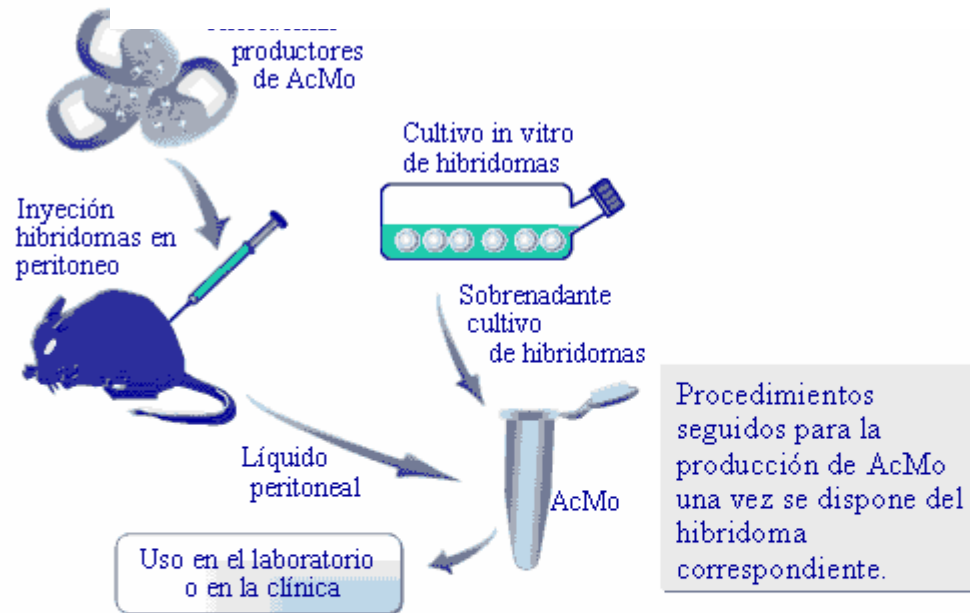


Los **alotipos** son el conjunto de variantes alélicas presentes en las poblaciones de una especie: individuos que para clase o subclase presentan una variante alélica distinta de otros individuos

Se deben a pequeñas diferencias que afectan a las regiones C_H y C_L



Las inmunoglobulinas, como proteínas que son, pueden actuar como antígenos. Esta propiedad se ha aprovechado para generar anticuerpos contra ellas, que posteriormente han sido utilizados como instrumentos para analizar su estructura y función. **Mediante el uso de los anticuerpos generados contra las inmunoglobulinas se ha podido detectar la existencia de variaciones en las mismas.**



Si inmunizamos un animal con inmunoglobulinas de otro animal de la misma especie obtendremos antisueros homólogos. **Estos antisueros homólogos pueden ir dirigidos contra las regiones constantes de las inmunoglobulinas, solo contra aquellas zonas que sean distintas entre ambos animales.**

Cadena ligera kappa y alotipos km

Diferencias en secuencia de aminoácidos en la cadena ligera kappa y alotipos km		
Alotipo	Posición del aminoácido	
	153	191
Km (1,2)	Alanina	Leucina
Km (3)	Alanina	Valina
Km (1)	Valina	Leucina

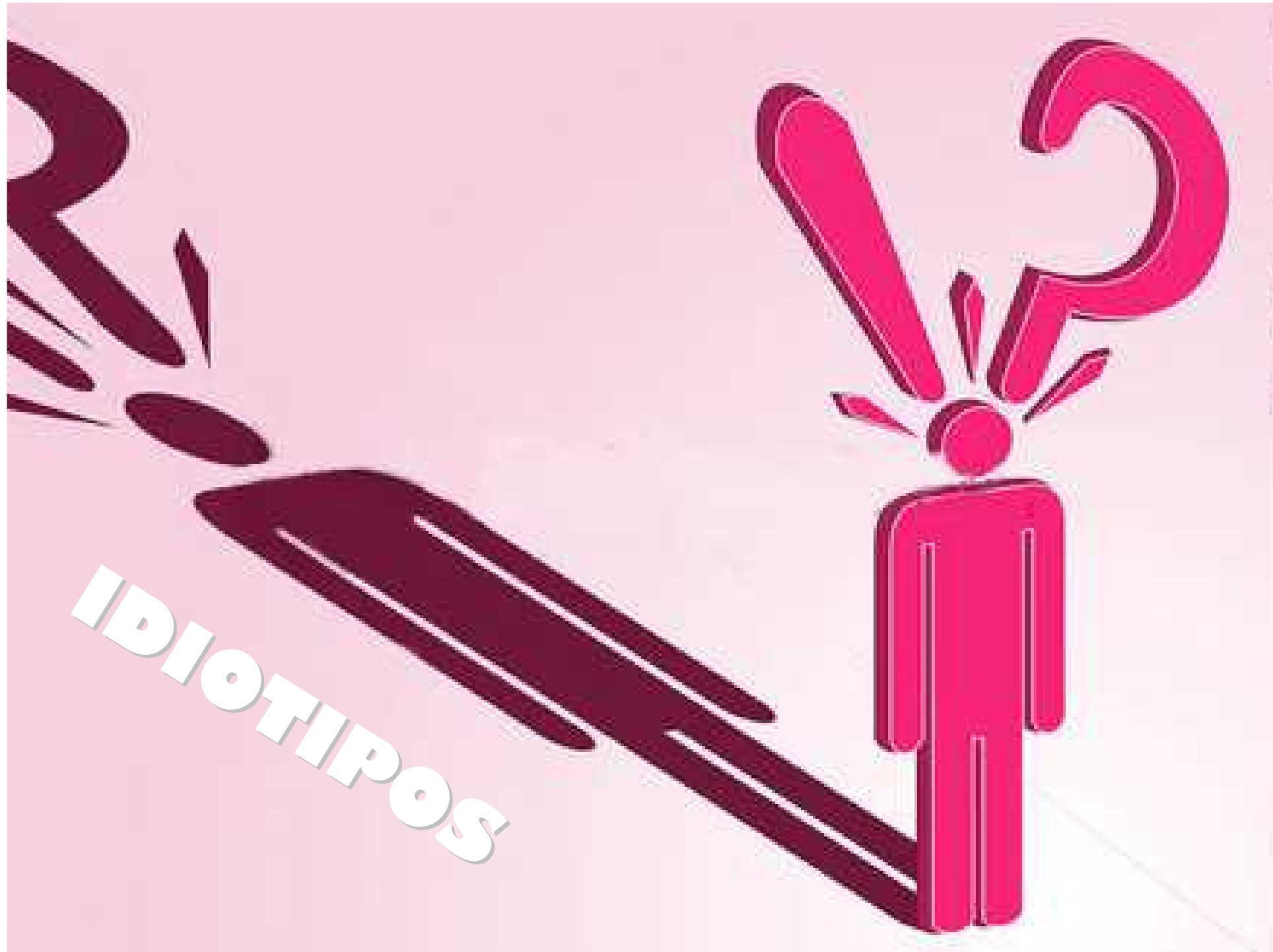
Los determinantes alotípicos o simplemente **alotipos**, se sitúan en la región constante de las cadenas pesadas y ligeras

Estas diferencias reflejan variaciones mínimas, a veces de un solo aminoácido debidas a diferencias en la secuencia de ADN de los genes que codifican para las inmunoglobulinas. Los genes que codifican para las inmunoglobulinas se heredan en forma de alelos mendelianos, por lo que a cada uno de este tipo de variante se le denomina variante alélica y al conjunto de variantes alélicas, se le denomina alotipo.

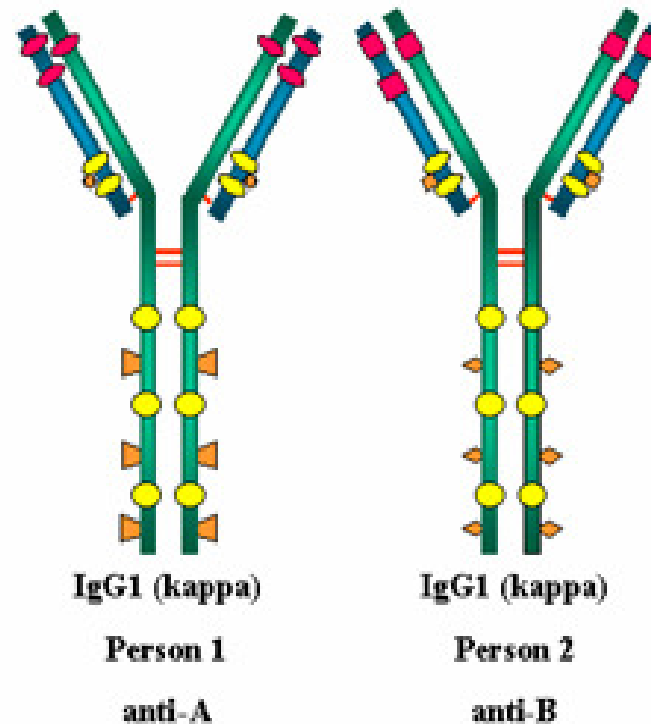
En el hombre se han descrito tres tipos de alotipos:

- **Gm en las cadenas γ de las IgG.**
- **Am en las cadenas α de las IgA.**
- **Km en las cadenas ligeras κ que dan lugar a tres alotipos: Km (1'2), Km (1) y Km (3).**

IDIOTIPOS



- Los **idiotipos** son el conjunto de variantes antigénicas características de cada anticuerpo de un mismo individuo, **debidas a las secuencias de aminoácidos de las porciones V_H y V_L**
- A su vez, cada uno de los determinantes características de un anticuerpo concreto se denomina **idiotopo**
- Los Ac producidos por un determinado clon de linfocitos B y las células plasmáticas derivadas de





ANTÍGEN
○



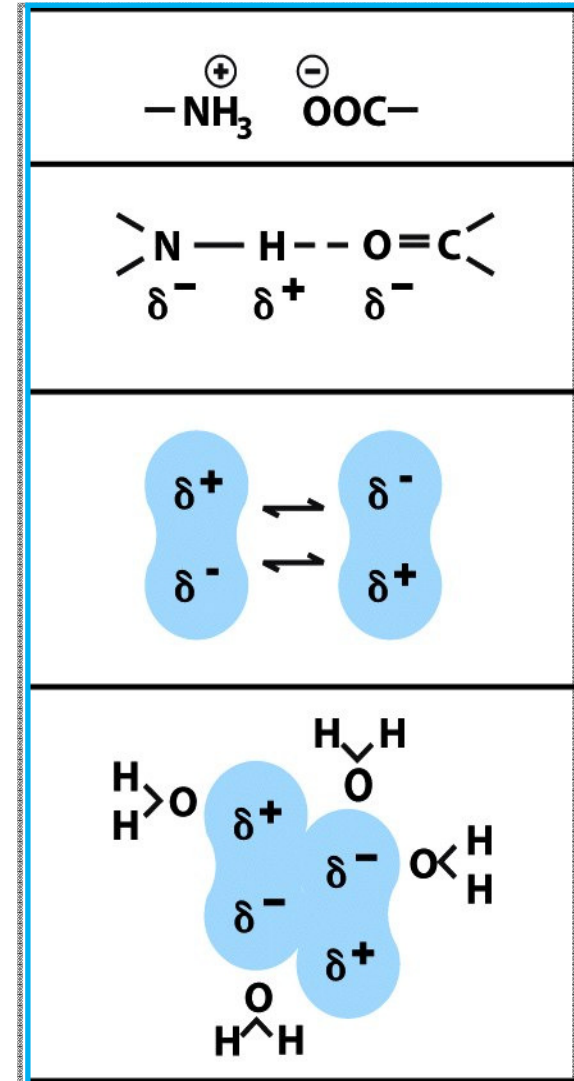
ANTICUERP
○

Enlaces que intervienen en la unión ANTÍGENO- ANTICUERPO:

- No son covalentes. Son cuatro tipos:

- Electrostáticos:** Entre grupos iónicos (NH_3^+ y $-\text{COO}^-$) de proteínas distintas.
- Puentes de hidrógeno** entre grupos polares hidrofílicos ($-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$).
- De van der Waals:** Fuerzas intermoleculares débiles de origen eléctrico que se ejercen a distancia entre moléculas.
- Hidrofóbicos:** Grupos No polares hidrofobos en medio acuoso (cadenas laterales de algunos AA.)

- Las fuerzas de unión de cada uno de ellos son menores que en los covalentes, pero en **conjunto** consiguen una **considerable energía**



- La interacción entre antígeno y anticuerpo se estabiliza mediante enlaces débiles, como puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals e interacciones electrostáticas e hidrofóbicas. La suma de todos estos enlaces genera una interacción estable entre el lugar de unión del anticuerpo (**paratopo**) y el lugar de unión del antígeno (**epítopo**). Estas fuerzas son inversamente proporcionales a una potencia de la distancia entre los grupos interactuantes, lo que implica que epítopo y paratopo deben presentar estructuras complementarias para obtener una energía de unión suficiente como para resistir la disrupción termodinámica. La suma de estas fuerzas de atracción y de repulsión se conoce como **afinidad** del anticuerpo.
- Los anticuerpos son moléculas multivalentes en su interacción con el antígeno. Las moléculas de inmunoglobulina presentan un máximo de 10 (IgM) y un mínimo de 2 brazos de unión con el antígeno. En el caso de que este último también sea multivalente, presentará un mínimo de dos puntos de anclaje para el anticuerpo correspondiente. Esta interacción multivalente entre antígeno y anticuerpo permite introducir el concepto de **avidez** o **afinidad funcional**

Interacción antígeno-anticuerpo

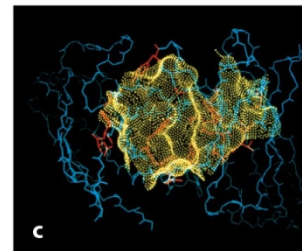
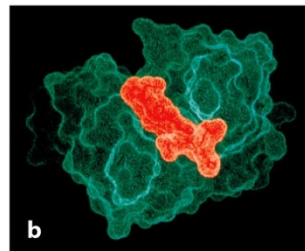
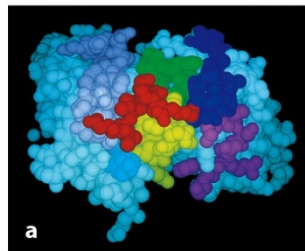
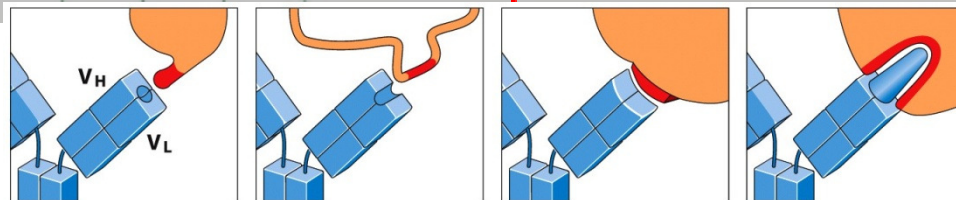
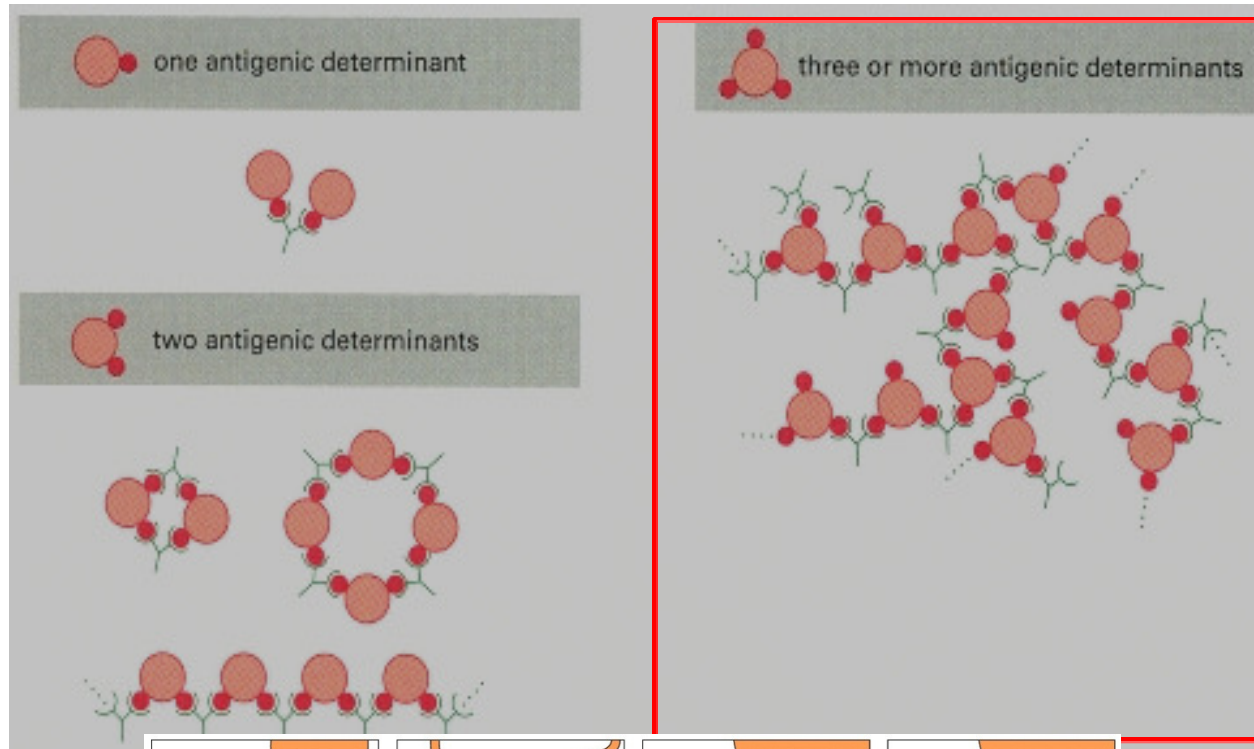
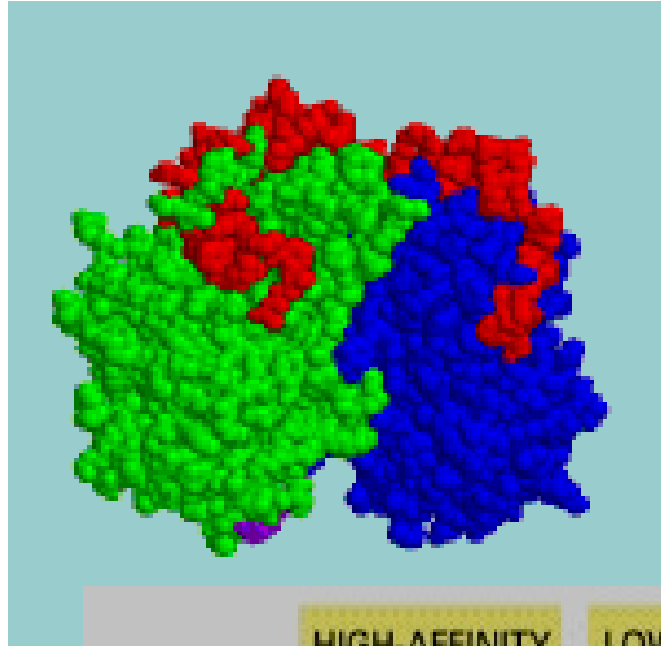
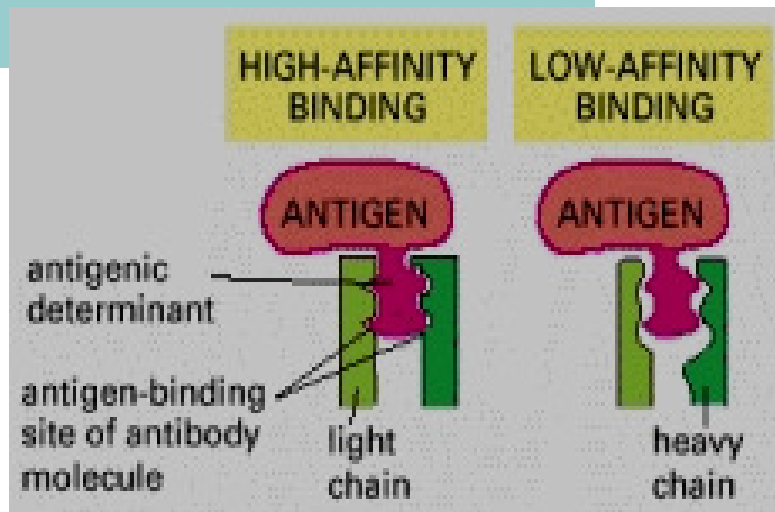


Figure 4.11 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

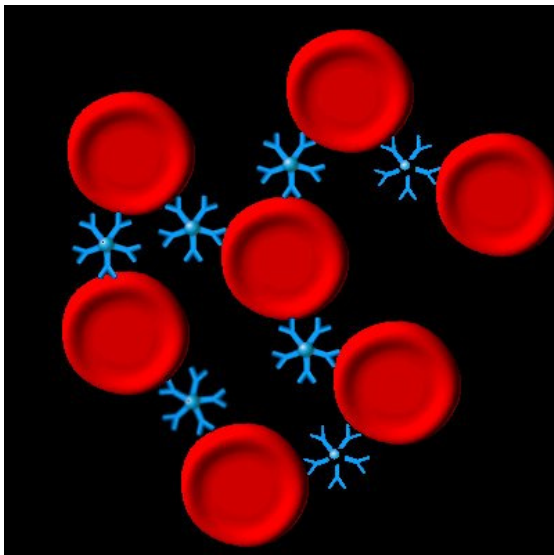
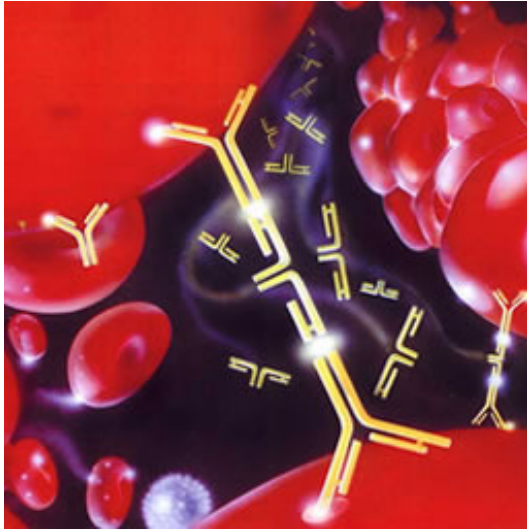
AFINIDAD DEL ANTICUERPOS



- La **AFINIDAD** de un anticuerpo describe la fuerza de unión de una copia simple del determinante antigénico a un simple sitio de unión del antígeno y es independiente del número de sitios....



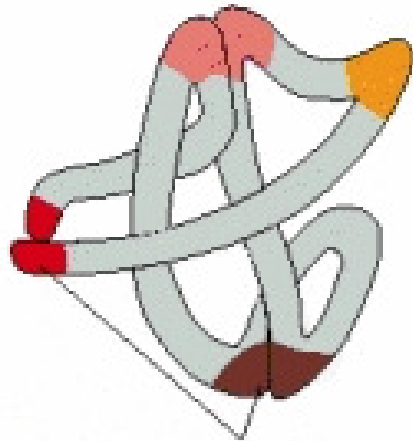
DEL ANTICUERPO



- Es una medida de la fuerza de unión y estabilidad del complejo:
Antígeno multivalente – Anticuerpo multivalente.
- **Anticuerpos multivalentes:**
Tienen más de un punto de unión para Antígenos.
- **Antígenos multivalentes:**
Tienen varios determinantes antigénicos (más de un punto de unión para los Ac).
- **La fuerza de unión es mayor que la suma de las afinidades de cada uno de los puntos de unión**

Los anticuerpos están dirigidos contra los determinantes antigénicos.....

(A)



multiple **different** antigenic determinants
(a multivalent antigen)

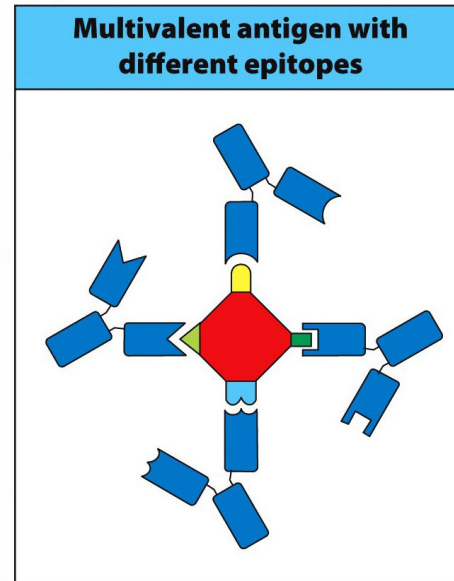
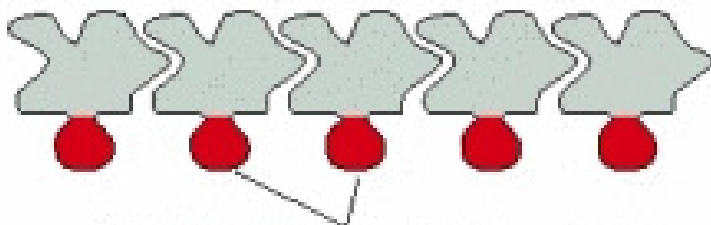


Figure 4.10 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Una molécula típica de IgG puede unirse con una fuerza 100 veces superior a un antígeno polivalente si sus dos sitios de combinación son funcionales.....

LA FUERZA TOTAL DE UNIÓN DE UN ANTICUERPO POLIVALENTE CON UN ANTIGENO POLIVALENTE SE DENOMINA AVIDEZ DE LA INTERACCIÓN.....

(B)



multiple **identical** antigenic determinants
(a polyvalent antigen)

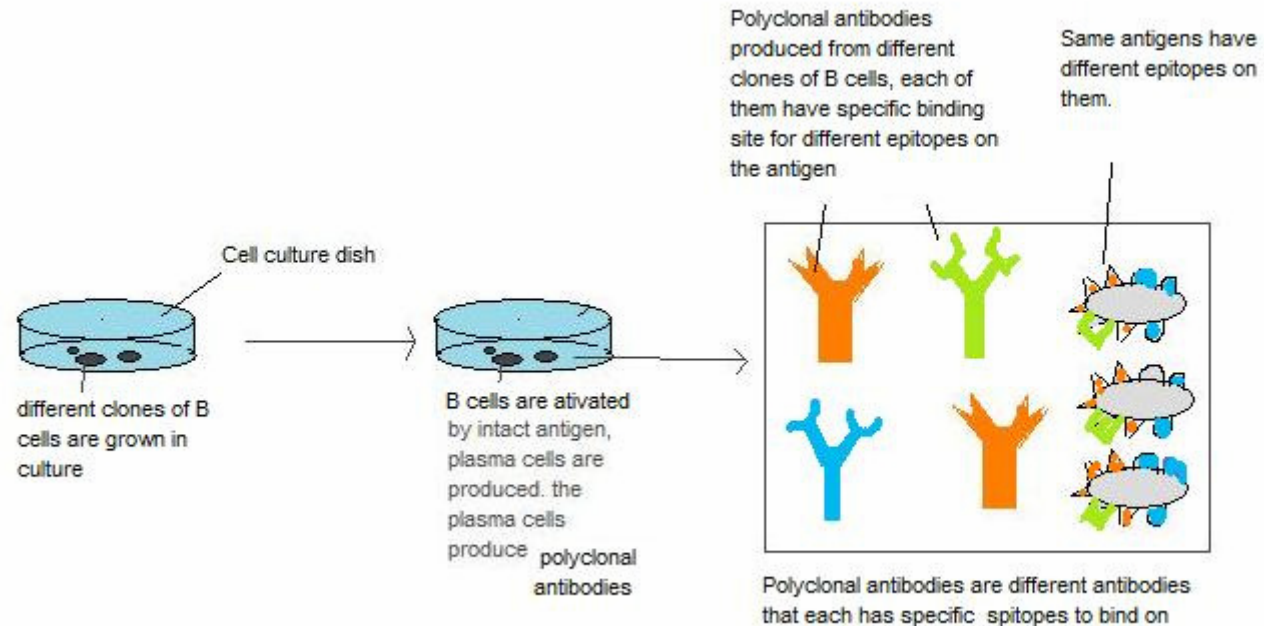
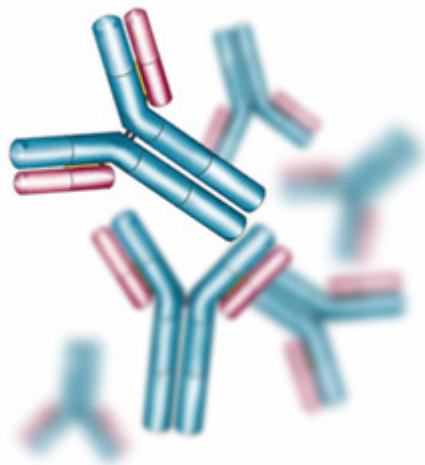
A vintage television set is shown against a perforated metal background. The screen displays a white rounded rectangle with the text 'RECORDEMO' in red, bold, uppercase letters, and 'S.....' in red, bold, uppercase letters below it. The television has two large circular dials on the right side of its front panel. The top dial has markings for 'OFF', '1', '2', '3', '4', '5', '6', '7', '8', '9', '10', '11', '12', '13', '14', '15', '16', '17', '18', '19', '20', '21', '22', '23', '24', '25', '26', '27', '28', '29', '30', '31', '32', '33', '34', '35', '36', '37', '38', '39', '40', '41', '42', '43', '44', '45', '46', '47', '48', '49', '50'. The bottom dial has markings for 'OFF', '1', '2', '3', '4', '5', '6', '7', '8', '9', '10', '11', '12', '13', '14', '15', '16', '17', '18', '19', '20', '21', '22', '23', '24', '25', '26', '27', '28', '29', '30', '31', '32', '33', '34', '35', '36', '37', '38', '39', '40', '41', '42', '43', '44', '45', '46', '47', '48', '49', '50'.

RECORDEMO
S.....

- Si la afinidad de los sitios de combinación de una molécula de IgG e IgM son iguales, la IgM (con 10 sitios de combinación) tendrá mayor avidéz por un antígeno multivalente que una molécula de IgG (con 2 sitios de combinación).
- **Esta diferencia de avidéz, a menudo 10^4 veces mayor o más, es importante....**
- **...porque los anticuerpos producidos en la respuesta inmune innata tienen mucho menor afinidad que los producidos más tarde.**
- **Debido a su avidéz total, la IgM producida precozmente en la respuesta inmune, puede funcionar efectivamente aún cuando cada sitio de**



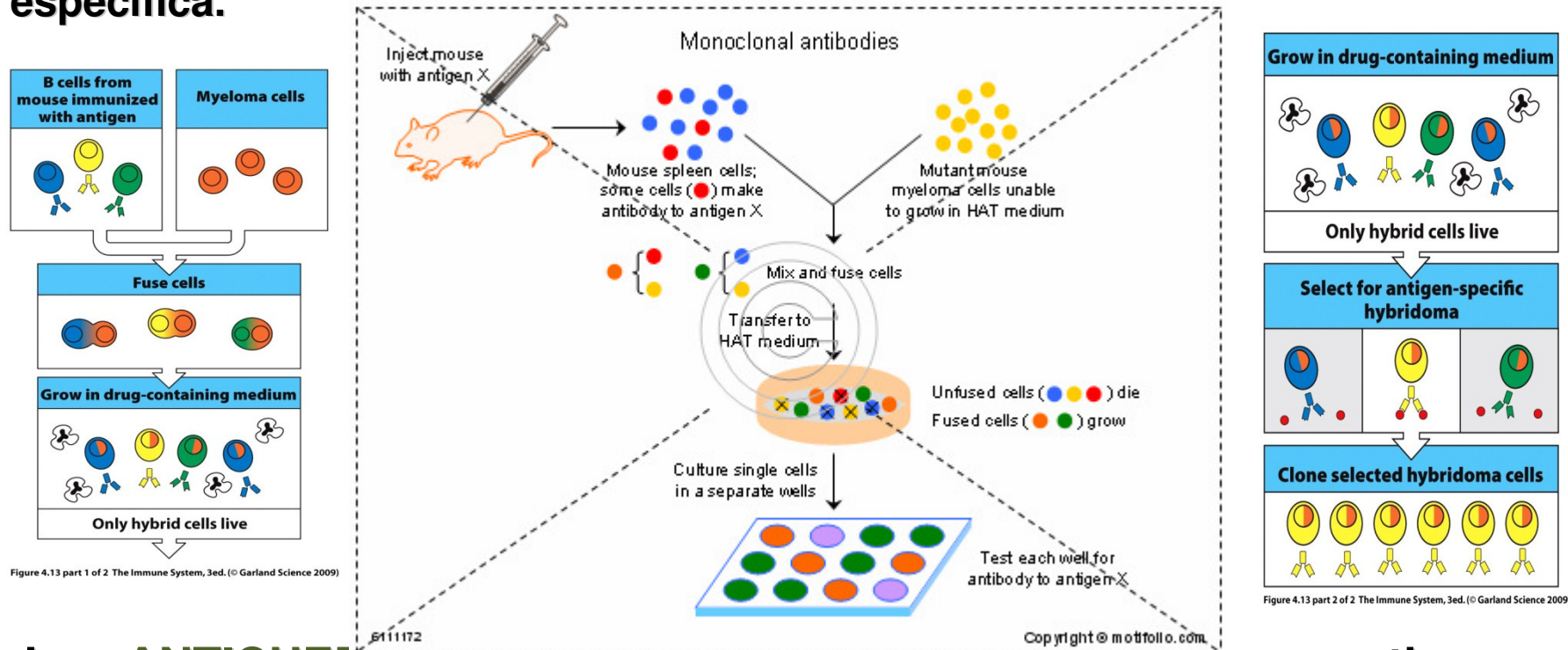
**ANTICUERPOS
POLICLONALES VS
MONOCLONALES...**



Como consecuencia de esta heterogénea respuesta, el suero de un animal inmunizado contendrá numerosos clones de anticuerpos específicos de un antígeno, potencialmente de diferentes clases y subclases de Ig comprendiendo sobre el 2-5% del total de Ig: se llama anticuerpo policlonal.

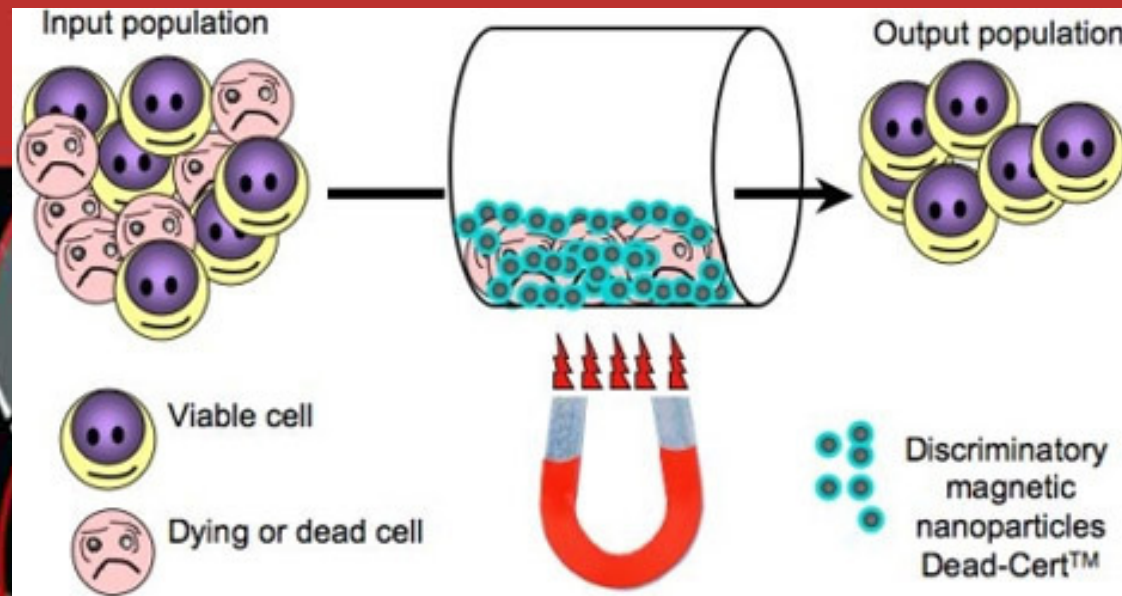
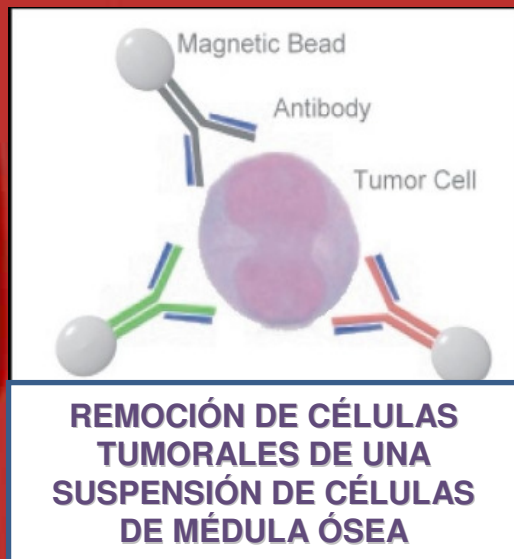
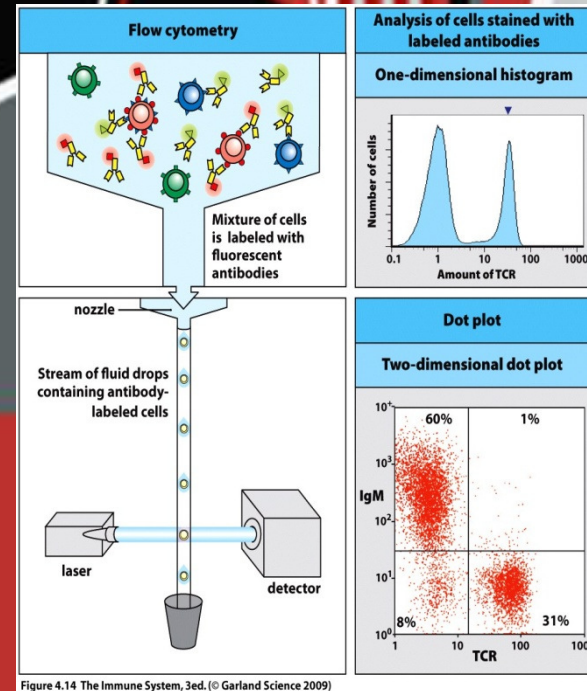
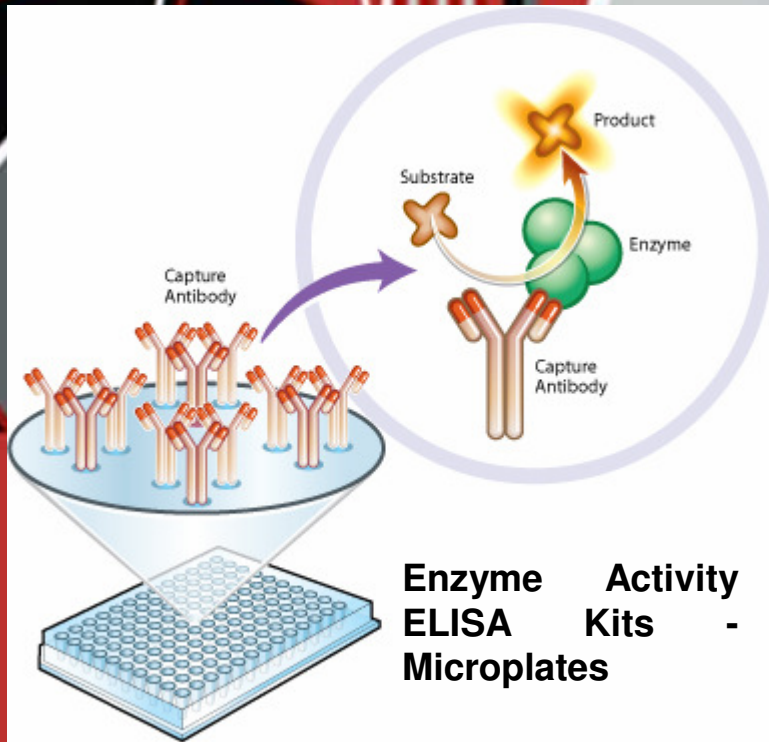
Los anticuerpos policlonales son específicamente útiles como anticuerpos secundarios marcados en inmunoensayos.

Si un linfocito B individual produce y secreta solo una molécula de anticuerpo específica, los clones de linfocitos B producen **anticuerpos monoclonales**. Todos los anticuerpos secretados por un clon de célula B son idénticos, **proveen una fuente de anticuerpos homogéneos con una especificidad definida y específica**.



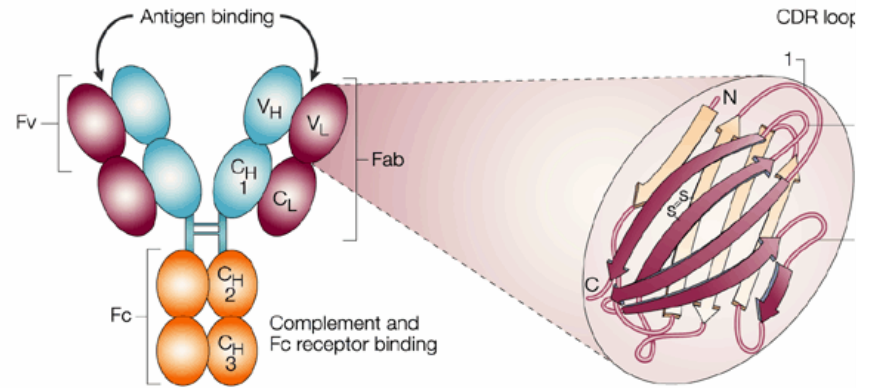
Los **ANTICUERPOS MONOCLONALES** son usados como anticuerpos primarios en aplicaciones que requieren **ESPECIFICIDAD A UN SOLO EPITOPE**.

Los clones de hibridoma se pueden hacer crecer en cultivos celulares para recoger los monoclonales en el sobrenadante o crecerlos en la cavidad peritoneal de un ratón para recolectarlo del fluido ascítico.



ANTICUERPOS

USO TERAPEÚTICO



Nature Reviews | Drug Discovery

Inmunodeficiencias



¿Qué es la gammaglobulina? Gammaglobulina “exógena”

- **Aislamiento de Inmunoglobulinas de grandes cantidades (4000 – 50000 L) de plasma**
- **OMS: >1000 donantes (1000-10000)**
- **IgG (90%); albúmina, IgA, IgE, IgM**
- **IgG monomérica (3% polimérica)**

Table 1. Immunoglobulin preparations: Standard preparation of IVIG available in the US.

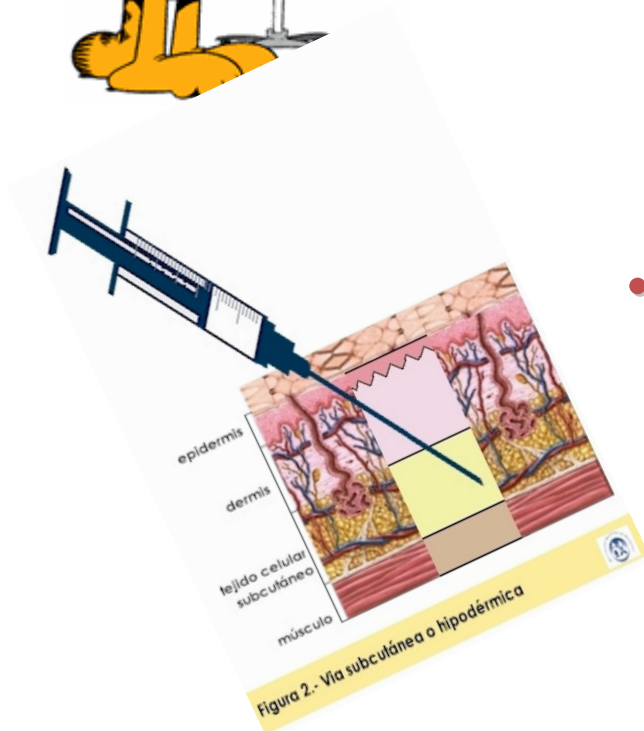
Brand name	Provided by	IgA ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Viral inactivation or removal	Sugar	Indications ^a	pH
Flebo- gamma 5%	Grifols	<50	Pasteurization, PEG	5% sorbitol	1	5.0–6.0
Gammagard S/D 5% and 10% Poly- gam S/D 5% and 10%	Baxter/ Hyland American Red Cross	<2 in 5% solution	Ultrafiltration, chromatograph, solvent/detergent	40 mg/mL glucose in 10% sol- ution	1, 2, 3, 6	6.4–7.2
Gammar P-IV 5%	Aventis/ Behring	<25	Pasteurization, post-heating precipitation	50 mg/mL sucrose	1	6.4–7.2
Gamunex 10%	Bayer	46	Caprylate, chromatography pH 4.25	None	1, 2	4.0–4.5
Iveegam 5%	Immuno- USA	<10	Immobilized trypsin, PEG, chromatography	50 mg/mL glucose	1, 3	6.4–7.2
Carimmune 3% to 12% ^b Panglobulin 5% and 10% ^b	ZLB Bioplasma American Red Cross	720	Pepsin/pH 4, nanofiltration	1.67 g sucrose/g protein	1, 2	6.4–7.2
Gamimune N S/D 5% and 10% ^b	Miles/Bayer	270	Filtration, pH 4.25 low salt, solvent/ detergent	10% mal- tose in 5% solution	1, 2, 4, 5	
Venoglobu- lin-S 5% and 10% ^b	Alpha therapeutic	15 in 5% solution	PEG/bentonite, solvent/detergent	5% sorbitol	1, 2, 3	

Tipos de gammaglobulina



- Preparaciones de gammaglobulinas para administración IV / SC / IM

- Gammaglobulinas hiperinmunes: hepatitis B, varicela, rabia, tétanos, botulismo, CMV...



Indicaciones de gammaglobulina

- **Bruton O. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952; 9:722-727**
- **Imbach P, Barandun S, D'Apuzzo V et al. High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *Lancet* 1981; 1(8232):1228-1231**



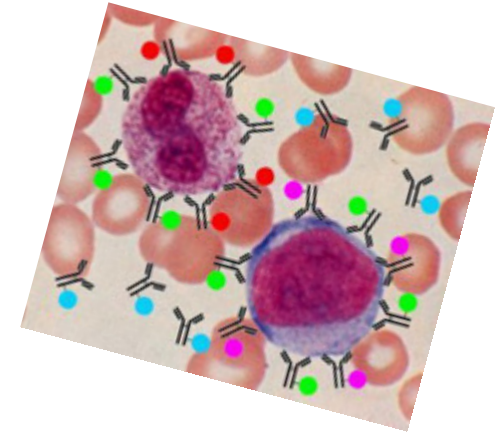
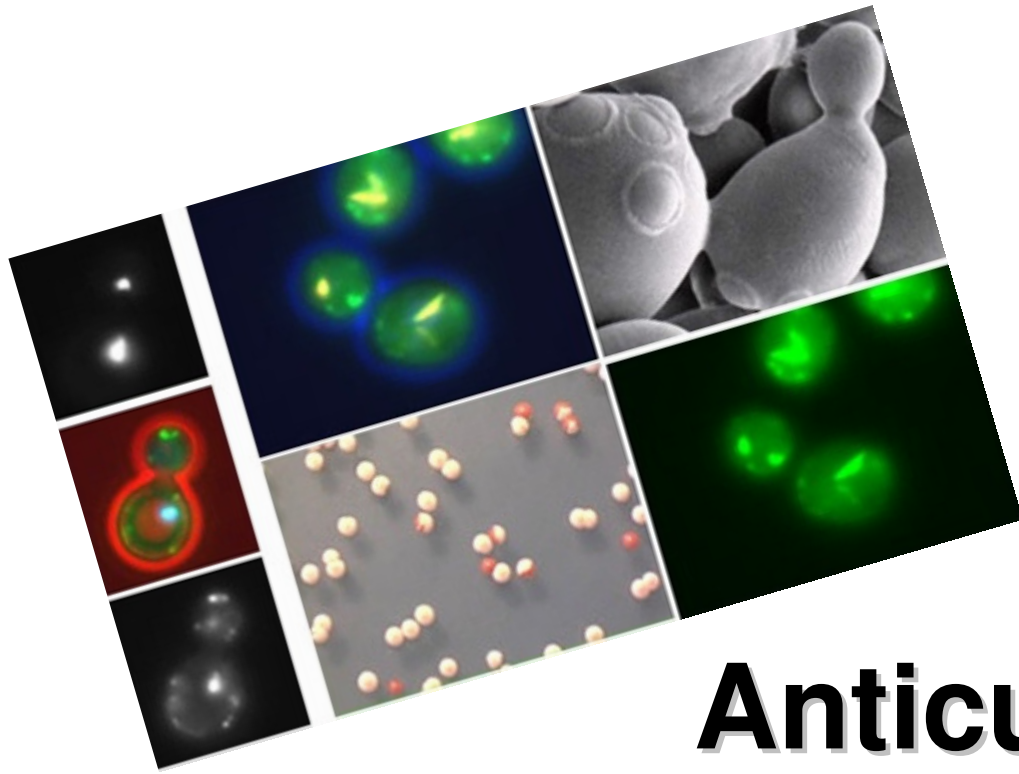
Uso de la gammaglobulina

- **Sustitutivo:**
 - Inmunodeficiencias Primarias
 - Inmunodeficiencias Secundarias

- **Anti-inflamatorio / inmunomodulador:**
 - Enfermedades autoinmunes
 - Enfermedades inflamatorias

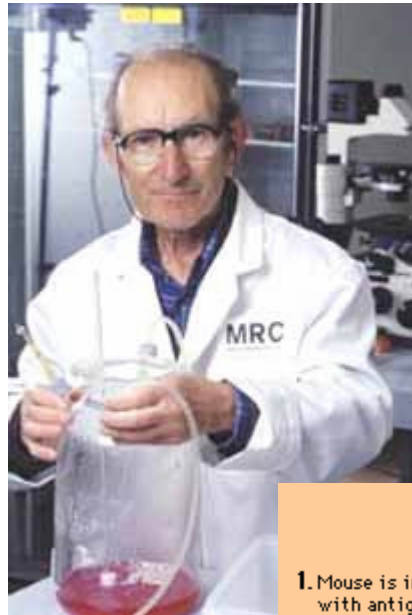
Indicaciones clínicas FDA (Food and Drug Administration)

- 1. Inmunodeficiencias primarias**
- 2. Prevención de infecciones bacterianas en LLC-B e hipogammaglobulinemia**
- 3. Prevención de aneurismas coronarios en enfermedad de Kawasaki**
- 4. TMO: prevención de infecciones, pneumonitis y GVHD**
- 5. Prevención de infecciones bacterianas en niños con HIV**
- 6. Púrpura Trombocitopénica Idiopática**

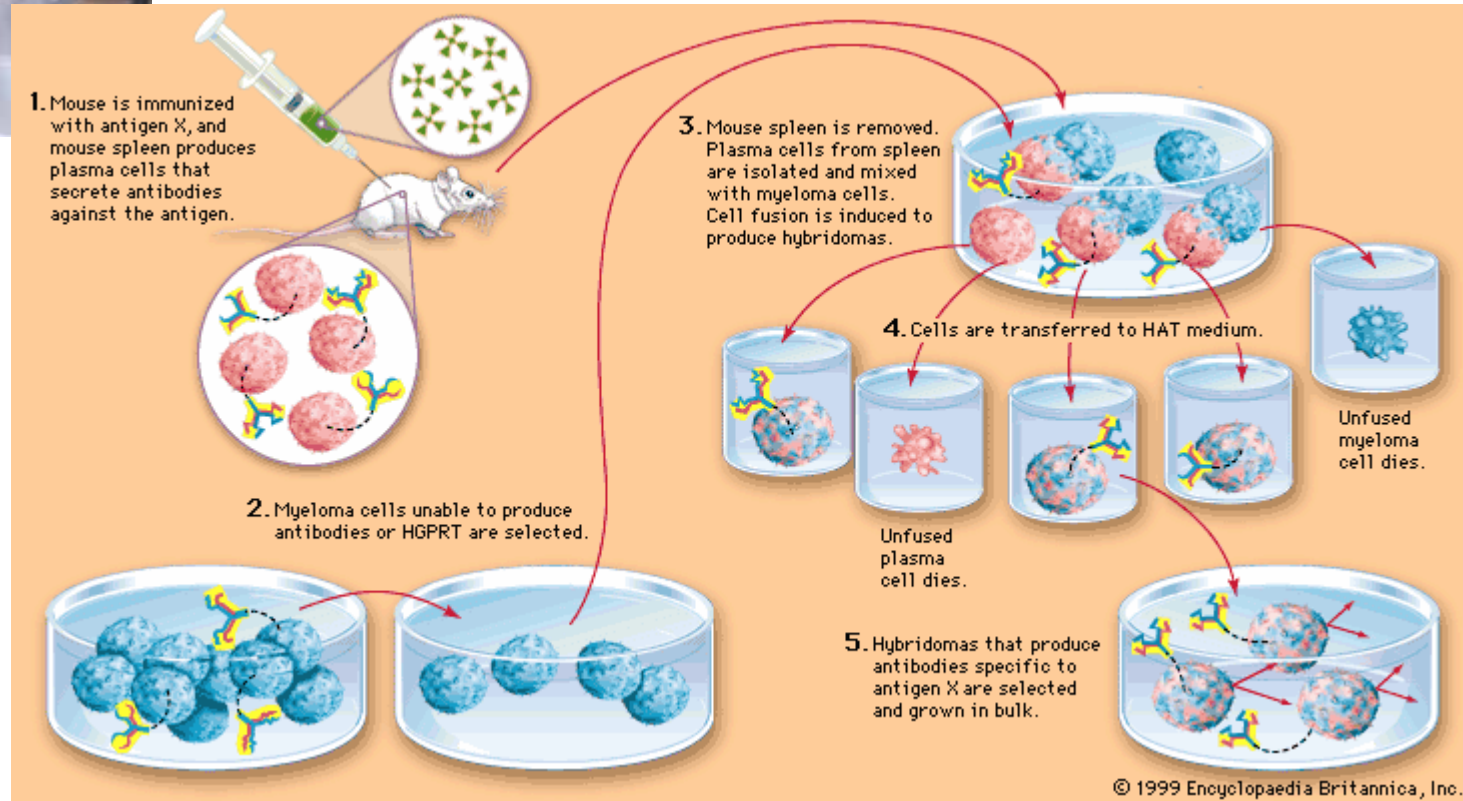


Anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales son una herramienta de gran utilidad en el campo de la medicina, la bioquímica y la biología molecular por su capacidad de reconocer moléculas con diferente estructura química.

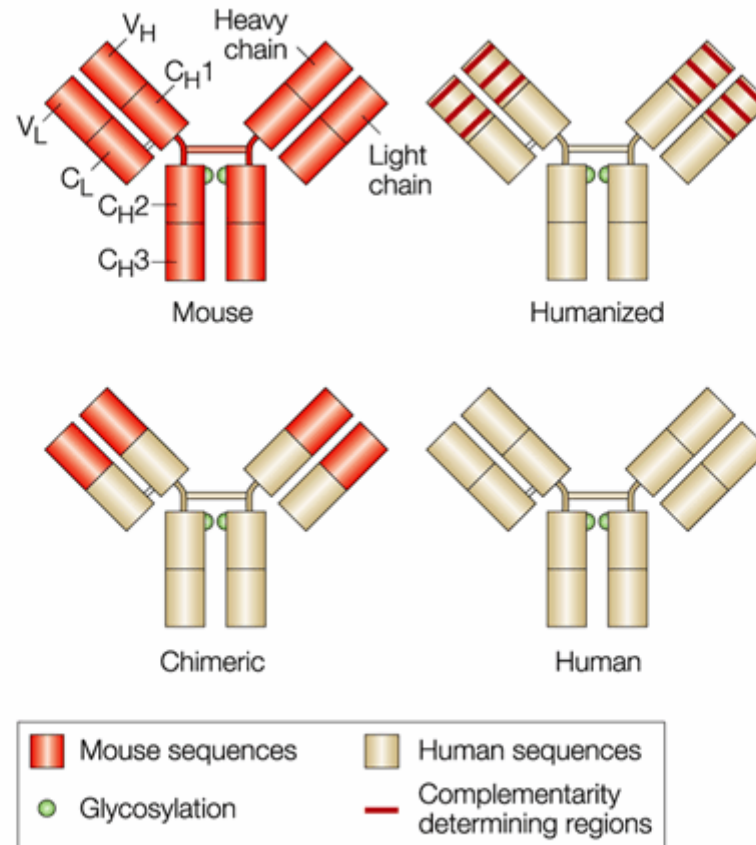


César Milstein (1927-2002). Premio Nobel de Medicina 1984, junto a Köhler por el desarrollo de los anticuerpos monoclonales. Nació en Bahía Blanca (Buenos Aires) el 8 de octubre de 1927. Murió el 24 de marzo de 2002, a los 75 años en Cambridge, Inglaterra. Los anticuerpos monoclonales se dirigen contra un blanco específico y tienen por lo tanto una enorme diversidad de aplicaciones en diagnósticos, tratamientos oncológicos, en la producción de vacunas y en campos de la industria y la biotecnología.





TIPOS DE ANTICUEROS MONOCLONALES...



Chimeric antibodies

- Obtained by joining the antigen-binding variable domains of a mouse monoclonal antibody (mAb) to human constant domains: mouse V_L to human C_L and mouse V_H to human $C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$ for light and heavy chains, respectively.
- Humanized antibodies
- In the simplest case, these are created by grafting the antigen-binding loops, known as complementarity-determining regions (CDRs), from a mouse mAb into a human IgG. The generation of high-affinity humanized antibodies generally requires the transfer of one or more additional residues from the so-called framework regions (FRs) of the mouse parent mAb. Several variants of the humanization technology have been developed.

Human antibodies

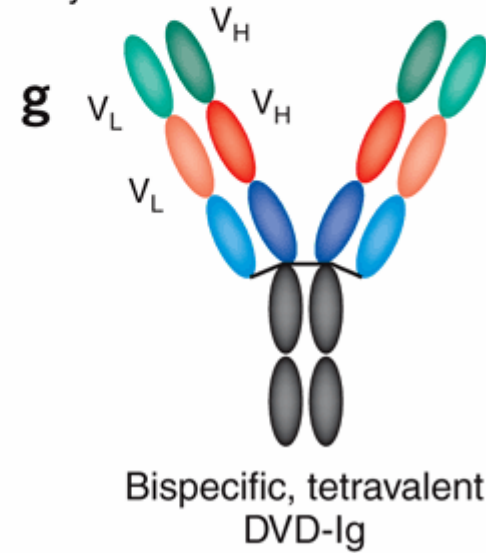
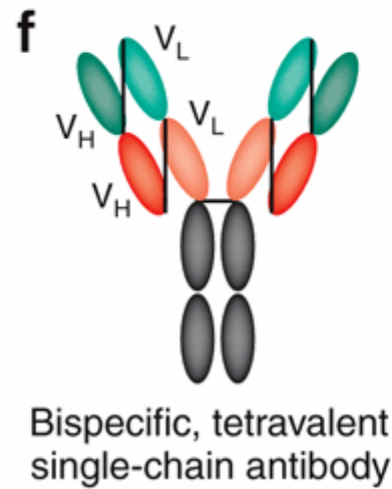
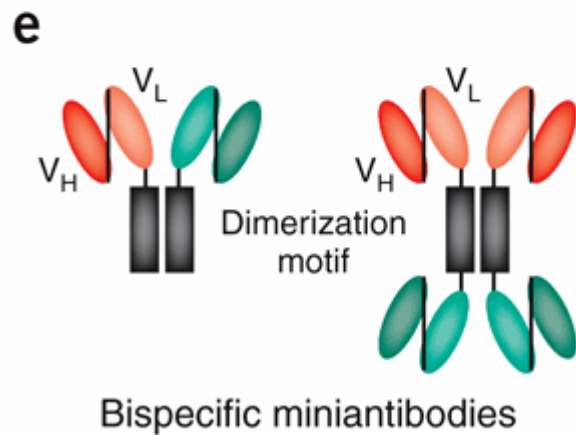
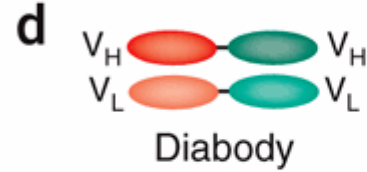
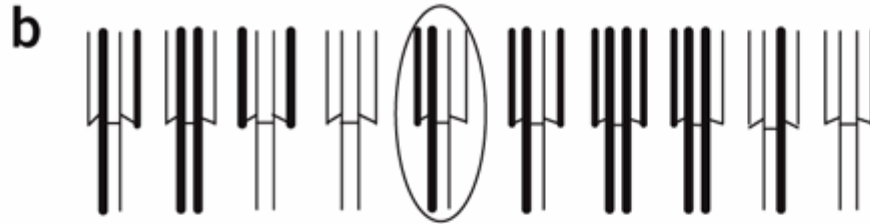
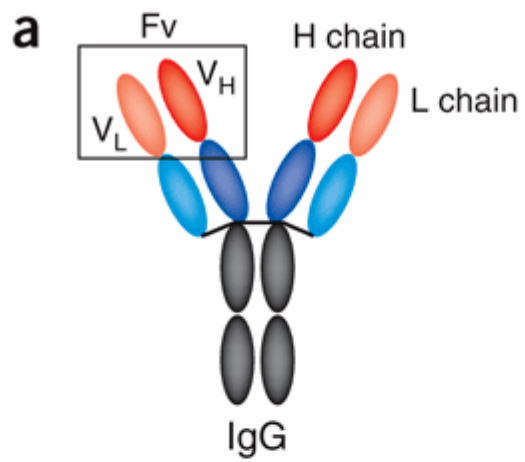
- These have high affinity for their respective antigens and are routinely obtained from very large, single-chain variable fragments (scFvs) or Fab phage display libraries. Moreover, the difficulty in obtaining antibodies to self-antigens that are highly conserved between mouse and humans using hybridoma technology is readily overcome using phage display technology. High-affinity human antibodies have also been obtained from transgenic mice that contain some, or preferably many, human immunoglobulin genes and genetically disrupted endogenous immunoglobulin loci. Immunization elicits the production of human antibodies recoverable using standard hybridoma technology. A human anti-epidermal growth factor (EGF) receptor mAb obtained using transgenic mice eradicates large, established tumours in some preclinical xenograft models, auguring well for ongoing oncology trials.

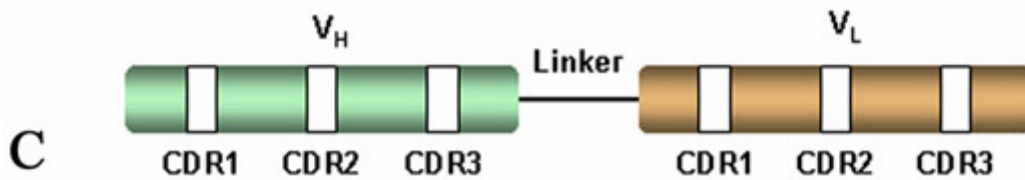
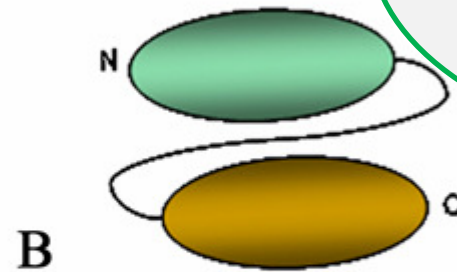
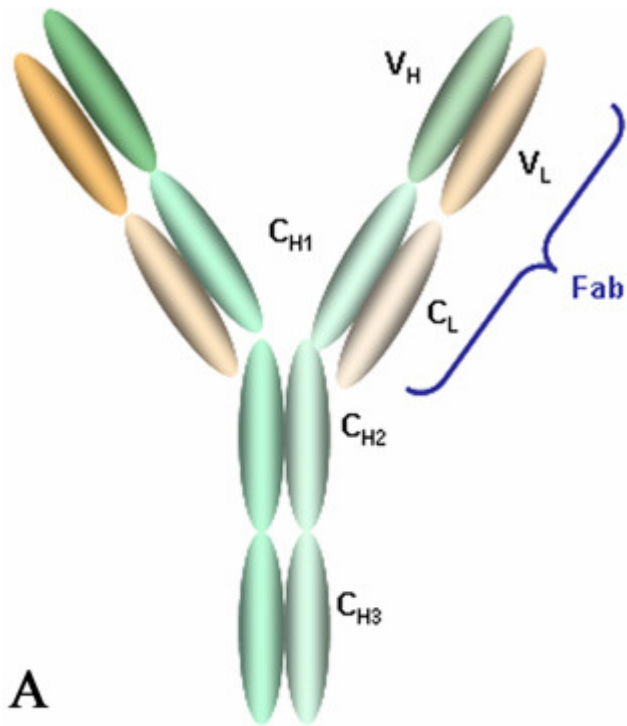
Clinical experience

- Chimeric, humanized and human antibody evidence indicates that these types of antibody are less immunogenic than those of mice. Humanized antibodies contain less foreign sequence than their chimeric counterparts and are presumed to be less immunogenic. Similar arguments have been made about humanized and human antibodies, despite the lack of substantiating clinical data. Other factors that affect the immunogenicity of antibodies include the method and frequency of administration, dose, patients' disease and immune status, antigen specificity of the antibody and immune complex formation with antigen

Choice of antibody technology

- Humanization and human antibodies are now the preferred technologies for developing antibodies as therapeutics. Humanization is a clinically well-validated technology that might be favoured if a well-characterized mouse mAb is available. By contrast, direct routes to human antibodies offer faster preclinical development in cases with no existing mouse mAbs. The choice of different human antibody technologies will depend on their availability, local expertise and commercial considerations.

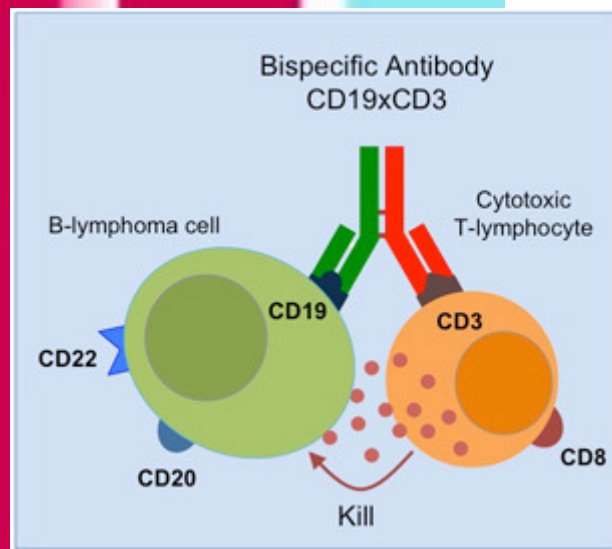
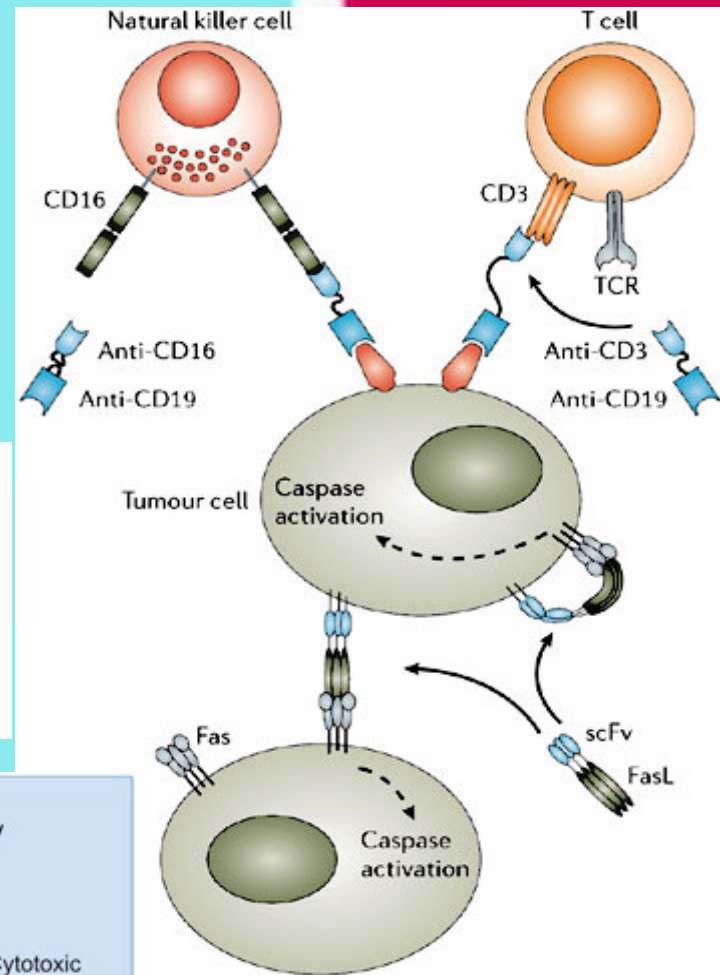
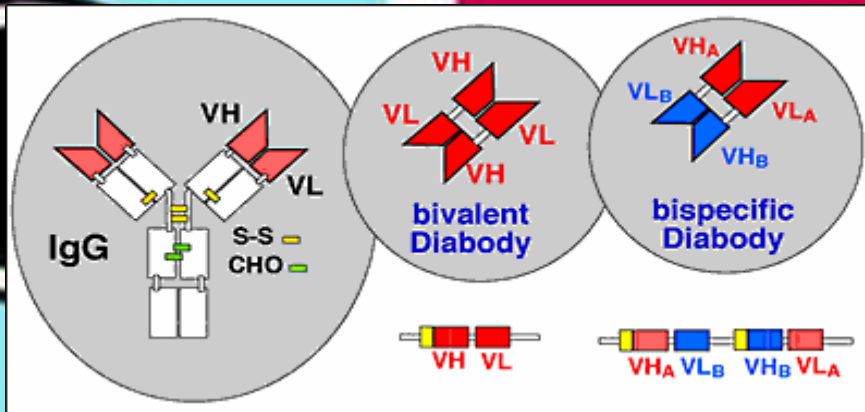




scFvs are the smallest antibody fragments that maintain antigen-binding specificity and affinity.

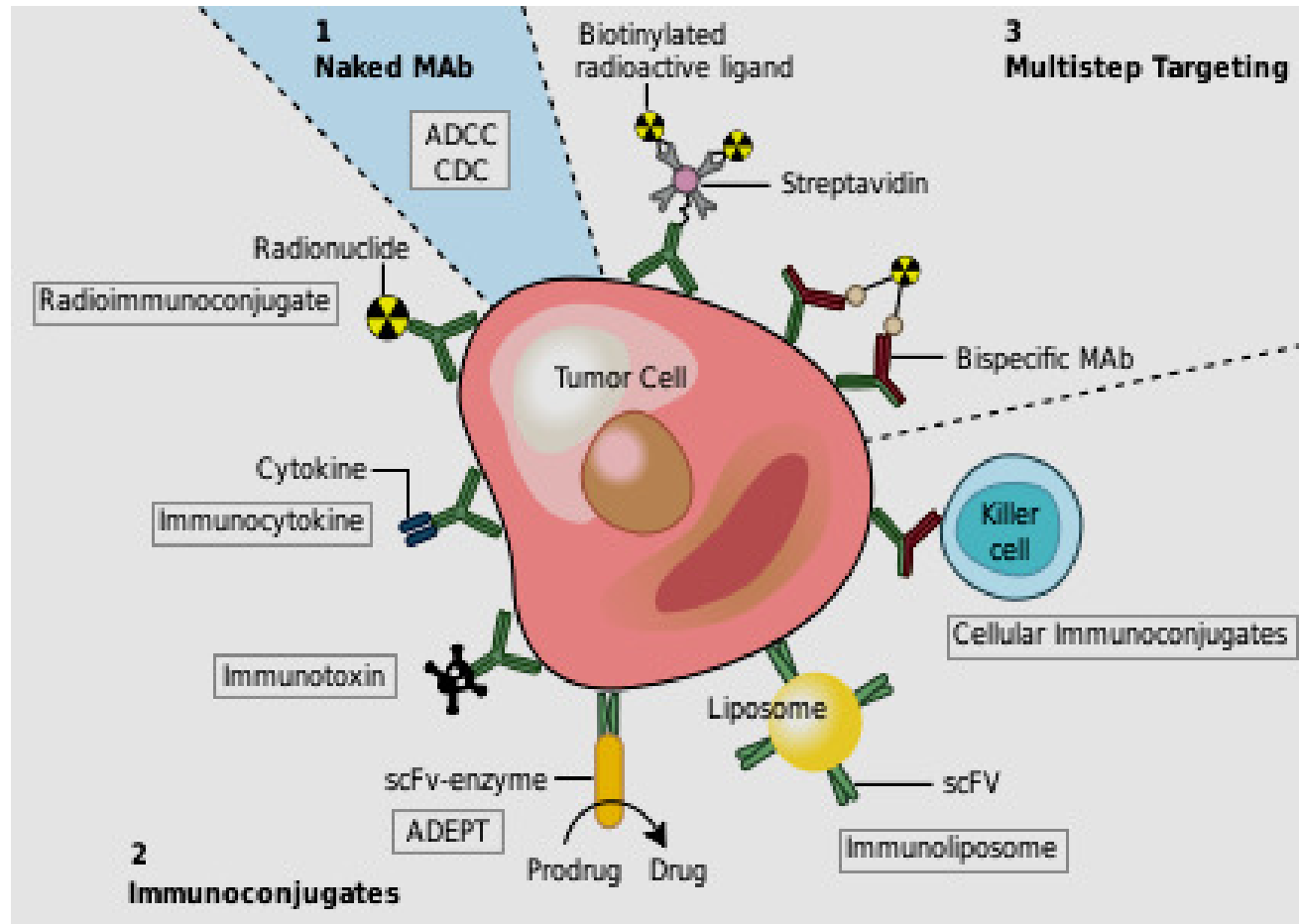


Single-chain variable fragment (scFv)



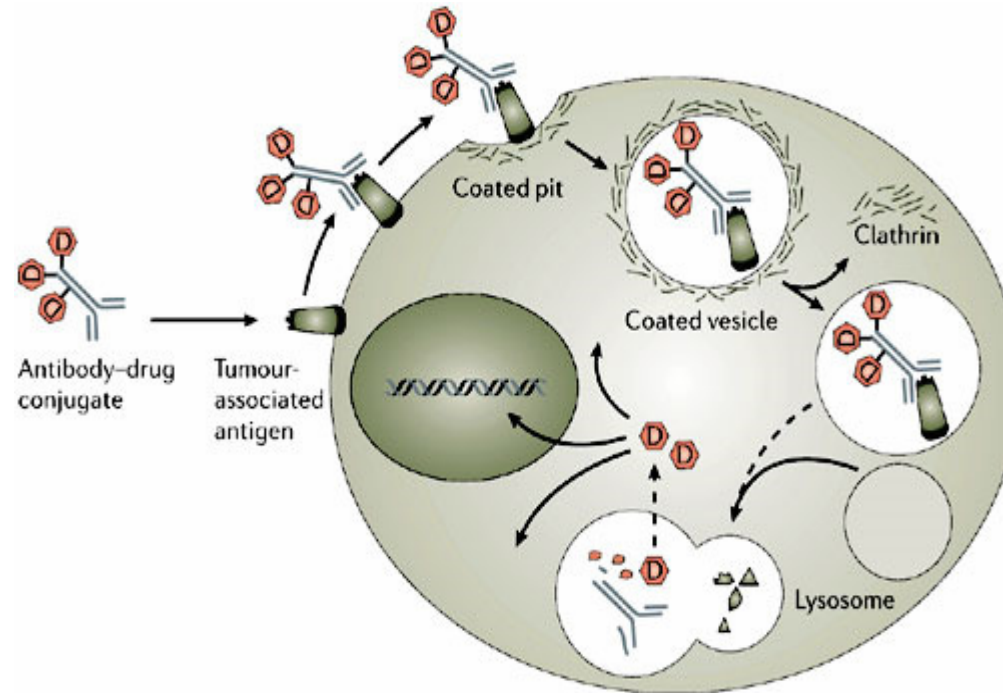
Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Drug Discovery

Podemos marcar el mAB de distintas maneras....

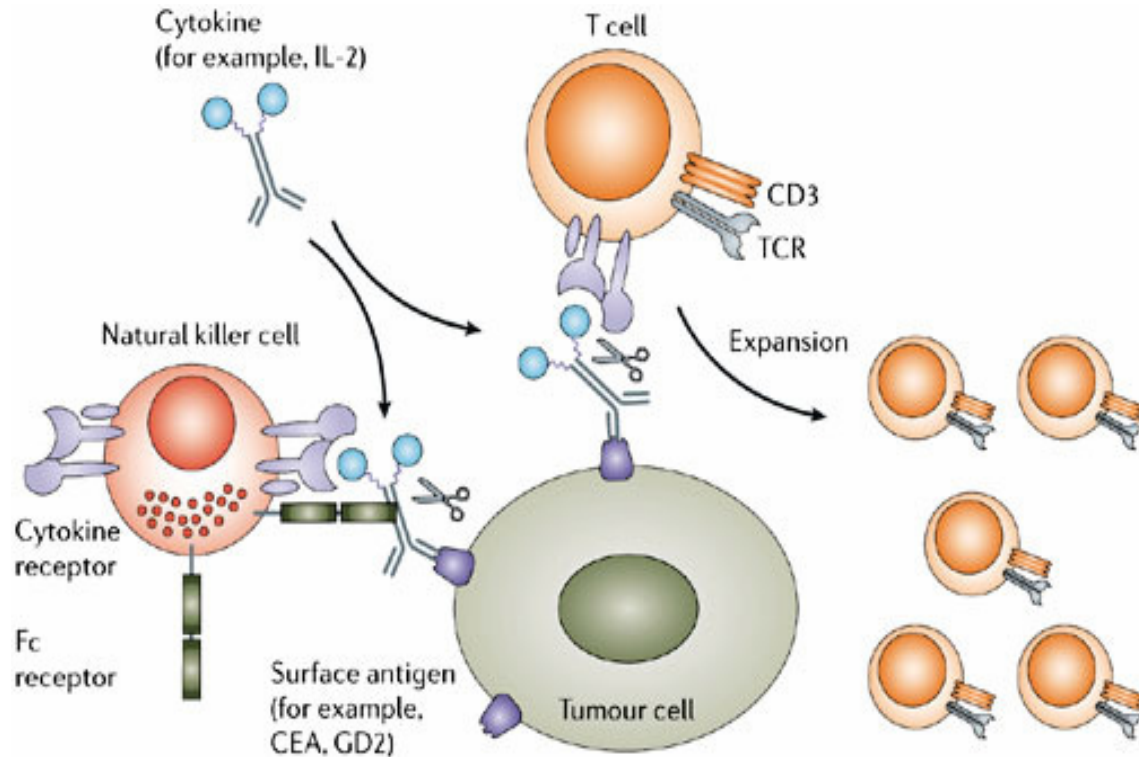


Antibody - directed enzyme prodrug therapy (ADEPT)

¿Cómo actúa la droga unida al anticuerpo???



¿Cómo actúa la citocina unida al anticuerpo??



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Drug Discovery

A monoclonal antibody specific for a tumour-associated antigen allows the enrichment of cytokines in the tumour microenvironment. In the case of interleukin-2 (IL-2) it enhances antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by F_c -receptor positive effector cells such as natural killer cells. In addition, tumour-targeted IL-2 stimulates T cells to expand and attack the tumour. High concentrations of plasmin at the tumour site enable the cleavage of IL-2 from the fusion protein through the plasmin-cutting site within the linker (depicted in the figure by scissors).

CORRAN



An*ticue***rpOS**

ASimétricos . . .



La IL-6, producida por células trofoblásticas y otros tipos celulares, aumenta la glicosilación de la IgG....

- Los Acs. asimétricos presentan 2 sitios de combinación con el antígeno con distinta afinidad debido a modificaciones postraduccionales (glicosilación asimétrica), es por ello que se **comportan como univalentes. No pueden cumplir funciones como fijación de complemento, depuración de antígenos y fagocitosis....**
- Debido a la capacidad que tienen para unirse firmemente al antígeno por el sitio de combinación de alta afinidad, constituyen excelentes Acs. bloqueantes. Se ha reportado durante la preñez un aumento de las moléculas IgG asimétricas específicas hacia antígenos parentales y no específicas, llegando a valores 25-30% en suero y 35-60% en los eluidos de placenta. **También aumentan en infecciones crónicas por bacterias extracelulares y alergias.**
- **Este hecho y el efecto bloqueante de los Acs**



Drug	Concentration	Zone Diameter (mm)	Zone Diameter Breakpoints (mm)				MIC Interpretive Standard	Comments
			S	I	R	S		
CARBAPENEMS								
<p>(17) Carbapenems that are resistant to one or multiple agents in representative isolates in and that demonstrate elevated MICs or reduced disk zone diameters to carbapenems may produce a carbapenemase. Greater the fact that the MICs or zone diameters may fall within the current susceptible range. Specific MIC elevations exceeding three-fold using MIC or zone diameter cutoffs and a confirmatory test, the modified Hodge test, which has shown sensitivity and specificity exceeding 90% to the detection of carbapenemase production in <i>Enterobacteriaceae</i>, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Proteobacterales</i> spp., and <i>Mycobacterium</i> spp. may have elevated MICs to imipenem by mechanisms other than production of carbapenemase; thus, the usefulness of the imipenem MIC screen test for the detection of carbapenemase in these three genera is not established.</p> <p>The clinical efficacy of the carbapenems in the treatment of infections due to carbapenemase-producing <i>Enterobacteriaceae</i> that test susceptible using established susceptibility breakpoints has not been confirmed. For isolates with confirmed carbapenemase production, MICs should be determined and reported but without an interpretation. Clinicians and infection control practitioners caring for patients with infections due to these isolates should be informed, and alternative antimicrobial agents should be considered.</p>								
S	Ertapenem	10 µg	≥ 18	16-18	≤ 15	≤ 2	8	≥ 8
S	Imipenem	10 µg	≥ 18	14-15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16
S	Meropenem	10 µg	≥ 18	14-15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16
MICROBACTAMS								
S	Acetaminophen	30 µg	≥ 22	16-21	≤ 15	≤ 3	16	≥ 32
AMINOGLYCOSIDES								
(18) WARNING: For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., aminoglycosides may appear active in vitro, but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.								
S	Gentamicin	10 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16
S	Tobramycin	10 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16
S	Amikacin	30 µg	≥ 17	15-16	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64
S	Kanamycin	30 µg	≥ 18	14-17	≤ 13	≤ 16	32	≥ 64
S	Netilmicin	30 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32
S	Streptomycin	10 µg	≥ 15	12-14	≤ 11	-	-	-
(17) There are no MIC interpretive standards.								
TETRACYCLINES								
(18) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.								
S	Tetracycline	30 µg	≥ 15	12-14	≤ 11	-	-	≥ 16
S	Doxycycline	30 µg	≥ 14	11-13	-	-	-	≥ 16
S	Minocycline	30 µg	≥ 16	-	-	-	-	≥ 16



Propiedades generales de las INMUNOGLOBULINAS

CRI...CRI...CRI!!!

Propiedades físicas.....

	Immunoglobulin class or subclass								
	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgE
Heavy chain	μ	δ	γ_1	γ_2	γ_3	γ_4	α_1	α_2	ϵ
Molecular weight (kDa)	970	184	146	146	165	146	160	160	188
Serum level (mean adult mg/ml)	1.5	0.03	9	3	1	0.5	2.0	0.5	5×10^{-5}
Half-life in serum (days)	10	3	21	20	7	21	6	6	2

Figure 4.31 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Propiedades funcionales...

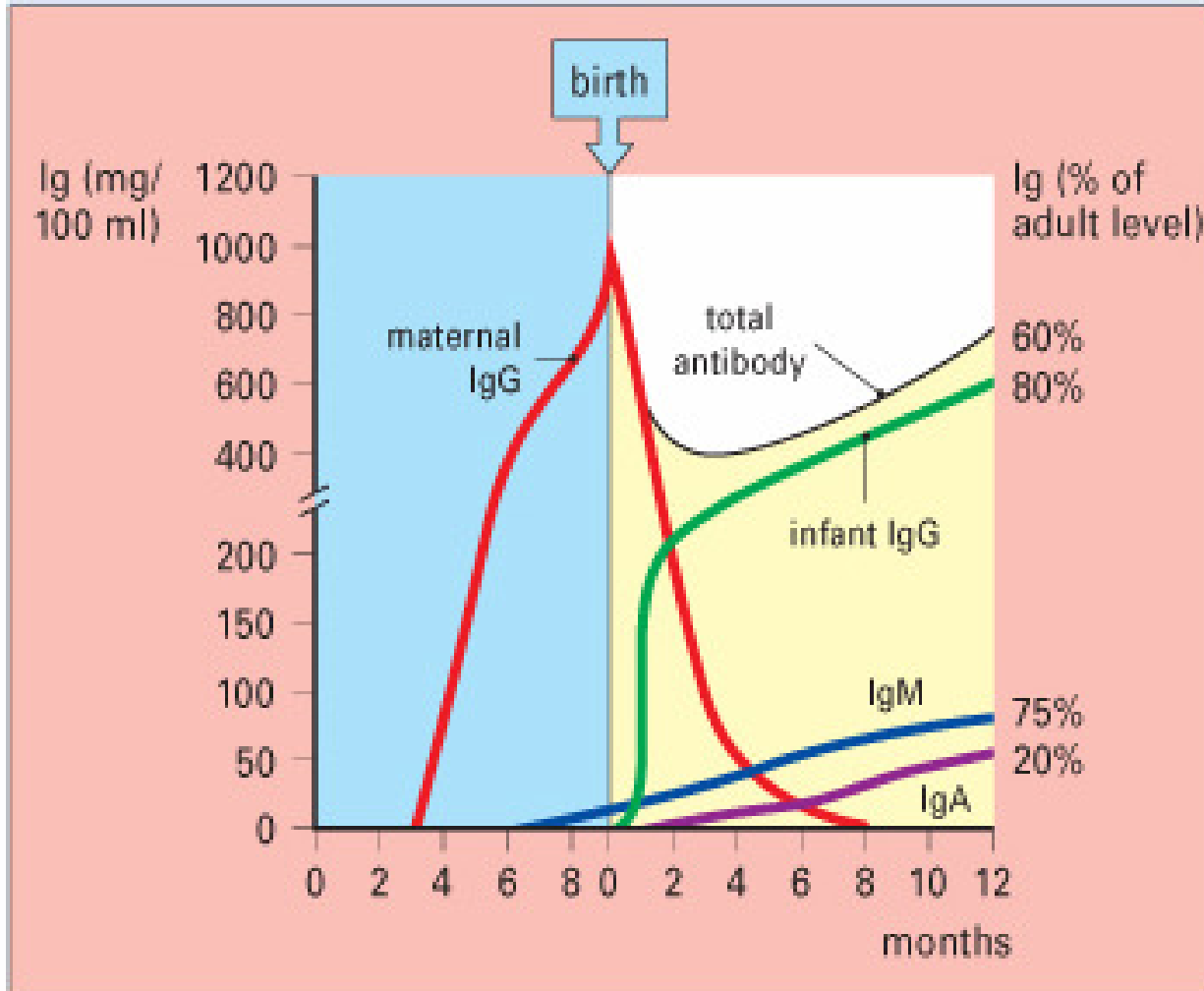
Function	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralization	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	-
Opsonization	-	-	+++	*	++	+	+	-
Sensitization for killing by NK cells	-	-	++	-	++	-	-	-
Sensitization of mast cells	-	-	+	-	+	-	-	+++
Activation of complement system	+++	-	++	+	+++	-	+	-

Property	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Transport across epithelium	+	-	-	-	-	-	+++ (dimer)	-
Transport across placenta	-	-	+++	+	++	++	-	-
Diffusion into extravascular sites	+/-	-	+++	+++	+++	+++	++ (monomer)	+
Mean serum level (mg/ml)	1.5	0.03	9	3	1	0.5	2.5	5×10^{-5}

Figure 4.32 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

**¿CÓMO SE DISTRIBUYEN LAS
INMUNOGLOBULINAS????**

Immunoglobulins in the serum of the fetus and newborn child



- **El pasaje de IgG** a través de la placenta....No está relacionado al tamaño de la molécula....**LA COMPOSICIÓN AMINOACÍDICA DE Fc ES CRUCIAL.....**
- **La IgAs** se encuentra en mucosas y leche materna.....

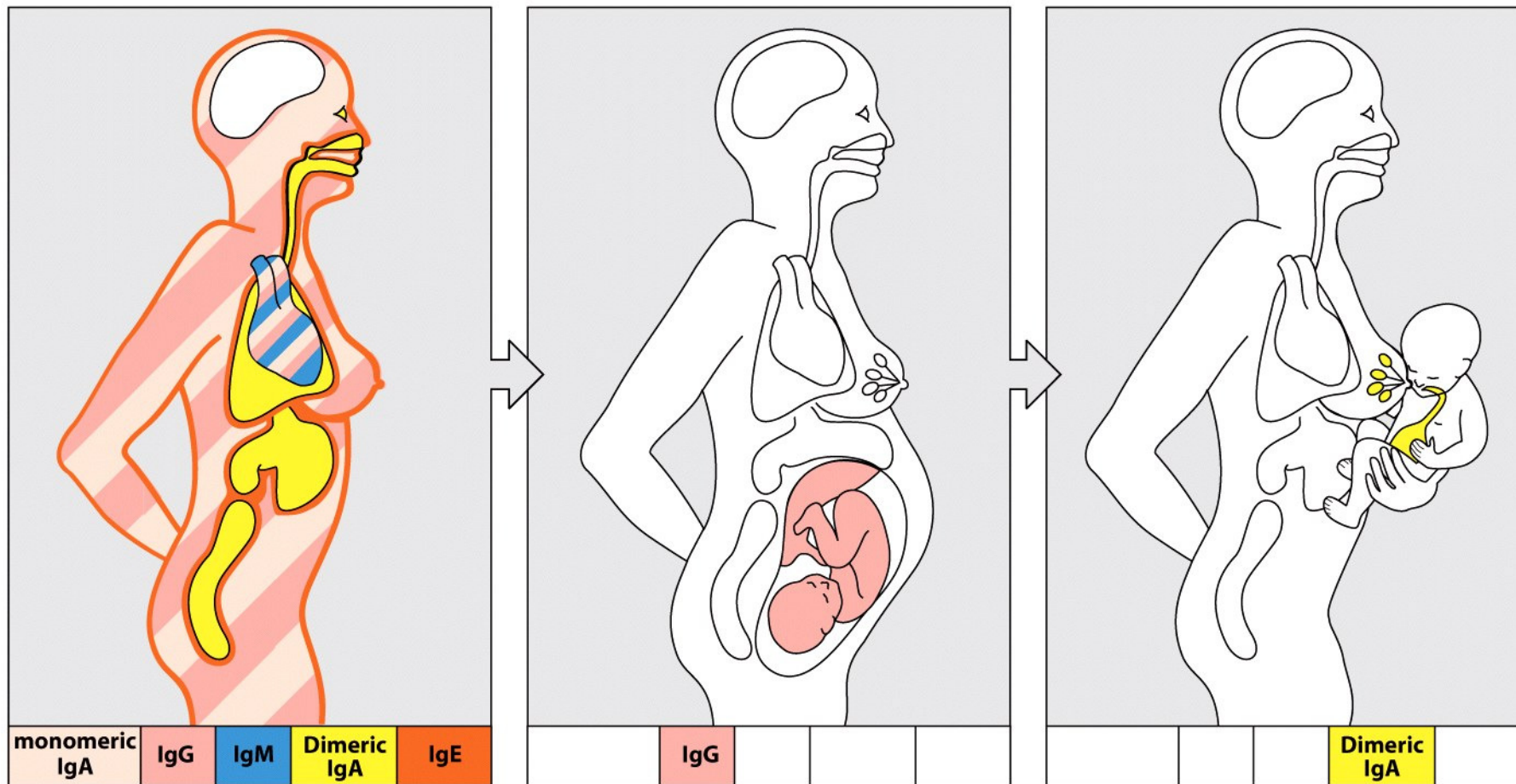


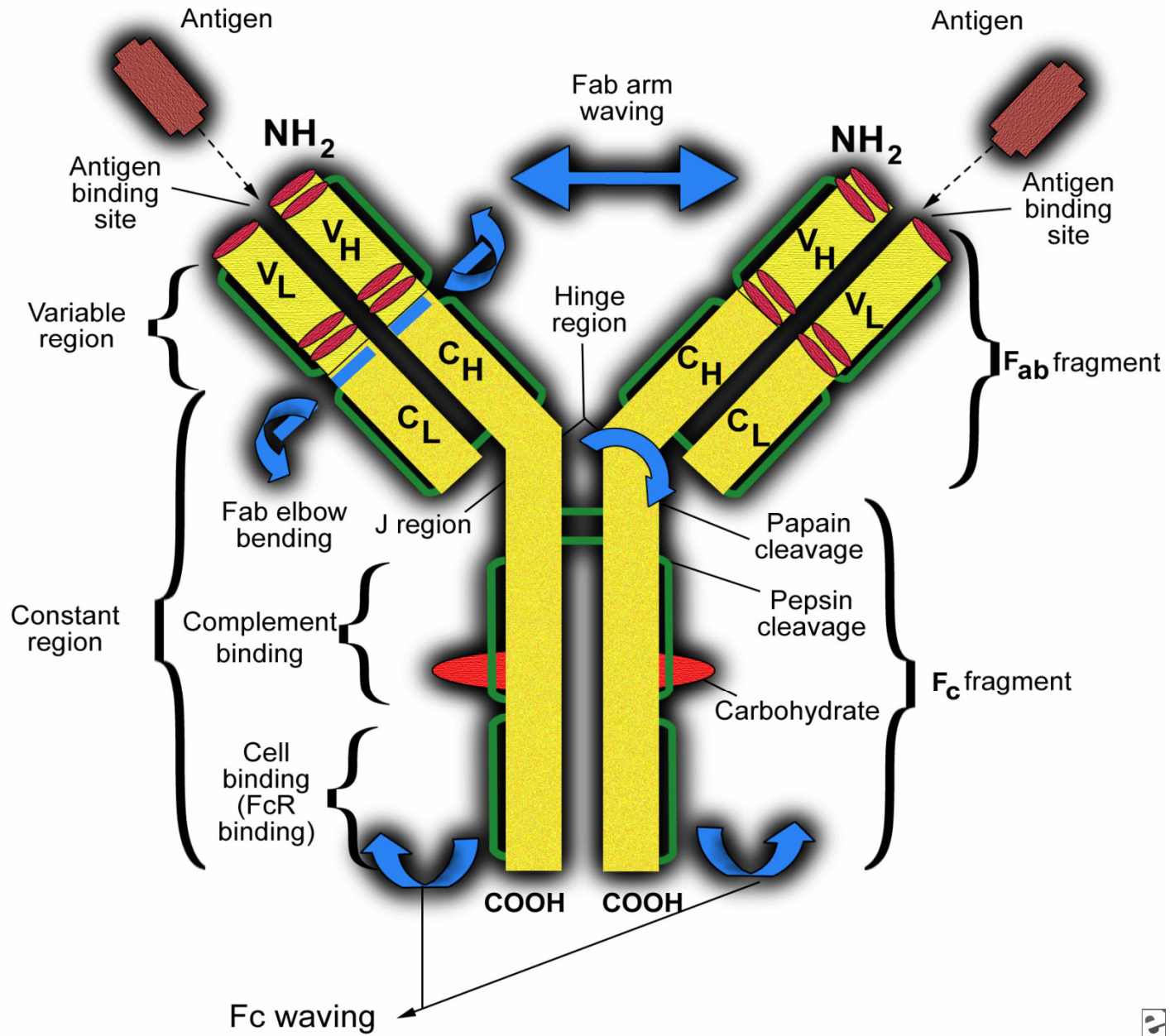
Figure 9.23 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)



- **IgM e IgG** predominan en plasma, mientras que IgG e IgA monomérica son los isotipos mayoritarios en el fluido extracelular dentro del organismo.
- **IgA dimérica** predomina en secreciones a través de los epitelios, incluida la leche materna.
- **El feto recibe IgG** por transporte transplacental.
- **La IgE** se encuentra asociada a mastocitos, por debajo de las superficies epiteliales.
- El cerebro normalmente no tiene inmunoglobulinas.

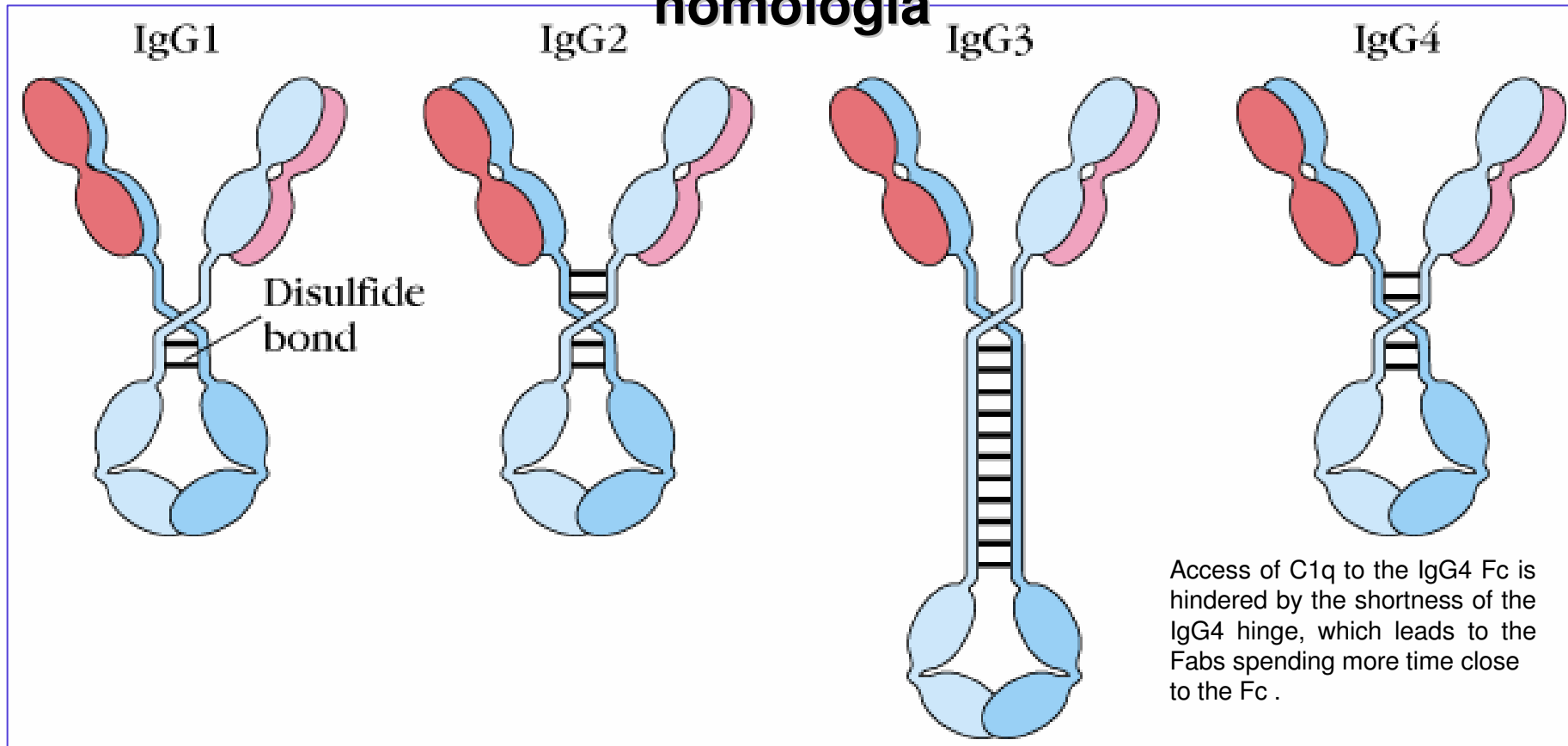
IGG Y SUBCLASES DE IGG





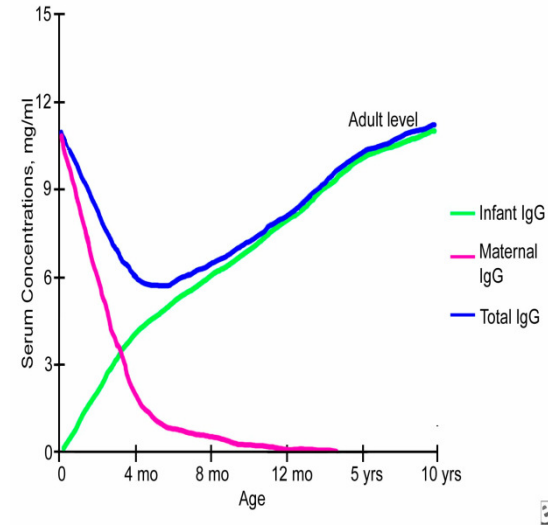
Inmunoglobulina IgG

Es la más abundante, cuatro subclases, 90%
homología



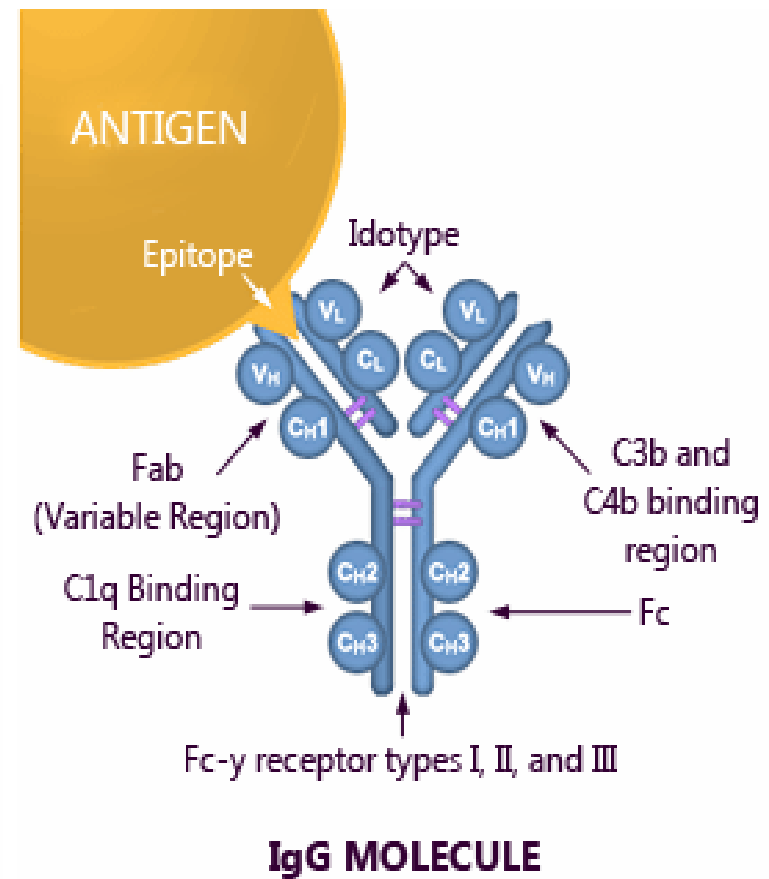
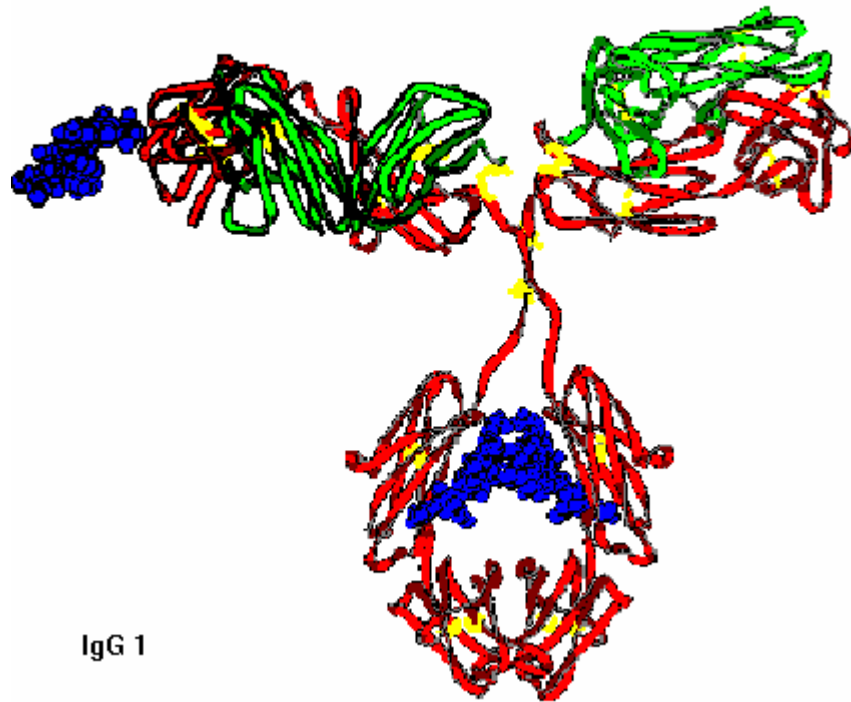
- .- IgG1, IgG3 y IgG4 atraviesan placenta, protegen al feto.
- .- Activan C': IgG3 > IgG2 > IgG1. **IgG4 no activa C' por la vía clásica.**
- .- IgG1 y IgG3 median opsonización. IgG4 menos e IgG2 baja afinidad.

Características de las subclases de IgG

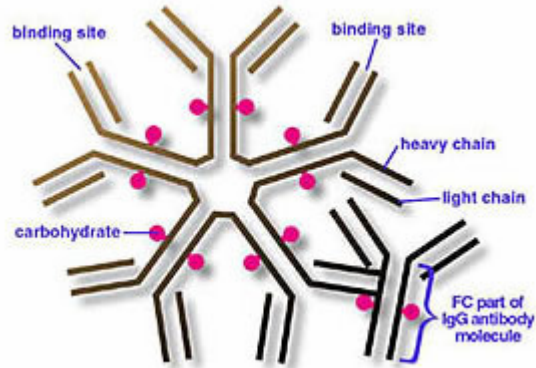


	Immune response to:			Binding to Fc receptor	Complement activation	Binding to mast cells
	Bacteria	Viruses	Proteins, toxins			
IgG ₁	+++	+++	+++	++	+++	-
IgG ₂	+++	(+)	+	(+)	+	-
IgG ₃	(+)	++	(+)	++	+++	-
IgG ₄	(+)	(+)	(+)	(+)	-	++

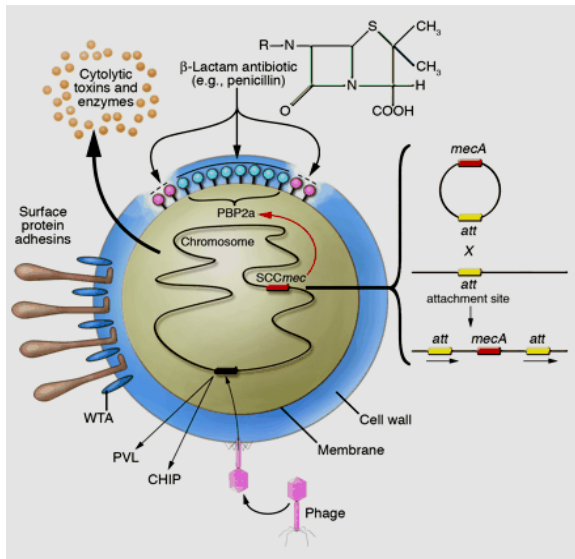
IgG is unique among the serum glycoproteins because it is associated with at least 30 different biantennary N-linked oligosaccharides. This extremely high microheterogeneity is probably produced because human individuals have series of B-cell clones equipped with different sets of glycosyltransferases.



Human rheumatoid factors react most strongly with IgG1 myeloma proteins followed by IgG2 and IgG4. IgG3 appears to be unreactive with RF.

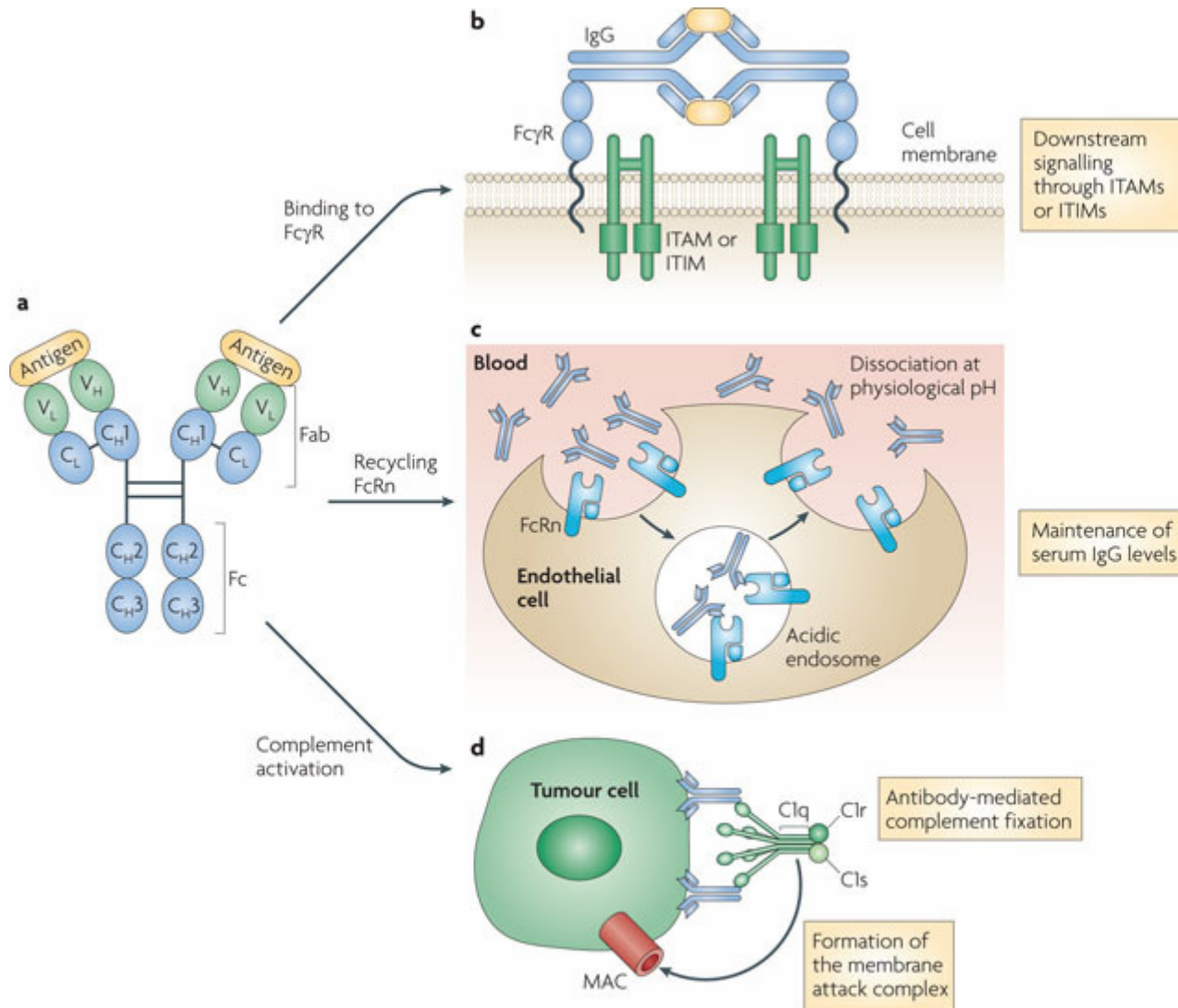


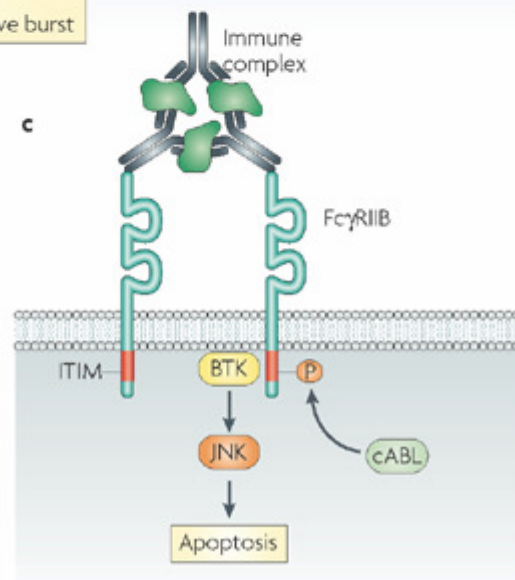
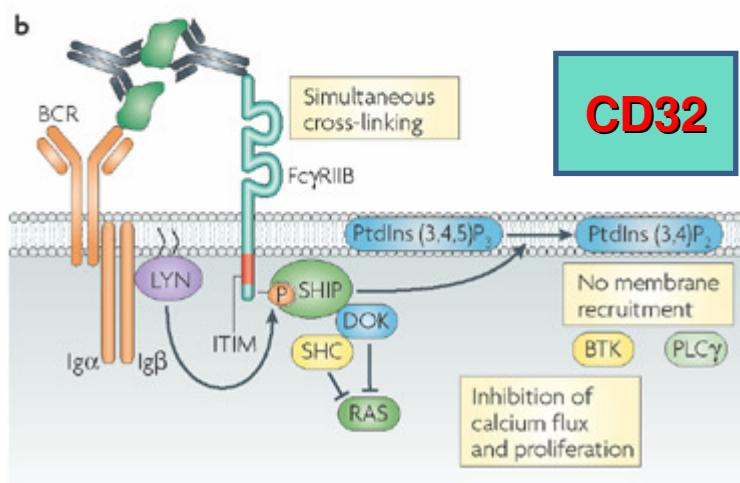
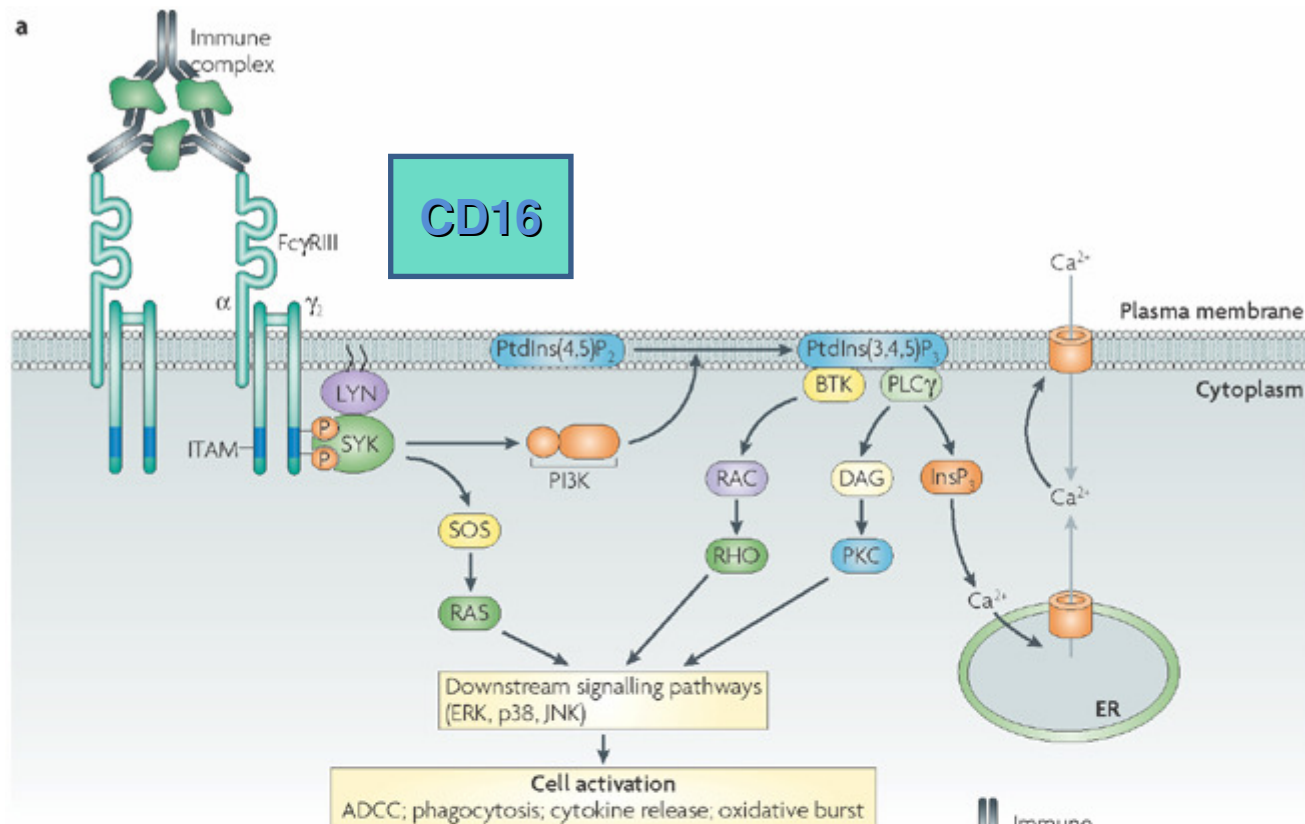
It was on a short-cut through the hospital kitchens that Albert was first approached by a member of the Antibiotic Resistance.



The Fc region of human IgG1, IgG2 and IgG4 binds to protein A from Staphylococcus aureus . A single substitution of arginine for histidine at amino acid 435 in the Fc region prevents binding of protein A to IgG3.

Funciones de la IgG

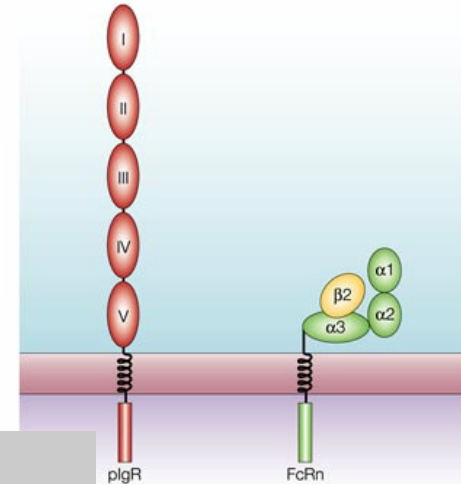




FcRn

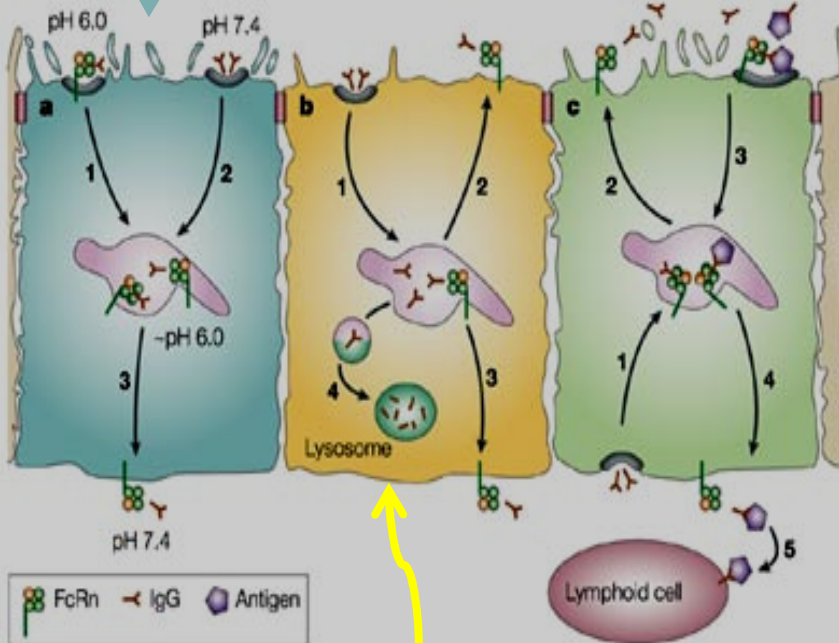
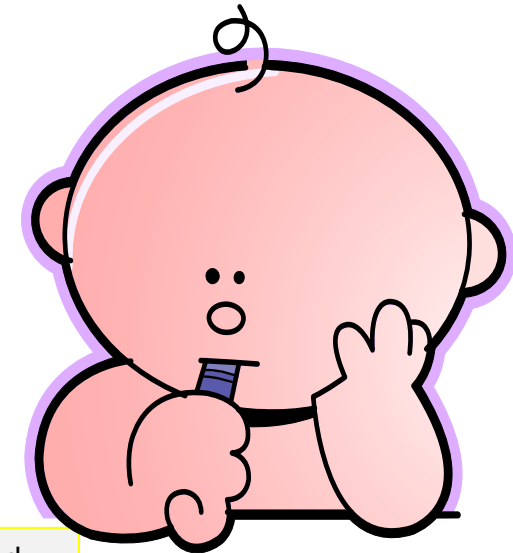
a | Transport of IgG.

In cells, such as those that line the yolk sac —where the pH of the extracellular fluid is neutral — IgG is internalized by fluid-phase endocytosis .



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

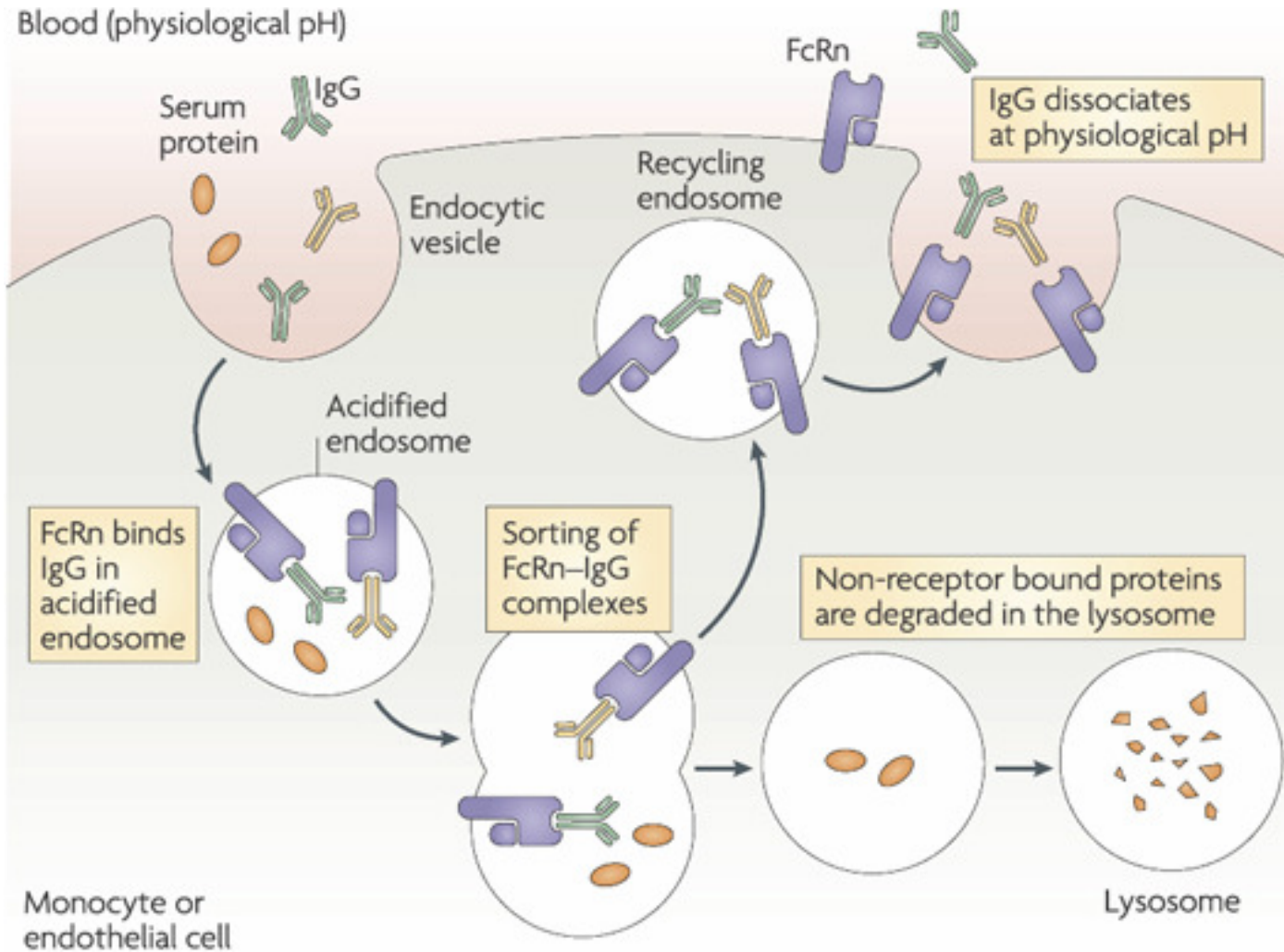
c | FcRn–IgG in immune activation and tolerance



b | Regulation of IgG catabolism.

When IgG concentrations are high and binding to FcRn becomes limiting, unbound IgG is delivered along with bulk fluid to lysosomes where it is degraded .

The FcRn molecule (Fc receptor neonatal) is responsible for the transport of immunoglobulin from mother to neonate



EL RECEPTOR Fc NEONATAL también se encuentra en el intestino, podocitos, hígado, células endoteliales vasculares de los adultos....

REGULA LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE IgG EN EL ADULTO.....

SE UNE AL ANTICUERPO CIRCULANTE AL QUE ENDOCITA Y LUEGO RECICLA A LA SUPERFICIE CELULAR.....

IGG de la sangre a los tejidos

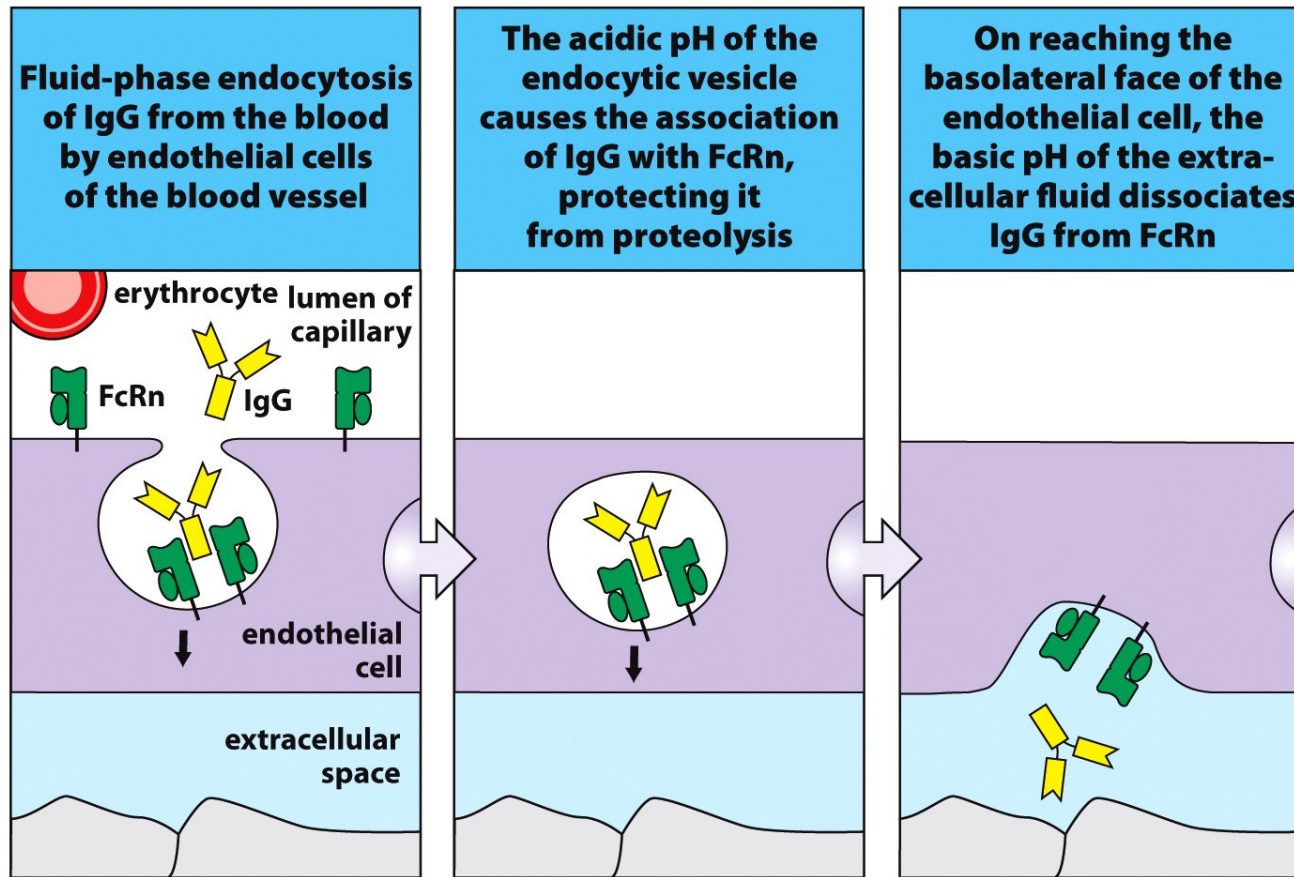
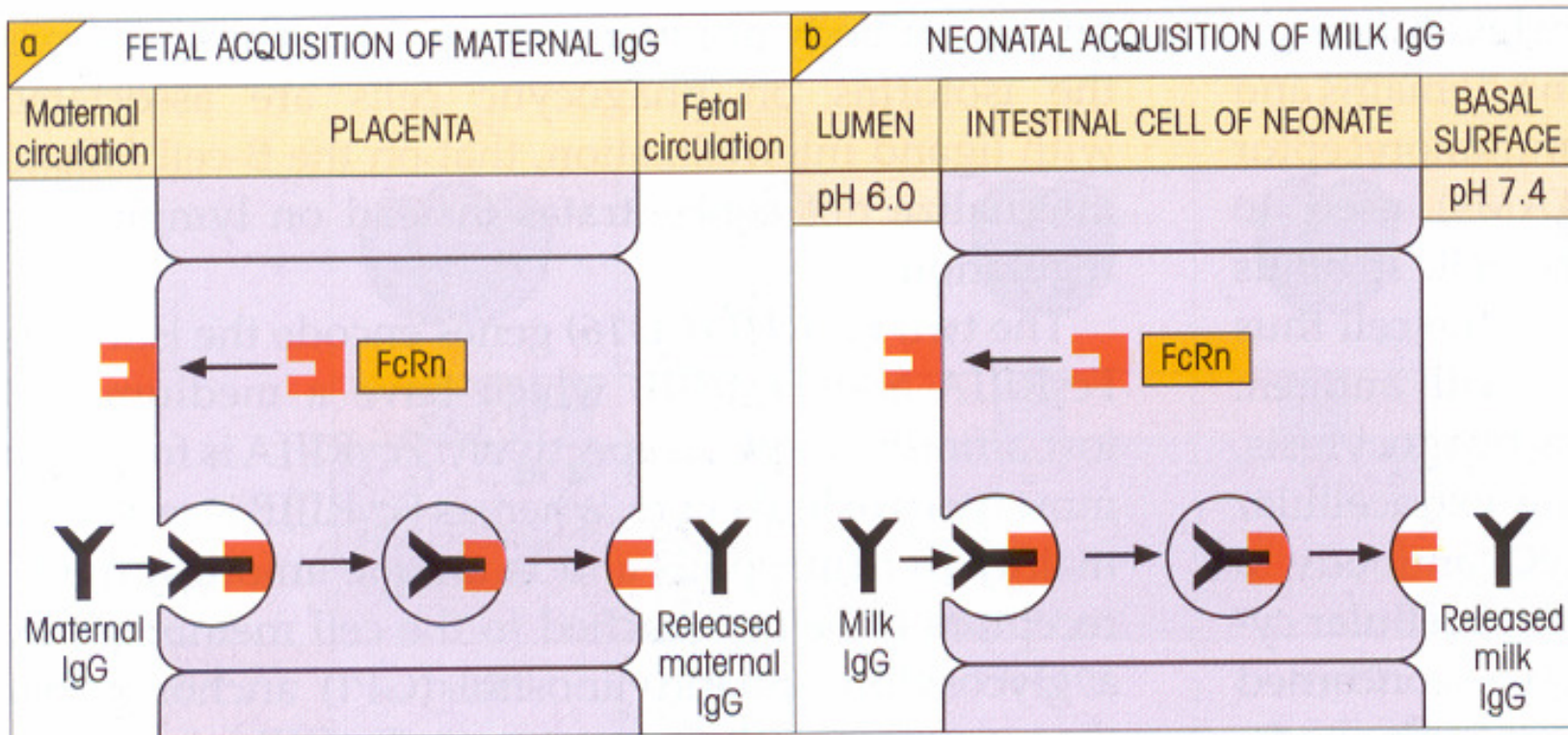
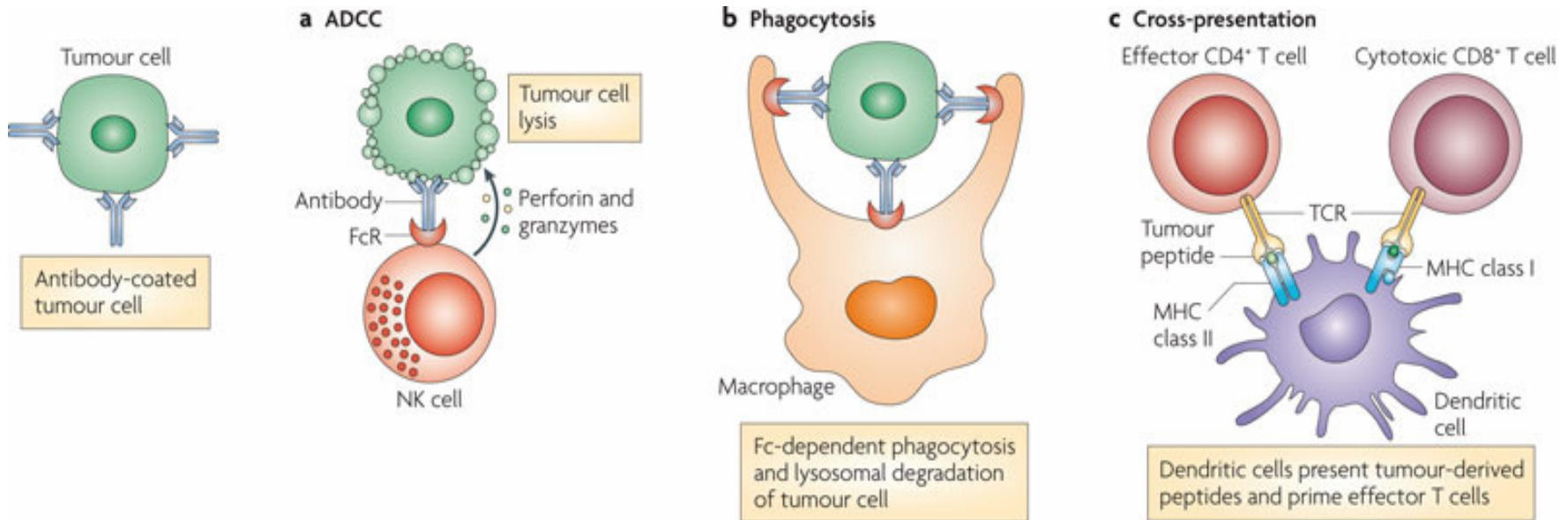


Figure 9.21 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

TRANSFERENCIA PASIVA DE IgG



IgG y tumores



Receptores de INMUNOGLOBULINAS

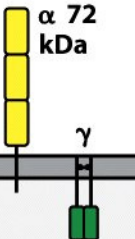
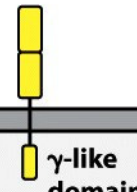
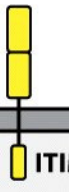
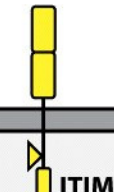
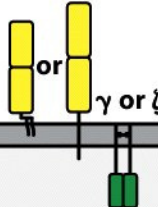
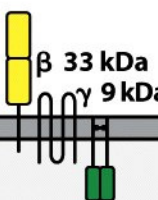
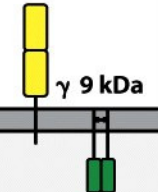

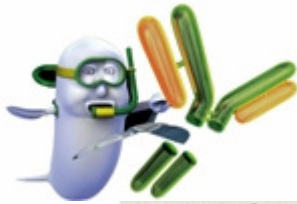
Receptor	FcγRI (CD64)	FcγRII-A (CD32)	FcγRII-B2 (CD32)	FcγRII-B1 (CD32)	FcγRIII (CD16)	FcεRI	FcαRI (CD89)	Fcα/μR
Structure								
Binding	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgE	IgA1, IgA2	IgA, IgM
Order of affinity	10 ⁸ M ⁻¹ 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	2 × 10 ⁶ M ⁻¹ 1) IgG1 2) IgG3=IgG2* 3) IgG4	2 × 10 ⁶ M ⁻¹ 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	2 × 10 ⁶ M ⁻¹ 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	5 × 10 ⁵ M ⁻¹ IgG1=IgG3	10 ¹⁰ M ⁻¹	10 ⁷ M ⁻¹ IgA1=IgA2	3 × 10 ⁹ M ⁻¹ 1) IgM 2) IgA
Cell type	Macrophages Neutrophils [†] Eosinophils [†] Dendritic cells	Macrophages Neutrophils Eosinophils Platelets Langerhans cells	Macrophages Neutrophils Eosinophils	B cells Mast cells	NK cells Eosinophils Macrophages Neutrophils Mast cells	Mast cells Eosinophils [†] Basophils	Macrophages Eosinophils [‡] Neutrophils	Macrophages B cells
Effect of ligation	Uptake Stimulation Activation of respiratory burst Induction of killing	Uptake Granule release (eosinophils)	Uptake Inhibition of stimulation	No uptake Inhibition of stimulation	Induction of killing (NK cells)	Secretion of granules	Uptake Induction of killing	Uptake

Figure 9-30 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Un mundo perfecto...



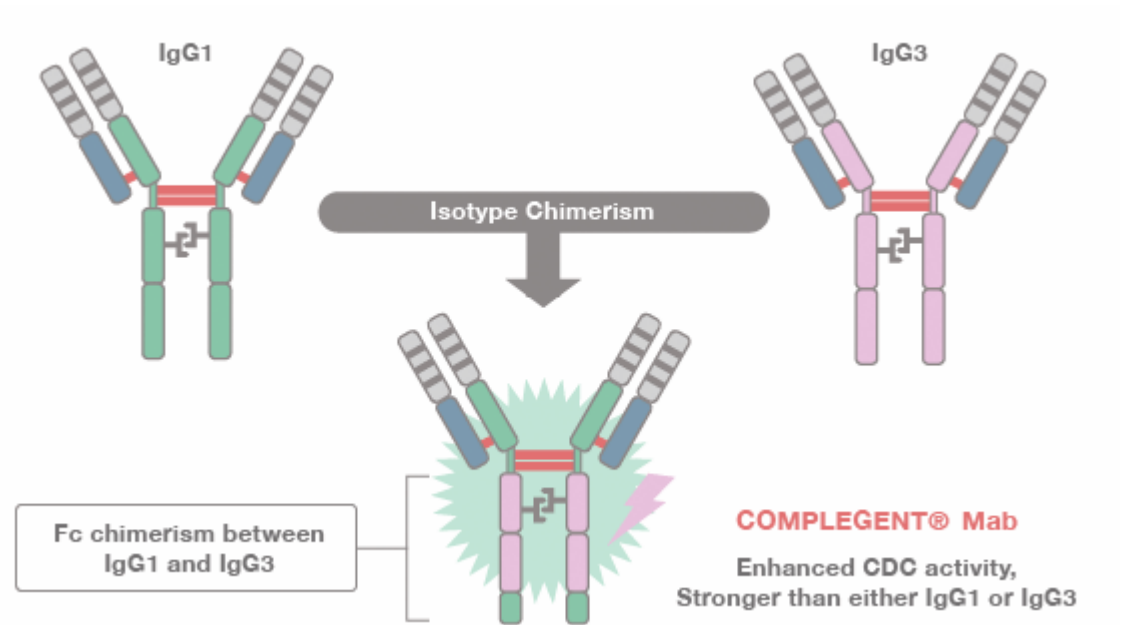
Anticuerpos monoclonales y tumores



Antibody name (trade name; sponsoring companies)	Target	Antibody Format	Cancer Indication	Refs
Unconjugated antibodies				
Rituximab (Rituxan/Mabthera; Genentech/Roche/Biogen Idec)	CD20	Chimeric IgG1	Non-Hodgkin lymphoma	74,105
Trastuzumab (Herceptin; Genentech/Roche)	HER2	Humanized IgG1	Breast cancer	19,72
Alemtuzumab (Campath/MabCampath; Genzyme/Bayer)	CD52	Humanized IgG1	Chronic lymphocytic leukaemia	58
Cetuximab (Erbix; ImClone Systems/Bristol-Myers Squibb)	EGFR	Chimeric IgG1	Colorectal cancer	13,106
Bevacizumab (Avastin; Genentech)	VEGFA	Humanized IgG1	Colorectal, breast and lung cancer	71, 107,108
Panitumumab (Vectibix; Amgen)	EGFR	Human IgG2	Colorectal cancer	109
Ofatumumab (Arzerra; Genmab/GlaxoSmithKline)	CD20	Human IgG1	Chronic lymphocytic leukemia	110
Immunoconjugates				
Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg; Pfizer)	CD33	Humanized IgG4	Acute myelogenous leukaemia	111
⁹⁰ Y-Ibritumomab tiuxetan (Zevalin; Biogen Idec)	CD20	Mouse	Lymphoma	112
Tositumomab and ¹³¹ I-tositumomab (Bexxar; GlaxoSmithKline)	CD20	Mouse	Lymphoma	113

EGFR, epidermal growth factor receptor; HER2, human epidermal growth factor receptor 2; VEGF, vascular endothelial growth factor.

Podemos mejorar la función del mAB....



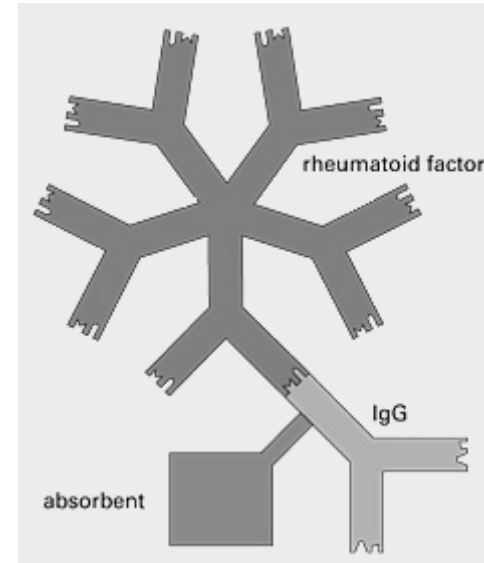
Eliminamos IgG del suero con FR

Before a patient's serum is tested for specific antibodies of the IgM class, antibodies of class IgG must be removed by ultracentrifugation, chromatography or immunoabsorption.

Specifically bound IgG would displace IgM from the antigen leading to false IgM negative test results.

Moreover, the absorption prevents any IgM class rheumatoid factors present from reacting with specifically bound IgG and thus leading to false IgM positive test results.

Indication: an IgG absorption of serum samples should always be performed for all IgM antibody determinations in infectious serology before incubating the sera.





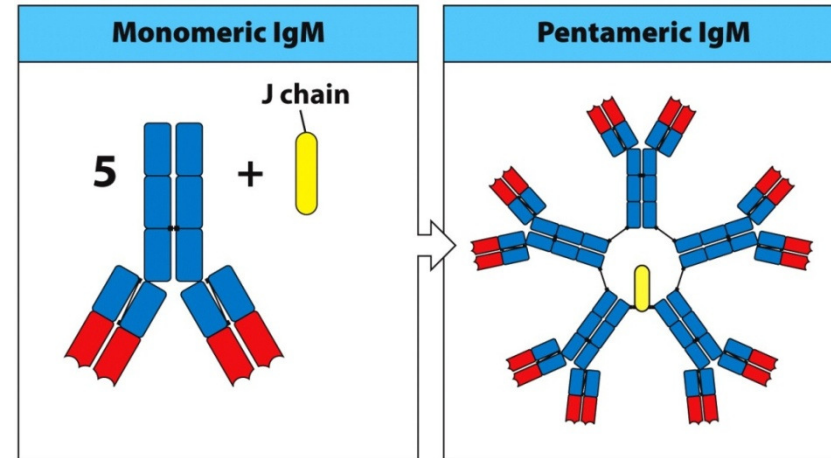
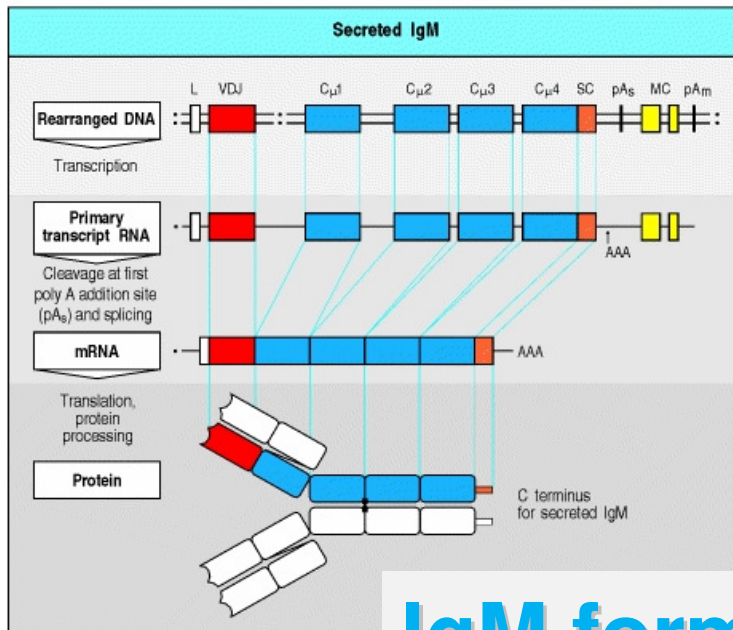
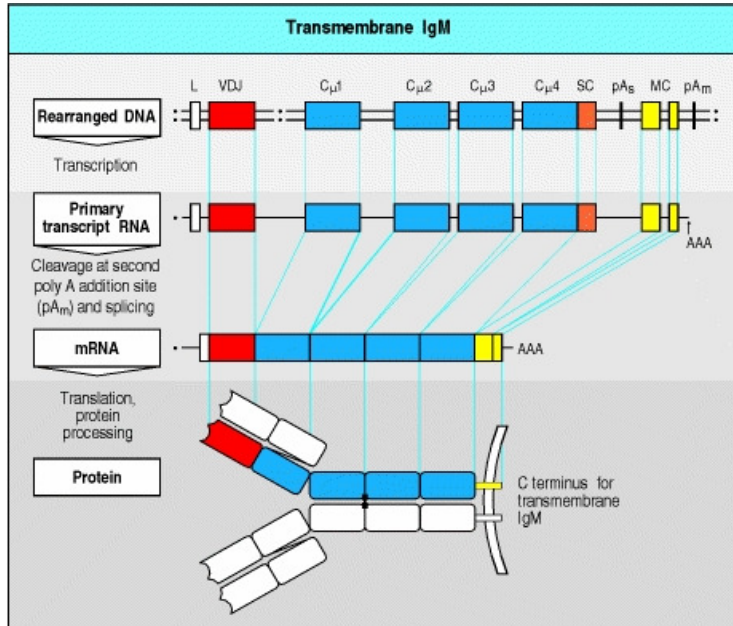
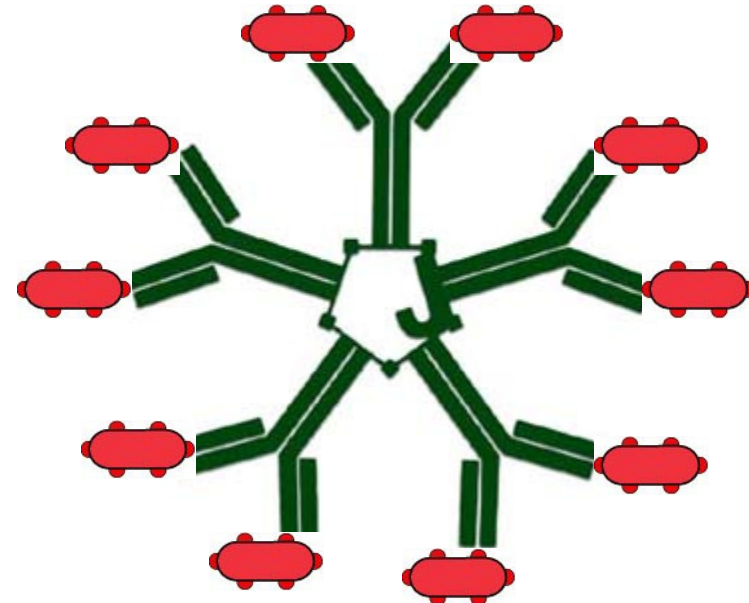
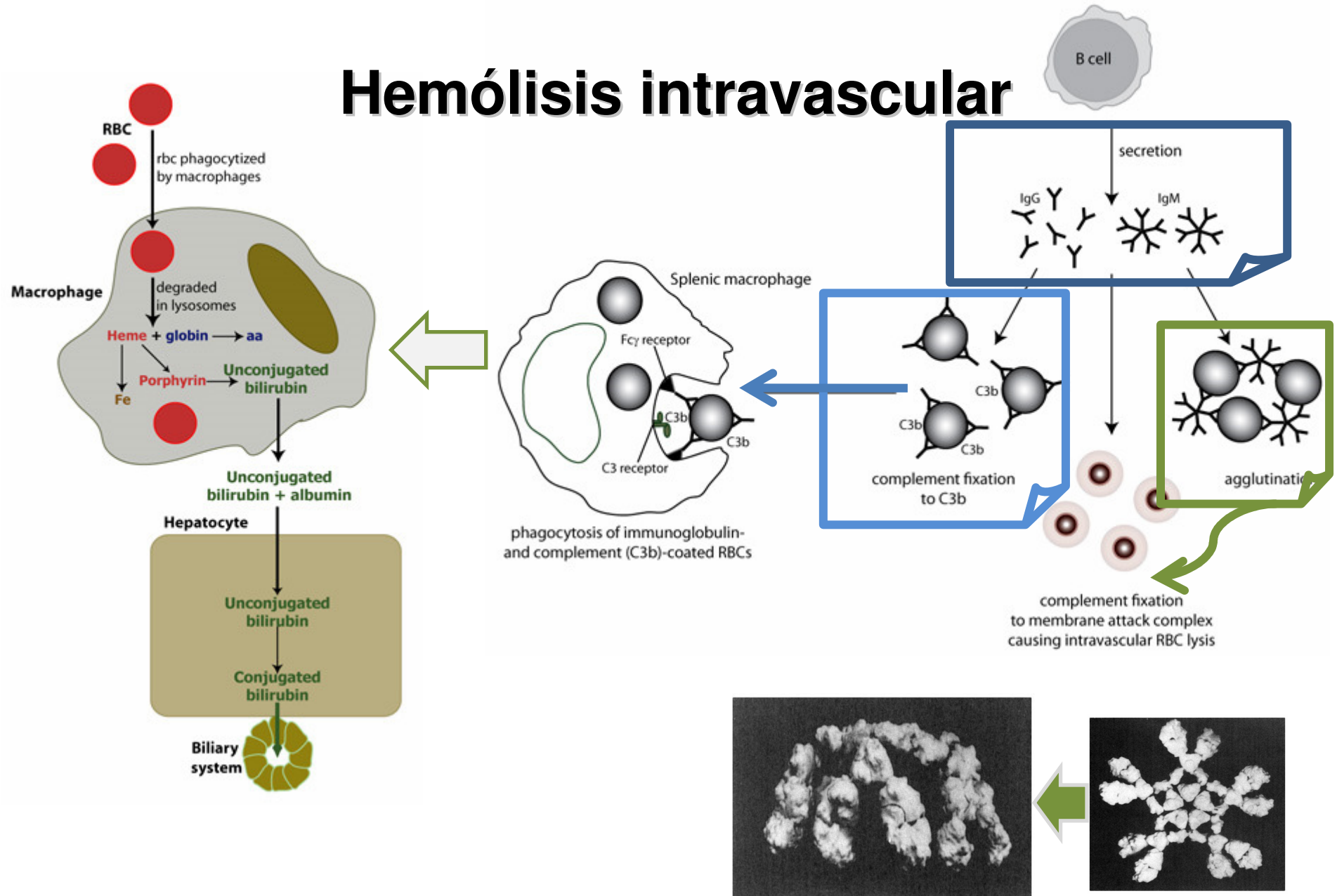


Figure 4.29 part 1 of 2 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

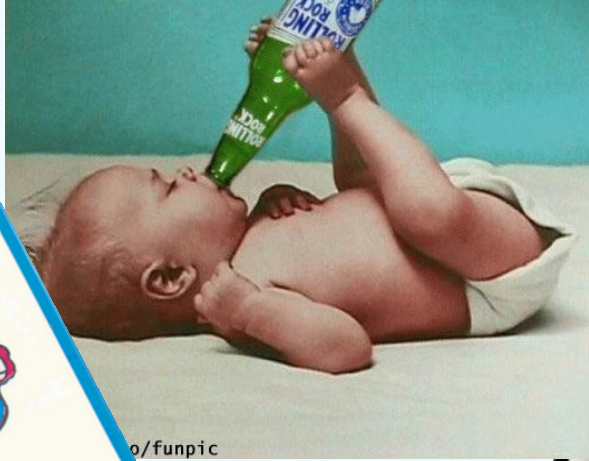


IgM forma pentámeros y hexámeros

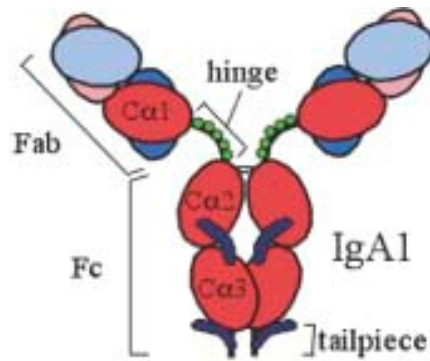
Hemólisis intravascular



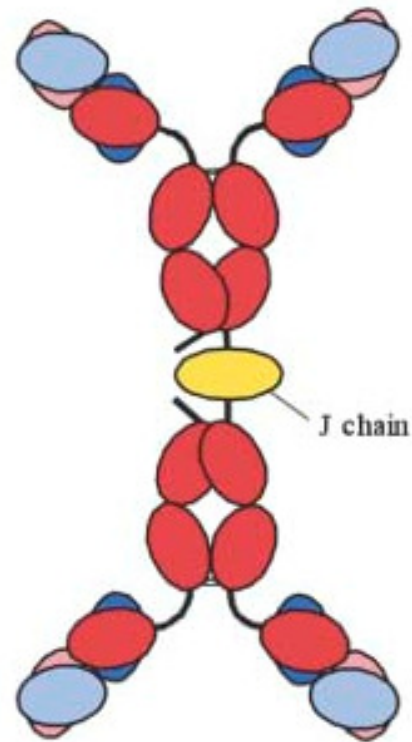
I
G
A



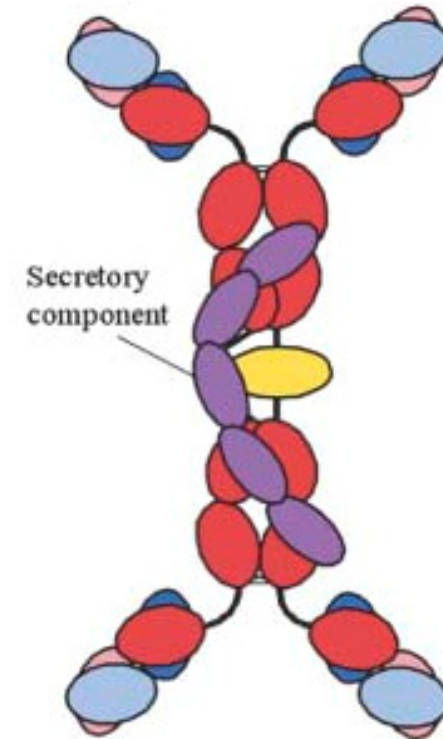
Estructura de la IgA



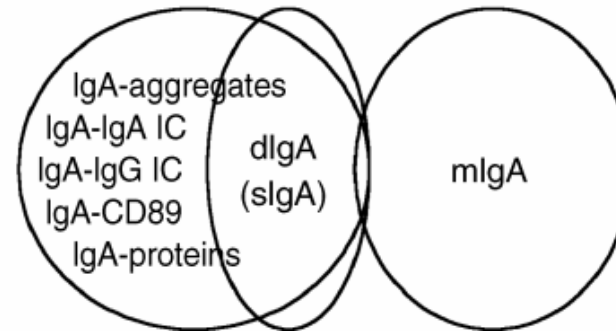
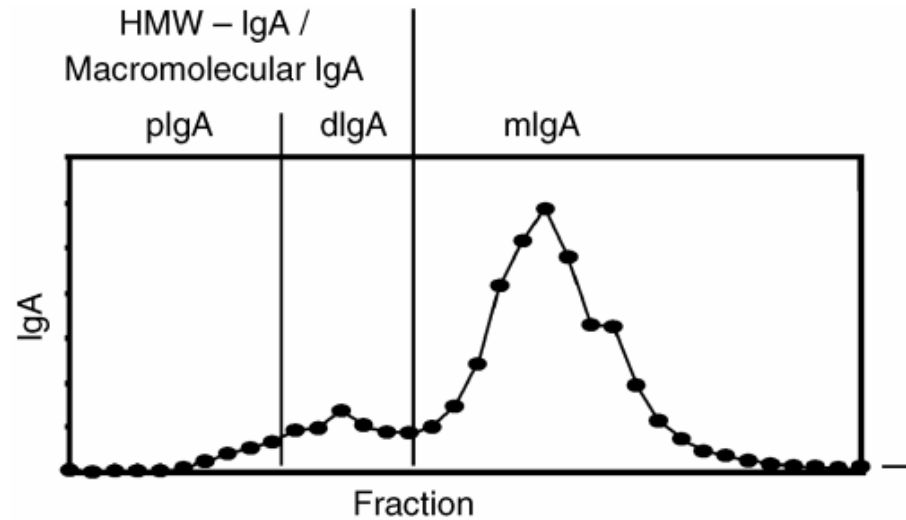
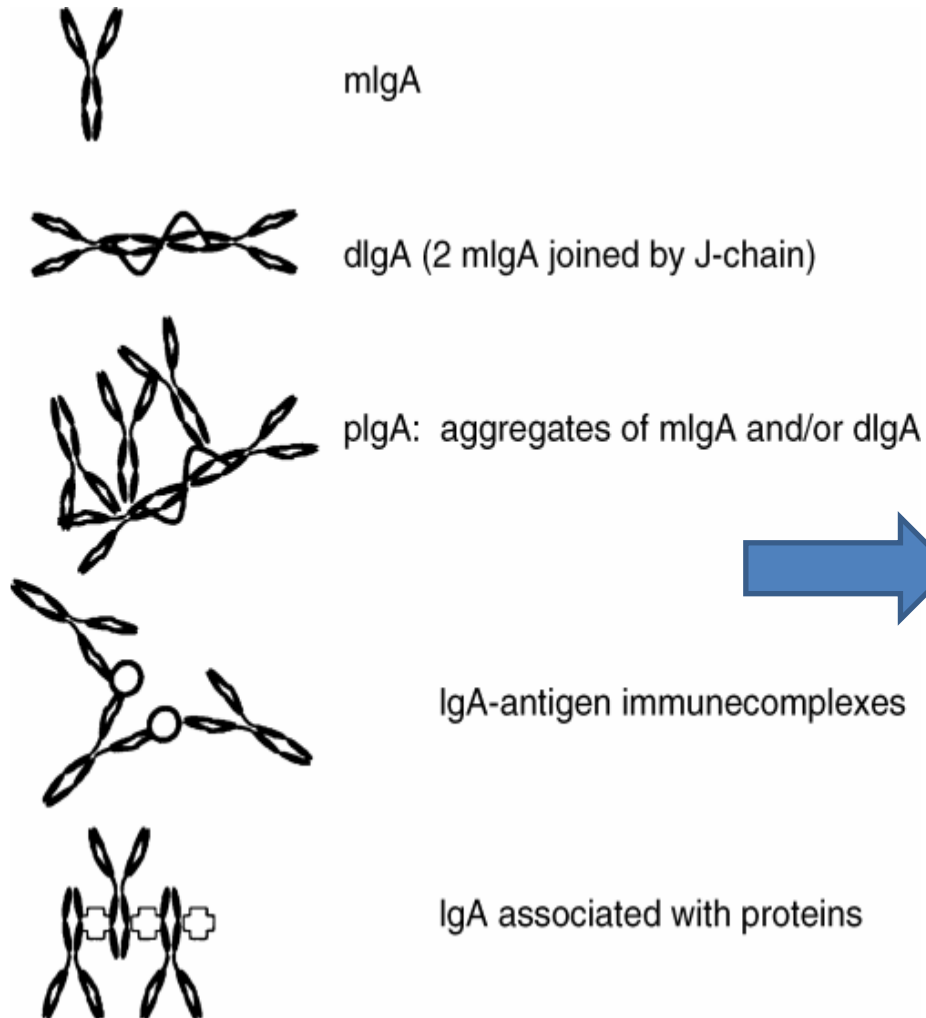
Monomérica IgA



Dimérica IgA



Secretoria IgA



IgA₁ vs IgA₂

- IgA₁ e IgA₂, difieren por la **ausencia de una secuencia de 13 aminoácidos en la región en bisagra de la IgA₂**. Esta diferencia estructural explica la resistencia de la IgA₂ a las proteasas bacterianas y explica por qué este subtipo es más frecuente en las mucosas.
- IgA₁ se encuentra en suero y es sintetizada por células B de la médula ósea.
- IgA₂ es sintetizada por células B localizadas en las mucosas (gastrointestinal, genitourinaria y respiratoria) y se encuentra también en el calostro, leche materna,

Sus funciones....

- Atrapamiento y aglutinación de microorganismos,
- Bloqueo de alergenios,
- Inhibición de la colonización de las mucosas por la *Cándida albicans*,
- Neutralización del virus de la parotiditis y el herpes simple recurrente;
- Activación del complemento por la vía de la properdina.
- **Se convierte en la primera línea de defensa de mucosas y de los dientes.**

- **En la sangre, la IgA interacciona con el receptor denominado Fc α RI (CD89), el que está expresado en células efectoras del sistema inmune y juega un rol importante al iniciar la respuesta inflamatoria.**
- **La unión de los inmunocomplejos que contienen IgA con Fc α RI induce ADCC, degranulación de eosinófilos y basófilos, fagocitosis por monocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, así como el estallido respiratorio en neutrófilos....**

Receptores de IgA

Tres de ellos se consideran genuinos:

- el receptor de IgA polimérica (pIg) está involucrado en el transporte de IgM e IgA a través de las barreras mucosas.
- CD89 es el receptor específico de IgA (Fc α RI) que une IgA1 e IgA2.
- El tercer tipo une IgA e IgM.

Los dos restantes, alternativos, son el receptor de asialoglucoproteína y de transferrina (TfR).

Receptores Alternativos de IgA

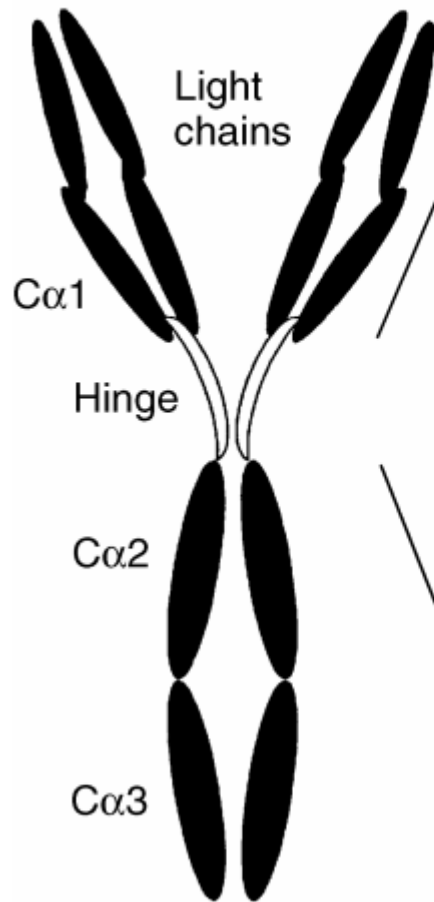
Receptor de asialoglucoproteína (ASGP-R)

- El hígado tiene importante participación en el mantenimiento de la homeostasis a través de la regulación del catabolismo de la IgA. El ASGP-R se expresa en hepatocitos y reconoce residuos terminales en las glucoproteínas del suero, inclusive IgA. Sin embargo, varios estudios en primates revelaron que una minoría de proteínas unidas e internalizadas por el ASGP-R escapan a la degradación y son transportadas a la bilis en forma intacta. Se considera que el ASGP-R de hígado participa en la depuración de IgA de la sangre, esencialmente de la IgA2. La rápida depuración hepática de IgA2 respecto de IgA1 explicaría los mayores niveles de esta última en sangre.

Receptor de transferrina

- El TfR o CD71 une selectivamente IgA1 pero, a diferencia del CD89, no se expresa en leucocitos sanguíneos maduros. En cambio, se expresa ampliamente en células mesangiales renales en cultivo. La IgA1 polimérica se une mejor al TfR que la IgA1 monomérica. Los linfocitos T y B humanos unen IgA y esta unión depende de la proliferación de linfocitos T. El TfR se expresa en líneas de células B, como las células Daudi. Es posible que el TfR intervenga en la fijación temprana de las moléculas de IgA1 a las células T.

IgA1-structure



Amino acid sequence

Cα1
 Pro
 Ser²²⁴
 Thr²²⁵
 Pro
 Pro
 Thr²²⁸
 Pro
 Ser²³⁰
 Pro
 Ser²³²
 Thr²³³
 Pro
 Thr²³⁶
 Pro
 Ser²³⁸
 Pro
 Ser²⁴⁰
 Cα2

Possible O-glycan structures

Ser/Thr —O—GalNAc^{α1}

Ser/Thr —O—GalNAc^{α1}—Gal^{β1,3}

Ser/Thr —O—GalNAc^{α1}—Gal^{β1,3}—NANA^{α2,3}

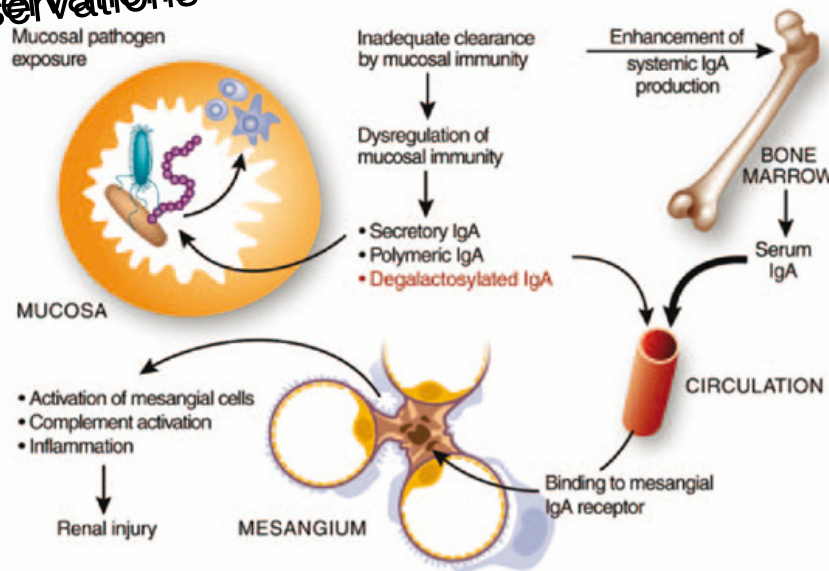
Ser/Thr —O—GalNAc^{α1}
 | α2,6
 NANA

Ser/Thr —O—GalNAc^{α1}—Gal^{β1,3}
 | α2,6
 NANA

Ser/Thr —O—GalNAc^{α1}—Gal^{β1,3}—NANA^{α2,3}
 | α2,6
 NANA

This increase is restricted to the IgA1 subclass with a predominance of λ light chains....

Activation of the alternative and MBL complement pathways by IgA is supported by both in vitro and in vivo observations

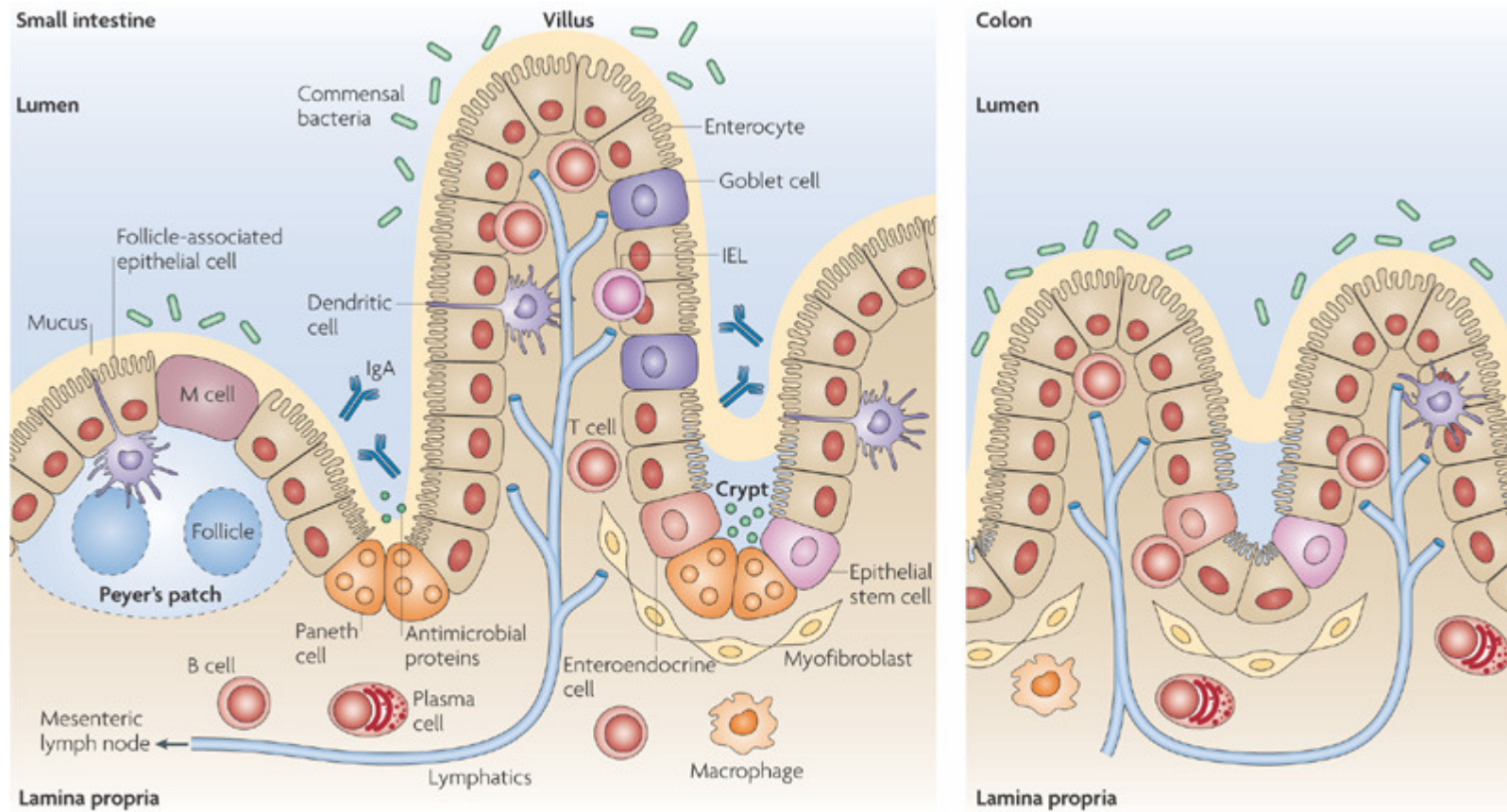


Several studies have shown that there is a defect in galactosylation of serum IgA1 from patients with IgAN

Nefropatía por IgA

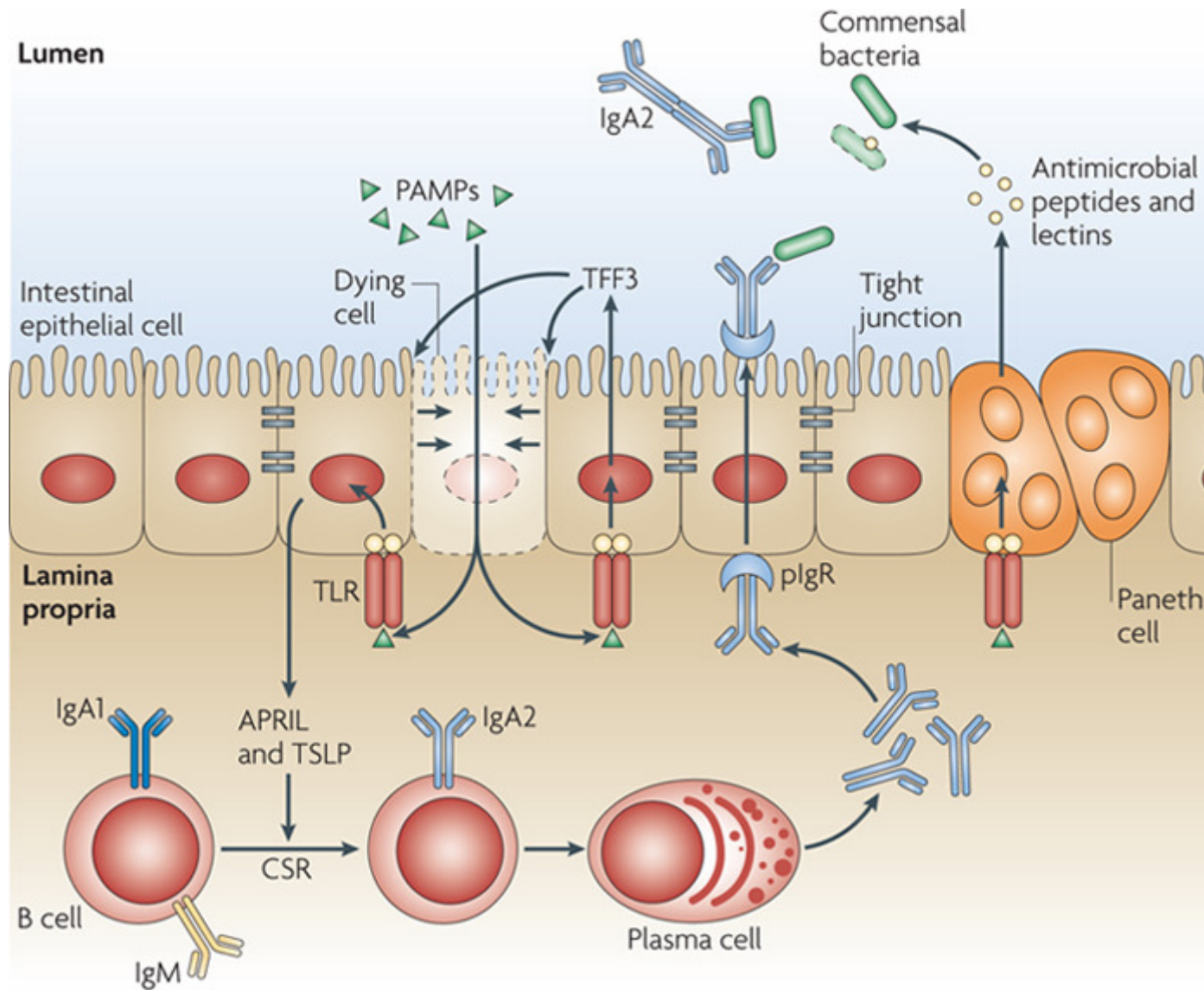
In the mucosal immune system, B cells, T cells, and dendritic cells have to deal with a continuous microbial exposure. In patients with IgA nephropathy, this mucosal immune response may be hampered, leading to persistence of infection and chronic stimulation of the mucosal immune system, resulting in overproduction of polymeric and partially degalactosylated IgA. This IgA can be secreted to the epithelial surface, but may also be directed toward the circulation. **The majority of serum IgA is produced by the bone marrow, and bone marrow production of IgA is enhanced in patients with IgA nephropathy, possibly also as a consequence of immune stimulation.** In the circulation, these processes result in increased levels of total serum IgA and of IgA with degalactosylated O-glycans. Degalactosylated IgA and secretory IgA have an increased interaction with mesangial cells, leading to deposition into the mesangium via an unidentified receptor, finally resulting in renal injury via cellular and humoral mechanisms.

En el GALT....



Nature Reviews | Immunology

Nature Reviews Immunology 10, 131-144 (February 2010)

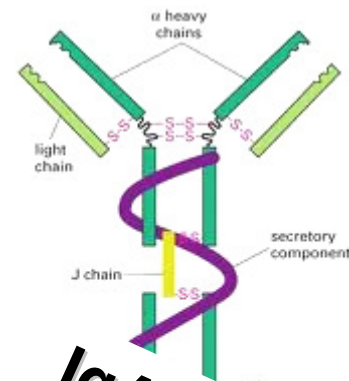


Nature Reviews Immunology 10, 131-144 (February 2010)

Nature Reviews | Immunology

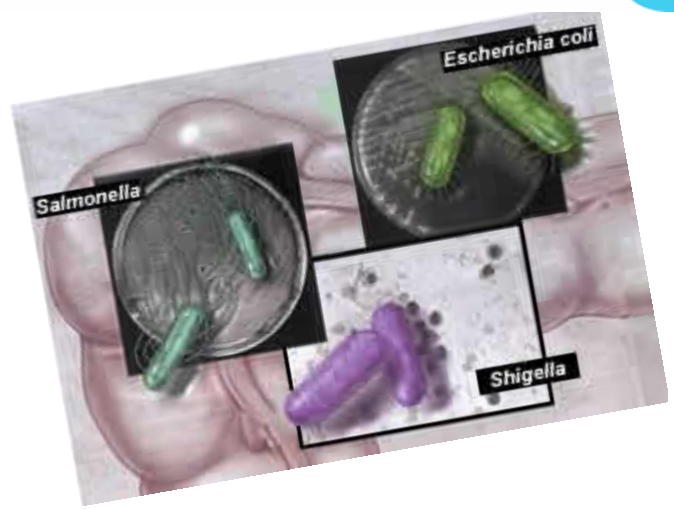
proliferation-inducing ligand (APRIL)
 thymic stromal lymphopoietin (TSLP)
 regenerating islet-derived protein 3γ (REG3γ)

The production of IgA1, but not IgA2, is T cell dependent and antigen specific....

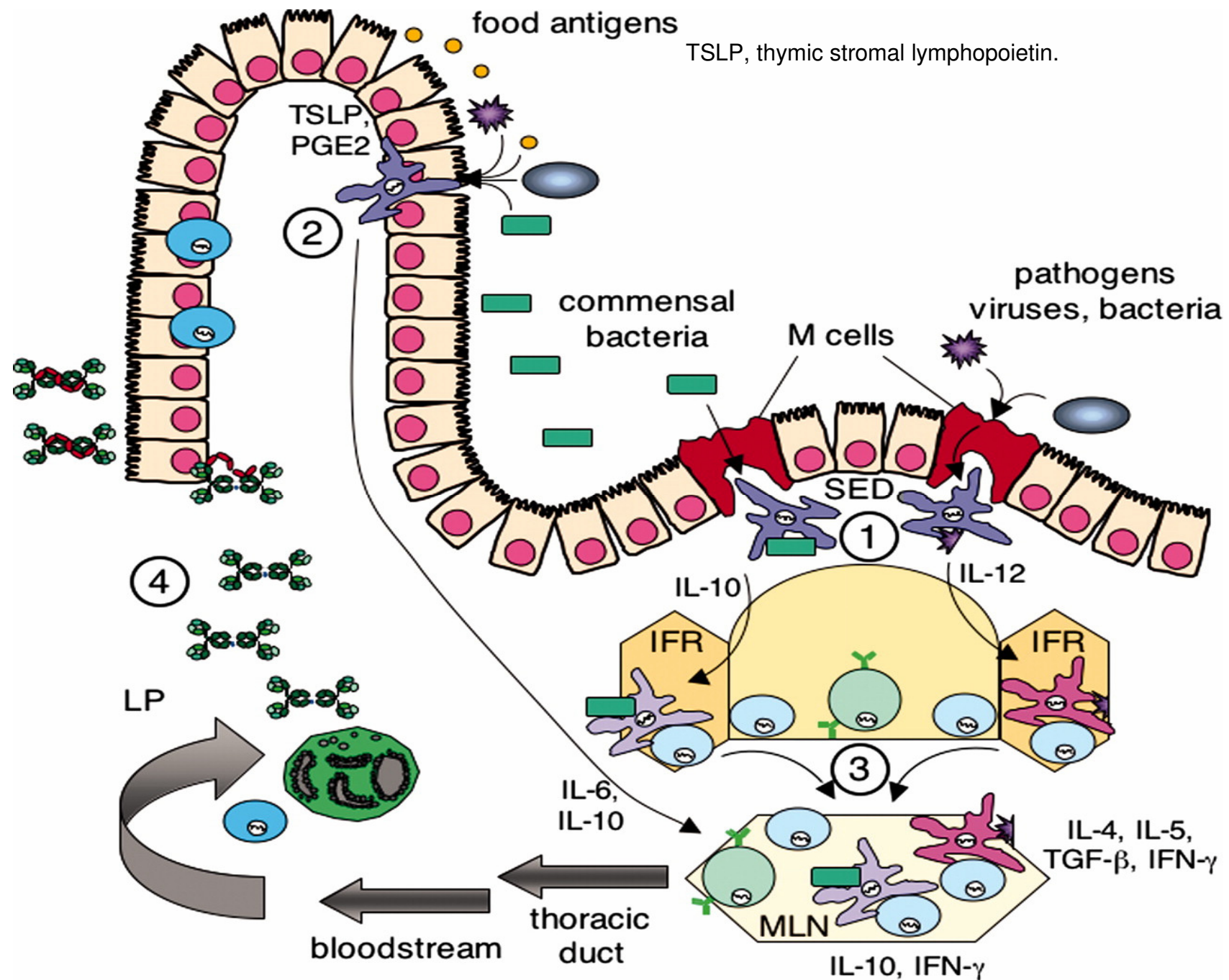


IgAS deriva de dos fuentes principales: linfocitos B1 y B2.

SECRETORY IgA



**La incapacidad de la IgAs de activar el
complemento y opsonizar
microorganismos ¿es beneficiosa o
perjudicial?**





veces beneficia....

