



COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD Y PROCESAMIENTO ANTIGENICO

1. INTRODUCCION

Una de las características funcionales de la respuesta de linfocitos T es que ellos se encuentran restringidos por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. Esto quiere decir que los LT pueden responder al antígeno frente al cual son específicos, siempre y cuando estos antígenos sean presentados en el contexto de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad son un grupo de proteínas altamente polimórficas que se caracterizan porque en su estructura proteica presentan una hendidura donde se pueden alojar péptidos antigénicos que pueden provenir de proteínas propias o no propias. Estas moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad se encuentran sobre la superficie celular de todas las células nucleadas, y particularmente sobre unas células denominadas células presentadoras de antígeno. La expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad sobre la superficie celular se conoce como presentación antigénica, mientras que los mecanismos intracelulares previos a esta presentación se conoce como procesamiento antigénico. Cuando los linfocitos van a ser estimulados con el antígeno, deben interactuar con estas células accesorias. En esta interacción participan varias moléculas de cada célula y es necesario que el TCR del linfocito se una con una buena afinidad al péptido antigénico presentado de una forma asociado con las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad.

2. COMPLEJO MAYOR DE HISTOCMPATIBILIDAD

El complejo mayor de histocompatibilidad se define como el locus genético cuya función es responsable del rechazo rápido de los injertos. El nombre es derivado de los estudios de trasplantes donde tratando de identificar las moléculas responsables del rechazo o aceptación de tejidos durante procedimientos de trasplantes se llegó a mapear dichos genes como un grupo de genes que se localizan en el brazo corto del cromosoma 6. El locus genético se conoce como la región genéticamente extendida 6p21.31. Allí se han identificado cerca de unos 100 genes (por eso se habla que es un sistema poligénico) agrupados en tres regiones de genes



funcionalmente distintos. La región de clase I en humanos se localiza hacia la región telomérica del brazo corto del cromosoma 6 y se caracteriza por que allí se encuentran genes que codifican para los llamados antígenos leucocitarios humanos de clase I clásicos: HLA-A, HLA-B, y HLA-C. Estas moléculas clásicas de clase I son funcionalmente importantes porque ellas se encuentran expresadas en la gran mayoría de células nucleadas. En células normales ayudan a la identificación de estas células como parte de lo propio de un individuo (péptidos antigénicos propios) y evitar que el sistema inmune a través de las células NK pueda atacarlas. Bajo infecciones intracelulares por parásitos intracelulares o durante la transformación tumoral, la expresión en estas moléculas clásicas de HLA clase I de péptidos antigénicos virales o tumorales pueden promover el reconocimiento de estas células anómalas por los linfocitos T citotóxicos (CD8+), para mediar su función efectora y por ende la destrucción de estas células. En esta misma región se encuentran genes que codifican para las moléculas de HLA de clase I no clásicas como el HLA-E, HLA-G y HLA-F. Estas moléculas no clásicas en parte ayudan a modular la función de las células NK frente a células que ante una situación de normalidad no deberían ser destruidas, pero ante modificaciones producto de infecciones virales o la transformación tumoral podría ser destruida. La región de clase II se localiza mirando a la región centromérica de este locus genético y se caracteriza porque allí mapean genes que codifican para los antígenos HLA clase II: HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ. De acuerdo a la estructura de estas moléculas que se describe más abajo, por cada proteína de HLA clase II se requieren de dos genes distintos, uno para la cadena alfa y otro para la cadena beta: del tal forma que tenemos genes HLA DRA y HLA DRB (*DR alfa* y *DR beta*), HLA DQA y HLA DQB (*DQ alfa* y *DQ beta*), y HLA DPA y HLA DPB (*DP alfa* y *DP beta*). La región de clase III de este locus genético se encuentra entre la región I y la región II y contiene genes que no están asociados con la presentación de antígenos, pero si hacen parte del sistema inmune, como genes para producción de algunas citocinas o algunas proteínas del complemento (AABB, 2010; Murphy et al, 2012; Kindt et al, 2007).

Una de las características de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad es que se encuentran en desequilibrio de ligamiento por su distancia relativa sobre el cromosoma, y or lo tanto se van a heredar como haplotipo. Cada persona tiene dos cromosomas 6 por lo tanto cada uno de los genes del HLA por duplicado, uno sobre cada cromosoma. Es común que durante la meiosis I se dé un intercambio de material genético entre los dos cromosomas homólogos, este proceso es importante para favorecer la variabilidad (de ahí que seamos muy distintos fenotípicamente con nuestros hermanos, a pesar que podamos provenir de los mismos progenitores). En el locus genético, por su cercanía, los genes del HLA-I y HLA-II se



heredan en forma de haplotipo; es decir en bloque. Esto quiere decir que durante la meiosis I los alelos de los genes que se encuentran sobre un mismo cromosoma irán juntos a hacer parte del mismo gameto sobre el mismo gameto. En un individuo, el juego de alelos que se encuentran sobre un mismo cromosoma conforman un haplotipo, y el conjunto de los haplotipos de un individuo se denomina el genotipo. Dado que la herencia en la mayoría de casos se da como haplotipo, un individuo tiene un 25% de probabilidad que un hermano comparta su genotipo, y un 50% de compartir un haplotipo (AABB, 2010).

Uno de los aspectos más sobresalientes de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad es que es el sistema más polimórfico que nosotros tenemos. Este polimorfismo se refiere al hecho de presentar para cada uno de los genes de HLA-I y HLA-II clásicos una cantidad grande de variantes alélicas con frecuencias determinadas en la población. La importancia de este polimorfismo se discutirá más abajo. Algunos aspectos que hay que tener en cuenta acá, es que evolutivamente hay una tendencia alta a hacer heterocigosis en estos genes. Esto quiere decir, que para cada gen del HLA, se tendrán dos variantes alélicas distintas en un individuo. Y otro factor relacionado, es el hecho que estos genes se expresan de forma co-dominante; es decir si Ud. tiene dos variantes alélicas distintas para el mismo gen, las dos se expresan. Esto quiere decir para las moléculas del HLA-I y HLA-II el genotipo coincide con el fenotipo (AABB, 2010; Murphy et al, 2012).

La estructura de las moléculas HLA-I consta de una cadena alfa pesada la cual tiene una porción hidrofóbica que le permite a la molécula anclarse en la membrana plasmática, y una porción extracelular prominente compuesta de 3 dominios denominados $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$. Los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ posicionados en la parte más distal de la superficie celular y conforman la hendidura de unión al péptido antigénico; es allí donde un péptido antigénico de 8 a 10 aminoácidos se va a localizar. Este surco está compuesto por unas hojas beta plagadas que conforman el piso de la hendidura, y unas alfas hélices que forman unos bordes a lado y lado del surco. En la superficie de hojas betas plegadas se ubican unos bolsillos donde se anclan las cadenas laterales de algunos de los aminoácidos. El dominio $\alpha 3$ es el que se encuentra en la parte más proximal a la membrana plasmática; este dominio interactúa con el co-receptor CD8 de los linfocitos T durante el reconocimiento antigénico por parte de los linfocitos T. Esta cadena alfa de HLA-I se asocia con la proteína $\beta 2$ -microglobulina; una proteína que no es codificada por el complejo mayor de histocompatibilidad, inclusive el gen se encuentra en otro cromosoma (cromosoma 15). Esta proteína no se ancla en la membrana plasmática y se asocia con el dominio $\alpha 3$ de la cadena alfa (AABB, 2010; Murphy et al, 2012).



Las moléculas HLA-II están conformadas por dos cadenas polipeptídicas, una cadena alfa y una cadena beta. La dos cadenas tienen porciones hidrofóbicas de anclaje a la membrana plasmática, y las porciones expuestas hacia el exterior de la superficie celular están conformadas por dos dominios en cada cadena: los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$ son los más proximales a la membrana plasmática, mientras que los dominios $\alpha 1$ y $\beta 1$ son los más distales y conforman entre sí el surco de unión al péptido antigénico muy similar al descrito arriba para HLA-I. Como el surco de unión al péptido en HLA-II está compuesto por dos dominios de dos cadenas distintas a diferencia de HLA-I (dos dominios sobre la misma cadena), este dominio es ligeramente distinto; esto hace que la estructura del surco sea un poco más abierta y por lo tanto alberga péptidos antigénicos más grandes y de tamaños más variables que los de HLA-I (AABB, 2010; Murphy et al, 2012).

Como se mencionó arriba el elevado polimorfismo de las moléculas HLA es quizás el aspecto más sobresaliente de estas moléculas. Cuando se comparan las estructuras primarias de distintas variantes alélicas de las moléculas HLA, se encuentra que las diferencias entre estas variantes alélicas se concentran en el surco de unión al péptido antigénico. Se han hecho análisis de los péptidos que son presentados en estos surcos de unión al péptido antigénico y se ha encontrado que hay algunos aminoácidos en ciertas posiciones claves del péptido (ej. aminoácidos en posiciones 2 y 9 para los péptidos de clase I) que determinan si un péptido puede ser presentado por una variante alélica o no. En otras palabras, no cualquier péptido antigénico es presentado en cualquier variante alélica del HLA; además, una variante alélica puede presentar distintos péptidos antigénicos, siempre y cuando cumplan con los criterios para estos aminoácidos claves. Esto ayuda a entender el porqué de ese elevado polimorfismo, sin embargo cada individuo únicamente puede presentar dos variantes alélicas por gen; luego, el elevado polimorfismo es muy importante desde el punto de vista poblacional y ha permitido la sobrevivencia de la especie. Esto también explica, porque hay individuos que pueden ser resistentes o susceptibles a ciertos tipos de patógenos. Los genes más polimórficos son el HLA-B de clase I seguido del HLA DR β de clase II. De forma llamativa, en las moléculas de clase II son mucho más polimórficos los genes que codifican para las cadenas beta, y son poco polimórficos los de las cadenas alfa (Murphy et al, 2012) .



3. PROCESAMIENTO Y PRESENTACION ANTIGENICA

Las moléculas HLA-I se encuentran expresadas por la gran mayoría de células, sólo unas muy pocas células en órganos inmunológicamente privilegiados presentan bajos niveles o no expresan. La expresión de estas moléculas en estas células es parte fundamental de la identidad inmunológica con la que contamos para permitir la apropiada discriminación entre lo propio y lo no propio; y por otro lado, también permitirá la identificación y eliminación de células infectadas o anómalas por los mecanismos efectores de la inmunidad adquirida representada en los linfocitos T citotóxicos (CD8+). Las moléculas HLA-II son expresadas por una población más restringida de células, las llamadas células presentadoras de antígeno: Células dendríticas, macrófagos, linfocitos B, células epiteliales tímicas. La expresión sobre estas células es fundamental para producir la activación de LT CD4+ indiferenciados, recientemente activados, efectores o de memoria (Murphy et al, 2012).

El procesamiento de las moléculas HLA-I se da a partir de antígenos endógenos: es decir, antígenos que serán presentados por la misma célula que los sintetizo. El procesamiento inicia en el citoplasma de las células: allí las proteínas (principalmente proteínas o productos ribosomales defectuosos, DRIPs) que han sido marcadas para su degradación a través de mecanismos de poli-ubiquitinación son capturadas por el complejo multi-proteico proteasoma. El proteasoma tiene una estructura básica en forma de cilindro compuesto por 4 anillos proteicos, donde cada anillo está conformado por 7 subunidades proteicas distintas. Los anillos externos están compuestos por subunidades alfa, mientras que los internos beta; de cada anillo de proteínas, 3/7 subunidades tienen actividades proteolíticas (β1, β2 y β5). La proteína es parcialmente degradada al interior del proteasoma, generando péptidos con distintas características: aquellos péptidos que se en su extremo carboxi terminal tienen un aminoácido básico o hidrofóbico pueden ser transportados al interior del retículo endoplasmático rugoso (RER), por medio de las proteínas TAP-1 y TAP-2. Cuando las células son expuestas a interferón gamma (IFN-γ), se produce un recambio en las subunidades β1, β2 y β5 por las subunidades también catalíticas LMP-2, LMP-7 MECL-10, para conformar el inmunoproteasoma. Este inmunoproteasoma favorece que los péptidos que se genera a partir del proteasoma tengan una mayor probabilidad de ser presentados en las moléculas HLA-I. Las proteínas TAP-1 y TAP-2 de una forma dependiente de ATP median la translocación de los péptidos generados en el proteasoma hacia el lumen del RER. En el RER se están sintetizando la cadena alfa de las moléculas HLA y con la ayuda de proteínas chaperonas como la calnexina, la proteína va adquiriendo su estructura conformacional, inclusive en su asociación con la β2 microglobulina.



Para que los péptidos antigénicos se puedan asociar al surco de unión al péptido que se está conformando en las moléculas HLA-I, un complejo de carga del péptido antigénico participa: este complejo está conformado por las proteínas tapasina, calreticulina y ERp57. Una vez el péptido que cumple los requerimientos impuestos por la variante alélica de acuerdo a los aminoácidos de las posiciones 2 y 9, el péptido se ancla en el surco de unión al péptido antigénico. Finalmente, aminopeptidasas presentes en el RER remueven los aminoácidos que sobran en el extremo aminoterminal, para ajustar al tamaño adecuado entre 8 a 10 residuos (Murphy et al, 2012).

En el procesamiento de las moléculas de HLA-II, las cadenas alfa y beta del HLA que son sintetizadas en el RER se asocian con la cadena invariante: una proteína que impide que péptidos de origen endógeno se asocien prematuramente al surco de unión, y además favorece el transporte en vesículas de las moléculas HLA-II desde el RER hacia la vía endosomal. Por otro lado, los antígenos que son procesados por esta vía, son de origen exógeno, es decir son sintetizados por una célula distinta a la célula que hace el procesamiento y la presentación antigénica (por ejemplo microorganismos infecciosos). Estos antígenos son capturados por las células por mecanismos de fagocitosis, endocitosis mediada por receptor o macropinocitosis, y entran en vesículas a la vía endosomal. Allí durante la maduración de estas vesículas y acompañada de una acidificación gradual, las enzimas lisosomales ácidas (catepsinas) se activan y empiezan una degradación parcial de los antígenos proteicos. Estas vesículas endosomales tardías son fusionadas con las vesículas que provienen del RER/Golgi que viene cargadas con las moléculas HLA-II: allí a través de unas reacciones donde participan moléculas HLA-II no clásicas (HLA-DM y HLA-DO) se remueve el péptido CLIP (producto de la degradación parcial de la cadena invariante) que cubre el surco de unión al péptido antigénico, y es rápidamente reemplazado por un péptido antigénico de origen exógeno. Finalmente, las moléculas HLA-II cargadas con el péptido antigénico y estables son llevadas en vesículas hasta la membrana celular (Murphy et al, 2007).

Existe un procesamiento antigénico alternativo el cual está asociado con la presentación cruzada. La presentación cruzada es un mecanismo por el cual antígenos de origen exógeno son presentados en el contexto de moléculas HLA-I. Este mecanismo lo realizan células como las dendríticas y es fundamental para favorecer la activación inicial ("*priming*") de LT CD8 vírgenes o indiferenciados, y de esta manera favorecer con el tiempo la generación de células citotóxicas diferenciadas y armadas, que ejercerán su función efectora sobre células anómalas o infectadas que expresan antígenos de origen endógeno particulares en moléculas HLA-I (procesadas como



se describió arriba). Estos antígenos de origen exógeno pueden provenir de células anómalas o infectadas que se han muerto y ser capturados por las células dendríticas como se describió arriba en la vía exógena. Estos antígenos pueden ser parcialmente degradados por la vía endolisosomal por medio de las catepsinas, y los péptidos generados allí pueden cargarse sobre moléculas HLA-I que provienen de la superficie celular a través de vesículas de reciclaje de proteínas; y allí en la vía endosomal pueden ser cargados con los péptidos de origen procesados de origen exógeno, para posteriormente ser transportados a la membrana celular. De igual forma, péptidos de origen exógeno generados en la vía endolisosomal, se pueden unir a moléculas HLA-I que vienen transportados desde el RER por medio de su asociación a la cadena invariante; de tal forma que en estas vesículas se remueve el péptido clip como se describió arriba y se reemplaza por el péptido de origen exógeno. En otros modelos se ha propuesto que los antígenos exógenos antes de ser parcialmente degradados son expulsados de la vía endosomal al citoplasma por medio de las proteínas Sec61; una vez en el citoplasma son procesadas por el proteasoma y los péptidos son llevados vía TAP al RER para ser cargados en las moléculas HLA-I como se describió arriba (Basha et al, 2012).

BIBLIOGRAFIA

AABB. 2010. Primer of Blood Administration. The HLA System. Capítulo 19.

Basha G, Omilusik K, Chavez-Steenbock A, Reinicke AT, Lack N, Choi KB, Jefferies WA. 2012. A CD74-dependent MHC class I endolysosomal cross-presentation pathway 13:237-45.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. 2007. Inmunología de Kuby. McGraw Hill. Capítulo 8.

Murphy K. 2012. Janeway's immunobiology 8 edition. Garland Science. Capítulo 6.