



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE INMUNOLOGIA CLINICA

SISTEMA MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

CURSO: Inmunología para postgrados.
José Angel Cova, MD.
e-mail: jacova@ula.ve.

Objetivo: Conocer el HLA humano y su importancia en la respuesta inmunológica.

En esta parte se pretenden describir los aspectos más resaltantes de las moléculas que forman el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). El MHC es codificado por un grupo de genes cuyos productos participan activamente en los fenómenos de reconocimiento celular, discriminación de lo propio y no propio e histocompatibilidad de los trasplantes.

Se sabe que los linfocitos T, a través de su receptor (TCR), reconocen un antígeno cuando este va asociado con los productos polimórficos de los locus para la clase I y clase II del MHC. Cada clase de molécula del MHC está especializada para capturar péptidos presentes en compartimientos intracelulares particulares y de vías diferentes, esto es, los péptidos antigénicos que son obtenidos desde el espacio extracelular (bacterias) son fundamentalmente presentados por moléculas de la clase II del MHC, en contraste, los péptidos sintetizados endógenamente a partir de proteínas del citosol (virus) son presentados, casi en su totalidad, por la clase I del MHC (9). De acuerdo a lo antes mencionado, las moléculas de la clase I parecen confinadas a presentar péptidos presentes en el retículo endoplásmico (RE) que derivan de proteínas activamente sintetizadas por la célula o que llegan al citosol. Esto permite la activación de un linfocito T particular, el CD8 o citotóxico (LTC), cuya función efectora es la de eliminar células modificadas, por infección viral o transformación maligna, del organismo. Por su parte las moléculas clase II están capacitadas para presentar antígenos exocíticos (proteínas exógenas) y presentarlo al linfocito T CD4 ó ayudador (Th), generando así una respuesta inmunológica (RI) específica contra ese antígeno.

Los genes que codifican el MHC han sido identificados en los cromosomas 6 y 17 para el humano y el ratón, respectivamente. Estos son denominados como complejo HLA (humano) y complejo H-2 (ratón) y están organizados en regiones que codifican tres clases de moléculas, a saber (Fig.1):

MHC-I: Los productos de estos genes están expresados en casi todas las células, especialmente las nucleadas.

MHC-II: Expresados de manera constitutiva en las células profesionales presentadoras de antígenos (Macrófagos, células dendríticas y células B). Otras células pueden ser inducidas, bajo ciertas condiciones del microambiente, a presentar estas moléculas.

MHC-III: Proteínas no relacionadas con los fenómenos de reconocimiento antigénico pero que participan en la RI e incluyen componentes del Complemento (C2, C4a, C4b, factor B), citocinas inflamatorias (TNF- α y β), proteínas de Shock térmico y enzimas esteroideas. La distribución de estos genes se muestra a continuación:

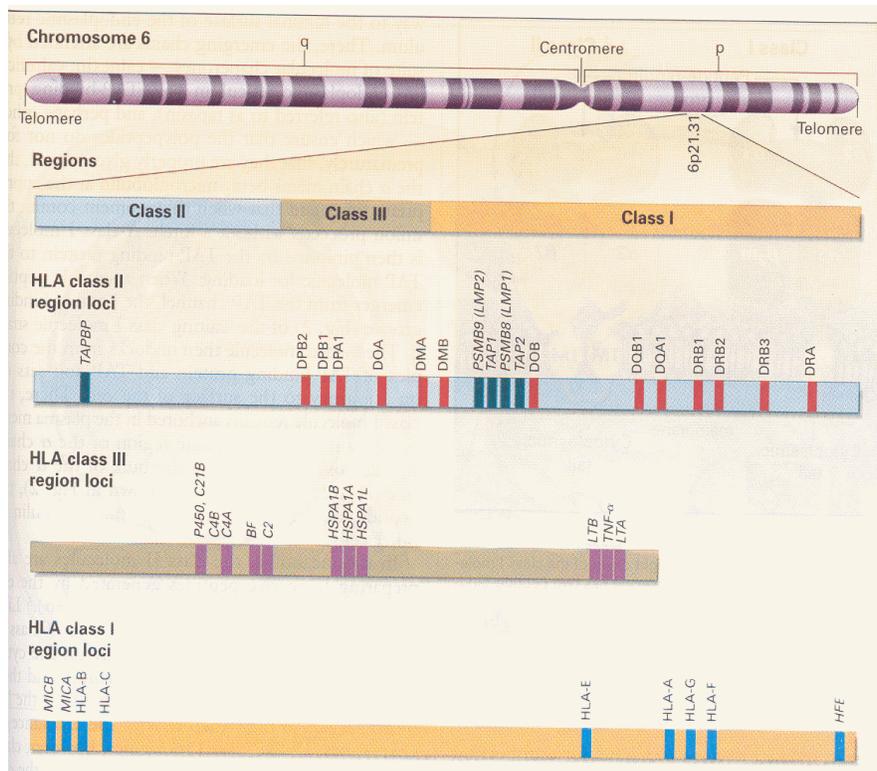


FIGURA 1. Organización genética del MHC en el cromosoma 6 del humano. Tomado de: Klein J et al. The HLA system (first of two parts). NEJM. 2000; 343:702-709.

Complejo H-2 del ratón:

Complejo	H2						
	Clase MHC	I	II		III		I
Región	K	IA	IE	S		D	
Productos genéticos	H-2K	IA $\alpha\beta$	IE $\alpha\beta$	Proteínas C'	TNF- α TNF- β	H-2D	H-2L

Complejo HLA en el humano:

Complejo	HLA							
Clase MHC	II			III		I		
Región	DP	DQ	DR	C4, C2, BF		B	C	A
Productos genéticos	DP $\alpha\beta$	DQ $\alpha\beta$	DR $\alpha\beta$	Proteínas C´	TNF- α TNF- β	HLA-B	HLA-C	HLA-A

Lo señalado arriba comprende las MHC clásicas (Primeras descritas). A esta lista hay que anexar las MHC no clásicas que para el caso del tipo I son: en el ratón Qa y Tla y en el humano las, hasta ahora descritas: HLA-E, HLA-F, HLA-G, y HLA-H para la clase I y HLA-DM y HLA DO, para la clase II. Los genes del complejo están distribuidos a lo largo de la tira de DNA ocupando unos 2000 Kb del DNA del ratón y 4000 Kb en el DNA humano.

Los locus del MHC son altamente polimórficos (muchas alternativas de alelos presentes en cada locus) y se heredan en dos sets, un set paterno y uno materno (cada sets de alelos es un haplotipo). Los alelos son codominantemente expresados (ambos productos genéticos, materno y paterno, son expresados en la misma célula) y en el caso de ratones homocigotos el haplotipo del MHC son iguales y ellos difieren en las características de los otros genes, en tanto que, en ratones heterocigotos los alelos son variables. Esto sirve para explicar la diversidad del loci MHC en la población humana. Otro fenómeno que explica la diversidad es la recombinación genética, la cual genera nuevas combinaciones alélicas.

Estructuralmente, la molécula de la clase I del MHC (MHC-I) consta de 2 subunidades. La primera es una glicoproteína de membrana tipo I de aproximadamente 46 KDa (cadena pesada) codificada por genes localizados en las regiones A, B y C del humano, asociada mediante enlaces no covalentes a una segunda subunidad, soluble, de aproximadamente 12 KDa, la β -2-microglobulina (codificada en el cromosoma 15) (8). La cadena pesada ó alfa (α) consta de tres unidades extracelulares distintas. La porción distal a la membrana es la región donde se une el péptido antigénico a presentar, está formada por los dominios α 1 y α 2. La porción proximal a la membrana, cercana a la región de unión al linfocito CD8, es denominada dominio α 3 y se continua con la porción transmembrana, de aprox. 25 a.a, y el tallo citoplasmático de una longitud de 30 a.a. La B-2-microglobulina no está anclada a la membrana celular, ella se une a la cadena α por uniones no covalentes, ó se encuentra libre en el plasma y en los líquidos corporales. El análisis de la porción extracelular de MHC-I ha revelado 2 partes funcionales: la primera compuesta por los dominios α 1 y α 2 que forman una plataforma para captar el Ag (sitio de unión de péptidos) y puede unir péptidos de aprox. 8–10 a.a de longitud. La otra formada por el dominio α 3 y la β -2-microglobulina que están involucradas en uniones a receptores celulares, como por ejemplo α 3 y CD8 en el LTC (Figura 2).

La molécula clase II del MHC (MHC-II) es una proteína de membrana heterodimérica (tipo I). Cada dimero consta de una cadena α (33 kDa) y una β (28 kDa) unidas por enlaces no covalentes. A similitud con las MHC-I constan de porciones extracelular, transmembrana y citoplasmática. Los dominios externos distal a la membrana son el α 1 en la cadena α y β 1 en la cadena β , quedando hacia la parte proximal los dominios α 2 y β 2 de cada cadena. Los primeros se unen al péptido para formar el complejo péptido-MHC II. Salvando pequeñas diferencias, ambas MHC presentan el sitio de unión al antígeno (SUAg ó bolsillo) conformado por un piso de 8

plegamientos antiparalelos β (en hoja) y las paredes formadas por plegamientos α antiparalelos (en hélice) de la proteína (Figura 2).

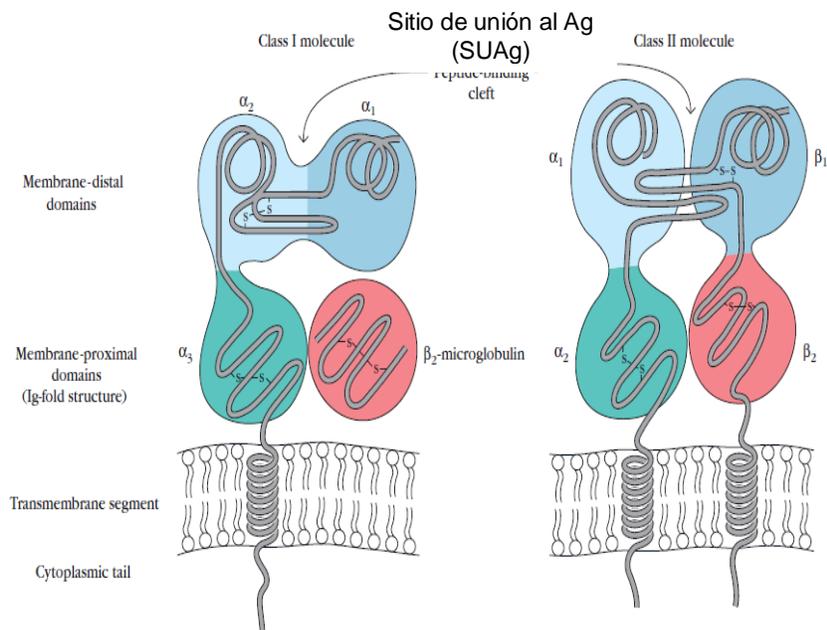


FIGURA 2. Estructura de las MHC I y II en el humano. Tomado de: Abbas A y cols. Inmunología Molecular. 2002:58-65.

Las MHC-I presentan un polimorfismo alélico bastante grande y se ha sugerido que la existencia de tal variabilidad es para regular la unión de los péptidos antigénicos, más que para afectar directamente la interacción de la célula con el TCR (T-cell-receptor) (17). Las MHC-II se rigen por el mismo principio de variabilidad (polimorfismo) explicado para la clase I. Una diferencia importante de señalar es que la longitud de los péptidos que se unen a la molécula de la clase II es más heterogénea, en tamaño, que los de la clase I. Esta longitud se reduce de 8 a 10 residuos en la clase I, en tanto que, en la clase II el rango va desde 12 a 20 residuos de aminoácidos (a.a), existiendo casos donde el tamaño puede ser mayor (11). Esto se debe a que los extremos del SUAg son cerrados en la MHC-I, mientras que en la MHC-II son abiertos. Por otro lado el péptido a unirse a MHC-I requiere de ciertos a.a llamados "ancladores" que deben estar localizados cerca de sus extremos (posición 2 y 9 del péptido antigénico). Este requerimiento no es válido para la unión MHC-II-péptido. La MHC I une péptidos noaméricos con una afinidad de 100 a 1000 veces mayor que los péptidos más cortos o más largos. Estos datos sugieren que los noaméricos son los péptidos más compatibles con el tamaño del SUAg de la MHC-I (Figura 3).

Se sabe que un individuo expresa solamente un pequeño número de MHC, estimándose dicha expresión en 6 para MHC-I y 12 para la clase II. Esto representa un limitado número de MHC en relación con la enorme cantidad de péptidos antigénicos a presentar a la célula T. El sistema es entonces promiscuo, es decir, una MHC dada es capaz de unir diferentes péptidos y algunos péptidos pueden unirse a varias MHC.

Las moléculas MHC exhiben un alto polimorfismo, esto es, la presencia de múltiples alelos en un locus genético dado dentro de la especie. La diversidad de las moléculas MHC en un individuo resulta no solamente de la presencia de diferentes alelos en cada gen, sino también de la

presencia de genes por duplicado con funciones similares o superpuestas. Existen genes con similares, pero no idénticas, estructura y función. De acuerdo a esto el MHC es poligenico

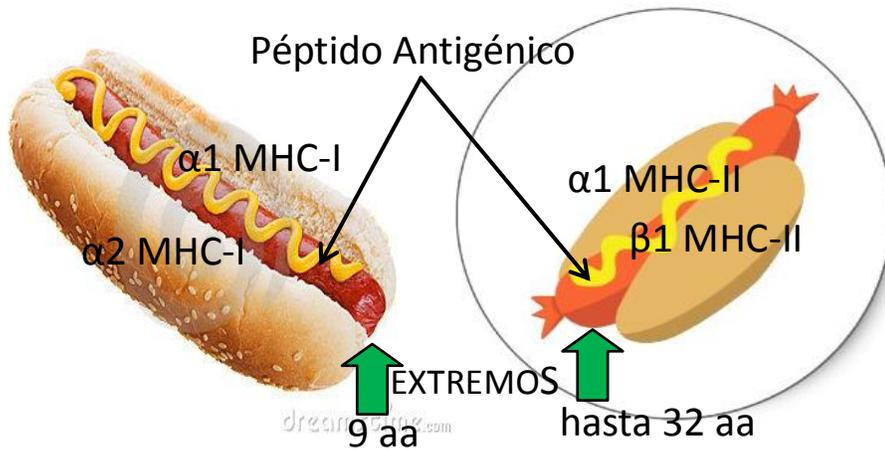


FIGURA 3. Imagen en “hot dog” de la interacción entre el antígeno y la MHC clase I (izquierda) y clase II (derecha).

El enorme polimorfismo del MHC da como resultado una tremenda diversidad de las moléculas MHC dentro de una especie. Si suponemos la existencia de 100 diferentes alelos para los genes clase I y II del complejo H-2 del ratón, entonces la diversidad teórica posible para esta especie sería:

$$100 (K) \times 100 (IA\alpha) \times 100 (IA\beta) \times 100 (IE\alpha) \times 100 (IE\beta) \times 100 (D) = 10^{12}$$

Sin embargo la diversidad del MHC humano observada es menor que la calculada usando la ecuación de arriba. La predicción teórica establece que, a un tiempo y combinaciones aleatorias dada, todas las combinaciones alélicas ocurren en la especie y ninguna combinación debería tener una frecuencia mayor que otra. Esta distribución aleatoria teórica no se observa en la práctica y algunas combinaciones ocurren más frecuentes que lo predicho. Este fenómeno es conocido como “Desequilibrio de ligamiento”. El desequilibrio de ligamiento es la diferencia entre la frecuencia observada para una combinación particular de alelos y lo esperado de la frecuencia de los alelos. Por ejemplo, la frecuencia esperada para una combinación puede ser estimada multiplicando la frecuencia de los 2 alelos. Si HLA-A1 está presente en el 16% de los individuos de una población (frecuencia= 0.16) y HLA-B8 en 9% (frecuencia= 0.09%), se espera que cerca de un 1.4% del grupo tenga ambos alelos (0.16 x 0.09= 0.014, 1.4%). Sin embargo esto no se cumple, ya que ambas HLA I se hallan juntas en un 8.8% de los individuos. Esta diferencia mide el desequilibrio de ligamiento entre los alelos de los genes MHC I.

Las razones para el desequilibrio de ligamiento han sido propuestas:

- 1) La más simple es que no ha habido suficiente tiempo, o suficiente número de generaciones, para permitir que el número de entrecruzamientos alcance su equilibrio en la población estudiada.
- 2) Un efecto selectivo podría originar un mayor número de ciertas combinaciones alélicas (protectora de enfermedades) sobre otras negativas (susceptibilidad a

Para la MHC II se cumple el mismo principio de promiscuidad descrito para MHC I. Los péptidos presentados por MHC II son de origen exógeno, es decir, proteínas que han sido internalizadas por fagocitosis o mediada por receptores, que luego ganan una vía de procesamiento endocítico (endosomas tempranos y tardíos). La disociación de los complejos péptido-MHC II ha revelado que la longitud de ellos está entre 13 y 18 a.a. Los extremos abiertos de la MHC II permiten la unión de péptidos más largos que el SUAg (imagen en hot dog, figura 3). En este caso parece que el core o centro (los 13 residuos centrales) determinan la unión para formar el complejo péptido-MHC II. Los péptidos que se unen a esta molécula carecen de residuos ancladores y presentan motivos internos altamente conservados por lo que, las uniones de hidrógeno se establecen en la columna del péptido y, a diferencia con MHC I, no en los extremos (el mayor punto de contacto entre el péptido y el MHC II ocurre entre la posición 7 a 10 a.a.). Generalmente esta zona presenta residuos hidrofóbicos o aromáticos en N-terminal y tres residuos hidrofóbicos en el centro y en C-terminal.

El mapeo molecular del MHC ha permitido identificar un grupo de genes que codifican las llamadas moléculas MHC I y II no clásicas. Estos genes incluyen a HLA-F, HLA-G, HLA-E, HLA-H, HLA-J y HLA-X así como también los genes MIC (MICA a MICE), para la clase I y HLA-DM para la clase II. Algunos de los genes de MHC I no clásicas son pseudogenes y no codifican ningún producto proteico hasta ahora conocido. Otros genes como el HLA-G codifican proteínas con funciones altamente especializadas como el control de antígenos en la barrera feto-materna para evitar el rechazo ante los antígenos paternos. Ciertas MHC I no clásicas son agrupadas como moléculas clase Ib y ellas, de manera muy similar a las MHC I clásicas, están constituidas por una cadena α que se asocia con la β 2-microglobulina. Esta clase Ib son menos polimórficas y se expresan a niveles más bajos que las MHC I clásicas. Así mismo su distribución tisular es más limitada. Las moléculas Ib tienen un 70% de identidad en su secuencia con las MHC I clásicas en tanto que los genes de la familia MIC tienen solo un 15-30% de homología y son altamente polimórficos. Estos MIC son expresados a bajos niveles en células epiteliales y son inducidos por calor u otro estímulo que influya en las proteínas de choque térmico. Su función en la presentación de antígenos no es conocida.

La molécula HLA-G participa en los fenómenos de tolerancia durante el embarazo, en el escape de los tumores a la inmunovigilancia y probablemente en el trasplante. Esta molécula tiene una distribución tejido-específica, polimorfismo limitado y se han descrito al menos 6 diferentes tipos de HLA-G denominados: G1, G2, G3 y G4 como formas unidas a membranas, y G5 y G6 como formas solubles. Presenta una estructura similar a MHC-I (tres dominios globulares asociada a la β 2-microglobulina). Su expresión tisular está centrada en las células del trofoblasto extraembrionario (que invade la decidua durante la implantación del embrión), células endoteliales de los vasos corionicos de la placenta (principalmente en el 3er trimestre del embarazo), células epiteliales del timo y monocitos activados de sangre periférica. La expresión de esta molécula es regulada a varios niveles (por citosinas como IL-10 e IFN- γ).

La HLA-G cumple su función mediante la interacción con los receptores inhibidores de la lisis (KIR's) expresados en las células NK. HLA-E también confiere protección de la lisis y su expresión es dependiente, en primer lugar de la MHC-I clásica y en ausencia de esta, la expresión se hace totalmente dependiente de HLA-G. *In vitro*, HLA-G ha sido vista en algunas líneas tumorales (melanoma y glioma) y parece ser parte del mecanismo de evasión de lisis por parte del tumor (HLA-G interacciona con KIR's e inhibe la lisis). En los pacientes infectados con HIV Lozano et al. han encontrado niveles elevados de HLA-G en los monocitos y especialmente en los linfocitos cuando se compara con sujetos sanos (30% vs 1%).

La función de las MHC I no clásicas no está bien conocida y algunos estudios sugieren que ellas también participan en la presentación de Ags a las células T. Estas MHC I no clásicas parecen estar capacitadas para presentar péptidos de organismos prokarióticos que crecen intracelularmente como *M. Tuberculosis*, *L. Monocytogenes*, *B. Abortus* y *S. Typhimurium*. La baja y particular expresión tisular de estas MHC I no clásicas pudiera estar en relación con la

presentación de Ags provenientes de microorganismos que invaden tejidos y/o tipos celulares específicos (Piel, pulmón, etc).

Las MHC-II no clásicas del humano son: HLA-DM y HLA-DO. La primera participa en los fenómenos de colocación del péptido antigénico en la MHC II, y la segunda actúa a nivel del timo y de las células B maduras en el procesamiento de antígenos extracelulares.

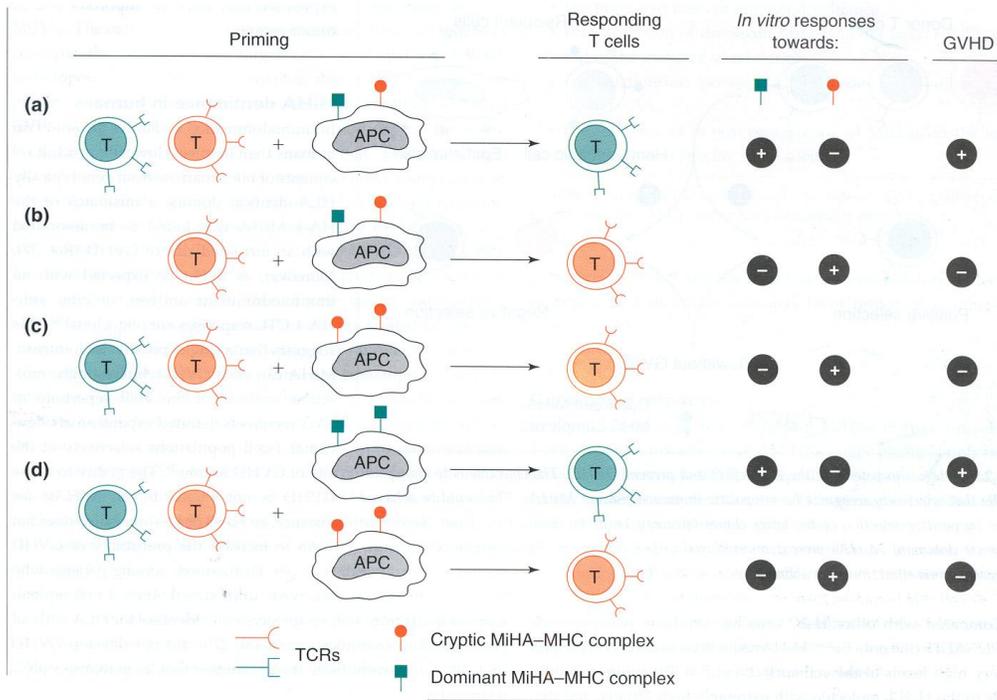
Las MHC I están expresadas en casi todas las células nucleadas pero el nivel de expresión dependerá del tipo celular (mayor en los linfocitos y menor en los fibroblastos, miocitos, células neurales, entre otras). Por su parte las MHC II están expresadas constitutivamente en la Células Presentadoras de Antígenos (CPA) del tipo profesional (células dendríticas, células B, macrófagos y células del epitelio tímico). Existe el potencial de que, bajo ciertas condiciones, una célula exprese productos de los genes MHC II, estas son conocidas como CPA de tipo no profesional (miocitos, endotelio y otros). Similar a la expresión de MHC I, las MHC II se expresan a diferentes niveles dependiendo de la célula, su estado de activación y/o diferenciación (Los monocitos expresan bajos niveles en reposo y altos niveles cuando se activan).

La expresión de MHC es regulada por las citocinas y es así como los IFNs (gamma, alfa y beta) y el TNF incrementan la expresión de MHC I en la célula. También, el IFN γ incrementa la expresión de MHC II incluso en células no presentadoras de Ags (keratinocitos, endotelio, células de la placenta y células beta pancreáticas). Así mismo, IL-4 incrementa la expresión de MHC II en los linfocitos B en reposo.

ANTIGENOS MENORES DE HISTOCOMPATIBILIDAD

Los Antígenos Menores de Histocompatibilidad (MiHAs) son péptidos propios polimórficos capaces de inducir una respuesta por células T y disparar una enfermedad de injerto-contra-huésped cuando son presentados por las MHC I y MHC II, los MiHAs son por tanto restringidos por el MHC. En el ratón se han descrito un rango de 430 a 720 genes MiHAs y en el humano los estudios están en curso donde HA-2 ha sido descrito como un MiHAS, péptido de la familia de la miosina I no funcional con alta afinidad a unirse a HLA-A *0201. Dependiendo de su capacidad para estimular a las células T, los MiHAS se han clasificado en "crípticos" y "dominantes". La respuesta inmunológica contra los MiHAs, al menos en el ratón, es muy variable y pueden ser policlonal (especialmente contra los MiHAs crípticos) y oligoclonal (MiHAs dominantes). Aun cuando ambos tipos de MiHAs inducen respuesta *in vitro*, la enfermedad injerto-contra-huésped solo es vista en presencia de MiHAs dominantes. Aún cuando mucha atención se le ha dado a los MiHAs en la respuesta por LTC CD8+ usando las MHC I, la evidencia actual sugiere que algunos antígenos menores restringidos por MHC II participan, junto a células CD4+, en la enfermedad injerto-contra-huésped.

La enfermedad injerto-contra-huésped (ICH) determinada por MiHAs está relacionada principalmente con los antígenos dominantes, siempre y cuando estos tengan un TCR específico en la célula. El siguiente esquema muestra la inmunodominancia en los MiHAs y su relación con la ICH:



El MiHA crítico presentado por una APC puede generar una respuesta inmunológica *in vitro* pero esta no se observa en los pacientes que desarrollan una enfermedad de injerto-contra-huésped. Cuando ambos MiHAs, crítico y dominante, son presentado por la misma APC, tanto la respuesta *in vitro* como la enfermedad son contra el epítope dominante. (Tomado de: Perreault C. et al. Immunodominant minor histocompatibility antigens: the major ones. Immunol Today. 1998;19:69).

REFERENCIAS

- 1) Roitt I., Brostoff J., Male D. Immunology. Second Edition. 1.989. Harper & Row, Publishers Inc
- 2) Abbas A., Lichtman A., Pober J. Inmunología Celular y Molecular. Cuarta Edición. 2.000. pp 66-81.
- 3) Goldsby Richard. Kuby Immunology. Cuarta Edición. 2000. pp 173-197.
- 4) Vidard L., Rock KL., Benacerraf B. Heterogeneity in antigen processing by different types of antigen-presenting cells. J Immunol. 1.992; 149: 1905-11..-
- 5) Virella G. Introduction to medical immunology. Third Edition. 1.993.
- 6) Bahram S., Spies T. The MIC gene family. Res Immunol. 1996;147:328.
- 7) Dessen A. et al. X-ray cristal structure of HLA-DR4 complexed with a peptide from human collagen. Immunity. 1997;7:473.
- 8) Engelhard VH. Structure of peptide associated with MHC class I molecule. Curr Opin Immunol. 1994;6:13.
- 9) Guo HC. Different length peptides bind to HLA-Aw68 similary at their ends but bulge out in the middle. Nature. 1992;360:364.
- 10) Madden DR. The three-dimensional structure of peptide MHC-complexes. Annu Rev Immunol. 1995;13:587.
- 11) Rouas-Freiss N. et al. Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytotoxicity. Proc Natl Acad Sci USA. 1997;94:11520.
- 12) Perreault C. et al. Immunodominant minor histocompatibility antigens: the major ones. Immunol Today. 1998;19:69.
- 13) Pierce R., et al. The HA-2 minor histocompatibility antigen is derived from a diallelic gene encoding a novel human class I myosin protein. J Immunol. 2001;167:3223-3230.
- 14) Van den Elsen P., et al. Shared regulatory elements in the promoters of MHC class I and class II genes. Immunol today. 1998;19:308-312.
- 15) Accolla R., et al. The MHC class II transactivator: prey and hunter in infectious diseases. TRENDS in Immunol. 2001;22:560-563.
- 16) Radsak M., Iking-Konert C., Stegmaier S., Andrasse K., Hansch G. Polymorphonuclear neutrophils as accessory cells for T-cell activation: major histocompatibility complex class II restricted antigen-dependent induction of T-cell proliferation. Immunol. 2000;101:521-530.
- 17) Carosella E. et al. HLA-G: a tolerance molecule from the major histocompatibility complex. Immunol Today. 1999;20:60-62.
- 18) Kronenberg M et al. Conserved lipid and peptide presentation functions of nonclassical class I molecule. Immunol today. 1999;20;515-521.
- 19) José M. Lozano; Rafael González; José M. Kindelán; Nathalie Rouas-Freiss; Rafael Caballos; Jean Dausset; Edgardo D. Carosella; José Peña. Monocytes and T lymphocytes in HIV-1-

positive patients express HLA-G molecule. AIDS. 2002;16:347-351. (The synthesis of HLA-G is increased in monocytes and certain T lymphocytes from HIV-1-infected individuals).

- 20) Bainbridge D. HLA-G remains a mystery. TRENDS in Immunol. 2001;22:548-552.
- 21) Pu Z., Carrero JA., Unanue E. Distinct recognition by two subsets of T cell of an MHC class II-peptide complex. PNAS. 2002;99:8844-8849
- 22) Masternak K., Peyraud N., Krawczyk M., Barras E., Reith W. Chromatin remodeling and extragenic transcription at the MHC class II locus control region. Nature Immunol. 2003;4:132-137.

OTRAS REFERENCIAS:

- 1) Immunol letter. 2001;79:97-100. Estudio sobre la presentación cruzada de antígenos por proteínas asociadas a lipopéptidos (uso de MHC-I en lugar de MHC-II). Esta modalidad de vacuna es capaz de inducir respuesta por CD8+. El péptido obtenido de la transcriptasa reversa fue presentado por HLA-A*0201.
- 2) Immunol letter. 2001;79:37-45. En este estudio se probaron péptidos de Env y Gag del HIV induciendo respuesta por CTL.
- 3) Toxicol. 2001;11:1691-17.