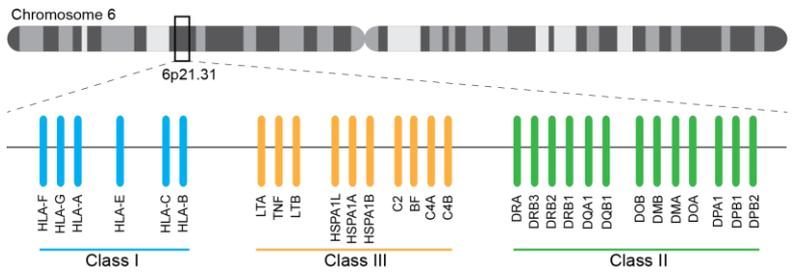


Il Complesso Maggiore di Istocompatibilità (MHC) (Major Histocompatibility Complex)

Human Leukocyte Antigens (HLA)



Dott.ssa RITA SELVATICI
Sez. Genetica Medica
Dipartimento di Scienze Mediche

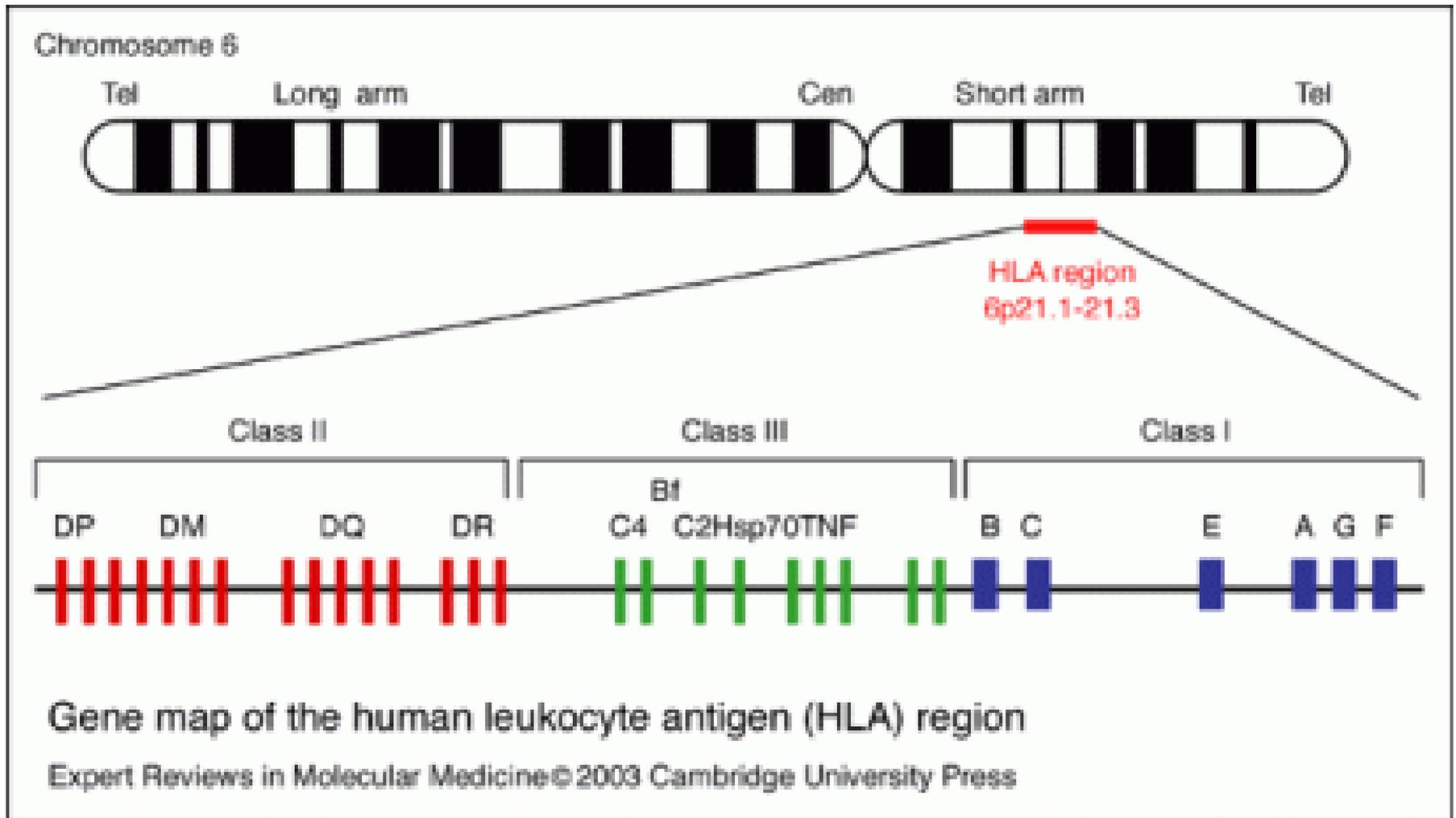
**Complesso genico identificato a metà degli
anni '30 nel topo (complesso H2)
da George Snell perché coinvolto
nell'attecchimento dei trapianti di cute e
d'organo.**

**Negli anni '60 e '70 è stato scoperto che i
geni di questa regione sono di fondamentale
importanza per tutte le risposte immunitarie
agli antigeni proteici**

MHC o HLA

- Complesso Maggiore di Istocompatibilità:
 - Cluster di geni presenti in tutti i mammiferi
 - I suoi prodotti giocano un ruolo nel discriminare self/non-self
 - Partecipa sia nell'immunità umorale sia cellulo-mediata
- MHC agisce come struttura presentante l'antigene
- Nell'uomo MHC si trova sul cromosoma 6
Indicato anche come complesso HLA
- Nei topi MHC si trova sul cromosoma 17 ed è descritto come H-2 complesso

Organizzazione del complesso HLA



MHC o HLA

- Tutte le specie di mammiferi possiedono il **complesso maggiore di Istocompatibilità (MHC)**, i cui prodotti proteici sono coinvolti nel riconoscimento cellulare self e non-self.
- MHC è fondamentale nello sviluppo delle **risposte umorali** (mediate dalla secrezione di anticorpi prodotti nelle cellule dei linfociti B) e anche **di tipo cellulare** (attivazione di macrofagi, delle cellule natural killer, dei linfociti T e il rilascio di varie citochine in risposta ad un antigene estraneo).
- Le proteine codificate dai geni HLA sono presenti sulle cellule di tutti i tessuti e sono coinvolte nella discriminazione fra **self e non self** e nel riconoscimento di antigeni estranei da parte dei linfociti T.

Organizzazione del complesso HLA

- E' localizzato sul cromosoma 6 nell'uomo e sul cromosoma 17 nel topo
- HLA comprende più di 200 geni codificanti
- Il locus contiene i geni che codificano per le proteine HLA «classiche» di I e II classe e le proteine di III classe:

geni HLA di classe I (A, B, C)

geni HLA di classe II (DP, DQ, DR)

geni HLA di classe III (C2, C4, TNF)

MHC

Geni MHC di classe I codificano:

- glicoproteine espresse su tutte le cellule nucleate
- hanno funzione principale di presentare antigeni a cellule T citotossiche

Geni MHC di classe II codificano:

- glicoproteine che sono espresse solo su macrofagi, cellule B, cellule dendritiche
- funzione principale di presentare antigeni a cellule T helper

Geni MHC di classe III:

- Prodotti che includono proteine secrete con funzioni immunitarie. Es. sistema del complemento, molecole infiammatorie

Organizzazione del complesso HLA

Nell'uomo il complesso maggiore di istocompatibilità è localizzato nel braccio corto del cromosoma 6, in una regione corrispondente a 2-3 cM.

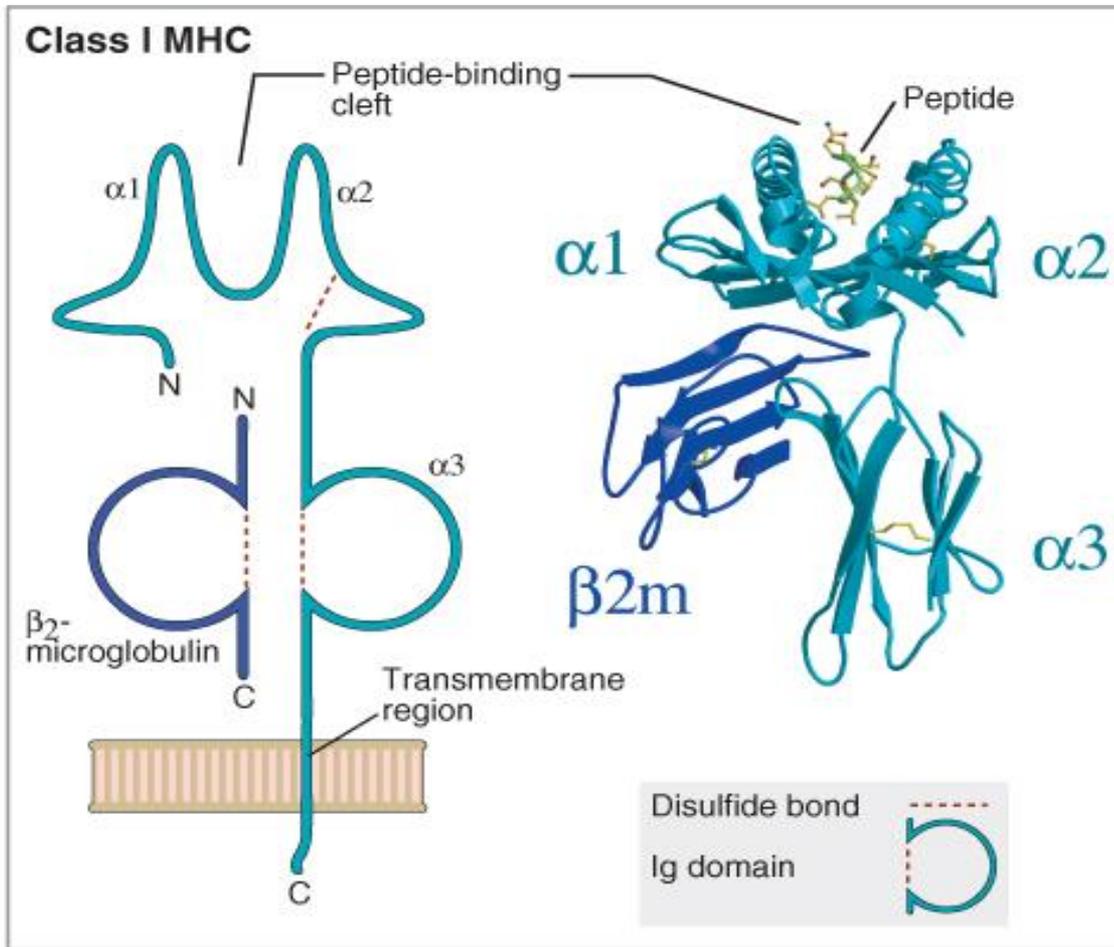
È suddiviso in **tre regioni** che prendono il nome di **classe I, classe II e classe III**.

La regione I contiene i loci A, B e C che codificano per le molecole di classe I.

La regione II contiene i loci DP, DQ e DR che codificano per le molecole di classe II.

La regione III, interposta tra le regioni I e II, contiene i geni che codificano per le molecole C2 e C4 del complemento e il **Tumor necrosis factors** (un gruppo di citochine che causa morte cellulare)

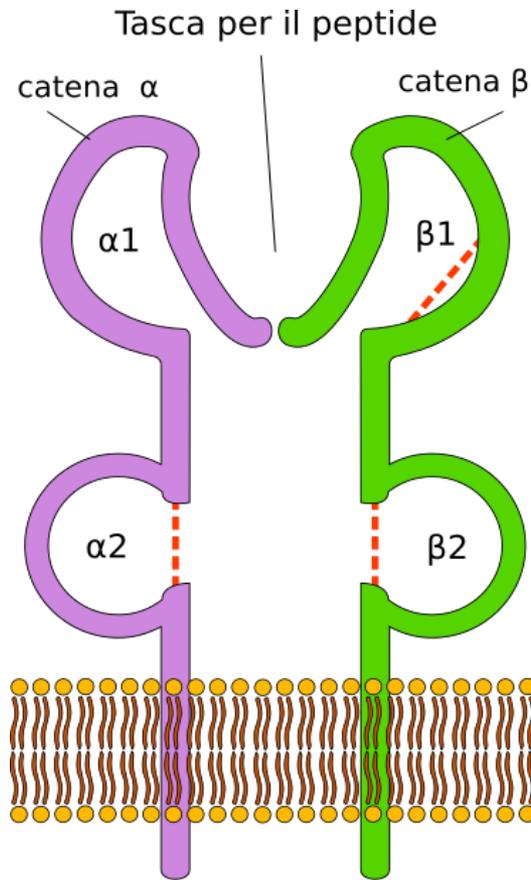
STRUTTURA DELLE MOLECOLE HLA DI CLASSE I



- Sono distinguibili 4 regioni:
- una regione legante il peptide antigenico (**alloantigenic site**) compresa tra i domini $\alpha 1$ e $\alpha 2$
 - una regione altamente conservata $\alpha 3$ alla quale si legano i linfociti T CD8+
 - una regione idrofobica di transmembrana
 - una regione citoplasmatica che contiene siti di fosforilazione e di legame per le proteine del citoscheletro

Le molecole di classe I sono composte da una catena α polimorfica attaccata in maniera non covalente alla catena β_2 -microglobulina (β_2m) non polimorfica.

STRUTTURA DELLA MOLECOLA HLA DI CLASSE II



L'MHC di classe II è formato da due catene polipeptidiche di lunghezza simile: una catena α e una catena β . Si riconoscono 4 regioni:

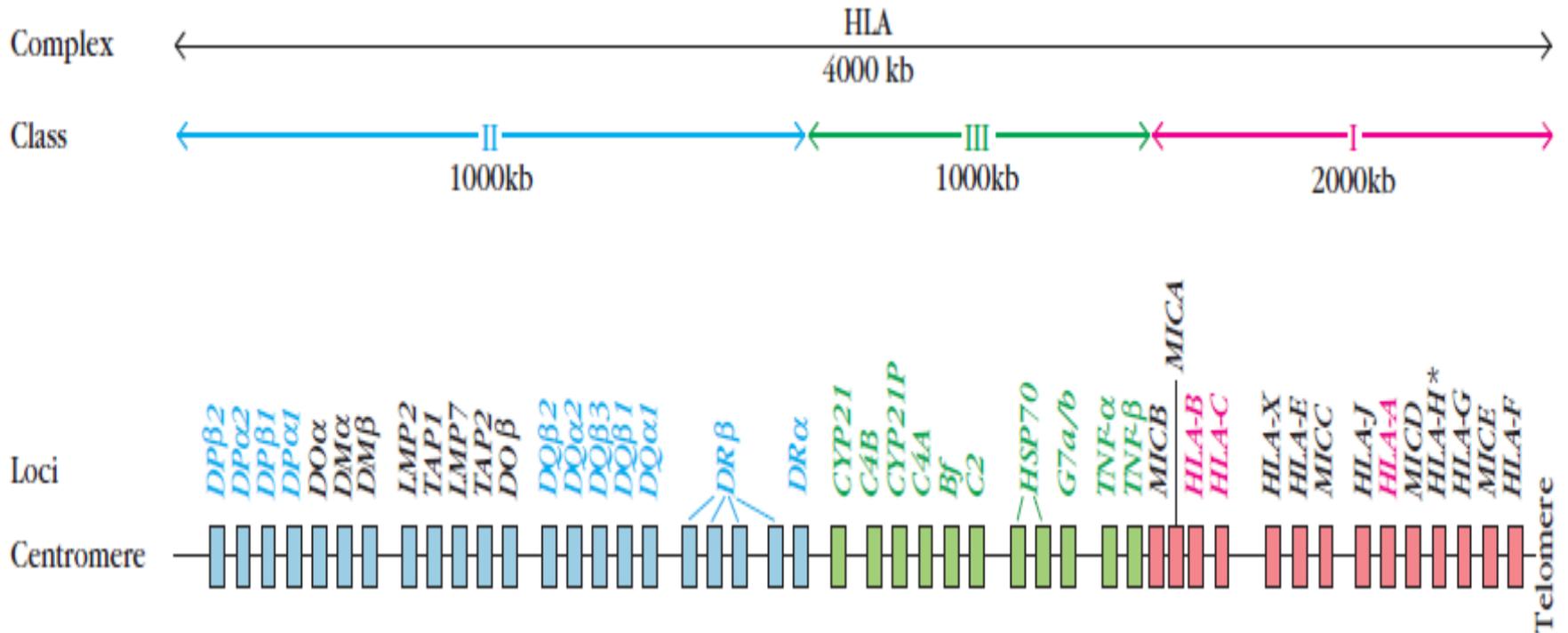
- una regione di legame per il peptide, tra i domini $\alpha 1$ e $\beta 1$, sede di polimorfismi
- una regione Ig-like, $\beta 2$ alla quale si legano i linfociti T CD4
- una regione di transmembrana
- una regione citoplasmatica che contiene siti di fosforilazione e di legame per proteine del citoscheletro.

Caratteristiche del sistema **HLA**

1. è **poligenico** - il locus comprende circa 200 geni che codificano per le proteine di **I** e **II** classe con una diversa specificità per i peptidi.
2. è **polimorfico** - esistono numerose varianti alleliche per ogni gene.
3. è **codominante** - in ogni individuo sono espressi i prodotti di entrambi gli alleli ereditati dai genitori.

1. HLA E' POLIGENICO

HUMAN CHROMOSOME 6



Sono stati identificati 253 loci,

57% dei quali vengono espressi (codificano per proteine)

2. HLA E' POLIMORFICO

Le molecole MHC espresse da un individuo non si modificano nel tempo ma possono differire da quelle espresse da un altro individuo della stessa specie

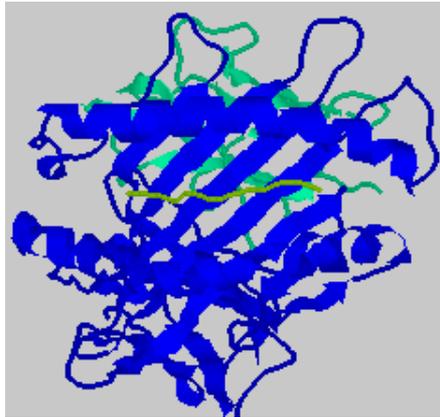


POLIMORFISMO

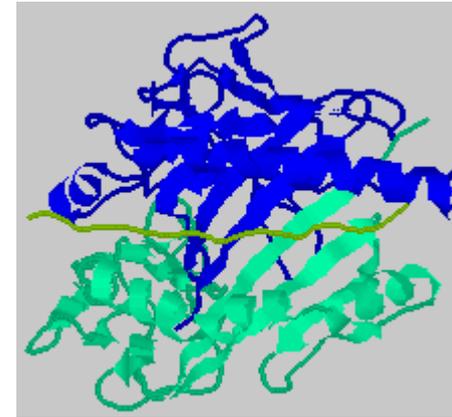
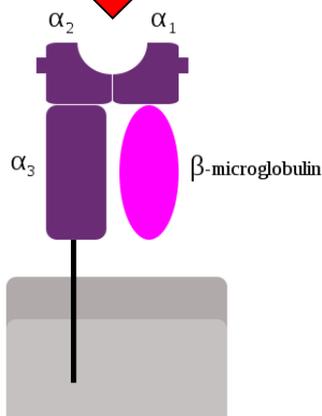
MHC è uno dei complessi genetici più polimorfici dei vertebrati più evoluti e possiede un numero straordinariamente elevato di alleli diversi per ciascun locus.

Gli alleli differiscono del 5-10% nella sequenza del DNA da un individuo all'altro.

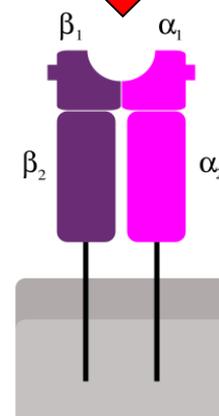
Localizzazione del polimorfismo allelico delle molecole HLA



Class I

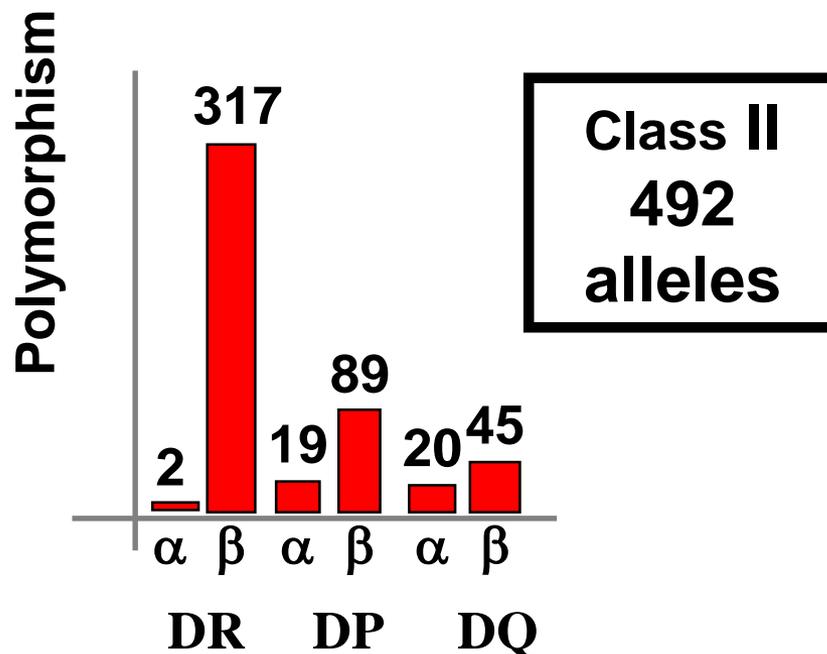
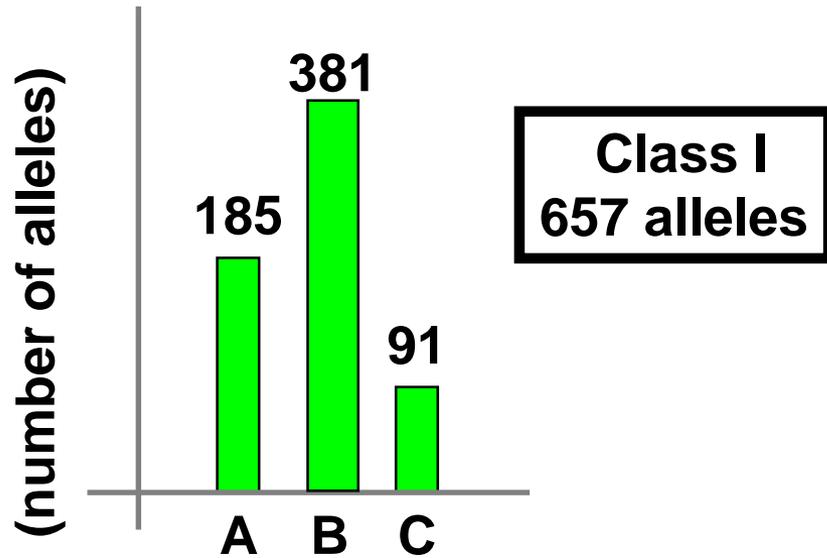


Class II



Il polimorfismo delle molecole HLA è quasi esclusivamente a carico della tasca di riconoscimento antigenico

DISTRIBUZIONE DEGLI ALLELI MHC NELLA POPOLAZIONE UMANA



- Gli alleli non sono distribuite in modo uniforme nella popolazione

- Gli alleli sono segregati tra le razze

SELEZIONE

**Qual è la ragione di questo
elevatissimo polimorfismo ?**

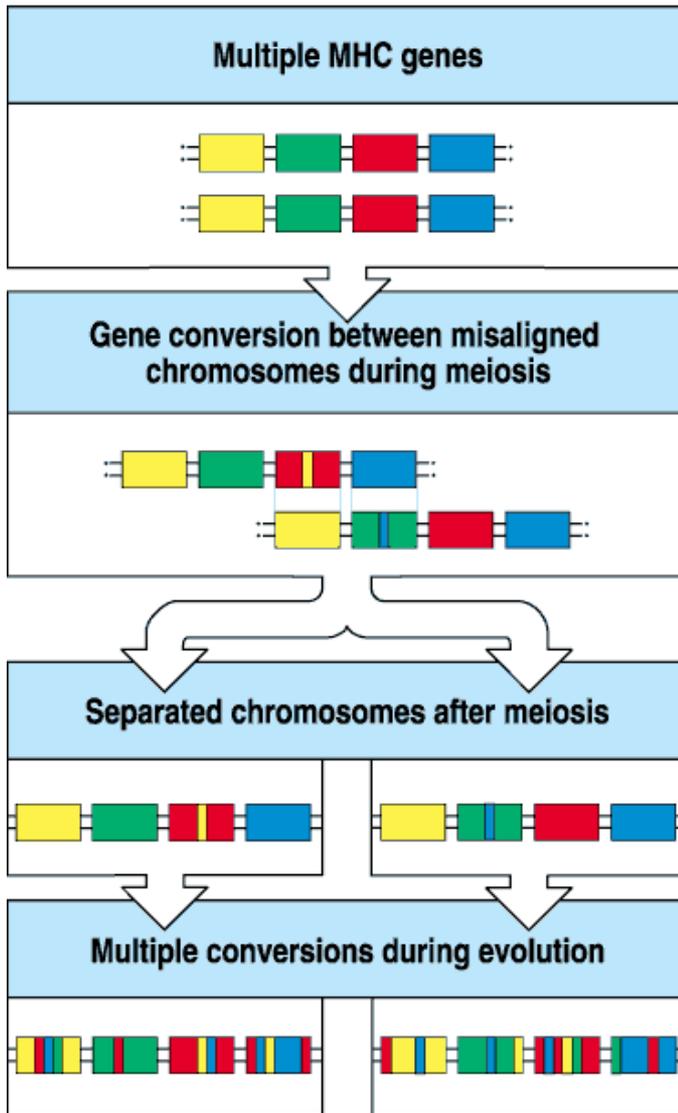
L'elevato polimorfismo ha una spiegazione di tipo evolutivo:

Esiste infatti una **pressione selettiva** che nel corso dell'evoluzione ha determinato una aumentata frequenza (pressione selettiva) di alcuni alleli HLA, ***al di fuori dell'equilibrio di Hardy-Weinberg.***

Il **vantaggio evolutivo** del **polimorfismo** e del **poligenismo** risiede nel fatto che è maggiore la possibilità di avere combinazioni diverse di alleli che possono presentare in maniera ottimale un determinato antigene, quindi di poter riconoscere il maggior numero di peptidi estranei ai linfociti T.

Poligenia e Polimorfismo dei Loci MHC:

Come è avvenuto?



- **Poligenia** molto probabilmente è derivata dalla **duplicazione genica**.
- **Polimorfismo** probabilmente è sorto da **mutazioni puntiformi** ed **eventi conversione genica**, in cui lo scambio tra loci è a senso unico.

Dove sono espresse le molecole HLA

- **HLA di classe I** viene espresso da **tutte le cellule nucleate**. E' facilmente inducibile dall'IFN- γ che è prodotto in caso di infezione virale. In questo modo è favorita la presentazione dell'antigene e la conseguente morte della cellula infetta.
- I globuli rossi, in quanto cellule non nucleate, non esprimono MHC di classe I e II
- **HLA di classe II** è invece espresso dalle cellule che presentano l'antigene: **monociti e macrofagi, cellule dendritiche, linfociti B e alcuni tipi di cellule T.**

HLA e ereditarietà

Aplotipo

Ogni individuo possiede nel proprio patrimonio genetico due copie di geni di ciascun locus HLA, uno di origine paterna e uno di origine materna.

Il set di geni continui ereditato dai genitori viene definito **aplotipo**.



Daddy

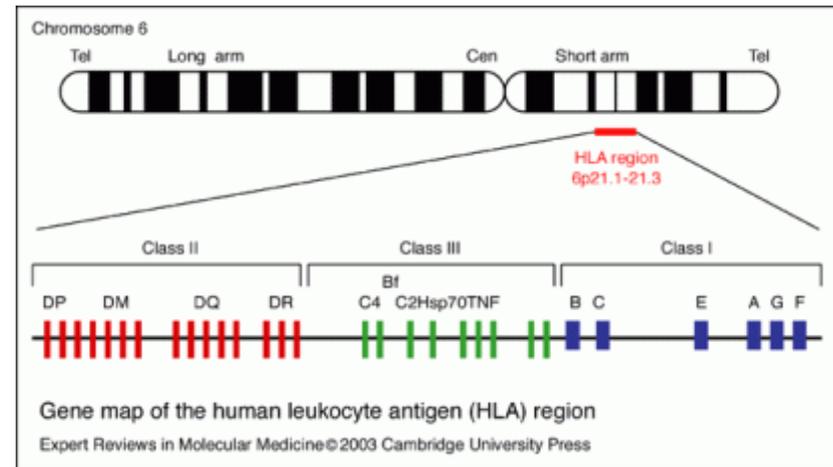
A*0101 B*0801 C*0701 DRB1*0301 DQB1*0201

A*0302 B*3501 C*0401 DRB1*0401 DQB1*0301

Mom



Linkage disequilibrium e complesso MHC

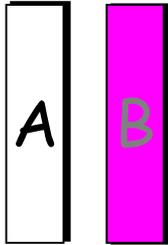


Nella regione MHC il tasso di ricombinazione è molto basso, per cui generalmente tale regione è ereditata in blocco (aplotipo HLA)

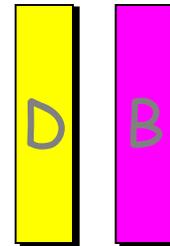
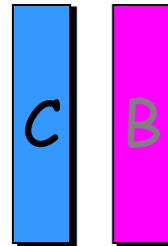
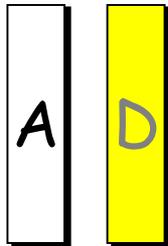
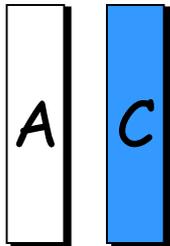
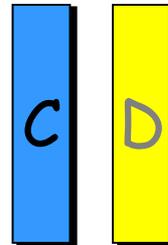
La probabilità di identità tra fratelli è del 25%, mentre nel 25% dei casi due fratelli non condivideranno alcun allele HLA e nel restante 50% si osserverà la condivisione di un aplotipo

Ereditarietà degli antigeni HLA

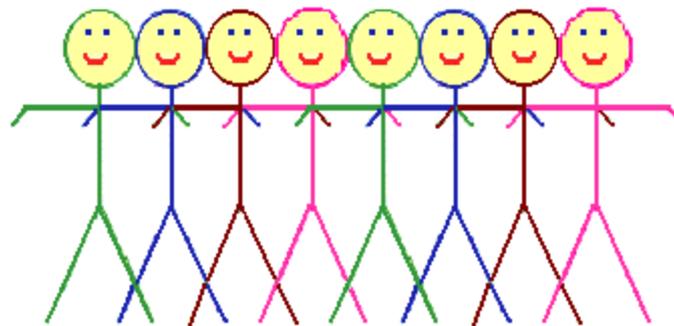
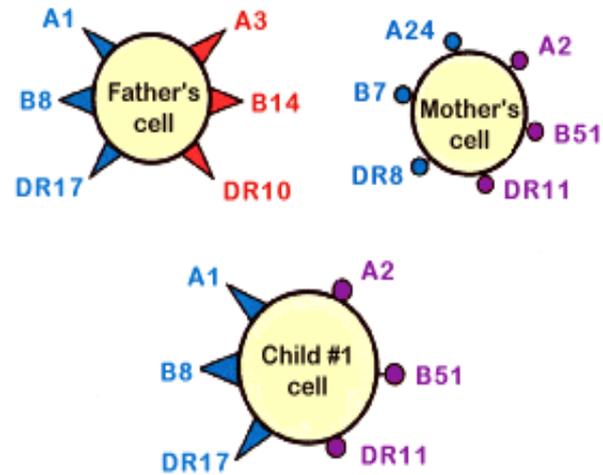
Madre



Padre



Trasmissione ereditaria degli antigeni HLA



A cosa serve il sistema HLA?

Il suo ruolo è importante:

- **nella risposta immunitaria**
- nei trapianti d'organo
- nella predisposizione a malattie genetiche

Qual è la loro funzione nella risposta immunitaria?

I geni MHC codificano antigeni di superficie che sono espressi sulle cellule nucleate di tutti i tessuti e sono coinvolti nella discriminazione fra self e non self e nel riconoscimento di peptidi estranei.

Risposta immunitaria ad agenti estranei

HLA Classe I e VIRUS

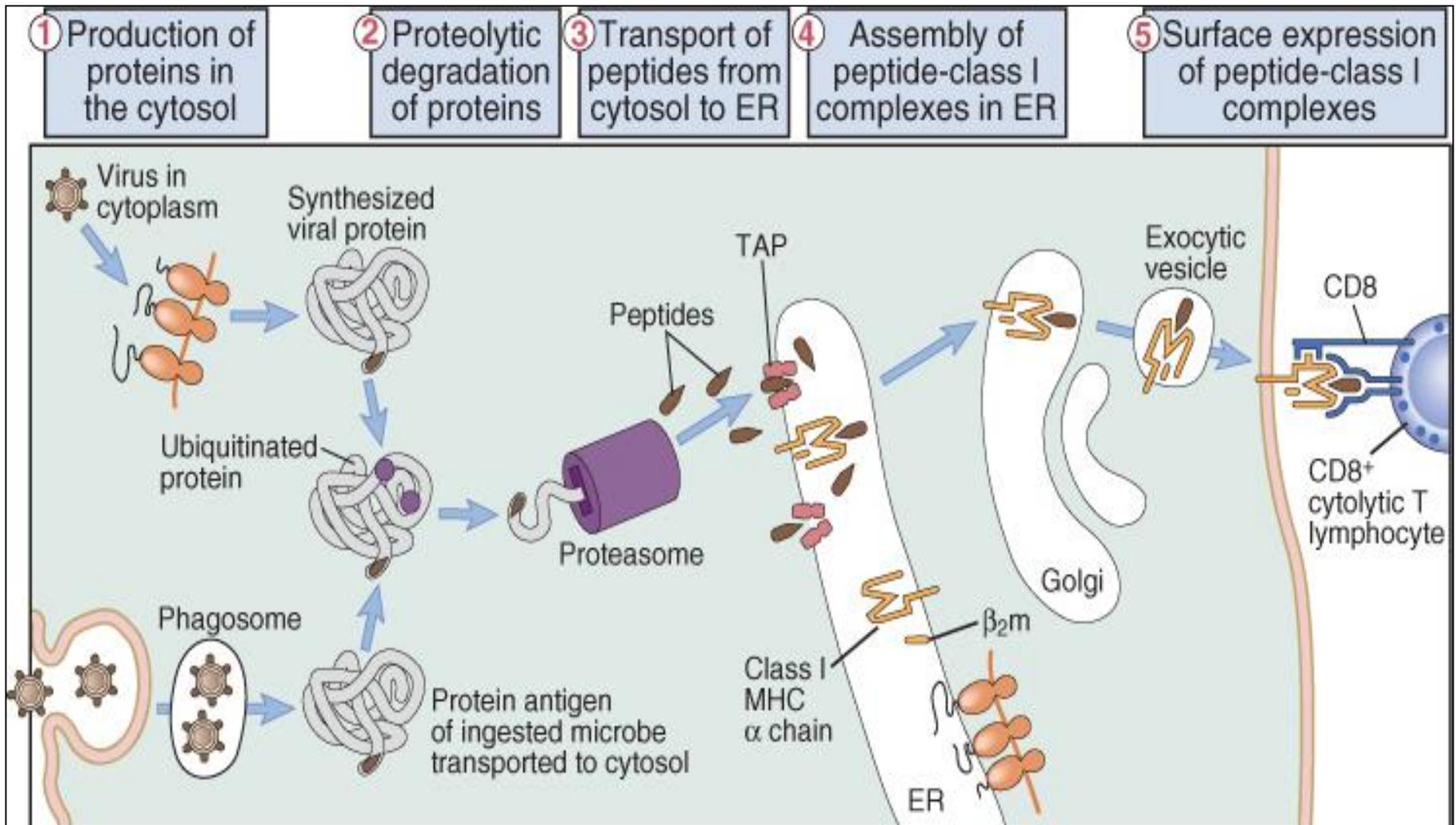
Un virus entra nel corpo umano attraverso una ferita: il virus infetta le cellule, cioè penetra all'interno delle cellule ed inizia a produrre le sue proteine (antigeni virali)

Le proteine virali si legano sulle proteine HLA Classe I (presenti sulla superficie di tutti i tipi di cellule) → ogni cellula del nostro corpo, se infettata da un virus, è in grado di presentare le proteine virali alle cellule del sistema immunitario. I mastociti rilasciano istamina che innesca l'infiammazione nel sito di infezione

Intervengono linfociti natural killer (risposta infiammatoria aspecifica) che si attaccano alla cellula infettata dal virus e rilasciano sostanze chimiche che, distruggendone la membrana plasmatica, ne provocano la morte.

Successivamente, intervengono i linfociti T citotossici CD8+ (risposta immunitaria specifica) che riconoscono l'antigene virale legato alle proteine HLA Classe I sulla superficie della cellula infettata dal virus, si attaccano alla cellula infettata e rilasciano sostanze chimiche che, distruggendone la membrana plasmatica, ne provocano la morte..

PRESENTAZIONE DELL'ANTIGENE DA PARTE DELL'MHC DI CLASSE I (ciclo citosolico)



Risposta immunitaria ad agenti estranei

Sistema HLA classe II e BATTERI

Un batterio entra nel corpo umano attraverso una ferita

I mastociti rilasciano istamina che innesca l'infiammazione nel sito di infezione.

I neutrofili e i macrofagi sono attratti nel tessuto infiammato e agiscono fagocitando il batterio.

Le cellule dendritiche fagocitano il batterio e frammenti del batterio (antigeni) vengono attaccati sulle proteine HLA Classe II sulla superficie cellulare.

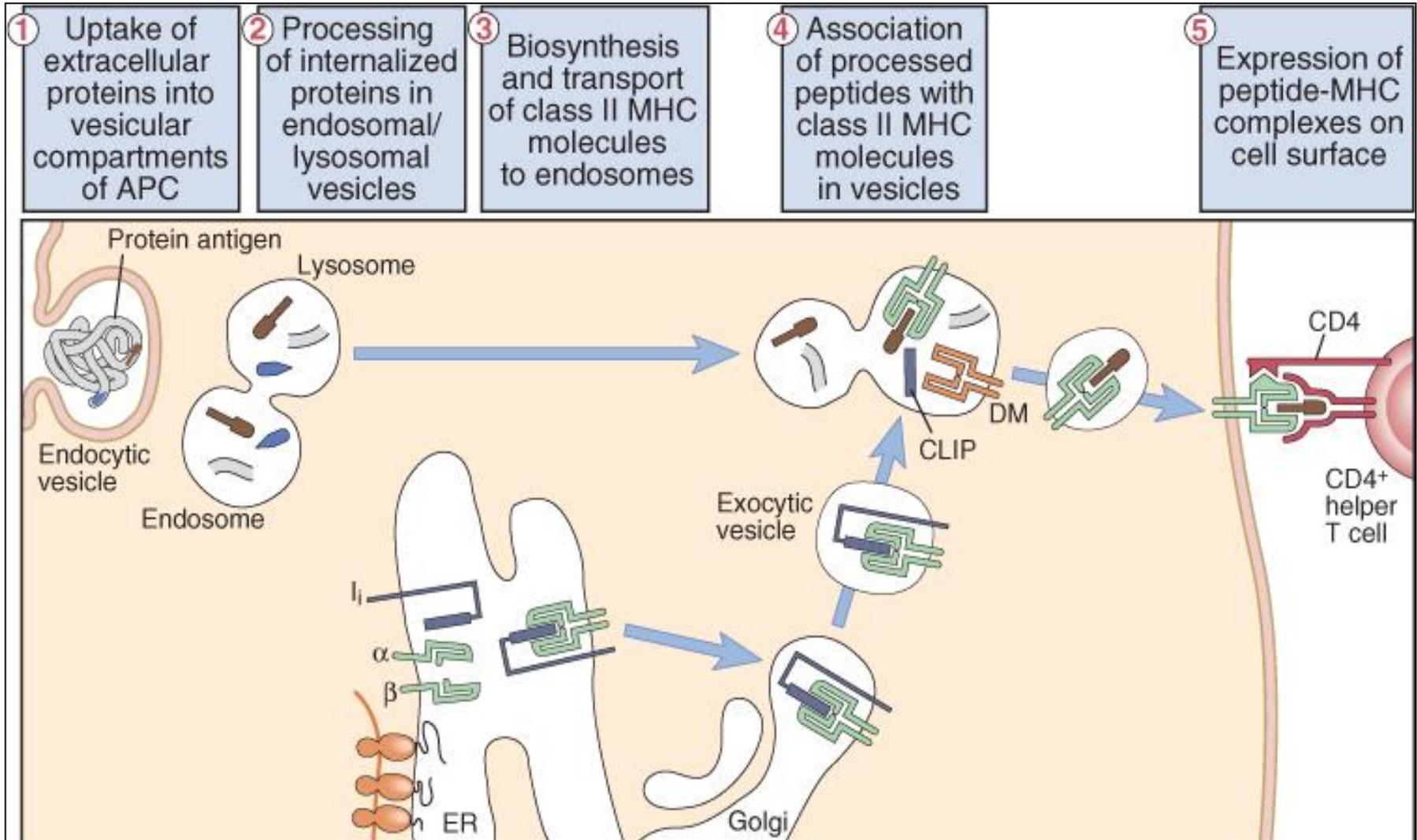
Le cellule dendritiche fagocitano il batterio e frammenti del batterio (antigeni) vengono attaccati sulle proteine HLA Classe II sulla superficie cellulare.

I linfociti T helper CD4+ specifici per quell'antigene si attivano e iniziano a crescere di numero (proliferazione). I linfociti T helper stimolano i linfociti B specifici per quell'antigene che si differenziano in plasmacellule e cellule della memoria immunitaria.

Le plasmacellule producono gli anticorpi che facilitano l'eliminazione del patogeno.

Le cellule B della memoria immunitaria rimangono nel circolo sanguigno pronte ad intervenire in caso di successiva infezione con lo stesso tipo di batterio.

PRESENTAZIONE DELL'ANTIGENE DA PARTE DELL'MHC DI CLASSE II (ciclo endocitico)



Caratteristiche generali del complesso MHC

1. Le molecole MHC sono legate alla membrana. Il riconoscimento da parte dei linfociti T richiede il contatto cell-cell
2. Il peptide dal citosol si associa con l'MHC di classe I ed è riconosciuto dai linfociti T citotossici (CD8+).
3. Il peptide dal citosol si associa con l'MHC di classe II ed è riconosciuto dai linfociti T helper (CD4+).
4. C'è un alto grado di polimorfismo
5. Le cellule T mature dovrebbero avere un recettore (TcR) che riconosce il peptide associato con MHC
6. Ogni molecola MHC ha un unico sito di legame con il peptide. I differenti peptidi si possono legare allo stesso sito ma solo uno alla volta
7. Il polimorfismo MHC è determinato nella linea germinale. Non ci sono meccanismi ricombinazionali per generare la diversità
8. Poiché ogni molecola MHC può legare molti differenti peptidi, il legame è definito "degenerato"
9. Le citochine incrementano il livello di espressione dell'MHC
10. I geni allelici MHC sono CODOMINANTI. Ogni prodotto genico è espresso sulla superficie cellulare delle cellule nucleate di un individuo

Perché' esiste questo alto grado di polimorfismo ?

Per la sopravvivenza della specie

A cosa serve il sistema HLA?

Il suo ruolo è importante:

- nella risposta immunitaria
- **nei trapianti d'organo**
- nella predisposizione a malattie genetiche

HLA e trapianti d'organo

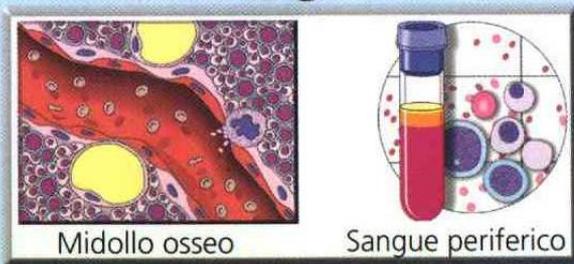
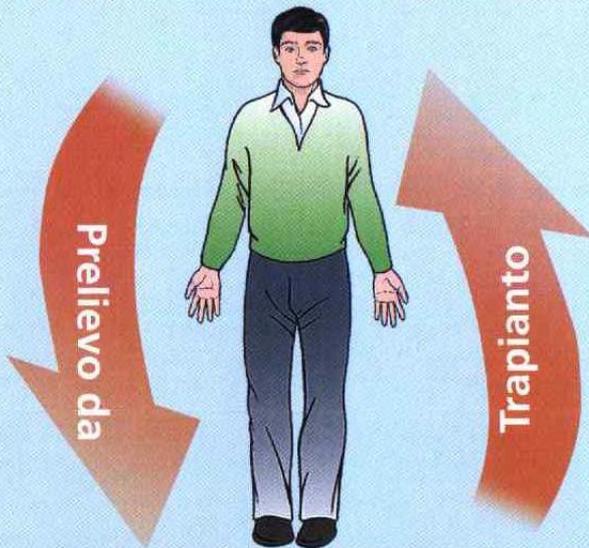
Per un trapianto di successo di un organo o di cellule staminali è necessario paragonare l'aplotipo MHC del donatore e del ricevente, che devono essere il più possibile simili.

Per trovare un buon “match” è necessario fare la tipizzazione tissutale dei linfociti.

Ogni cellula ha un doppio set di sei principali markers HLA, HLA-A, B e C e tre tipi di HLA-D.

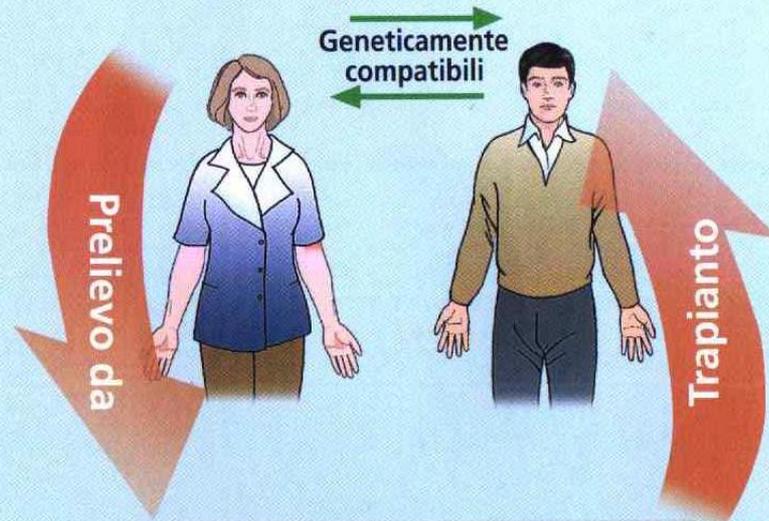
IL TRAPIANTO

TRAPIANTO AUTOLOGO



Il donatore è il paziente stesso

TRAPIANTO ALLOGENICO



Il donatore è diverso dal paziente

Controlli pre-trapianto

- **Gruppo sanguigno**
- **Tipizzazione tissutale HLA** (anticorpi anti MHC)
- **Tipizzazione genomica HLA** (tramite PCR)
- **Cross-match o incrocio reciproco**: incubazione in presenza di complemento dei linfociti del donatore col siero del ricevente, se ci sono anticorpi preformati contro le molecole MHC del donatore si ha la lisi di queste cellule

La compatibilità HLA influenza:

- Attecchimento /rigetto
- Reazione di rigetto dell'ospite (GVHD)
- Reazione di “rigetto” del donatore contro le cellule leucemiche del ricevente (GVL)

Graft versus Host Disease Acuta cutanea



FIGURE 2. These photographs show a patient with severe acute graft-versus-host disease of the skin.

A cosa serve il sistema HLA?

Il suo ruolo è importante:

- nella risposta immunitaria
- nei trapianti d'organo
- **nella predisposizione a malattie genetiche**

ASSOCIAZIONE HLA E MALATTIE

HLA class I associated disease	HLA	Relative Risk
Ankylosing spondylitis	B27	90
Reiter disease	B27	35
Psoriatic spondylitis	B27	12
Idiopathic hemochromatosis	A3	8
Psoriasis vulgaris	Cw6	13
Behçet disease	B51	16
HLA class II associated diseases	HLA	Relative risk
Rheumatoid arthritis	DR4	6
SLE	DRB1*1501	3
	DRB1*0301	3
Sjögren disease	DQB1*0201	12
IDDM	DR3	5
	DR4	6
	DR3/4	15
	DR2	0.2
Addison disease	DR3	6
Graves disease	DR3	3
Hashimoto disease	DQ7	5
Celiac disease	DR3	11
Pemphigus vulgaris	DR4	25
Hodgkin disease	DPw2	0.1
Multiple sclerosis	DRB1*1501	6
	DQB1*0602	6
Narcolepsy	DRB1*1501	29
Myasthenia gravis	DR3	7

HLA e malattie autoimmuni

Alcuni loci HLA sono associati con malattie autoimmuni:

- **Artrite reumatoide:** [HLA DR4](#) (RR=4). E' una poliartrite infiammatoria cronica, anchilosante e progressiva a patogenesi autoimmunitaria e ad eziologia sconosciuta, a carico delle articolazioni sinoviali.



- **Lupus eritematosus sistemico:** [HLA-DR2/DR3](#) (RR=5). E' una malattia cronica di natura autoimmune, che può colpire diversi organi e tessuti del corpo.

- **Spondilite anchilosante:** [HLA-B27](#) (RR=90). E' inserita nel gruppo delle Malattie Reumatiche Infiammatorie Croniche e Autoimmuni.



- **Celiachia:** [HLA DQ2 e DQ8](#). E' una malattia autoimmune dell'intestino tenue, che si verifica in individui di tutte le età, geneticamente predisposti.

HLA e malattie

L'associazione di un dato allele con la malattia si esprime in termini di **RISCHIO RELATIVO**

Il **RISCHIO RELATIVO** misura l'incremento di frequenza di presentazione di una malattia negli individui con un determinato allele rispetto a quelli senza l'allele stesso

In generale un **RISCHIO RELATIVO** maggiore di 1 indica l'associazione tra l'allele e la malattia.

Più alto è il rischio relativo maggiore è l'associazione

Alcune malattie autoimmuni sono più frequenti in individui con particolari alleli MHC.

Associations of HLA serotype with susceptibility to autoimmune disease			
Disease	HLA allele	Relative risk	Sex ratio (♀:♂)
Ankylosing spondylitis	B27	87.4	0.3
Acute anterior uveitis	B27	10	<0.5
Goodpasture's syndrome	DR2	15.9	~1
Multiple sclerosis	DR2	4.8	10
Graves' disease	DR3	3.7	4-5
Myasthenia gravis	DR3	2.5	~1
Systemic lupus erythematosus	DR3	5.8	10-20
Type I insulin-dependent diabetes mellitus	DR3/DR4 heterozygote	~25	~1
Rheumatoid arthritis	DR4	4.2	3
Pemphigus vulgaris	DR4	14.4	~1
Hashimoto's thyroiditis	DR5	3.2	4-5

Fig 13.3

HLA e malattie autoimmuni

Alcuni loci HLA sono associati con malattie autoimmuni:

- **Artrite reumatoide:** [HLA DR4](#) (RR=4). E' una poliartrite infiammatoria cronica, anchilosante e progressiva a patogenesi autoimmunitaria e ad eziologia sconosciuta, a carico delle articolazioni sinoviali.



- **Lupus eritematosus sistemico:** [HLA-DR2/DR3](#) (RR=5). E' una malattia cronica di natura autoimmune, che può colpire diversi organi e tessuti del corpo.

- **Spondilite anchilosante:** [HLA-B27](#) (RR=90). E' inserita nel gruppo delle Malattie Reumatiche Infiammatorie Croniche e Autoimmuni.



- **Celiachia:** [HLA DQ2 e DQ8](#). E' una malattia autoimmune dell'intestino tenue, che si verifica in individui di tutte le età, geneticamente predisposti.

Che cosa è la celiachia ?

- **Definizione 1**

La celiachia è un' intolleranza al glutine geneticamente determinata

- **Definizione 2**

La celiachia è una condizione **permanente** di danno intestinale indotto dall'ingestione, in soggetti **geneticamente predisposti**, di alcune proteine, definite **prolamine**, contenute nel grano, nell'orzo e nella segale

Concetto importante :

la celiachia è una condizione definitiva , che si cura ma da cui non si guarisce e pertanto

DURA PER TUTTA LA VITA

Frequenza della celiachia

- In passato fra $1/4000$ e $1/1000$ nati vivi
- Attualmente $1/100$ - $1/150$ nati vivi
- Recenti studi $1/100$ - $1/70$ nati vivi

Eziopatogenesi della celiachia

Intolleranza al glutine



alterazioni
immunologiche

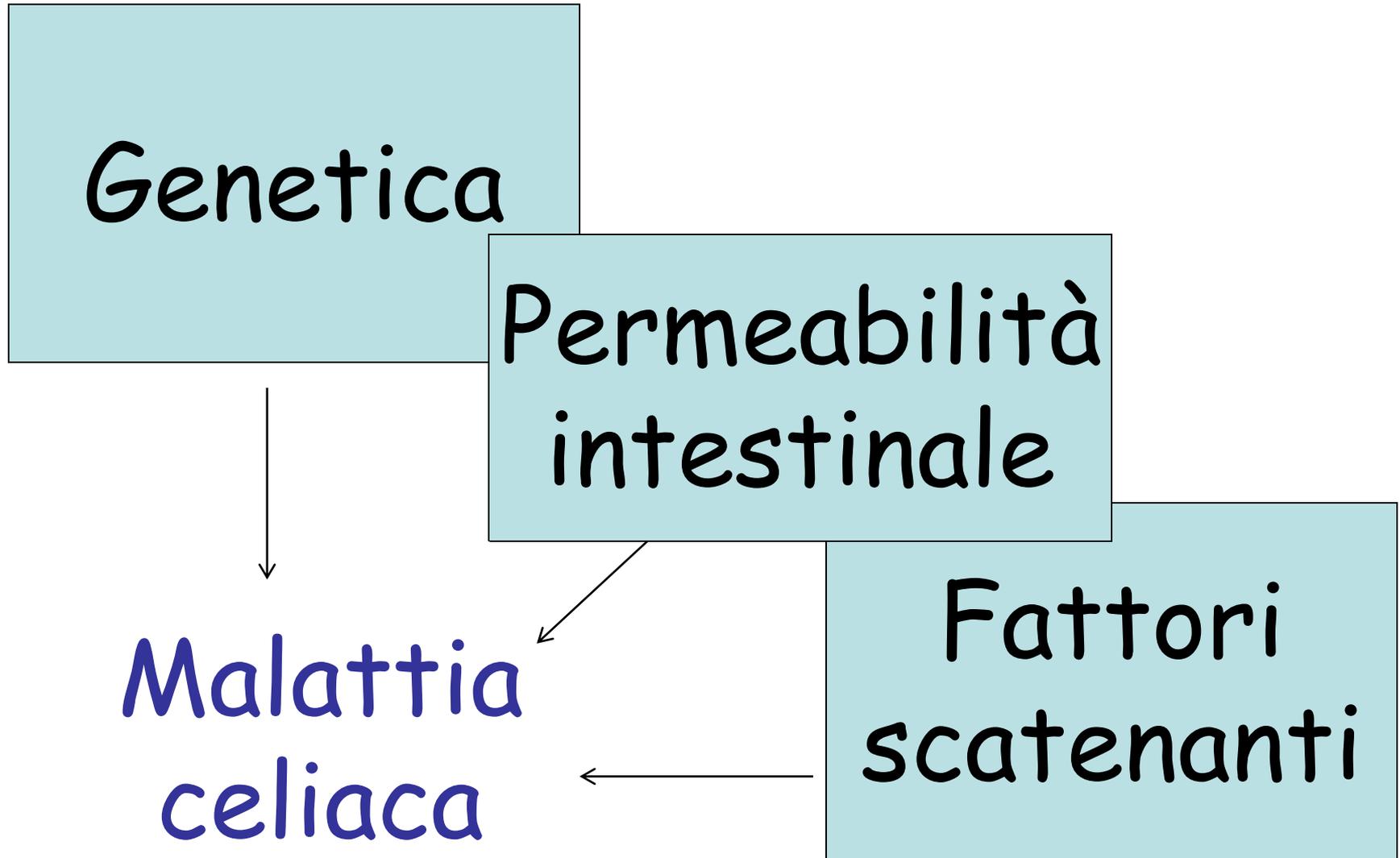
manifestazioni della
malattia



Il disturbo della tolleranza immunologica è specificamente limitato al glutine

E' un processo mediato dai T-Linfociti con produzione di anticorpi specifici (AGA, EMA, TTG)

Le cause della malattia celiaca:



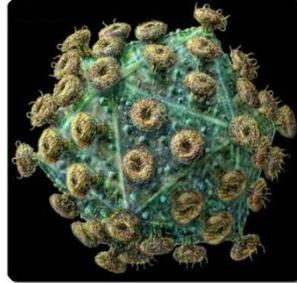
La genetica della celiachia

- Marcatore genetico della **predisposizione** alla celiachia è il sistema HLA
- I soggetti predisposti alla celiachia hanno un sistema HLA particolare
- Posseggono i geni denominati **DQ2** e/o **DQ8**
- A contatto con il glutine producono un auto-anticorpo (Transglutaminasi Tissutale)

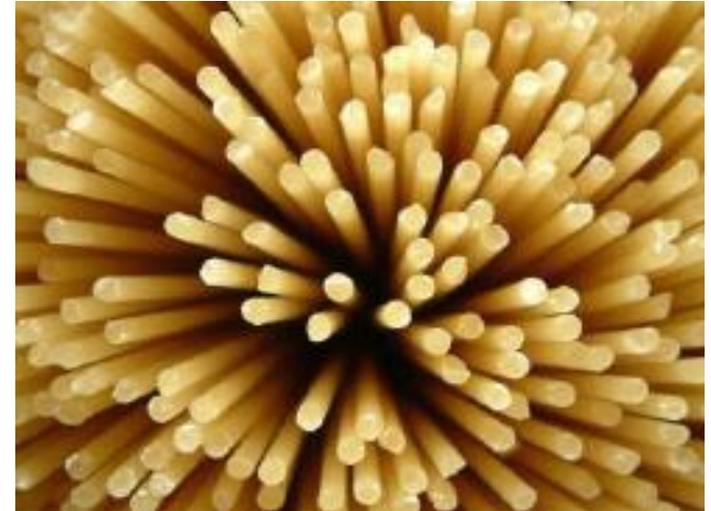
I fattori scatenanti

Sono numerosi e in parte ancora sconosciuti. Sicuro ruolo di :

- Infezioni



- Quantità di glutine nella dieta
- Qualità del glutine della dieta
 - Tipo di dieta



- Alimentazione prima infanzia

Spettro celiachia

Forma classica: Prevalente o esclusiva sintomatologia intestinale. Esordio nei primi due anni di vita

Forma atipica: Prevalenza di sintomi extraintestinali
mancanza di diarrea

Forma silente: Presenza di lesioni della mucosa intestinale tipiche della malattia in assenza di sintomatologia clinica. Dimostrata dallo screening dei familiari di pazienti celiaci di primo grado asintomatici

Forma latente: Malattia presente ma non ancora manifesta

DIAGNOSI

- Ricerca di anticorpi specifici:
 - Anticorpi anti-endomisio (EMA)
 - Anticorpo anti-transglutaminasi tissutale 2 (anti-TG2)
 - Anticorpi anti-peptidi della gliadina deamidati (anti-DGP).

- Tipizzazione HLA- DQ2 e HLA- DQ8
 - la negatività esclude la presenza di celiachia
 - la positività conferma la diagnosi nel 98% dei celiaci

- Biopsia enterica



Mucosa normale



Mucosa celiaca

L'eliminazione del glutine:

- rapida risoluzione dei sintomi clinici
- normalizzazione della mucosa intestinale

Cereali che contengono glutine

- Frumento
- Orzo
- Segale
- Farro
- Triticale

Cereali che non contengono glutine

- Riso
- Granturco/Mais
- Soia

Terapia

L'eliminazione del glutine

```
graph TD; A[L'eliminazione del glutine] --> B[rapida risoluzione dei sintomi clinici]; A --> C[normalizzazione della mucosa intestinale];
```

rapida risoluzione
dei sintomi clinici

normalizzazione della
mucosa intestinale

La dieta priva di glutine deve essere
proseguita **per tutta la vita**