

Gli anticorpi

Elena Adinolfi

Anticorpi ed Antigeni

- Sono responsabili dell'immunità umorale perché sono stati identificati per la prima volta in circolo nel sangue, nella linfa ed in altri fluidi corporei (umori).
- A differenza delle molecole del sistema immunitario innato sono caratterizzati da una variabilità molto elevata. Un individuo può produrre un repertorio anticorpale in grado di riconoscere circa 10^9 antigeni differenti.
- Con la parola Antigene ci si riferisce ad un organismo, una molecola o una parte di molecola che viene riconosciuto dal sistema immunitario.
- Gli antigeni possono essere semplici o complessi, formati da proteine o carboidrati, oppure essere di natura sintetica.

Anticorpi e Antigeni

- Gli antigeni vengono riconosciuti dagli Anticorpi e dai relativi recettori della cellula B e dai recettori delle cellule T.
- I recettori delle cellule immunitarie riconoscono una piccola porzione dell'antigene detta epitopo.
- Linfociti di natura diversa, ciascuno dotato di un'unica serie di recettori, sono in grado di riconoscere epitopi differenti facenti parte dello stesso antigene.
- In base alla natura della risposta immunitaria che innescano gli epitopi/antigeni possono essere suddivisi in immunogeni, apteni e tollerogeni

Epitopi

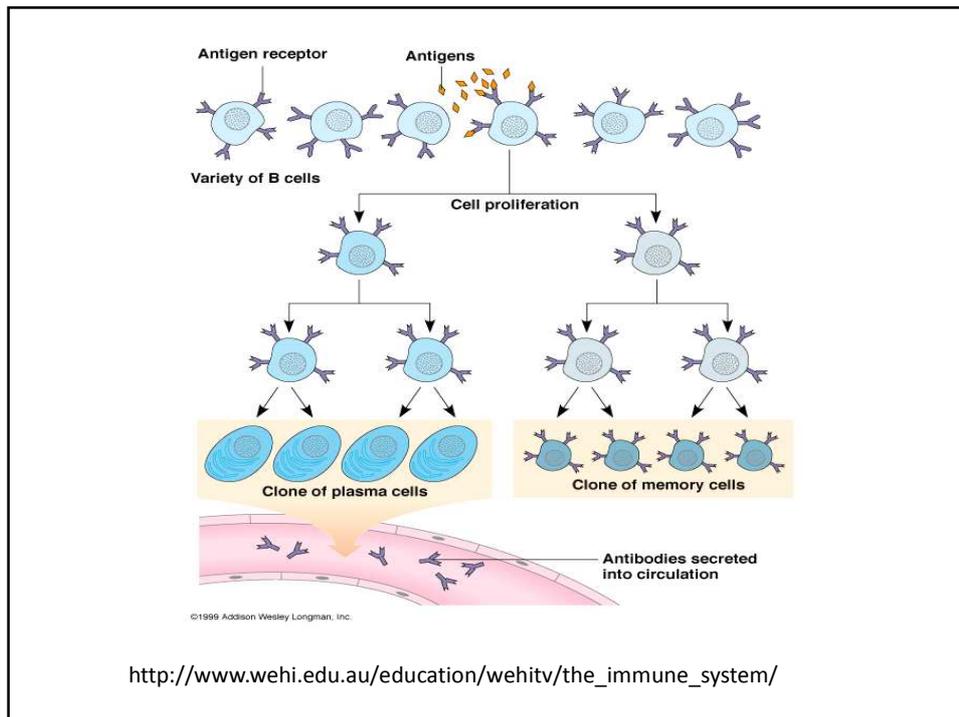
- Gli immunogeni contengono gli epitopi che sono in grado di innescare la risposta immunitaria.
- Esistono epitopi che pur legandosi ai recettori dell'immunità adattativa non sono in grado di attivare la risposta immunitaria, cioè non sono immunogeni tra questi:
- Apteni sono piccole sostanze in genere di sintesi che per attivare la risposta immunitaria necessitano dell'interazione con un carrier.
- Tollerogeni inducono una condizione di non responsività immunitaria adattativa (tolleranza).

Anticorpi

- Gli anticorpi costituiscono la forma secreta delle immunoglobuline (Ig).
- Le immunoglobuline sono prodotte dai linfociti B i quali, durante la loro maturazione, diventano capaci di produrre un' immunoglobulina con una singola specificità antigenica cioè in grado di legarsi ad un singolo epitopo.
- Prima dell'incontro con l'antigene la cellula B matura esprime l'immunoglobulina in una forma legata alla membrana che funge da recettore antigenico.
- Quando il linfocita B viene in contatto con l'antigene la cellula B comincia a moltiplicarsi e si trasforma in plasmacellula che secerne anticorpi in grado di riconoscere lo stesso epitopo.

La selezione clonale

- Le cellule B si differenziano a partire dalle cellule staminali del midollo osseo.
- Dopo la maturazione le cellule B migrano agli organi linfoidi (linfonodi o milza).
- Quando una cellula B incontra nell'organo linfoide l'antigene riconosciuto dall'anticorpo che esprime in membrana che funge da recettore della cellula B (BCR) comincia a duplicarsi generando plasmacellule in grado di produrre e secernere grosse quantità dell'anticorpo corrispondente e cellule B della memoria



Anticorpi

- La funzione degli anticorpi è quella di riconoscere l'immunogeno attivando la difesa da parte delle cellule immunitarie.
- le modalità attraverso le quali un anticorpo può favorire l'eliminazione dei patogeni comprendono:
 - La neutralizzazione: l'interazione antigene anticorpo blocca l'interazione del patogeno o della tossina con le cellule umane. Es vaccini contro le tossine, blocco del sito che permette ai virus di penetrare nella cellula eucariotica

Anticorpi

- L'opsonizzazione, gli anticorpi ricoprono il patogeno favorendone l'internalizzazione da parte dei fagociti dotati di recettori per la frazione costante dell'Ab o attivando il complemento e facilitando la produzione di C3b
- La capacità di riconoscimento dell'antigene è data da una porzione dell'anticorpo che è altamente variabile (10^9 , per individuo) mentre la capacità di trasmettere il segnale alle cellule immunitarie è garantita dalla regione costante dell'anticorpo che viene riconosciuta da recettori specifici.

Struttura degli anticorpi

- Gli anticorpi sono molecole con una struttura simile ad una Y
- Le due braccia della Y terminano con le regioni variabili V che sono responsabili del riconoscimento antigene-anticorpo
- Lo stelo della Y è formato da una regione C molto meno variabile responsabile delle funzioni effettrici degli anticorpi.
- A seconda delle caratteristiche della loro regione costante gli anticorpi possono essere suddivisi in cinque diverse classi : IgM, IgD, IgG; IgA ed IgE.

Struttura degli anticorpi

- Ogni immunoglobulina è costituita da:
- 2 catene leggere , tra loro identiche ~25 KDa
- 2 catene pesanti, tra loro identiche ~50 Kda
- L'identità delle catene leggere e pesanti conferisce all'anticorpo la capacità di legare simultaneamente due strutture antigeniche diverse.
- Ogni catena leggera è legata ad una catena pesante tramite un ponte disolfuro (H-L)
- le due catene pesanti sono legate anche esse tramite ponti disolfuro (H-H)

Struttura degli anticorpi

- Sia la catena leggera che quella pesante presentano 100 amminoacidi nella loro regione amminotermine che variano da anticorpo ad anticorpo .
- Le regioni variabili sono denominate VL (variable light) e VH (variable heavy)
- Le regioni costanti invece sono denominate CL (constant light) e CH (Constant Heavy)
- Sia le catene leggere che pesanti sono costituite da moduli di un dominio comune anche ad altre proteine detto dominio delle immunoglobuline il cui folding conferisce una particolare stabilità agli anticorpi.

Struttura degli anticorpi

- Le catene leggere possono essere di due tipi diversi: κ e λ . La stessa immunoglobulina possiede catene κ oppure λ ma non entrambe.
- non ci sono differenze funzionali tra gli anticorpi che possiedono l'uno o l'altro tipo di catena leggera e anticorpi con catene κ o λ .
- Il rapporto κ/λ varia nelle differenti specie, es nel topo il 95% delle catene leggere sono κ mentre nell'uomo le catene κ corrispondono al 60%

Struttura degli anticorpi

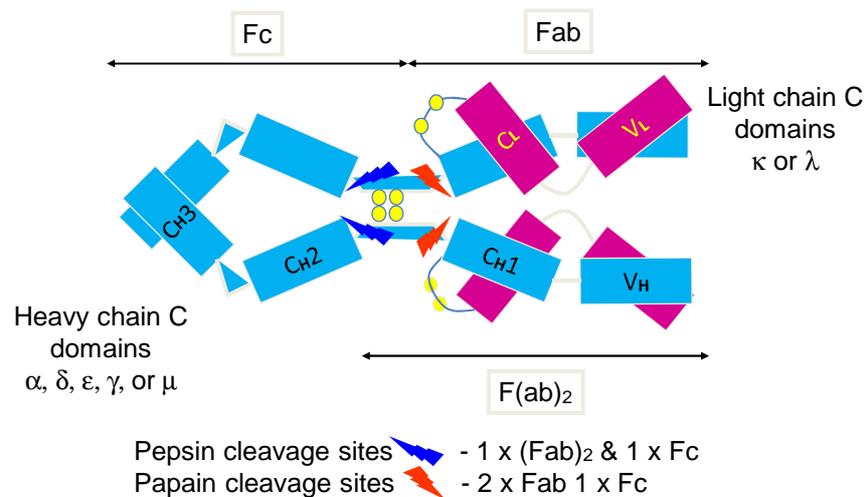
- Le catene pesanti delle cinque principali classi di immunoglobuline sono indicate dalle corrispondenti lettere dell'alfabeto greco:
 - IgM = μ
 - IgD = δ
 - IgG = γ
 - IgA = α
 - IgE = ϵ

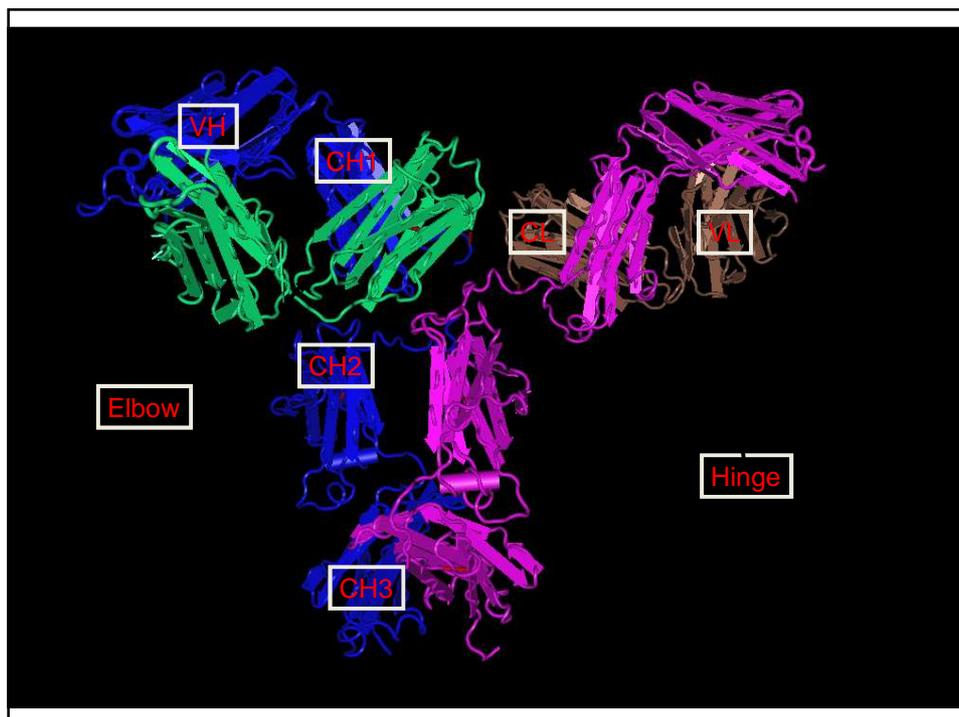
Struttura degli anticorpi

- il dominio immunoglobulinico è formato da circa 110 amminoacidi
 - Ciascun dominio è stabilizzato da ponti disolfuro intracatenari
- Le catene pesanti sono costituite da un dominio variabile V_H e 3 o 4 domini costanti (CH_1 , CH_2 , CH_3 , CH_4) a seconda della sottoclasse di immunoglobuline cui appartengono
- Le catene leggere sono costituite da due soli domini V_L (variabile) e C_L (costante)
 - $1 V_L$ and $1 C_L$

Domini strutturali delle immunoglobuline

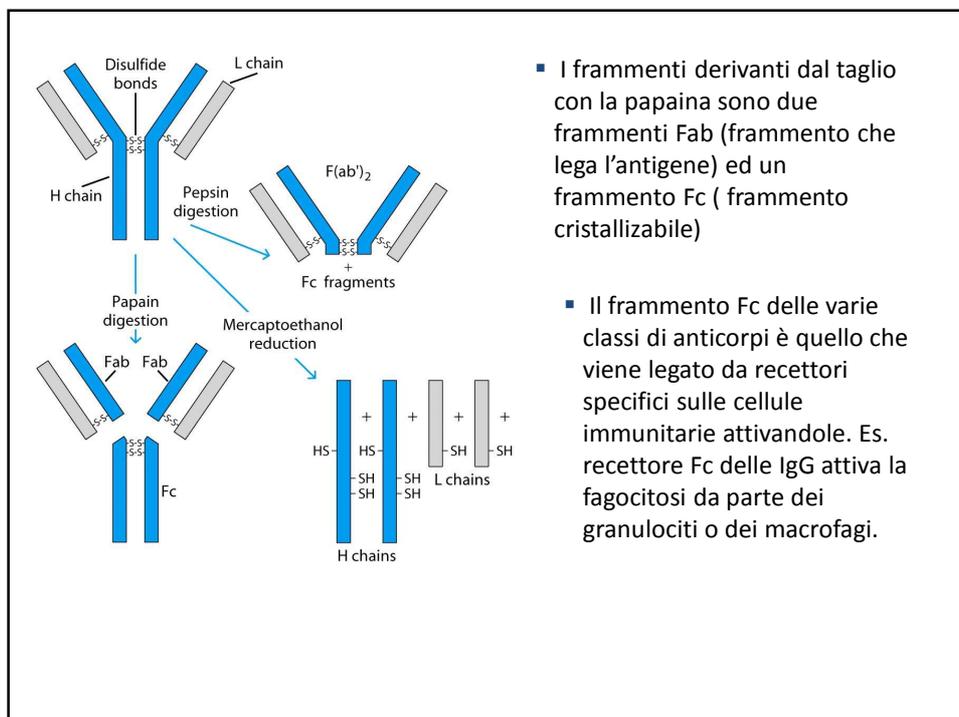
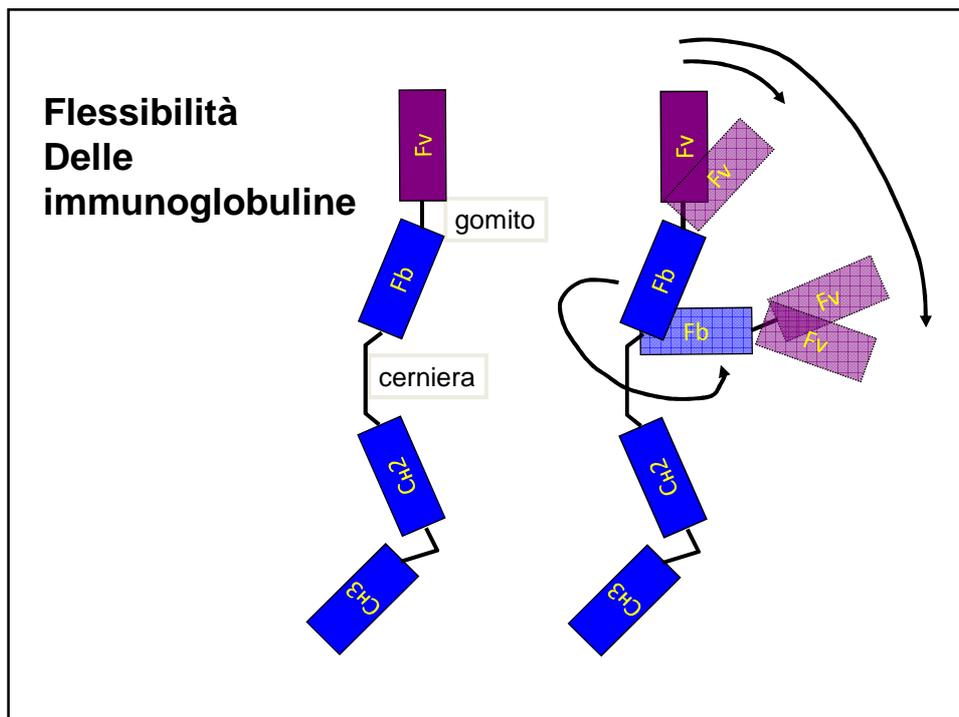
I domini sono strutture ripiegate, compatte e resistenti al taglio proteolitico





Struttura degli anticorpi

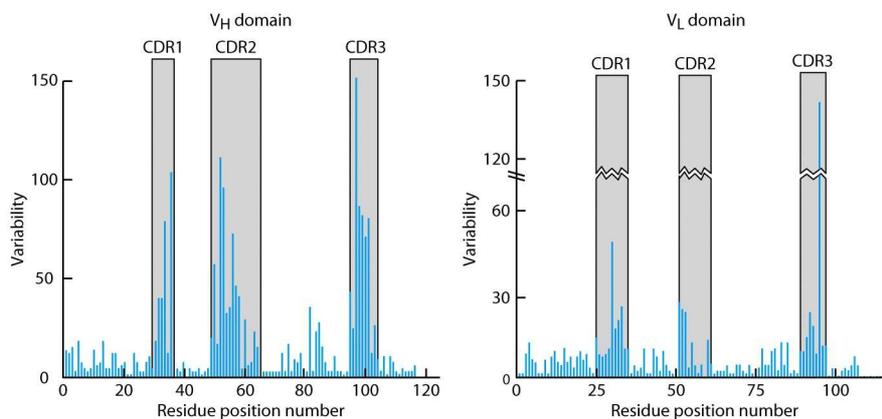
- La regione che unisce le braccia della Y allo stelo è detta regione cerniera
 - Questa regione è resa flessibile dalla presenza di residui di prolina e permette di massimizzare l'interazione con l'antigene
 - solo IgG, IgA ed IgD sono dotate della regione cerniera
- IgM ed IgE non sono dotate di una regione cerniera ma presentano un dominio costante in più rispetto alle altre classi di immunoglobuline (CH4)
- I residui di prolina della regione cerniera rendono le immunoglobuline sensibili al taglio proteolitico di enzimi quali la papaina e la pepsina.



Riconoscimento antigene anticorpo

- Le due regioni variabili contenute in un frammento Fab (VL e VH) determinano il riconoscimento antigene anticorpo.
- Il sequenziamento di un elevato numero di anticorpi ha permesso di individuare delle zone particolarmente variabili all'interno delle regioni V.
- Queste porzioni proteiche sono situate nelle anse che interagiscono con l'antigene e sono dette CDR (regioni che determinano la complementarità).
- Le così dette regioni cornice, che sono meno variabili, garantiscono la struttura tridimensionale dell'anticorpo formando dei beta foglietti.
- Ciascuna regione variabile è costituita da 3 CDR e 4 regioni cornice. Ogni immunoglobulina è quindi dotata di 6 CDR (3 da VH e 3 VL).

Regioni che determinano la complementarità (CDR)



- l'elevata variabilità delle regioni CDR è dovuta ad un processo di ricombinazione genica somatica
- Questo processo permette di riarrangiare i segmenti genici che codificano per la regione variabile delle Ig solo nei linfociti B.
- E' una ricombinazione non legata alla generazione di gameti.
- Ogni linfocita B durante la maturazione genera una singola specificità antigenica

Legame antigene anticorpo

- Il legame antigene anticorpo non è un legame covalente ma è dovuto principalmente a interazioni idrofobiche, forze di Van der Waals, legami idrogeno ed elettrostatici. Questo tipo di forze operano solo a brevissimo raggio cioè in caso di contatto diretto tra antigene ed anticorpo.
- il sequenziamento di un numero elevato di regioni CDR ha permesso anche di indentificare alcuni amminoacidi che sono espressi più di frequente in queste regioni che in una qualunque sequenza proteica:
- amminoacidi aromatici formano legami idrofobici o forze di Van der Waals e anche legami idrogeno, perciò la tirosina è spesso presente nelle regioni CDR
- Anche amminoacidi polari come l'arginina che possono formare legame idrogeno con l'antigene sono spesso presenti nel sito di legame

Il recettore della cellula B (BCR)

- Il recettore della cellula B è un anticorpo espresso sulla superficie cellulare grazie ad una regione idrofobica di membrana
- la sua coda citoplasmatica è molto piccola e ne consente solo l'ancoraggio alla membrana
- La trasduzione del segnale è mediata dall' eterodimero $Ig-\alpha/Ig-\beta$ queste molecole appartengono alla superfamiglia delle immunoglobuline ma non sono variabili e sono responsabili della trasduzione del segnale

Funzioni della regione FC

il frammento $(Fab)_2$ è in grado di:

- Riconoscere l'antigene e mediarne la precipitazione
- bloccare i siti attivi delle tossine e di altre molecole associate ai patogeni
- bloccare le interazioni tra l'ospite e le molecole del patogeno (es. Molecole di ingresso dei virus)

Però il Fab non è in grado di attivare

- La funzione delle cellule infiammatorie e del complemento
- L'internalizzazione ed il processamento dell'antigene

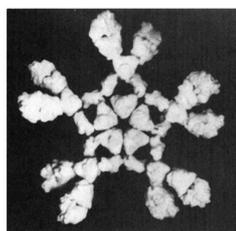
Sottoclassi di immunoglobuline

- Le prime immunoglobuline prodotte dal linfocita B maturo sono IgM ed IgD di membrana. Che fungono da BCR e permettono il primo incontro tra linfocita B e antigene corrispondente.
- Successivamente all'attivazione del BCR il linfocita B comincia a secernere gli anticorpi in forma solubile. I primi anticorpi secreti prodotti in seguito all'incontro con l'antigene sono le IgM che in soluzione assumono una forma pentamerica.
- Successivamente l'organismo comincia a produrre le IgG che sono anche le immunoglobuline maggiormente presenti in circolo al secondo incontro con l'antigene

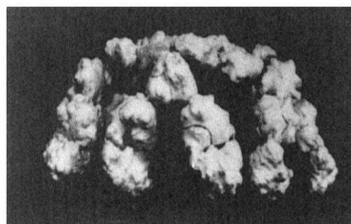
IgM

- Sono le prime immunoglobuline prodotte in seguito ad immunizzazione.
- Furono descritte per la prima volta come macroglobuline da cui il nome IgM.
- In circolo sono presenti come pentameri stabilizzati da una catena di giunzione detta catena J.
- il pentamero IgM non è molto flessibile e questo comporta che nonostante ci siano 10 siti di legame per l'antigene disponibili per ciascuna IgM la effettiva valenza dell'immunoglobulina sia ridotta a 5 molecole di antigene.

L'antigene induce delle modificazioni conformazionali nella molecola di IgM



Conformazione planare presente in soluzione non fissa il complemento



Modificazione conformazionale indotta dall'antigene, fissazione efficiente del complemento

IgM

- Le IgM sono estremamente efficienti nel fissare o attivare il complemento.
- Poiché le IgM sono il primo isotipo sintetizzato dopo l'immunizzazione elevati livelli di IgM indicano infezione recente o recente esposizione all'antigene.

Caratteristiche delle IgM

Catena pesante:	<i>μ - Mu</i>
Emivita:	<i>5 - 10 giorni</i>
% delle Ig sieriche:	<i>10</i>
Concentrazione sierica	<i>0.25 - 3.1 mg/ml</i>
Attivazione complemento:	<i>++++ via classica</i>
Interazioni con le cellule:	<i>Fagociti attraverso I recettori C3b, cellule epiteliali attraverso il retto polimerico Ig</i>
Passaggio transplacentare:	<i>No</i>
Affinità per l'antigene:	<i>IgM monomeriche – bassa affinità IgM pentameriche alta avidità</i>

IgG

- Sono le immunoglobuline maggiormente rappresentate nel sangue nella linfa , nel liquido cerebro spinale e peritoneale.
- Nell'uomo esistono 4 sottoclassi di IgG: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 che sono numerate in base al loro livello di abbondanza nel organismo.
- Con l'esclusione delle IgG3 che hanno un emivita di circa 7 giorni le altre IgG presentano un emivita molto lunga che si aggira intorno ai 23 giorni.
- la prolungata emivita delle IgG dipende da un meccanismo di riciclo endosomiale mediato da un recettore saturabile per la loro porzione FC.

IgG

- Le IgG possono agglutinare o aggregare antigeni particolati dando luogo alla formazione di precipitati che facilitano la fagocitosi.
- Le IgG possono fungere anche da opsonine in quanto i fagociti esprimono un recettore per il loro frammento cristallizzabile che facilita il riconoscimento e l'internalizzazione del patogeno rivestito dagli anticorpi.
- Le IgG sono in grado di neutralizzare tossine quali quella tetanica o botulinica bloccandone il sito attivo.

IgG

- Le IgG legandosi a strutture come cilia o flagelli dei batteri ne provoca l'aggregazione immobilizzando così i patogeni dotati di movimento.
- Le IgG legando le strutture virali responsabili del ingresso nella cellula ospite sono in grado di neutralizzare i virus.
- Le IgG di classe 1,2 e 3 sono anche in grado di attivare il complemento anche se in maniera meno efficiente rispetto alle IgM

IgG ed immunizzazione del nascituro

- Le IgG fatta eccezione per le IgG2 sono le uniche immunoglobuline che attraversano la placenta consentendo quindi il trasferimento dello stato immune dalla madre al feto.
- Il passaggio attraverso la placenta è reso possibile dall'espressione del recettore per l'Fc (FcRp) sulle cellule placentari.

IgG ed immunizzazione del nascituro

- Al 3°-4° mese di gravidanza c'è un aumento delle IgG materne nel liquido amniotico.
- Al 5° mese di gestazione il feto comincia a produrre IgM ed IgA proprie ed è solo dopo 3-4 mesi dalla nascita, quando il livello delle IgG materne cala che il neonato comincia a produrre le proprie IgG.
- Durante l'allattamento le Ig materne che vengono trasferite al neonato sono di classe IgA

Caratteristiche delle IgG

Catene pesanti:	$\gamma 1 \ \gamma 2 \ \gamma 3 \ \gamma 4$ - Gamma 1 - 4			
emivita:	IgG1	21 - 24 days	IgG2	21 - 24 days
	IgG3	7 - 8 days	IgG4	21 - 24 days
Concentrazione sierica:	IgG1	5 - 12	IgG2	2 - 6
	IgG3	0.5 - 1	IgG4	0.2 - 1
% delle Ig sieriche	IgG1	45 - 53	IgG2	11 - 15
	IgG3	3 - 6	IgG4	1 - 4
Att. Complemento	IgG1	+++	IgG2	+
	IgG3	++++	IgG4	No
Interazione con le cellule:	tutte le sottoclassi tramite recettori IgG sui fagociti			IgG sui fagociti
Pass. transplacentare:	IgG1	++	IgG2	
	IgG3	++	IgG4	++

IgA

- Le IgA sono le immunoglobuline più abbondanti nelle secrezioni quali la saliva, il muco il sudore, il succo gastrico e le lacrime. Sono inoltre presenti nel colostro e nel latte materno.
- la classe IgA presenta due sotto classi IgA1 pari al 93% ed IgA2 pari al 7%.
- Se si considera la produzione al livello delle mucose, respiratorie, gastrointestinali ed urinarie le IgA risultano le Ig quantitativamente più rappresentate nell'organismo.

IgA

- Le IgA sono presenti come dimeri stabilizzati da una catena J nelle secrezioni ed al livello delle mucose
- Le IgA circolanti sono dei monomeri e rappresentano una porzione molto bassa delle IgG circolanti.
- Si ritiene che al livello delle mucose la funzione delle IgA sia essenzialmente quella di impedire al microrganismo le fasi di attacco e penetrazione nella superficie epiteliale
- Svolgono una funzione simile sia nei confronti di batteri quali vibrio colerae sia dei virus.
- Sono efficaci anticorpi agglutinanti ma non attivano il complemento

Caratteristiche delle IgA

Catene pesanti:	<i>α1 o α2 - Alpha 1 o 2</i>
emivita:	<i>IgA1 5 - 7 giorni IgA2 4 - 6 giorni</i>
Concentrazione serica:	<i>IgA1 1.4 - 4.2 mg/ml IgA2 0.2 - 0.5 mg/ml</i>
% delle Ig sieriche:	<i>IgA1 11 - 14 IgA2 1 - 4</i>
att. complemento:	<i>IgA1 - attraverso la via alternativa IgA2 - No</i>
Interazione con cellule:	<i>cellule epiteliali, fagociti</i>
Pass. transplacentare:	<i>No</i>

IgE

- Le IgE sono le immunoglobuline alla più bassa concentrazione ematica
- Sono dei monomeri dotati di una subunità CH4.
- Sono anche detti anticorpi reaginici perché mediano le risposte allergiche.
- Possono essere legate da recettori ad alta affinità per il loro frammento FC su mastociti e basofili. In questa forma possono rimanere legate alle cellule per mesi.
- Quando l'antigene si lega alle IgE immobilizzate causa il rilascio massivo di istamina ed altri mediatori infiammatori responsabili delle reazioni allergiche

Caratteristiche delle IgE

Catena pesante:	<i>ε - Epsilon</i>
emivita:	<i>1 - 5 giorni</i>
Concentrazione sierica:	<i>0.0001 - 0.0002 mg/ml</i>
% delle IgG sieriche:	<i>0.004</i>
Att. Complemento :	<i>No</i>
Interazioni con le cellule:	tramite recettori ad alta affinità con mastociti basofili ed eosinofili Tramite recettori a bassa affinità con macrofagi e cellule B
Pass. transplacentare:	<i>No</i>

IgD

- Le IgD sono presenti in forma molto ridotta e variabile in circolo.
- Sono gli unici anticorpi soggetti alla degradazione proteolitica.
- Svolgono funzione di BCR nella loro forma monomerica legata alla membrana del linfocita B.

- Non sono secrete dalle plasmacellule

- Il loro ruolo non è chiaro anche se sembra che svolgano un'importante funzione nell'eliminazione dei linfociti B autoreattivi (che riconoscono strutture self)

Caratteristiche delle IgD

Catena pesante:	δ - Delta
emivita:	2 -8 giorni
% delle Ig sieriche :	0.2
Concentrazione sierica	0.03 - 0.4 mg/ml
Attivazione del complemento:	No
Interazione con cellule:	cellule T attraverso il recettore per IgD
Passaggio transplacentare:	No

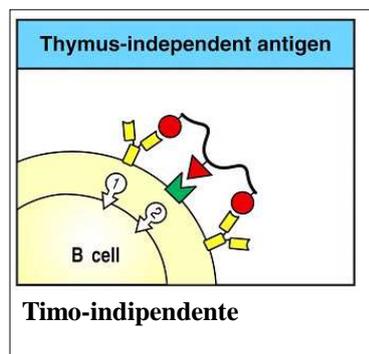
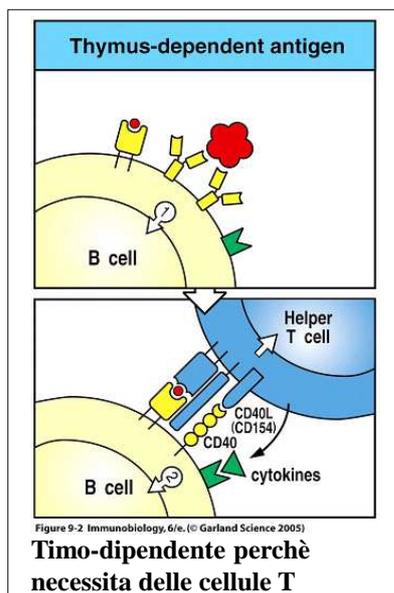
Antigeni T dipendenti e T indipendenti

- La produzione degli anticorpi può avvenire nei confronti di antigeni T dipendenti o T indipendenti
- Per gli antigeni T dipendenti la produzione dell'anticorpo richiede l'attivazione della cellula B da parte dei linfociti T helper.
- L'antigene viene ingerito da un fagocita presentato alla cellula T helper che attiva la cellula B causandone la trasformazione in plasmacellula
- Gli antigeni sono in genere proteine virali o batteriche, cellule del sangue esogene e complessi antigeni carrier.

Antigeni T dipendenti e T indipendenti

- Per la produzione di anticorpi diretti verso antigeni T indipendenti non è richiesta l'attivazione delle cellule T helper.
- Gli antigeni in questione sono essenzialmente polisaccaridi o lipopolisaccaridi con subunità ripetute come quelli che formano la capsula batterica
- La risposta immune causata da questo tipo di antigene è più debole rispetto a quella dovuta agli antigeni T dipendenti

Attivazione della cellula B



La risposta anticorpale T indipendente in genere

1. non ha memoria
2. non va incontro allo switch isotipico
3. non va incontro ad ipermutazione somatica