

Anticorpos catalíticos e suas aplicações em biotecnologia

Catalytic antibodies and its applications in biotechnology

Luciana Martins Macedo¹
Paulo Roberto Martins Queiroz²

Resumo

Características peculiares como a alta especificidade dos anticorpos e o eficiente poder catalítico das enzimas têm despertado um grande interesse em grupos de pesquisa científica no que diz respeito a possíveis reações obtidas pela junção dessas duas moléculas. O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica sobre a constituição e obtenção dos anticorpos catalíticos e suas potenciais aplicações em biotecnologia. A tecnologia de anticorpos catalíticos já demonstrou a capacidade dessas moléculas em mediar diversas reações e vem abrindo relevantes possibilidades de aplicações em áreas industriais, agrícolas e biotecnológicas. Aliada à prática médica, os anticorpos catalíticos são grande promessa para fins diagnósticos e terapêuticos, desde a destruição de células cancerígenas e microrganismos, até a elaboração de vacinas catalíticas para as mais diversas finalidades, como a desintoxicação definitiva de pacientes com dependência química.

Palavras-chave: Catálise enzimática. Enzima Anticorpos. Anticorpos catalíticos. Imunoterapia. Biotecnologia.

Abstract

Peculiar characteristics such as high specificity of the antibodies and efficient catalytic power of enzymes have attracted great interest in scientific research groups with regard to the possible reactions obtained by joining these two molecules. The aim of this study was a review of literature based on the constitution and obtaining catalytic antibodies and their potential applications in biotechnology. The catalytic antibody technology has already demonstrated the ability of these molecules to mediate various reactions and have opened significant opportunities for applications in industrial, agricultural, and biotechnology. Coupled with the medical practice are catalytic antibodies hold great promise for diagnostic and therapeutic purposes since the destruction of cancer cells and microorganisms, to the catalytic production of vaccines for many different purposes as the final detoxification of patients with chemical abuse.

Keywords: Enzyme catalysis. Enzyme. Antibodies. Catalytic antibodies. Immunotherapy. Biotechnology.

¹ Graduada em Biomedicina – UniCEUB.

² PhD em Biologia Animal. Universidade de Brasília – UnB. Professor do curso de Biomedicina. UniCEUB. E-mail: pqsilva@uol.com.br

1 Introdução

De todas as funções das proteínas, a catálise provavelmente é a mais importante. Na ausência de catálise, a maioria das reações nos sistemas biológicos ocorreria de forma excessivamente lenta para fornecer produtos a um ritmo adequado para um organismo metabolizante (CAMPBELL; FARRELL, 2007). A capacidade catalítica é a soma de fatores que resulta em uma diminuição da energia livre de ativação para a etapa determinante da velocidade da reação (JUSTO, 1998) e os catalisadores que desempenham essa função nos sistemas biológicos são proteínas altamente especializadas denominadas enzimas. Possuem um extraordinário poder catalítico, frequentemente maior que aquele dos catalisadores inorgânicos ou sintéticos, um alto grau de especificidade para seus substratos, aumentam consideravelmente as reações químicas e funcionam em soluções aquosas sob condições moderadas de temperatura e pH (LEHNINGER, 2006). Poucos catalisadores não biológicos (que normalmente não são específicos para as reações) possuem todas essas propriedades, por exemplo, íons e complexos de metais de transição, ácidos e bases inorgânicas utilizados na indústria para o processo de fabricação de ácidos e outros compostos químicos (RAMALHO et al., 2007).

Entretanto, a habilidade ilimitada de selecionar ou programar catalisadores específicos para qualquer transformação química desejada, a partir de qualquer reagente químico, ainda não foi alcançada. O desenho racional de catalisadores específicos ainda é um problema difícil, mas uma solução em estudo utiliza a diversidade do sistema imune para produzir uma nova classe de enzimas: os anticorpos catalíticos. Sua habilidade em selecionar um dentre 10^{12} possíveis anticorpos que se ligam virtualmente a qualquer molécula de interesse faz do sistema imune uma fonte atrativa de catalisadores específicos (JUSTO, 1998).

Os anticorpos são proteínas de estruturas simples, apresentando quatro cadeias peptídicas compostas por duas cadeias leves (V_L), idênticas, constituídas de polipeptídeos com cerca de 25 kDa de massa molecular e de duas cadeias pesadas (V_H), idênticas, com polipeptídeos maiores de massa molecular de 50 kDa ou mais. São geradas pelo sistema imune para reconhecer substâncias estranhas denominadas antígenos e iniciar o processo de neutralização ou destruição desses agentes (GOLDSBY et al., 2002).

O reconhecimento seletivo ocorre por meio de interações fracas, sendo capazes de discriminar, com alta afinidade e seletividade específica, um amplo espectro de moléculas, naturais ou sintéticas. Um complexo sistema de seleção, acoplado a eventos celulares subsequentes, tais como, mutações somáticas e afinidade de maturação, proporcionam um aumento de milhões de vezes de variantes estruturais, fornecendo inúmeras moléculas com especificidade molecular incomparável e em uma escala de tempo de semanas (MALE et al., 1996).

Basicamente, a diferença entre anticorpos e enzimas envolve a especificidade. As enzimas catalisam reações por estabilizarem preferencialmente estados de transição, proporcionando diminuição da energia livre de ativação ao longo da coordenada de reação. Anticorpos são extremamente eficientes quanto à capacidade de ligação, podendo exceder a de enzimas, mas o fazem ao estado fundamental de sua estrutura molecular, segundo a conjectura de Linus Pauling (1946), que propôs um estabelecimento conceitual quanto à obtenção de anticorpos catalíticos. Isso levou William P. Jencks (1969) a sugerir que, se a complementaridade entre o sítio ativo e o estado de transição contribui significativamente para a catálise enzimática, deve ser possível sintetizar uma enzima por meio da construção de um sítio ativo. Uma maneira de fazer isso é elaborar um anticorpo com um grupo de haptenos que se assemelhe ao estado de transição de uma determinada reação. O sítio de combinação de tais anticorpos deverá ser complementar ao estado de transição e deve provocar uma aceleração obrigando o substrato a se assemelhar ao estado de transição (JENCKS, 1969).

Richard Lerner e Peter Schultz, que criaram os primeiros anticorpos catalíticos, verificaram essa hipótese em 1986 e, desde então, um grande número de abenzimas (termo designado para descrever híbridos anticorpo-enzima) foram gerados, sendo muitos deles com alta eficiência catalítica (JUSTO, 1998).

Desde o reconhecimento do potencial dos anticorpos catalíticos como ativadores de pró-fármacos (BAGSHAW, 1987), vários grupos têm isolado anticorpos com eficiência catalítica suficiente para a aplicação como agentes terapêuticos na ativação de pró-drogas em produtos tóxicos, particularmente na terapia do câncer e outras doenças, inclusive virais como o HIV (PLANQUE et al., 2008), ou mesmo em processos de desintoxicação, como o proposto por Deng (2002), no qual foram gera-

dos abenzimas que clivam a molécula de cocaína em títulos específicos, eliminando o efeito tóxico da droga.

A tecnologia de anticorpos catalíticos já mostrou ser capaz de mediar mais de 100 reações diferentes em estudos de diversos laboratórios, e essa nova abordagem abre uma gama de possibilidades nas áreas industriais, químicas, biotecnológicas, agrícolas e médicas, e sua utilização em ciclos de produção, dependerá unicamente da assimilação criativa de ideias em bioquímica de proteínas, imunologia, biotecnologia e biologia molecular, campos de intensa atuação para o profissional biomédico (JUSTO, 1998; BIOLOGICAL, 2006; WEISS et al., 2006).

A partir do exposto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica a respeito da natureza dos anticorpos catalíticos e seus potenciais de aplicação biotecnológica.

2 Anticorpos catalíticos

Uma das tendências mais intrigantes em bioquímica do século XX foi a criação de funções catalíticas e de um novo desenho de biocatalisadores baseados na molécula de imunoglobulina. A concepção artificial de diversas atividades catalíticas de abenzimas parecia ser um evento revolucionário que gerou novos cruzamentos entre a química, a bioquímica, a imunologia, a biologia molecular, a patologia e a biotecnologia.

Atualmente, o significativo avanço na engenharia de anticorpos e tecnologia de expressão promoveu uma considerável expansão das aplicações médicas com imunoglobulinas e está oferecendo por meio de anticorpos catalíticos uma oportunidade única para torna-se uma fonte promissora de alta precisão de “vacinas catalíticas” (ZIGMAN; ELMQUIST, 2006; ZORRILLA et al., 2006; POPKOV et al., 2009). Simultaneamente a isso, a descoberta de abenzimas naturais no contexto de doenças autoimunes tem revelado funções benéficas durante a patogenicidade dessas doenças (BELOGUROV JR. et al., 2009a). Aplicações recentes de anticorpos catalíticos com significado clínico incluem conversão da cocaína em substância não psicoativa, degradação da nicotina, ativação de pró-fármacos contra tumores, inibição da infectividade do HIV e a destruição dos agregados de β -amilóide implicados na doença de Alzheimer (HANSON, 2005).

A molécula de imunoglobulina é o modelo perfeito para a geração de novas funções de biocatálise. Todos os anticorpos têm capacidade catalítica intrínseca, ou seja, a soma dos fatores que resulta em uma diminuição da energia livre de ativação para a etapa determinante da velocidade da reação. Sendo assim, o alcance da catálise por anticorpos é bastante amplo e é razoável assumir que qualquer reação química, para a qual um análogo do estado de transição possa ser sintetizado, no caso, um hapteno, irá apresentar um anticorpo com alguma atividade catalítica (JUSTO, 1998; WÓJCIK; KONONOWICZ, 2008). Essa abordagem auxilia também na compreensão dos mecanismos envolvidos, e ainda não totalmente elucidados, na catálise enzimática.

A maior parte da investigação original nesse campo foi inspirada pelo conceito geral de complementaridade introduzido para as ciências da vida por Fischer, em 1894. Esse princípio clássico detinha as interações complementares como força motriz de uma variedade de processos biológicos como replicação genética, catálise enzimática, interação ligante-receptor e reconhecimento de antígeno-anticorpo. Entretanto, apesar dos princípios gerais de catálise enzimática já formulados há algum tempo, o verdadeiro sucesso nessa área veio ao final dos anos 80, no qual, para a geração de “estruturas catalíticas”, análogos do estado de transição de reações enzimáticas estáveis foram usados como antígenos em imunizações (BELOGUROV JR. et al., 2009b).

Após os estudos em anticorpos catalíticos configurados por Pauling (1946) e Jencks (1969) sobre a complementaridade entre sítio ativo e análogos do estado de transição de uma catálise enzimática, o potencial bioquímico do sistema imune foi demonstrado por Schultz e Lerner em 1986, por meio da geração de anticorpos monoclonais com atividade catalítica (técnica do hibridoma) induzida por análogos do estado de transição fosfato e fosfonato para a hidrólise de carbonatos e ésteres respectivamente (JUSTO, 1998).

Em princípio, o mecanismo de catálise dos anticorpos consiste em romper ou transformar o antígeno em moléculas que o organismo possa eliminar facilmente. Toda reação pode chegar a ocorrer em velocidade e concentração infinitamente grande, embora haja algumas cuja velocidade é tão pequena, que se considera impossível que ocorram. Todavia, as abenzimas possuem a capacidade de facilitar reações que não ocorreriam natural-

mente. Isso concede aos anticorpos catalíticos seu caráter inovador, ao menos teoricamente, de catalisar reações sobre moléculas que não são reconhecidas por nenhuma enzima (RAJCHENBERG, 2009).

Anticorpos catalíticos são descritos e obtidos em quantidade como anticorpos monoclonais, por meio de técnicas clássicas conhecidas como técnica do hibridoma, a qual envolve tipicamente quatro etapas: (1) imunização do camundongo com o conjugado hapteno-proteína carreadora; (2) geração de clones híbridos, imortalizados por meio da fusão de células esplênicas e células de mieloma provenientes de roedores; (3) seleção de clones individuais para ligação específica do anticorpo ao hapteno; e (4) seleção dos anticorpos exibindo a atividade catalítica desejada. Dentre as diferentes metodologias que têm sido descritas para a seleção direta de sobrenadantes híbridos com função catalítica, destaca-se pela simplicidade, sensibilidade e viabilidade, a primeira delas, denominada catELISA (imunoensaio enzimático colorimétrico para determinação quantitativa de cloranfenicol acetiltransferase - cat), que se baseia no uso de substratos imobilizados para imunodeteção do produto final de uma reação catalisada (TAWFIK et al., 1993).

Com o advento da tecnologia de hibridoma, tornou-se possível gerar sítios ligantes de anticorpos catalíticos homogêneos com alta afinidade que reconhecem um grande número de ligantes estruturalmente diferentes. Esses novos anticorpos, predominantemente baseados em estratégias desenvolvidas pela engenharia de proteínas, possuem seletividade bem superior e exibem atividade catalítica (LIMA; ANGNES, 1999).

2.1 Geração de anticorpos com grupos catalíticos em seus sítios combinantes

A complementaridade de um anticorpo a um hapteno (molécula de baixa massa molecular que pode atuar como um antígeno, mas não induz, ela própria, à formação de anticorpos senão conjugada a uma proteína carreadora) foi explorada para a geração de sítios combinantes. Na produção de abenzimas, o desenho do hapteno é fundamental, pois ele deve ser quimicamente estável ao mesmo tempo em que deve mimetizar as propriedades estruturais do estado de transição da reação catalisada (RAO; WOOLLA, 2007). Recentemente, uma das ferramentas empregadas para o *design* de haptenos são métodos de projetos computacionais utilizados primei-

ramente com o objetivo de formar o desenho de novas enzimas para a elaboração de biocatalisadores, e que vem se estendendo para a criação de diversas outras moléculas de interesse biomédico e industrial (RÖTHLISBERGER et al., 2008). Outra importante ferramenta empregada é a introdução direta de grupos funcionais catalíticos nos sítios combinantes dos anticorpos por meio de modificação química direta. Uma vez que uma determinada capacidade catalítica tenha sido obtida, a modificação química dirigida, utilizando-se diferentes ligantes, pode ser empregada para incorporar grupos catalíticos adicionais ou cofatores (JUSTO, 1998).

George Schultz e seu grupo de pesquisa (1986) demonstraram que a configuração efetiva do hapteno deve aproximar-se da geometria do estado de transição, incorporando a sua função específica no qual resultará em um alojamento propício dos resíduos de aminoácidos catalíticos necessários no sítio combinante, uma vez que sua estrutura e funcionalidade irão definir a topologia dos sítios combinantes do anticorpo selecionado do repertório imune (NEVINSKY et al., 2002). Com isso, esses sítios tornam-se complementares ao estado de transição de determinada reação por intermédio da mutagênese sítio-dirigida.

Uma série de experimentos de mutagênese sítio-dirigida foi realizada para investigar o papel individual de aminoácidos de sítios ativos de enzimas, que resultam em substituição, supressão ou adição de um determinado resíduo em uma região funcional (recombinação V(D)J) e de técnicas de DNA recombinante. Essa técnica vem sendo aplicada também para aumentar a capacidade catalítica dos sítios combinantes de anticorpos (JUSTO, 1998; ZHENG et al., 2004).

2.2 Anticorpos catalíticos e o análogo do estado de transição

Anticorpos direcionados para um análogo do estado de transição podem ser mais específicos para a estabilização do estado de transição de uma reação que um grupo de substratos. Por esse motivo, anticorpos obtidos para catálise são preparados para muitos tipos de reações, utilizando sua diversidade e especificidade. Isso se dá por meio de ensaios experimentais nos quais são injetados em camundongos haptenos conjugados a uma proteína carreadora que mimetizam esses análogos provocando a produção de anticorpos específicos para tal reação. Se o

hapteno desenhado é um verdadeiro análogo do atual estado de transição de uma reação, a taxa da velocidade de uma reação pode ser prevista a partir da razão entre a afinidade para com o substrato e a afinidade com o análogo de transição (TANAKA, 2002; WILEY, 2002). A estabilização do estado de transição é fundamental no mecanismo de catálise e será este processo que proporcionará ao anticorpo maior eficiência em sua função catalítica.

Uma interessante versão do análogo do estado de transição é a abordagem do anti-idiotipo estudado por Alan Friboulet e seus colaboradores (1995), em que ratos foram imunizados com uma enzima, a fim de produzir um anticorpo monoclonal (denominado como Ab1) com o sítio de ligação de um antígeno estruturalmente complementar ao sítio ativo de uma enzima. Anticorpos monoclonais (Ab2) específicos para o sítio de ligação do antígeno de Ab1 são então posteriormente gerados. Alguns desses Ab2 terão uma imagem estrutural do sítio ativo da enzima e irão mimetizar as funções catalíticas da enzima. Essa proposta inicial permitiu a produção de anticorpos dotados com esterase, amidase e atividades serino proteases, por utilização da acetilcolina esterase, β -lactamase e sublisina como imunógenos, respectivamente (RAO; WOOLLA, 2007).

Grande ênfase tem sido dada à compreensão das características estruturais e mecânicas da catálise por anticorpos com o objetivo de obtenção futura de análogos do estado de transição que forneçam anticorpos mais efetivos, melhorando assim a atividade da primeira geração de anticorpos catalíticos (STEWART et al., 1994; JUSTO, 1998).

2.3 Uso de anticorpos com efeitos entrópicos

A entropia, segundo as leis da termodinâmica, é um estado de equilíbrio geralmente definido como uma medida da “quantidade de desordem” de um sistema. Muita desordem implica em elevada entropia, ao passo que a ordem implica em baixa entropia.

O efeito entrópico em um processo de catálise enzimática diminui a energia de ativação e gera estabilização do estado de transição. Logo, o aumento da velocidade por efeitos entrópicos é frequentemente considerado um importante mecanismo catalítico (ARANTES, 2008). A utilização da energia de ligação para orientar uma molécula de substrato em uma conformação reativa ou trazer duas moléculas, em conjunto e na orientação correta

para a reação, representa uma forma eficaz de compensar as perdas de entropia que podem acompanhar uma transformação bioquímica (CAMPBELL, 1993).

Enzimas têm sido frequentemente descritas como “armadilha entrópica” ou sequestradores de entropia. Porquanto, os anticorpos devem ser capazes, eficientemente, de catalisarem reações com desfavoráveis entropias de ativação agindo assim, como sequestradores de entropia, catalisam reações unimoleculares, bem como reações bimoleculares. Um exemplo do uso de anticorpos catalíticos para atuarem como armadilhas entrópicas envolve um anticorpo catalisador de reação bimolecular de Diels-Alder (BLACKBURN; DATTA; PARTRIDGE, 1996; RAO; WOOLLA, 2007).

Biomoléculas, tais como os anticorpos catalíticos, representam uma classe de catalisadores que têm apresentado promissores resultados em reações de Diels-Alder entre um dieno e um alqueno para a formação de um ciclohexeno com alta seletividade. Nessas reações, a cicloadição procede em uma única etapa, sem intermediários, por um único estado de transição; mas, nesse estado de transição, pode haver a formação de duas ligações covalentes com uma diferença temporal entre as duas. Por conseguinte, o produto principal de qualquer cicloadição apresenta quimiosseletividade, regioseletividade e estereosseletividade (BROCKSOM et al., 2010).

Existem três classes de moléculas que demonstram habilidade catalítica em transformações de Diels-Alder: abenzimas (anticorpos catalíticos), ribozimas (RNA catalíticos) e enzimas encontradas em vias biossintéticas. Donald Hilvert e colaboradores (1989) relataram pela primeira vez um anticorpo catalítico Diels-Alder, seguido de perto por um relatório de Peter Schultz e pesquisadores em 1990. Duas diferentes estratégias foram utilizadas desses ensaios iniciais para criar um hapteno que elucidasse o anticorpo catalítico. Em ambos os casos, triagem dos anticorpos isolados com base em sua capacidade de vincular o hapteno resultou em um anticorpo com atividade catalítica nas transformações de Diels-Alder direcionadas (JUNGBAUER, 2002).

Anticorpos que catalisam tais processos ampliam o alcance dos biocatalisadores, atualmente conhecidos, oferecendo novas oportunidades para a síntese orgânica como, por exemplo, para a ativação de pró-fármacos *in vivo*, uma vez que não ocorrem interferências de en-

zimas, o que poderia ocorrer naturalmente. Entretanto, sofrem tantas limitações quanto outras abenzimas como: baixa eficiência catalítica, alto custo e tempo para geração de anticorpos e seus substratos específicos. Contudo, a característica que adquirem de alta seletividade da qual reduzem a elevada energia do estado de transição e redirecionam o curso de uma reação para a formação de produtos que normalmente seriam desfavoráveis, é valiosa.

3 Ocorrência natural de anticorpos catalíticos

A descoberta de anticorpos catalíticos naturais ocorreu empiricamente por mensuração de uma transformação química de vários antígenos, na presença de preparados de anticorpos monoclonais e policlonais. Anticorpos com funções proteolíticas e outras atividades catalíticas foram observados em sangue e secreções, mucosas de humanos e animais experimentais. Todavia, esses resultados foram vistos, inicialmente, com certo ceticismo. Porém, agora percebe-se que anticorpos com atividade catalítica específica são possíveis por meio da combinação de reação natural e não covalente de regiões de epitopo recombinantes com o centro da reação do estado de transição (HANSON, 2005; PAUL et al., 2006). Esse mecanismo elucidado como anticorpos catalíticos são gerados espontaneamente pelo sistema imunológico sem que haja imunização prévia.

Catalisadores têm sido identificados por vários grupos, dentre os quais pacientes com as mais diversas doenças autoimunes, descritos como sendo positivos para autoanticorpos catalíticos. Doenças autoimunes estão associadas a um aumento da produção de diferentes tipos de abenzimas direcionadas contra uma variedade de autoantígenos (PONOMARENKO et al., 2002). O primeiro exemplo da atuação de autoanticorpos com poder catalítico ativo na etiologia de uma doença vem de estudos desenvolvidos por Lacroix-Desmazes e colaboradores (2005), os quais observaram que 50% dos pacientes com hemofilia A, que recebiam terapia com Fator VIII em substituição ao Fator VIII endógeno deficiente, desenvolveram uma classe de IgGs anti-Fator VIII que hidrolizam esse fator.

Anticorpos proteolíticos específicos para tireoglobulina e protrombina foram relatados em pacientes com doença de Hashimoto e mieloma múltiplo, respectivamente, assim como anticorpos que realizam hidrólise de

ácidos nucleicos têm sido isolados do soro de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide e esclerose múltipla (RAO; WOOTLA, 2007).

Embora sejam encontrados preferencialmente no repertório imunológico de indivíduos com doença autoimune, os anticorpos catalíticos também ocorrem naturalmente em indivíduos saudáveis. Devido à ausência de fatores de imunização evidente, a hipótese que sugere a existência de abenzimas em hígidos, sem distúrbios do estado imunitário, não suscitou muito interesse por um longo tempo. Durante o primeiro mês, após o nascimento, o sistema imunológico de recém-nascidos e crianças pequenas ainda não é completamente formado, sendo assim, a partir do conhecimento que anticorpos do leite da mãe cobrem as superfícies mucosas do recém-nascido conferindo a eles mecanismos de proteção contra diversos agentes patológicos, foram investigadas as propriedades catalíticas dos anticorpos no leite humano (NEVINSKY, 2000). IgG possuindo atividade DNase e IgA com proteína quinase foram isolados a partir do leite de parturientes saudáveis (WÓJCIK; KONONOWICZ, 2008).

Em geral, visto que pode haver um aumento da quantidade de anticorpos catalíticos naturais durante a gravidez (principalmente em gestantes com infecção viral ou reações alérgicas), doenças autoimunes ou inflamatórias, tem-se sugerido que abenzimas possam participar na manutenção da homeostase do organismo e na defesa dele contra infecções. Isso tem gerado um significativo interesse no estudo desses catalisadores altamente específicos, abrindo diversas possibilidades de aplicação dos anticorpos catalíticos para estratégias terapêuticas *in vivo* nas áreas médica, além da utilização em campo biotecnológico, químico e agrícola (WANG, 2001).

4 Aplicações

4.1 HIV

Uma interessante aplicação da atuação antimicrobiana dos anticorpos catalíticos está em seu emprego para a realização da clivagem de uma sequência específica de peptídeos ou carboidratos associados ao revestimento viral ou bacteriano, assim como também foram desenvolvidas abenzimas que catalisam a destruição específica de genes virais.

A infecção com o vírus da imunodeficiência humana – 1 (HIV), agente etiológico da síndrome da imunode-

ficiência adquirida (AIDS) é caracterizado por depleção de células T CD4+, hiperglobulinemia e hiperplasia de células B. As principais células hospedeiras são as células T e macrófagos. A ligação da glicoproteína capsidial gp120 aos receptores CD4 e correceptores de quimiocina (principalmente CCR5 e CXCR4) é o primeiro passo para a infecção pelo HIV, sendo a gp120 responsável pela indução da morte de células T CD4. A incapacidade do sistema imune adaptativo em responder a infecção deriva da variabilidade estrutural do envelope viral (HANSON, 2005).

A gp120 é composta por cinco regiões constantes (C) e cinco regiões altamente variáveis (V). A maioria das respostas adaptativas é dirigida contra epitopos imuno-dominantes do domínio V, os quais sofrem rápidas mutações. Células T citotóxicas e respostas adaptativas de neutralização por Ig's somente oferecem proteção transitória, induzindo assim à incapacidade de desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV. Em contrapartida, foram identificados em humanos não infectados, anticorpos catalíticos naturais que reconhecem resíduos específicos do sítio superantigênico (SAG) da gp120 e catalisam a hidrólise dessa ligação peptídica por um mecanismo proteolítico codificado por genes da região variável (V) da imunoglobulina e expressos em elevado níveis por IgM e IgA, mas pouco por IgG. Essas classes foram encontradas na saliva desses indivíduos, nos quais foi observado também que IgA's provenientes da mucosa são altamente catalíticos e neutralizantes do HIV, sugerindo que eles constituem a primeira linha de defesa contra o vírus (PLANQUE et al., 2008a; NIERI et al., 2009).

A inativação do vírus por anticorpos proteolíticos ocorre por meio da imunização com análogos eletrofílicos, covalentemente reativos, da gp120. Esses análogos geram anticorpos com reatividade nucleofílica reforçada e alta especificidade. A adição desses anticorpos catalíticos (IgM/IgA) aceleram a hidrólise da gp120 e neutralizam o HIV em cultura de tecidos (PAUL et al., 2009).

Conforme Planque e seus colaboradores (2008), a descoberta estrutural dos análogos sintéticos dos resíduos peptídicos vinculados aos SAG's será útil para revelar a conformação neutralizante relevante do peptídeo, o que implicará na elaboração de vacinas peptídicas de acordo com a correta conformação, aumentando assim a probabilidade de indução de imunoglobulinas de proteção. Vias de diferenciação de células B que favorecem o desenvolvimento adaptativo de anticorpos com atividade ca-

talítica são praticamente desconhecidas. Sua elucidação ajudará a projetar uma vacina que será capaz de induzir anticorpos neutralizantes para o vírus.

4.2 Doença de Alzheimer

Aproximadamente 26 milhões de pessoas têm a doença de Alzheimer (DA) em todo o mundo. A acumulação de agregados peptídeos β -amilóides no cérebro tem sido proposta como um fator causal dessa doença (HANSON, 2005).

As alterações cerebrais características da DA são as placas senis e os emaranhados neurofibrilares. As placas senis resultam do metabolismo anormal da proteína precursora do amiloide, conduzindo à formação de agregados do peptídeo β -amiloide (FORLENZA, 2005).

Ainda não existe uma terapia verdadeiramente eficaz para o tratamento da DA, entretanto, vários estudos que utilizam imunoterapia com abenzimas para a redução de agregados β -amilóides estão em desenvolvimento.

Taguchi e pesquisadores (2008) identificaram IgM's e fragmentos de imunoglobulinas recombinantes que hidrolisam β -amilóides. IgM e IgG específicos para a clivagem de β -amilóides foram identificados em pessoas idosas, presumindo-se aqui, uma benéfica resposta autoimune (NIERI et al., 2009). Esses autoanticorpos catalíticos estão presentes tanto em indivíduos saudáveis quanto em pacientes que apresentam DA.

As IgG's são propostas para reduzir a deposição de β -amilóides no cérebro por meio de sua ligação com esses peptídeos e podem restringi-los a uma conformação não agregada no cérebro. Essa abordagem é baseada na expressão de atividade proteolítica específica dos anticorpos catalíticos isolados por intermédio de processos de seleção de adaptação imunológicos. Ensaios com a administração de um *pool* da IgG como terapia para a DA estão em curso, e anticorpos gerados por imunização com peptídeos β -amilóides e seus análogos estão sendo reportados para proteção contra um declínio cognitivo em modelos animais da DA. Tendo em conta o desenvolvimento natural de anticorpos catalíticos anti- β -amilóides, bibliotecas de recursos humanos são fontes promissoras de homogeneidade de imunoglobulinas proteolíticas (RANGAN et al., 2003).

Em vistas dessas considerações, pode-se supor que anticorpos catalíticos anti- β -amiloide encontrados

em humanos idosos podem cumprir uma função protetora contra os efeitos tóxicos do peptídeo. Um contra-argumento é a possibilidade desse anticorpo de induzir uma reação inflamatória. Entretanto, um grupo de pesquisa defende que anticorpos catalíticos podem “limpar” os agregados do peptídeo β -amiloide do cérebro sem o auxílio da liberação de mediadores inflamatórios devido a não formação de um complexo estável desses anticorpos com o peptídeo. Assim, a função de catalisador pode diminuir a possibilidade de efeitos inflamatórios oriundos da presença de anticorpos (LUE; WALKER, 2002; PAUL et al., 2005).

Em vista das vantagens de sua função catalítica, autoanticorpos IgM e IgG, isolados do repertório de humanos, são objetos de consideração em seu desenvolvimento como agentes imunoterapêuticos para a doença de Alzheimer.

4.3 Cocaína

A cocaína é um poderoso estimulante e viciante, cujo abuso ainda é um desafio à saúde pública, além de sempre estabelecer uma crise social.

Atualmente não existe um tratamento farmacológico eficaz para a desintoxicação da cocaína. Algumas estratégias que estão em desenvolvimento atuam nos receptores de dopamina – moléculas de células cerebrais que são estimuladas durante o uso de cocaína, causando, dentre outros efeitos, uma de suas características clínicas, o seu potencial de abuso. Todavia, medicamentos destinados ao bloqueio da estimulação nos receptores de dopamina, estão associados a efeitos colaterais adversos como perturbações das funções motoras e tratamentos alternativos estão sendo estudados com intuito de eliminar, ou ao menos minimizar esses efeitos (DENG, 2002).

Pesquisadores estão investigando maneiras de neutralizar a droga no sangue, reduzindo a quantidade disponível para a absorção no cérebro. Ao atacar a cocaína diretamente, essa abordagem poderia também auxiliar a reverter alguns dos efeitos tóxicos da cocaína, tais como a redução do fluxo sanguíneo e o fornecimento de oxigênio para o cérebro (BOWERSOX, 1995).

O cerne do problema decorre do fato que a cocaína é em si um bloqueador, e análogos da droga podem deslocá-lo de seu sítio de ligação, ainda como a cocaína faria, como um bloco funcional. As dificuldades inerentes

de se formular um mecanismo de inibição para esse bloqueador levaram Deng e pesquisadores (2002) a abordar uma alternativa baseada em um bloqueio periférico em vez de central. Independentemente do caminho pelo qual uma droga que vicia entra no organismo, ela deve passar pelo sangue para o cérebro.

As principais ferramentas de neutralização da cocaína investigadas são anticorpos catalíticos, projetados para se ligarem à cocaína na corrente sanguínea e clivá-la em seus componentes nanoativos, imitando o metabolismo natural da droga no organismo, porém em uma velocidade muito maior (LANDRY et al., 1993). A cocaína é degradada na circulação antes de atingir o sistema nervoso central e exercer seus efeitos tóxicos.

Na técnica empregada, foram sintetizados haptenos análogos do estado de transição da hidrólise da cocaína em camundongos imunizados; esses híbridos foram preparados e, a partir deles, desenvolveram os primeiros anticorpos catalíticos anticocaína com a capacidade de degradá-la sem a geração de produtos tóxicos (MCKENZIE et al., 2007).

Com essa abordagem, criou-se a possibilidade de desenvolvimento de vacinas contra a cocaína e outras drogas como nicotina (DICKERSON, 2004), anfetamina e o crack, que já vêm sendo testadas desde 1996. Pesquisadores desse experimento afirmam que a vacina reduz o uso da droga elevando os níveis de anticorpos contra a cocaína, o que a deixa inativa antes de atingir o sistema nervoso central e produzir seus efeitos tóxicos. Os efeitos da vacina, no entanto, não persistiram por mais de dois meses, o que sugere doses de reforço que mantenham adequados os níveis séricos de anticorpos (GUTIERREZ, 2007).

Todos esses resultados indicam o potencial imunoterapêutico dos anticorpos catalíticos anticocaína e outras substâncias entorpecentes, no tratamento de dependência tóxica e superdosagem aguda (*overdose*) em pacientes viciados.

4.4 Outras aplicações terapêuticas

Anticorpos catalíticos foram relatados por serem muito eficazes em retardar o desenvolvimento da neurodegeneração. Isso está associado à esclerose múltipla, por meio da ação de degradação sítio-específica de uma rede neural de antígeno na qualidade de epítipo de autoanticorpos catalíticos baseados em abenzimas naturais para

proteína básica de mielina (MBP) (PONOMARENKO et al., 2006).

Embora inicialmente percebidos com potencial nocivo, anticorpos catalíticos foram propostos para participarem na remoção de resíduos metabólicos e proteção contra infecções generalizadas, conhecidas como *sepsis*. Aqui foram desenvolvidos pela presença no plasma de IgG's dotadas de semelhança com a estrutura da protease-serina com atividade hidrolítica. As variações das taxas de IgG's catalisadoras foram observadas em maior quantidade em pacientes com *sepsis* grave do que em doadores saudáveis, indicando que é associado a alterações nos níveis plasmáticos de IgG hidrolítica (LACROIX-DESMAZES et al., 2005).

4.5 Estudo de anticorpos catalíticos para aplicação industrial

Durante muito tempo a catálise biológica vem sendo estudada pela indústria química e, embora catalisadores biológicos estejam sendo empregados por décadas em algumas áreas da indústria como alimentos, detergentes e produtos farmacêuticos, o domínio do mecanismo catalítico ainda não está totalmente elucidado, tornando tal área cada vez mais extensa para pesquisas (OLIVEIRA; MANTOVANI, 2009).

Novos sistemas catalíticos estão sendo identificados e produzidos proporcionando significativos benefícios como: baixo consumo de água, redução da temperatura de funcionamento, maior seletividade do produto, recuperação de resíduos agrícolas e industriais remunerada, além do desenvolvimento de catalisadores de menor custo (BIOLOGICAL, 2006).

Anticorpos com atividades catalíticas vêm sendo estudados há vários anos, no entanto, mesmo sendo revelados como promissores materiais catalíticos, sua aplicação na indústria ainda não foi definida. Tem-se visto um aumento recente de interesse acadêmico por esses materiais, e sua adaptação para aplicações industriais específicas pode fornecer importantes benefícios financeiros e ambientais. O grupo do Dr. Donald Hilvert (2006) tem desenhado por síntese química, haptenos associados a moléculas protéicas capazes de induzir em camundongos uma resposta imune de anticorpos catalíticos, com objetivo de aplicação desses anticorpos na síntese de produtos industriais, como exemplo, para produção de polímeros biodegradáveis.

Uma vasta gama de transformações químicas pode ser gerada por anticorpos catalíticos por meio de reações de transferência de prótons redox, reações de enancioseletividade, éster-hidrólise, amida-hidrólise, clivagem foto-indução, dimerização foto-indução, descarboxilação, formação de ligação com amida, formação de ligação amida bimolecular ou mesmo reação de Diels-Alder (ALI et al., 2009; CAMPBELL, 1993).

A tecnologia de anticorpos catalíticos para emprego industrial ainda está em fase inicial, mas já aparece como fonte promissora para indústria, sendo que novas pesquisas envolvendo áreas de bioinformática química estão fornecendo relevantes contribuições para o seu desenvolvimento (BIOLOGICAL, 2006).

5 Dificuldades para obtenção e aplicação de anticorpos catalíticos

Os benefícios em torno da produção e aplicações de anticorpos catalíticos nas diversas áreas científicas são incontestáveis. Todavia, inúmeras questões essenciais relacionadas com problemas fundamentais da biocatálise e potencial utilização de abenzimas, inclusive no que diz respeito à sua aplicação *in vivo*, ainda têm respostas vagas e uma lista de questões em constante expansão (BELOGUROV JR et al., 2009).

Melhorias no método de concepção do hapteno e estratégias de imunização podem levar a um aumento da atividade catalítica de anticorpos e ampliar a utilização dessas moléculas em abordagens terapêuticas *in vivo*. O desenho de um hapteno capaz de gerar estabilidade à reação é um dos pontos críticos para produção de anticorpos e, por ainda não estar tão bem elucidado, é considerado um dos principais fatores para a ineficiente atividade catalítica das abenzimas sintéticas, em comparação a funcionalidade de catálise enzimática. A velocidade catalítica (*turnover*) das abenzimas ainda é menor que a de enzimas convencionais (RAO; WOOLLA, 2007).

Ao mesmo tempo, sérias limitações intrínsecas às abenzimas, como a questão da velocidade catalítica, explicam as limitações existentes para a utilização dos anticorpos catalíticos na prática clínica. Abenzimas adaptadas não foram capazes de imitar o sofisticado mecanismo de enzimas altamente evoluídas. Isso pode ser eventualmente melhorado pelo adequado desenho do hapteno (JUSTO, 1998).

A obtenção por imunização reativa com um análogo do estado de transição realizada em camundongos é por definição ineficiente. Isso porque tal técnica seleciona as células B de acordo com a capacidade da superfície da imunoglobulina se ligar ao análogo, e não da atividade catalítica da superfície dela. É difícil prever a estrutura do análogo do estado de transição, assim como isolá-lo devido à extrema instabilidade do verdadeiro estado de transição; isso também justifica o porquê de não poder usá-los como haptenos (ALI et al., 2009).

Outra ponderação importante com relação à utilização de abenzimas, principalmente como imunoterápicos, diz respeito às doenças associadas à produção de abenzimas naturais. Durante muito tempo, os anticorpos catalíticos foram excluídos das pesquisas terapêuticas devido à sua provável atuação na patogênese de várias doenças autoimunes. Paciente com doenças autoimune são frequentemente positivos para autoanticorpos catalíticos antígeno-específicos. Em alguns casos, como a hemofilia A, o papel patogênico dos anticorpos catalíticos foi bem documentado. Isso deu início a uma extensa pesquisa para inibidores de peptídeos abenzimas indutores da doença que poderiam ser usados com finalidade terapêutica. No entanto, esses fatores não foram razoáveis para considerar as abenzimas naturais como agressores (BELOGUROV JR et al. 2009).

O uso de abenzimas geradas pela condição da doença autoimune pode provocar também inúmeras dificuldades, sendo uma das mais complicadas, a extração desses anticorpos de um vasto repertório ainda não conhecido de transformações mediadas por abenzimas e a luta permanente com contaminações por enzimas (PONOMARENKO et al., 2002). O ápice dessa abordagem foi a tentativa de conduzir as abenzimas para “todas as reações possíveis” e, paralelamente, buscar o isolamento de um anticorpo catalítico natural para “todos os antígenos possíveis”. Em ambos os casos, as metas ainda não foram realizadas.

Como alternativa, abenzimas foram selecionadas a partir de anti-idiotipos denominados de “segunda ordem”, pertencentes ao repertório, isolados contra o sítio ativo da enzima correspondente (JENCKS, 1969). Nessa abordagem, a busca por abenzimas foi baseada na análise das propriedades catalíticas dos anticorpos e seleção dos melhores anticorpos de ligação.

6 Considerações finais

Os anticorpos catalíticos (abenzimas), independentemente do possível campo de sua utilização, têm criado uma nova área de investigação despertando assim, um grande interesse em diversos setores de pesquisas científicas biotecnológicas, biomédicas e de prática clínica.

Muitas descobertas fundamentais sobre biocatálise são baseadas em estudos de abenzimas sendo que, seu potencial de aplicação na medicina prática, na indústria e na biotecnologia, tem apresentado valiosos resultados, sobretudo no que diz respeito à produção de eficazes ferramentas diagnósticas e terapêuticas como: eliminação de células neoplásicas, elaboração de catalisadores adequados para imunização passiva de doenças graves e imunização reativa nos quadros de vacinação profilática, dentre outras. Entretanto, alguns problemas vêm sendo apontados quanto à produção desses anticorpos catalíticos no que tange à conservação da alta seletividade dessas moléculas, aliada à eficiência catalítica das enzimas definidas nesse caso, por um adequado desenho do hapteno. A obtenção dessas moléculas em larga escala e o custo da técnica também têm sido pontos ponderáveis a serem discutidos. Contudo, esses resultados têm questionado um dos principais dogmas da imunologia – que moléculas de anticorpos apenas desempenham um papel de reconhecimento e ligação a antígenos específicos. Todavia, as conquistas obtidas pelo emprego de anticorpos catalíticos, alguns iniciando a fase clínica, têm se tornado um marco no desenvolvimento da imunologia e da bioquímica moderna, além de ser atualmente um dos principais alvos de pesquisa em biotecnologia.

Referências

- ALI, M. et al. Catalytic antibodies as potential therapeutics. **Indian Journal of Biotechnology**, New Delhi, v. 8, p. 253-258, jul. 2009.
- ARANTES, G.M. Uma perspectiva computacional sobre catálise enzimática. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 377-383, 2008. doi: 10.1590/S0100-40422008000200034
- BAGSHAW, K. D. Antibody directed enzymes revive anti-cancer prodrugs concept. **British Journal of Cancer**, United Kingdom, v. 56, n. 5, p. 531-532, nov. 1987.

- BELOGUROV JR, A. et al. Catalytic antibodies: balancing between Dr. Jekyll and Mr. Hyde. **BioEssays**, Cambridge, v. 31, n. 11, p. 1161-1171, nov. 2009. doi: 10.1002/bies.200900020
- BIOLOGICAL Catalysis. **Chemistry innovation: knowledge transfer network**, 2006. Disponível em: <http://www.chemistryinnovation.co.uk/roadmap/sustainable/files/39021_12674/TechnologyAreaBioCats.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2010.
- BLACKBURN, G. M.; DATTA, A.; PARTRIDGE, L. J. The medical potential of catalytic antibodies. **Pure and Applied Chemistry**, Great Britain, v. 68, n. 11, p. 2009-2016, nov. 1996. doi: 10.1351/pac199668112009
- BOWERSOX, J. A. New strategy would neutralize cocaine in the bloodstream. **Cocaine Research**, Maryland, v. 10, n. 5, Sep./Oct. 1995. Disponível em: <http://archives.drugabuse.gov/NIDA_Not es/NNVol10N5/Anticocaine.html> Acesso em: 13 nov. 2010.
- BROCKSOM, T. J. et al. A reação de Diels-Alder no início do século vinte um. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2211-2218, 2010. doi: 10.1590/S0100-40422010001000034
- CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S. O. **Bioquímica**. Tradução da 5. ed. norte-americana. São Paulo: Thomson Learning, 2007.
- DENG, S. X.; PRADA, P.; LANDRY, D. W. Anticocaine catalytic antibodies. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 269, n. 1-2, p. 299-310, nov. 2002. doi: 10.1016/S0022-1759(02)00237-5
- DICKERSON T. J.; YAMAMOTO N.; JANDA K. D. Antibody-catalyzed oxidative degradation of nicotine using riboflavin. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, United Kingdom, v. 12, n. 18, p. 4981-4987, Sep. 2004. doi: 10.1016/j.bmc.2004.07.006
- FORLENZA, O. V. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v. 3, n. 32, p. 137-148, maio/jun. 2005. doi: 10.1590/S0101-60832005000300006
- GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A.; KINDT, T. J. **Kuby Imunologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002.
- GUTIERREZ, G. **Las vacunas ayudan a deshacerse de la adicción a la droga**. Baylor College of Medicine, 2007. Disponível em: <<http://www.bcm.edu/news/espanol/item.cfm?newsID=972>>. Acesso em: 13 nov. 2010.
- HANSON, C. V.; NISHIYAMA, Y.; PAUL, S. Catalytic antibodies and their applications. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 16, n. 6, p. 631- 636, Dec. 2005. doi: 10.1016/j.copbio.2005.10.003
- HILVERT, D. **Grupo de pesquisa em proteínas, enzimas e anticorpos catalíticos**. Laboratório HILVERT ETHZ 2006 (Eidgenössische Technische Hochschule de Zurique). Disponível em: <<http://www.protein.ethz.ch/>>. Acesso em: 15 nov. 2010.
- JENCKS, W. P. **Catalysis in chemistry and enzymology**. New York: McGraw-Hill, 1969.
- JUNGBAUER, L. M. **Biomolecular catalysis of Diels-Alder reactions**, 2002. Disponível em: <http://www.chem.wisc.edu/areas/organic/studsemin/jungbauer/jungbauer-sem_files/v3_document.htm>. Acesso em: 15 nov. 2010.
- JUSTO, G. Z. Anticorpos catalíticos: expandindo o alcance da catálise enzimática. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 86-98, jan./fev. 1998. doi: 10.1590/S0100-40421998000100014
- LACROIX-DESMAZES, S. et al. High levels of catalytic antibodies correlate with favorable outcome in sepsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, n. 11, p. 4109-4113, mar. 2005. doi: 10.1073/pnas.0500586102
- LANDRY D. et al. Antibody-catalyzed degradation of cocaine. **Science**, New York, v. 259, n. 5103, p. 1899-1901, mar. 1993. doi: 10.1126/science.8456315
- LEHNINGER, A. L. **Princípios da bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.
- LUE, L. F.; WALKER, D. G. Modeling Alzheimer's disease immune therapy mechanisms: interactions of human postmortem microglia with antibody-opsonized amyloid beta peptide. **Journal of Neuroscience Research**, New York, v. 70, n. 4, p. 599-610, nov. 2002. doi: 10.1002/jnr.10422
- LIMA, A. W. O.; ANGNES, L. Biocatálise em meios aquo-restritos: fundamentos e aplicações em química analítica. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 229-245, mar./abr. 1999. doi: 10.1590/S0100-40421999000200015
- MALE, D. et al. **Advanced Immunology**. London: Mosby, 1996.
- MCKENZIE, K. M. et al. Identification and characterization of single chain anti-cocaine catalytic antibodies. **Journal of Molecular Biology**, Amsterdam, v. 365, n. 3, p. 722-731, jan. 2007. doi: 10.1016/j.jmb.2006.10.031

NEVINSKY, G. A.; FAVOROVA, O.; BUNOVA, V. N. Catalytic antibodies: new characters in the protein repertoire. In: GOLEMIS, E. A.; ADAMS, P. D. **Protein-Protein Interactions: a molecular cloning manual**. New York: Cold Spring Harbor, 2002. p. 523-534.

NIERI, P. et al. Antibodies for therapeutic uses and the evolution of biotechniques. **Current Medicinal Chemistry**, Netherlands, v. 16, n. 6, p. 753-779, Feb. 2009.

OLIVEIRA, L. G.; MANTOVANI, S. M. Transformações biológicas: contribuições e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p.742-756, 2009.

PAUL, S. Scientists in the laboratory of Sudhir Paul, Ph.D., may have uncovered a chink the armor of the deadly HIV virus. **Pathology and Laboratory Medicine**. The University of Texas Health Science Center at Houston. Disponível em: <<http://www.uth.tmc.edu/pathology/research/circ/hiv.html>>. Acesso em: 23 out. 2010.

PAULING, L. Molecular Architecture and Biological Reactions. **Chemical and Engineering News**, Washington, v. 24, n. 10, p. 1375-1377, maio, 1946. doi: 10.1021/cen-v024n010.p1375

PLANQUE, S. et al. Catalytic antibodies to HIV: Physiological role and potential clinical utility. **Autoimmunity Reviews**, Amsterdam, v. 7, n. 6, p. 473-479, jun. 2008. doi: 10.1016/j.autrev.2008.04.002

PONOMARENKO, N. A. et al. Catalytic antibodies in clinical and experimental pathology: human and mouse models. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 269, n. 1-2, p. 197-211, nov. 2002.

PONOMARENKO, N. A. et al. Autoantibodies to myelin basic protein catalyze site-specific degradation of their antigen. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 103, n. 2, p. 281-286, jan. 2006. doi: 10.1073/pnas.0509849103

RAJCHENBERG, E. C. **Anticuerpos catalíticos y su uso en biotecnología**. Disponível em: <<http://www.cienciorama.unam.mx/index.jsp?pagina=vida&action=vrArticulo&aid=189>>. Acesso em: 07 nov. 2010.

RAMALHO, M. A. F. et al. **Catalisadores de Ni/Al₂O₃-ZrO₂ preparados por reação de combustão para reforma a vapor de metano**. Disponível em: <http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO_5_3_0406-1.pdf> Acesso em: 07 nov. 2010.

RANGAN, S. K. et al. Degradation of beta-amyloid by proteolytic antibody light chains. **Biochemistry**, Washington, v. 42, n. 48, p. 14328-14334, Dec. 2003. doi: 10.1021/bi035038d

RAO, N. D.; WOOLLA, B. Catalytic antibodies: concept and promise. **Resonance**, India, v. 12, n. 11, p. 6-21, nov. 2007. doi: 10.1007/s12045-007-0110-6

RÖTHLISBERGER, D. et al. Kemp elimination catalysts by computational enzyme design. **Nature**, London, v. 453, n. 7192, p. 190-195, 2008. doi: 10.1038/nature06879

STEWART, J. D. et al. Site-directed mutagenesis of a catalytic antibody: an arginine and a histidine residue play key roles. **Biochemistry**, Washington, v.33, n. 8, p. 1994-2003, mar.1994. doi: 10.1021/bi00174a004

TANAKA, F. Catalytic Antibodies as Designer Proteases and Esterases. **Chemical Reviews**, Washington, v. 102, n.12, p. 4885-4906, Dec. 2002. doi: 10.1021/cr010180a

TAWFIK, D. S. et al. catELISA: a facile general route to catalytic antibodies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 90, n. 2, p. 373-377, jan. 1993.

WANG, J.; HAN, Y.; WILKINSON, M. F. An active immunization approach to generate protective catalytic antibodies. **Biochemical Journal**, London, v. 360, p. 151-157, nov. 2001. doi: 10.1042/0264-6021:3600151

WILEY, J. Catalytic Antibodies. **Interactive concepts in biochemistry**, 2006. Disponível em: <http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/cutting_edge/catalytic_ab/catalytic_ab.htm>. Acesso em: 07 nov. 2010.

WÓJCIK, T.; KIEC-KONONOWICZ, K. Catalytic activity of certain antibodies as a potential tool for drug synthesis and for directed prodrug therapies. **Current Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v. 15, n. 16, p. 1606-1615, jul. 2008.

ZHENG, L.; BAUMANN, U.; REYMOND, J-L. Molecular mechanism of enantioselective próton transfer to carbon in catalytic antibody 14D9. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 101, n.10, p. 3387-3392, Feb. 2004. doi: 10.1073/pnas.0400263101