

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Imunologia

Aula desgravada: Complexo Major de Histocompatibilidade

4/12/00

As moléculas do MHC — Complexo Major de Histocompatibilidade — são importantes no contexto das células T. Estas células não reconhecem antígenos solúveis, apenas quando estão colocados nestas moléculas do MHC. Esta aprendizagem do conhecimento das moléculas do MHC é feita durante a maturação tímica. As células T estão restritas ao MHC e o que sabem é identificar pequenas alterações destas moléculas.

Características gerais do MHC

- são um sistema de moléculas de superfície existentes na maior parte de todas as células nucleadas na sua superfície.
- estão codificadas geneticamente na espécie humana no cromossoma 6, no braço curto.
- são moléculas muito diversas, isto é, têm uma grande diversidade num determinado indivíduo, diversidade essa que é dependente de vários mecanismos. Um deles é designado por polimorfismo. Os genes que codificam estas moléculas são polimórficos, isto é, para cada uma destas moléculas há vários alelos possíveis. Portanto o gene que codifica a molécula pode ter variações, o que faz com que na superfície tenhamos moléculas distintas. A este polimorfismo junta-se uma circunstância é que para os genes que codificam cada uma destas moléculas, vamos ter 2 cromossomas: um de origem paterna e outro de origem materna. A sua expressão é co-dominante, isto é, há expressão na superfície celular quer do gene de origem materna, quer do gene de origem paterna. Como estes genes não são iguais, existem várias variantes possíveis, por exemplo do gene A numa população, ou seja, o indivíduo que herdou o A2 do pai e o A3 da mãe, vai exprimir na superfície de uma célula, uma molécula codificada pelo A2 e outra molécula codificada pelo A3. Portanto, o polimorfismo é importante para a diversidade destas moléculas. Para além do polimorfismo, existe a chamada poligenia isto é, há vários genes que codificam a molécula do MHC.

Este conjunto de moléculas são designadas por Complexo Major de Histocompatibilidade porque são expressas na membrana celular, e tal como os grupos sanguíneos que dificultam a transfusão dos grupos de sangue de um indivíduo para outro, estas moléculas são diferentes. Portanto vão tornar a compatibilidade em termos destas moléculas de um indivíduo para outro muito difícil de obter, a não ser que se tratem de gémeos monozigóticos. Assim, numa transfusão de sangue do tipo B de um indivíduo para outro com sangue do tipo A, ocorrem problemas, pois essas moléculas são diferentes das que o indivíduo tem na superfície dos eritrócitos, e vão funcionar como antígenos. As moléculas do MHC também podem funcionar como antígenos quando ocorre uma transfusão de um indivíduo para outro. No entanto, este sistema tem muitos mais genes do que o sistema ABO. Portanto há esta poligenia. e por outro lado, o polimorfismo que se verifica na grande diversidade de moléculas na superfície de uma células nucleada de um determinado indivíduo. Por isso, é difícil compatibilizar células nucleadas de um indivíduo para outro, o que torna problemático a transplantação.

Estas moléculas vão ser codificadas por um conjunto de genes que são os haplótipos do HLA, que é o se chama na espécie humana ao MHC. Designa-se por HLA porque estas moléculas foram inicialmente identificadas nos leucócitos e foram chamados de Human Leucocyte Antigens, ou seja antígenos leucocitários humanos, talvez um pouco por comparação ao que se passava nos grupos sanguíneo. O sistema ABO é um conjunto de moléculas de superfície presentes nos eritrócitos, enquanto que o HLA eram moléculas de superfície presentes nos leucócitos só que eram muito mais complicadas do que aquelas do grupo sanguíneo. Então cada um de nós vais herdar um haplotipo de HLA de origem materna e de origem paterna possibilitando várias combinações possíveis de haplotipos, que são expressos de uma maneira co-dominante. Assim, vamos ter várias hipóteses possíveis entre irmãos. Apesar de poderem partilhar determinados antígenos codificados pelo mesmo haplotipo de origem materna, os outros antígenos na superfície das suas células vão ser diferentes porque são codificados pelo outro haplotipo, de origem paterna diferente. Assim, entre irmãos, pode-se ter partilha de alguns haplótipos, mas também podem ser completamente diferentes

Vamos ver agora em detalhe, quais são os genes que codificam moléculas de MHC. São codificadas, essencialmente, 3 classes de genes distintos: classe I, classe II e classe III.

Os genes que codificam moléculas na superfície celular e que estão envolvidos na apresentação antigénica são os genes da classe I e classe II. Assim células T CD8 reconhecem moléculas da classe I e células T CD4 estão envolvidas com moléculas da classe II. São exactamente estes 2 grupos génicos da classe I e classe II que codificam moléculas presentes na superfície celular envolvidas na apresentação antigénica.

Há vários genes estão incluídos na classe I, mas os que são importantes em termos de histocompatibilidade são A, B e C. Portanto nós vamos ter moléculas de superfície HLA-A, HLA-B e HLA-C. São os principais genes codificantes do MHC da classe I que promovem o aparecimento de moléculas na superfície de todas as células nucleadas.

Assim, a expressão destes genes da classe I encontram-se presente em todas as células nucleadas do organismo. No entanto a expressão dos genes da classe II não estão presentes em todas as células nucleadas, ou seja, está restrita a determinados grupos de células. Não significa que as células não tenham a informação génica, no entanto, a expressão destes genes está limitada a células que estão envolvidas na apresentação antigénica às células T designadas por células apresentadoras antigénicas profissionais (APC). Assim, são essencialmente as células dendríticas, os monócitos/macrófagos e os linfócitos B que exprimem de uma maneira constitucional moléculas da classe II do MHC. As outras células nucleadas só exprimem quando são activadas ou modificadas por determinadas condições inflamatórias do meio. Portanto, uma célula apresentadora de antígenos vai ter moléculas da classe I e da classe II pois é uma célula nucleada e porque é profissional respectivamente. Em termos da interacção com as células T, todas as células nucleadas podem apresentar antígeno às células T CD8 mas nem todas podem apresentar antígeno às células T CD4. Estas tem de ser as tais que exprimem moléculas da classe II do MHC.

A classe II na espécie humana é chamada região D porque todas estas regiões que codificam moléculas têm este radical D. No ratinho, a região D equivale à região I que codifica antígeno IA ou moléculas IA.

Na Classe II existe essencialmente 3 regiões, que codificam moléculas de superfície das células APC: o DR, o DQ e o DP. As moléculas das classe II são essencialmente DR, DQ e DP. Na classe II existe 2 DR: DRA e DRB. O que isto significa? Na classe II cada um destes genes vai codificar uma cadeia. As moléculas da classe II são constituídas por 2 cadeias. Enquanto que as moléculas da classe I têm apenas uma cadeia polipeptídica, portanto nós só encontramos aqui um gene A) 1

gene B e um gene C. O polimorfismo destas moléculas é muito grande, pois os alelos possíveis que o genoma humano possui para codificar estas moléculas é muito diverso. Por exemplo, para as moléculas da classe I, encontram-se na população caucasiana, 95 variantes possíveis da molécula A, 50 variantes possíveis da molécula C e mais de 200 variantes possíveis da molécula B. Resulta numa diversidade enorme porque cada um de nós, por exemplo, vai herdar um gene codificante da molécula A do pai e um gene codificante da molécula A da mãe que não são necessariamente o mesmo. Assim, a hipótese de encontrarmos o mesmo haplótipo ABC em células de indivíduos diferentes mesmo sendo irmãos.

Para as moléculas da classe II, o polimorfismo também é grande, especialmente para o DR do que para qualquer outro dos genes: DQ ou DP. O nº de alelos possíveis também é sempre maior para os genes DR β , DQ β ou o DP β , que são os que codificam uma das cadeias, que é a cadeia β , mais do que para a cadeia

α .

As moléculas da classe II têm duas cadeias e portanto o polimorfismo centra-se essencialmente nos alelos possíveis, que é maior para os genes que codificam a cadeia β , a maior diversidade na classe II está na codificação da cadeia β . Então cá temos o xadrez de diversidade destas moléculas.

Portanto existe 6 variantes possíveis dentro da classe I do MHC. E para classe II, por exemplo no caso da moléculas DR temos um DR α e um DR β um de origem materna e outro de origem paterna o que vai dar maior diversidade. Assim, as cadeias α e β podem-se associar, isto é, uma α pode-se associar a uma β do outro cromossoma ou do mesmo cromossoma, o que significa que a diversidade geral destas moléculas é também influenciada por este mecanismo.

Assim, na classe II vai haver genes para cada uma das cadeias podendo-se associar o de origem paterna com o de origem materna. Portanto isto faz com que este sistema seja um complexo Major de Histocompatibilidade, os haplótipos diferentes da população são enormes, e esta combinação de co-dominância na hereditariedade vai fazer com que o xadrez antigénico destas moléculas na superfície da célula, seja potencialmente muito diverso na população. Daí a dificuldade quando se transfere células de um indivíduo para outro, estas moléculas poderem actuar como antigénios no outro indivíduo, porque não estão expressas nas suas células. Falaremos disso mais tarde no contexto da transplantação, um mecanismo artificial de manipulação humana deste sistema.

Os genes da **classe III** são distintos e alguns deles estão envolvidos na resposta imunológica, apesar de ~~não estarem envolvidos na apresentação antigénica~~. Não se irá voltar a falar neles, nesta aula, mas são por exemplo os genes que codificam alguns dos factores do complemento, ou seja, genes que codificam o **C2**, **C4** O factor **B** está localizado aqui no MHC, no braço curto do cromossoma 6, que é onde está localizado, na espécie humana, o complexo HLA. Assim, como os genes que codificam por exemplo o **TNF**, que é uma citocina pro-inflamatória, está localizado dentro do MHC e faz parte das tais moléculas da classe III do MHC.

Estrutura das moléculas da classe I e II e sobretudo o seu papel fisiológico: envolvimento na apresentação do antígeno.

As moléculas da **Classe I** tem apenas uma **cadeia α** com **3 regiões globulares**: **$\alpha 1$** , **$\alpha 2$** , e **$\alpha 3$** . Estas moléculas da classe I do MHC tem a particularidade de estarem associadas a outra molécula designada por **$\beta 2$ microglobulina**. Não é codificada pelo genes do MHC, é codificada por outro cromossoma e não é polimórfica. Enquanto que esta cadeia α tem grande polimorfismo, o caso desta molécula que está associada à classe I, não é polimórfica, não tem variações genéticas. Não está envolvida nesta interacção dos peptídeos antigénicos. É importante para a expressão de membrana desta molécula do MHC **classe I**, ou seja, esta molécula para ser expressa na membrana precisa de estar acompanhada por esta **$\beta 2$ microglobulina**. A estrutura globular do MHC é constituída por 3 partes: citoplasmática, transmembranar e extracitoplasmática. (EXTRACELULAR)

A estrutura é muito semelhante entre os vários alelos possíveis das moléculas do MHC classe I, ou seja, as várias variantes do **HLA-A**, **HLA-B** e **HLA-C** têm esta estrutura muito semelhante e diferem sobretudo nalgumas zonas, em determinadas sequências de aminoácidos que predominam nestes domínios **$\alpha 1$** e **$\alpha 2$** . Estes locais onde se dá variações dos vários alelos são chamados **sites aloantigénicos** que representam as zonas da molécula que estão a variar de alelo para alelo.

A variabilidade das moléculas do MHC **classe I** assenta essencialmente nos domínios **$\alpha 1$** e **$\alpha 2$** nesta zona que forma a chameira para o encaixe do péptido antigénico. De facto, se o indivíduo herdar um determinado HLA paterno ou materno devido a esta diversidade que assenta nos domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$, vai impor um tipo de péptidos que se podem associar à chamaeira. Estas sequências, estes aminoácidos são aqueles que vão divergir de uma molécula para outra, o que implica que o péptido que pode encaixar naquelas zonas possa ser diferente. Ao comparar por exemplo, a chamaeira de 2 moléculas distintas do HLA: HLA-A2 e HLA-A68, o homólogo desta chamaeira é parecido apesar de tudo, são parecidos estes dois

encaixes destas duas fendas que formam o domínio $\alpha 1$ e a zona $\alpha 2$. Mas reparem que há aqui zonas que são diferentes, em que a superfície espacial de encaixe é diferente de uma molécula para outra. Se o indivíduo não tiver o HLA-A68 mas tiver o HLA-A2, vai especialmente poder encaixar outros peptídeos antigénicos, pois o património genético que condiciona a expressão destas moléculas das nossas células nucleadas vai impor de algum modo restrições aos peptídeos que possam ser apresentados às nossas células T. Daí teoricamente e biologicamente haver vantagens de que na pop. geral se verifique uma grande diversidade destes vários haplotipos. A espécie poderá ter sempre algum elemento capaz de apresentar um determinado péptido antigénico.

Lembram-se do HLA-A2 e do HLA-A68, então o que é que acontece? Há determinados peptídeos que encaixam nas moléculas da Classe I, são geralmente peptídeos pequenos, de 8 a 10aa¹ 9aa

Alguns desses aa são críticos para a ancoragem, impõe o fixar desses peptídeos na chameira das moléculas de HLA.

Por ex.: para 1 peptídeo se combinar com 1 molécula de HLA-A2, precisa de ter ou 1 leucina nesta posição ou 1 aa aromático naquela posição, se tal não acontecer não encaixam nesse HLA-A2.

Imaginem que 1 indivíduo é invadido por 1 determinado microorganismo, cuja estrutura virulenta correspondia à que acabou de ser descrita (molécula com 1 leucina e 1 aa aromático em determinadas posições). O que vai acontecer?

1. Se Sistema Imunológico desse indivíduo possuir a molécula de HLA-A2, a estrutura virulenta, antigénica vai encaixar nesse HLA-A2, que irá apresentá-la as células T e este aspecto virulento será calmamente eliminado.
2. Se aquele indivíduo possuir 1 "buraco" no seu Sistema Imunológico, estando o HLA-A2 ausente, ele vai ser susceptível à acção patogénica daquele microorganismo. Isto porque o seu Sistema Imunológico não vai detectar a presença daquele peptídeo determinante para a virulência (efeito patogénico) do microorganismo e, por isso não vai combatê-lo.

Claro que isto não ocorre com frequência, pois o HLA, estes complexos major de histocompatibilidade têm 1 grande diversidade, polimorfismo. Se 1 indivíduo não conseguir reconhecer determinado peptídeo antigénico, é prejudicial para si, mas não o será em termos de espécie, isto é haverá algum HLA na espécie que será capaz de

¹ Este facto já tinha sido referido, quando falamos da apresentação antigénica às células T. Os fragmentos antigénicos que lhes são apresentados pelas moléculas da classe I, têm habitualmente 9aa.

se combinar com aquele peptídeo. A diversidade genética que este HLA tem, representa uma vantagem biológica da sobrevivência geral do indivíduo e da espécie.

Então, devido à estrutura espacial daquela charneira existem determinados aa, que são críticos para associação a determinada molécula de HLA, o que já foi referido para o HLA-A2. Para o HLA-A68 os aa de ancoragem seriam completamente diferentes, mas todos os peptídeos que se combinam com o HLA-A68 têm determinado tipo de aa, em certa posição.

Claro que esses fragmentos peptídeos podem pertencer todos ao mesmo antígeno. E podem juntar-se na eliminação do mesmo antígeno, mas aquilo que vai ser apresentado às células T vai ser condicionado pelo polimorfismo da classe I do MHC.

E o que acontece em relação às moléculas da classe II?

A estrutura destas moléculas apresentam um polimorfismo 1 pouco distinto, são outro grupo de moléculas e estão restritas às células apresentadoras. Ao contrário das moléculas da classe I, têm 2 cadeias, cadeias α e β . E vamos encontrar também domínios globulares 1 pouco semelhantes ao que acontecia nas moléculas da classe I do MHC.

Assim:

1. na cadeia α encontram-se os domínios α_1 e α_2
2. na cadeia β os domínios β_1 e β_2

São codificadas, então, por genes distintos. As variantes possíveis destas moléculas tornam-se relevantes para estas células apresentadoras que são essencialmente o DR, o DP e o DQ. O polimorfismo é maior para a cadeia β do que para a α , como se viu atrás.

Qual é a estrutura espacial destas moléculas da classe II? Apesar de terem 2 cadeias, têm 1 arranjo espacial muito semelhante ao que se verifica nas moléculas da classe I. Verifica-se 1 associação das cadeias α e β . Os domínios α_1 e β_1 formam 2 fitas e 1 chão (1 zona plana), formando 1 charneira capaz de combinar com peptídeos antigénicos.

Esta charneira é muito semelhante à que se formava nas moléculas da classe I mas, neste caso, dependente de 2 cadeias e é um pouco mais aberta nos seus extremos. Este aspecto vai permitir que os peptídeos antigénicos, que se associam a estas moléculas da classe II, sejam maiores que aqueles que se combinavam com as moléculas da classe I (cuja charneira se apresenta mais estreita nas extremidades). Assim os peptídeos antigénico, que se associam às moléculas da classe II, têm no

mínimo 13 aa e podem chegar aos 20 e tal, contrastando com os 8 a 10 aa dos peptídeos que se associam á charneira das moléculas da classe I. O polimorfismo destas moléculas vai estar sobretudo, localizado na zona de charneira. Os domínios α_2 e β_2 não estão envolvidos na interacção com o peptídeo antigénico.

Onde é que estão os sites aloantigénicos das moléculas da classe II?

Os sites aloantigénicos destas moléculas predominam na cadeia β_1 que, portanto é a cadeia que apresenta maior polimorfismo e vai impor a possibilidade de maiores variações na combinação com os peptídeos antigénicos. Vão ser estes pontos onde, por ex.: o HLA-P27 é diferente do B5 ou do B51, o resto da estrutura é igual. Assim como a diferença entre o DR4, o DR3 ou o DR2 vai residir na cadeia β_1 e no domínio β_1 . Esse arranjo espacial vai divergir de molécula para molécula. Portanto, é o domínio β_1 que nesta zona interna da charneira, vai variar entre os vários alelos possíveis para as moléculas da classe II do MHC. E ao variar vai impor determinado arranjo espacial, que vai combinar determinados peptídeos antigénicos, tal como acontecia para as moléculas da classe I. Portanto, os peptídeos antigénicos que encaixam nesta charneira também vão ter determinados aa, que têm que ser sempre os mesmos, que são os aa de ancoragem naquelas zonas internas da fita codificada pela região β_1 .

No caso da classe II, a diversidade dos peptídeos que se lhe associam, é um pouco maior, já que possuem no mínimo 13 aa, desses 13 só 2 ou 3 é que são importantes para a ancoragem, os restantes podem variar, surgindo várias combinações peptídicas.

Então, os peptídeos que se associam às moléculas da classe I são mais pequenos que aqueles que se associam às da classe II. Dentro desses peptídeos vamos encontrar determinadas regiões que são constantes, têm de ser manter para se poderem associar a estas moléculas, são os tais aa que têm de estar em determinadas posições - aa de ancoragem, que são a face de interacção deste peptídeo com a charneira do MHC.

Esses aa de ancoragem que são diferentes nas várias molécula do MHC, variam de molécula para molécula, que reflectem o património genético que herdamos dos nossos progenitores, vai condicionar também a apresentação às células T. E logicamente, quanto maior for a diversidade desse património genético, maior é a hipótese de 1 apresentação eficaz dos antígenos às células T e menor a possibilidade de existirem "buracos" no Repertório Imunológico que possam ser críticos para a sobrevivência de 1 determinada espécie.

Portanto, há quem pense que esta grande diversidade das moléculas do MHC, está relacionada com pressões de selecção impostas pelos microorganismos para diversificar estas moléculas do MHC. Algumas espécies estão condenadas na evolução exactamente porque a sua diversidade genética vai ser limitada, o que condiciona também 1 limitação na apresentação antigénica às células T.

Daí existirem vantagens nesta poligenia do MHC.

De onde é que vêm estes peptídeos antigénicos?

Estas moléculas são produzidas no interior das células e conforme o compartimento celular de onde provêm vão-se ligar ou às moléculas da Classe I ou às da classe II. Assim:

1. os peptídeos que resultam do metabolismo interno das células e são originários do citosol, combinam-se com as moléculas da classe I do MHC, que são rapidamente produzidas no RER dessas células nucleadas. Então, estes peptídeos resultam do catabolismo normal de proteínas da própria célula (por ela produzidas), em estruturas designadas de proteassomas. Os pequenos fragmentos (8 a 10 aa) que resultam desta proteólise citoplasmática, são depois transportados por 2 moléculas transportadoras³ até ao RER onde se associam às moléculas da classe I do MHC. Este conjunto é posteriormente transportado até à membrana celular, neste transporte a β_2 -microglobulina tem 1 papel importante.

Em suma, as moléculas da classe I ligam-se, no RER, a peptídeos endógenos que resultam da degradação proteolítica normal da célula, no citoplasma. Esta via é designada de Via Endógena, que se verifica em todas as células nucleadas do organismo.

Por ex.: os vírus entram para as células, vão induzir a produção de proteínas víricas pela própria célula, que posteriormente serão degradadas nos proteassomas, irão ligar-se às moléculas da classe I do MHC e serão transportadas para a superfície celular. E assim é dado um sinal de alarme às células CD8⁺ estas serão informadas da existência de 1 antígeno intracelular. Este é 1 sinal de lise (por ex) dessa célula.

Esta é uma via de grande importância e por isso se justifica a sua existência em todas as células nucleadas (quando forem invadidas por antígenos, podem ser reconhecidas e ser eliminadas pelo Sistema Imunológico).

² Estes proteassomas são estruturas citosólicas de clivagem proteica habitual em cada célula.

³ Designadas de PEP? Quer estas moléculas transportadoras, quer os componentes dos proteassomas (por ex.: o LFP₂ e o LFP₇) estão também codificadas no MHC, dentro dos genes que codificam o MHC.

LFP₂ LFP₇

VP₁ ~ 2

2. Os peptídeos que se associam às moléculas da classe II⁴ do MHC, provêm do exterior da célula. Os antígenos são captados por endocitose ou fagocitose, sendo posteriormente degradados em fagolisossomas. Os peptídeos resultantes desta degradação é que se vão associar às moléculas da classe II. Contudo, neste caso a associação não se dá após a síntese destas moléculas no RER, pois quando as moléculas da classe II são sintetizadas, têm a chameira bloqueada. Precisamente para não se ligarem a peptídeos produzidos aí. Este bloqueio é feito por 1 cadeia, designada de cadeia invariante, pois tem sempre a mesma constituição. As moléculas da classe II são transportadas do RER até ao complexo de golgi de onde saem no interior de vesículas que se vão associar às vesículas endossômicas, que contêm os fragmentos dos antígenos exógenos. Esta fusão vai fazer com que a tal cadeia invariante se desloque e exponha a chameira das moléculas da classe II, permitindo a associação com os peptídeos antigénicos.

na c

É 1 via exógena de captação antigénica e que não está presente em todas as células. Verifica-se apenas em células apresentadoras profissionais.

Esta via permite a interacção com células CD4⁺, que são células sobretudo importantes para a resposta a antígenos extracelulares. As células CD4⁺ vão colaborar com linfócitos B que produzem anticorpos. Os anticorpos são importantes para eliminar antígenos extracelulares e não têm 1 papel tão importante na luta contra antígenos intracelulares. Ao contrário da via citosólica que é importante para eliminar antígenos intracelulares.

Em suma esta via endocítica ou fagocítica resulta da captação de antígenos exógenos e que recruta sobretudo células CD4⁺, que não eliminam a célula apresentadora de antígenos, mas vão desencadear mecanismos efectores que vão eliminar esse antígeno extracelular.

Estas duas vias são complementares na apresentação antigénica.

Boa Sorte para as frequências. Aconselhamos a leitura dos acetatos do seminário do MHC. Desculpem o atraso e *adios muchachos (as)*.

Ana Cristina Gomes

Cristiana Sevivas

Turma 5

⁴ Como se sabe, estas moléculas estão envolvidas, sobretudo, na apresentação de antígenos que são captados do exterior da célula.