

por uma protease multicatalítica, o proteossoma. Os peptídeos produzidos pelos proteossomas são transportados para o retículo endoplasmático por uma proteína heterodimérica ligadora de ATP chamada TAP e se tornam, então, disponíveis para a ligação com moléculas do MHC de classe I parcialmente pregueadas, mantidas ligadas à TAP. A ligação ao peptídeo é parte integral do acabamento da molécula do MHC I e precisa ocorrer antes que a molécula complete seu dobramento e deixe o retículo endoplasmático em direção à superfície celular. O proteossoma degrada proteínas normais citosólicas, permitindo a detecção e a eliminação de patógenos citosólicos, como vírus, por células T CD8 especializadas em matar quaisquer células apresentando peptídeos estranhos. O proteossoma também pode degradar proteínas que foram transportadas para o citosol do sistema vesicular, por transporte retrógrado. Isso pode ocorrer, por exemplo, quando uma célula dendrítica engolfa células mortas por um vírus. O transporte de antígenos virais exógenos para o citosol permite que células dendríticas não-infectadas processem e apresentem esses antígenos a células T CD8 virgens no fenômeno da apresentação cruzada, que é importante para a geração de respostas imunes eficazes.

Ao contrário da colocação de peptídeos nas moléculas do MHC de classe I, as moléculas do MHC de classe II não adquirem peptídeos no retículo endoplasmático, porque se associam precocemente à cadeia invariável (Ii), a qual se liga e bloqueia o sulco de ligação do peptídeo. Elas são direcionadas, pela Ii, para um compartimento endossômico acidificado onde, na presença de proteases ativas, principalmente as catepsinas S, e com o auxílio de HLA-DM, uma molécula especializada semelhante à molécula MHC de classe II que catalisa o carregamento do peptídeo, a Ii é liberada e outros peptídeos se ligam. Dessa forma, as moléculas do MHC de classe II ligam peptídeos derivados de proteínas degradadas nos endossomas. Ali elas capturam peptídeos de patógenos que entraram no sistema vesicular de macrófagos ou peptídeos de antígenos específicos internalizados por células dendríticas imaturas ou por receptores de imunoglobulinas de células B. O processo de autofagia pode direcionar peptídeos citosólicos para o sistema vesicular para apresentação pelo MHC classe II. As células T CD4 que reconhecem o complexo peptídeo:MHC de classe II possuem uma variedade de funções efetoras especializadas. Algumas subpopulações ativam os macrófagos para matar os patógenos intravesiculares que eles abrigam, ajudam as células B, para secretarem imunoglobulinas contra moléculas estranhas e regulam respostas imunes.

O complexo de histocompatibilidade principal e suas funções

A função das moléculas do MHC é ligar fragmentos peptídicos derivados de patógenos, exibindo tais fragmentos na superfície celular, para reconhecimento pelas células T adequadas. As consequências dessa apresentação são quase sempre deletérias ao patógeno – as células infectadas por vírus são mortas, os macrófagos são ativados para destruírem bactérias em vesículas intracelulares e as células B são ativadas para produzir moléculas de anticorpos capazes de eliminar ou neutralizar patógenos extracelulares. Assim, há uma forte pressão seletiva em favor de qualquer patógeno que tenha mutado de tal modo a escapar da apresentação por uma molécula do MHC.

Duas propriedades distintas do MHC dificultam a evasão do sistema imune pelos patógenos. Primeiro, o MHC é **poligênico** – existem vários genes diferentes de MHC de classes I e II, de modo que cada indivíduo possui um grupo de moléculas do MHC com diferentes variações de especificidades. Segundo, o MHC é altamente **polimórfico**, isto é, há múltiplas variantes alélicas de cada gene na população como um todo. Os genes MHC são, de fato, os mais polimórficos entre os genes conhecidos. Nesta seção, descreveremos a organização dos genes MHC e discutiremos como surge a variação nas suas moléculas. Veremos também de que

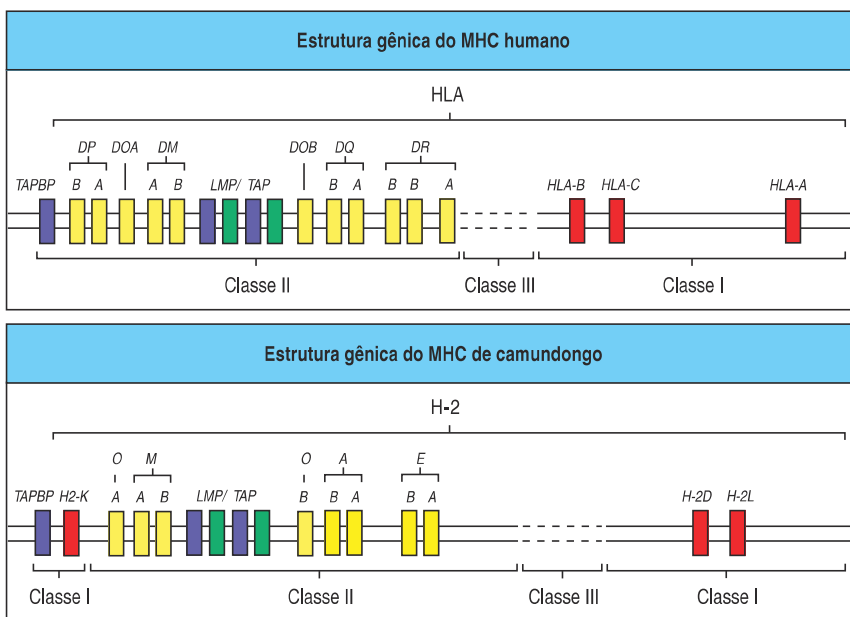
modo o efeito dessa poligenia e desse polimorfismo sobre a gama de peptídeos contribui para a capacidade do sistema imune em responder a uma grande diversidade de agentes patogênicos de rápida evolução.

5-11 Muitas proteínas envolvidas no processamento e na apresentação de antígenos são codificadas por genes localizados no complexo de histocompatibilidade principal

O complexo de histocompatibilidade principal se localiza no cromossoma 6, no homem, e no cromossoma 17, nos camundongos, estendendo-se ao longo de 4×10^6 pares de bases. No homem, contém mais de 200 genes. À medida que trabalhos seguem definindo os genes dentro e ao redor do MHC, torna-se difícil estabelecer limites precisos para esse locus, que agora, acredita-se estender-se por, pelo menos, 7×10^6 pares de bases. Os genes que codificam as cadeias α das moléculas do MHC de classe I e as cadeias α e β das moléculas do MHC de classe II se situam dentro do complexo; os genes para a β_2 -microglobulina e a cadeia invariável encontram-se em diferentes cromossomas (cromossomas 15 e 5, no homem, e cromossomas 2 e 18, em camundongos, respectivamente). A Figura 5.12 mostra a organização geral dos genes do MHC de classes I e II no homem e em camundongos. No homem, esses genes são chamados de **human leukocyte antigen**, ou genes **HLA**, pela sua descoberta ter ocorrido primeiramente por meio de diferenças entre leucócitos de diferentes indivíduos; em camundongos, eles são conhecidos como genes **H-2**. Os genes murinos de MHC classe II foram de fato primeiramente identificados como os genes que controlavam se uma resposta imune era feita a um dado antígeno e foram originalmente chamados de **genes Ir (resposta imune)**. Devido a isso, os genes murinos de MHC classe II *A* e *E* são frequentemente referidos como *I-A* e *I-E*, mas essa terminologia não deve ser confundida com os genes de MHC classe I.

No homem, há três genes de cadeia α de classe I, chamados de *HLA-A*, *-B* e *-C*. Existem também três pares de genes de cadeias α e β do MHC de classe II, chamados de *HLA-DR*, *-DP* e *-DQ*. Em muitas pessoas, no entanto, o conjunto *HLA-DR* contém um gene extra de cadeia β , cujo produto pode parear com a cadeia *DR α* . Isso significa que os três grupos de genes dão origem a quatro tipos de moléculas do MHC de classe II. Todas as moléculas do MHC de classes I e II são capazes de apresentar antígenos aos linfócitos T, mas cada proteína se liga a uma gama

Figura 5.12 A organização gênica do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) em humanos e camundongos. A organização dos genes MHC principais é mostrada em humanos (nos quais o MHC é chamado de HLA e está no cromossoma 6) e em camundongos (em que o MHC é chamado H-2 e está no cromossoma 17). A organização dos genes MHC é similar nas duas espécies. Existem agrupamentos separados de genes MHC de classe I (vermelhos) e MHC de classe II (amarelos), apesar de que, no camundongo, os genes MHC de classe I (*H-2K*) parecem ter-se translocado em comparação aos do MHC humano, de modo que a região de classe I nos camundongos é dividida em duas regiões. Em ambas as espécies, existem três genes principais do MHC de classe I, chamados de *HLA-A*, *HLA-B* e *HLA-C*, em humanos, e *H-2K*, *H-2D* e *H-2L*, nos camundongos. O gene da β_2 -microglobulina, apesar de codificar parte da molécula do MHC de classe I, está localizado em um cromossoma diferente, cromossoma 15, em humanos, e cromossoma 2, no camundongo. A região de classe II inclui os genes para cadeias α e β das moléculas apresentadoras de antígeno MHC de classe II *HLA-DR*, *DP* e *DQ* (*H-2A* e *E* no camundongo). Além disso, os genes para o transportador de peptídeos *TAP1:TAP2*, os genes *LMP* que codificam para as subunidades do proteossoma, os genes que codificam para as cadeias (*DMA* e *DMB*), os genes que codificam para as cadeias α e β da molécula *DO* (*DOA* e *DOB*, respectivamente) e o gene codificador da tapasina (*TAPBP*) também se encontram na região do MHC de classe II. Os genes conhecidos como MHC de classe III codificam várias outras proteínas com função na imunidade (ver Figura 5.13).



de diferentes peptídeos (Seções 3-14 e 3-15). Assim, a presença de vários genes diferentes de cada classe do MHC significa que o indivíduo está equipado para apresentar uma gama muito maior de diferentes peptídeos do que se apenas uma molécula do MHC de cada classe fosse expressa na superfície celular.

A Figura 5-13 mostra um mapa mais detalhado do lócus do MHC humano. Uma inspeção desse mapa mostra que muitos genes dentro desse lócus participam no processamento de antígenos, ou possuem outras funções relacionadas à resposta imune inata ou adaptativa. Os dois genes *TAP* estão localizados na região do MHC de classe II, em estreita associação aos genes *LMP*, e o gene para a tapasina (*TAPBP*), a qual se liga à *TAP* e a uma molécula MHC de classe I vazia, situa-se em uma região mais externa ao MHC, próxima ao centrômero (ver Figura 5.13). A ligação gênica das moléculas do MHC de classe I (cujos produtos liberam peptídeos citosólicos para a superfície celular) com o gene *TAP*, da tapasina, e os genes do proteossoma (os quais codificam as moléculas geradoras desses peptídeos no citosol e as transportam para o retículo endoplasmático) sugere que todo o MHC foi selecionado durante a evolução, visando ao processamento e à apresentação do antígeno.

Quando as células são tratadas com interferon- α , β ou γ , há um aumento marcante da transcrição de cadeias α do MHC de classe I, da β_2 -microglobulina e do

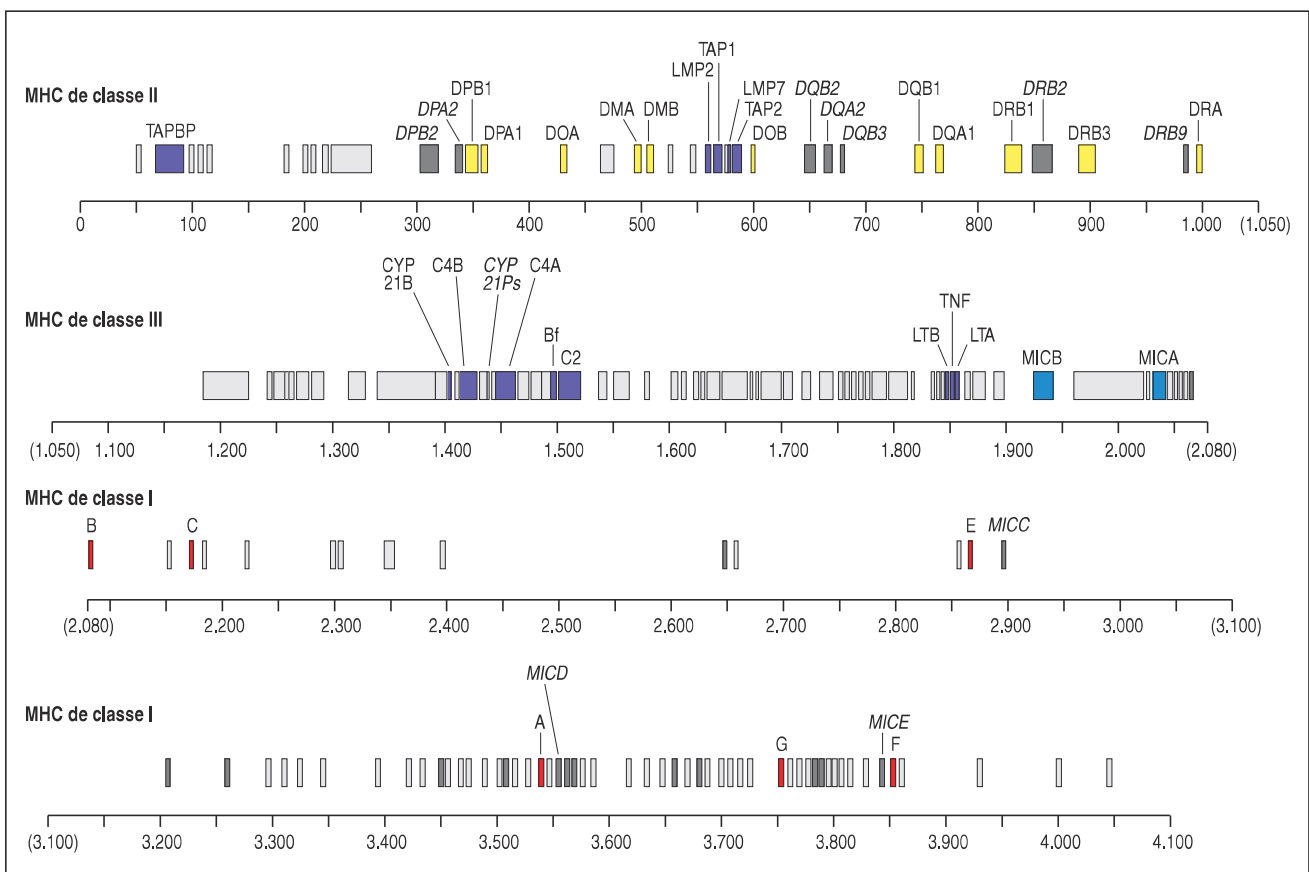


Figura 5.13 Mapa detalhado do MHC humano. A organização das regiões das classes I, II e III do MHC humano, com as distâncias expressas em milhares de pares de bases (kpb). A maioria das regiões de classes I e II é mencionada no texto. As regiões gênicas adicionais indicadas na região de classe I (p. ex., E, F e G) são genes semelhantes aos de classe I, codificando as moléculas de classe IB; os demais genes de classe II são pseudogenes. Os genes mostrados na região de classe II codificam as proteínas de complemento C4 (dois genes C4A e C4B), C2 e fator B (mostrado como Bf), bem como os genes que codificam as citocinas fator

de necrose tumoral α (TNF- α) e linfotóxina (LTA, LTB). Perto dos genes C4 está a enzima 21-hidrolase (CYP21 B), envolvida na síntese de esteroides. Os genes mostrados em cinza com nomes em itálico são pseudogenes. Os genes estão codificados em cores, como os genes MHC de classe I (vermelho) e MIC (azul); estes são distintos de outros genes semelhantes aos do MHC de classe I e estão sob controles transcricionais diferentes. Os genes MHC de classe II são mostrados em amarelo. Os genes da região do MHC que possuem funções imunes, mas não são relacionados aos genes de classes I e II, são mostrados em roxo.

proteossoma, da tapasina e dos genes *TAP*. Os interferons são precocemente produzidos nas infecções virais, como parte da resposta imune inata, como descrito detalhadamente no Capítulo 2, e esse efeito aumenta a capacidade das células de processarem as proteínas virais e apresentarem os peptídeos resultantes na superfície celular. Isso auxilia na ativação das células T e na iniciação da resposta imune adaptativa ao vírus. A regulação coordenada dos genes que codificam esses componentes pode ser facilitada pela ligação de muitos deles no MHC.

Os genes *HLA-DM*, que codificam as moléculas DM e cuja função é catalisar a união de peptídeos às moléculas do MHC de classe II (Seção 5-9), estão claramente relacionados aos genes MHC de classe II. Os genes *DOA* e *DOB*, que codificam as subunidades $DO\alpha$ e $DO\beta$ da molécula DO, uma reguladora negativa de DM, estão também relacionados com os genes MHC de classe II. Os genes clássicos de MHC classe II, junto com o gene da cadeia invariável e os genes codificando $DM\alpha$, $DM\beta$ e $DO\alpha$, mas não o $DO\beta$, são regulados coordenadamente. A regulação distinta dos genes MHC de classe II pelo $IFN-\gamma$, produzido pelas células T ativadas da subpopulação T_H1 , bem como pelas células T CD8 e NK, permite que as células T que estão respondendo às infecções bacterianas aumentem a expressão das moléculas envolvidas no processamento e na apresentação de antígenos intravesiculares. A expressão de todas essas moléculas é induzida pelo $IFN-\gamma$ (mas não pelos interferons α ou β), por meio da produção de um **transativador do MHC de classe II** (*MHC class II transactivator = CIITA*). A ausência de CIITA causa um tipo de imunodeficiência severa, devido à não-expressão de moléculas do MHC de classe II. Finalmente, o locus MHC contém muitos dos chamados genes de MHC “não-clássicos”, que parecem com genes de MHC de classe I em estrutura. Retornaremos a esses genes, frequentemente chamados de genes classe Ib, na Seção 5-18, após completarmos nossa discussão sobre genes MHC clássicos.

5-12 Os produtos proteicos dos genes MHC de classes I e II são altamente polimórficos

Devido à poligenia do MHC, cada indivíduo irá expressar pelo menos três diferentes moléculas do MHC de classe I e três (ou algumas vezes quatro) diferentes moléculas do MHC de classe II nas suas células (Seção 5-11). Na verdade, o número de diferentes moléculas do MHC expressas nas células da maioria dos indivíduos é maior, devido ao extremo polimorfismo do MHC e da expressão codominante dos seus produtos gênicos.

O termo polimorfismo vem do grego *poly*, significando muitos, e *morpho*, significando forma ou estrutura. Como está sendo usado aqui, significa variação em um

Figura 5.14 Os genes MHC humano são altamente polimórficos. Com a notável exceção do locus $DR\alpha$, que é monomórfico, cada locus possui muitos alelos. O número dos diferentes alelos é apresentado nesta figura pela altura das barras. Os números representam a quantidade de alelos que é atualmente registrada pelo Comitê da OMS para Fatores do Sistema do HLA (Janeiro de 2006).

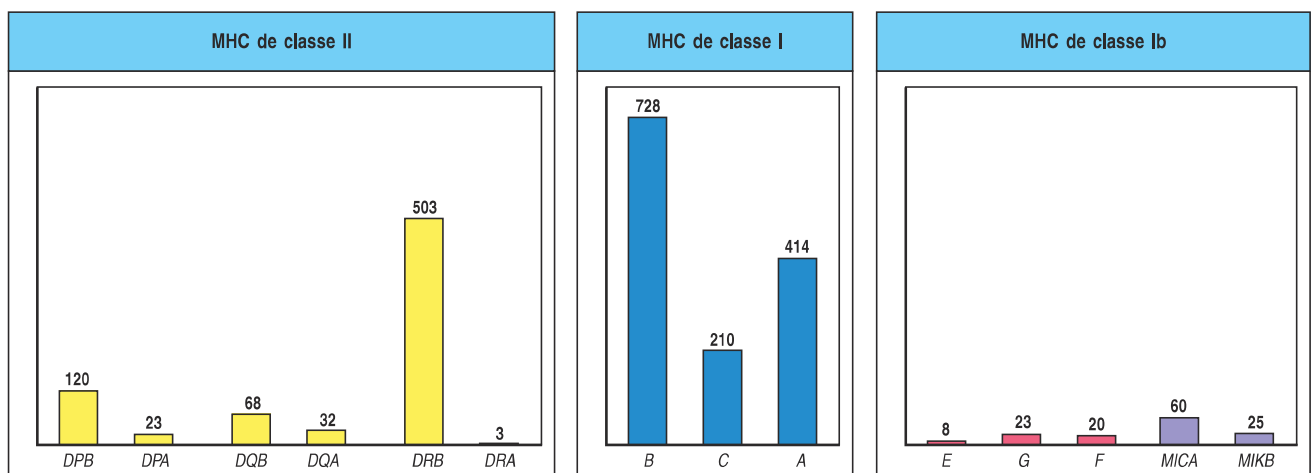


Figura 5.15 A expressão dos alelos do MHC é codominante. O MHC é tão polimórfico que a maioria dos indivíduos é heterozigota para cada locus. Os alelos são expressos por ambos os haplótipos do MHC em um indivíduo, e os produtos de todos os alelos são encontrados em todas as células. Em qualquer cruzamento, quatro combinações possíveis de haplótipos podem ser encontradas nos descendentes. Assim, irmãos normalmente diferem nos alelos do MHC que expressam, havendo uma chance em quatro de que um indivíduo partilhe ambos os haplótipos com um irmão. Uma consequência disso é a dificuldade de encontrar um doador compatível para transplante de tecidos.

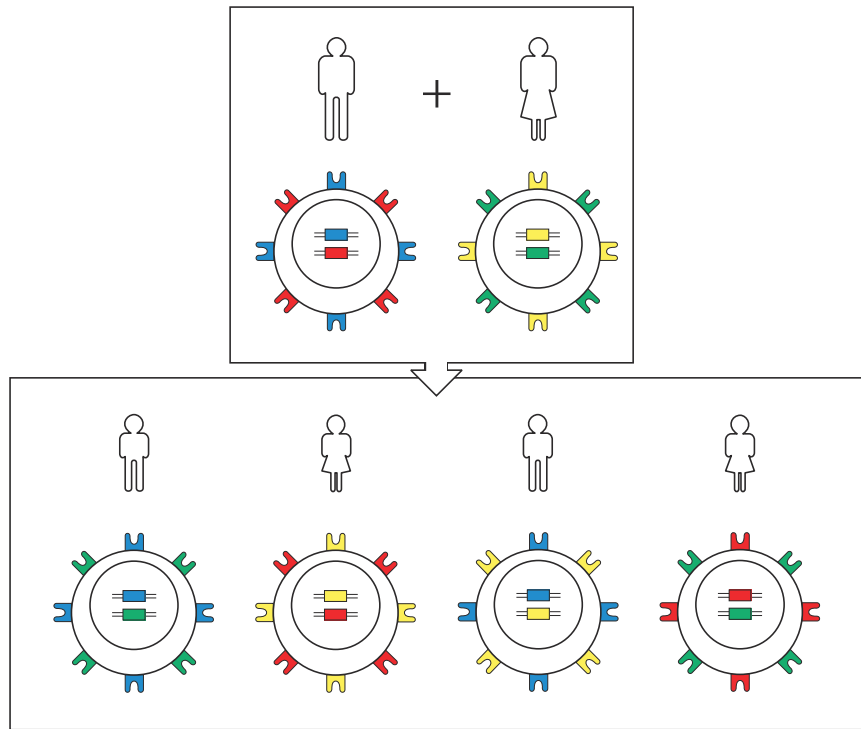
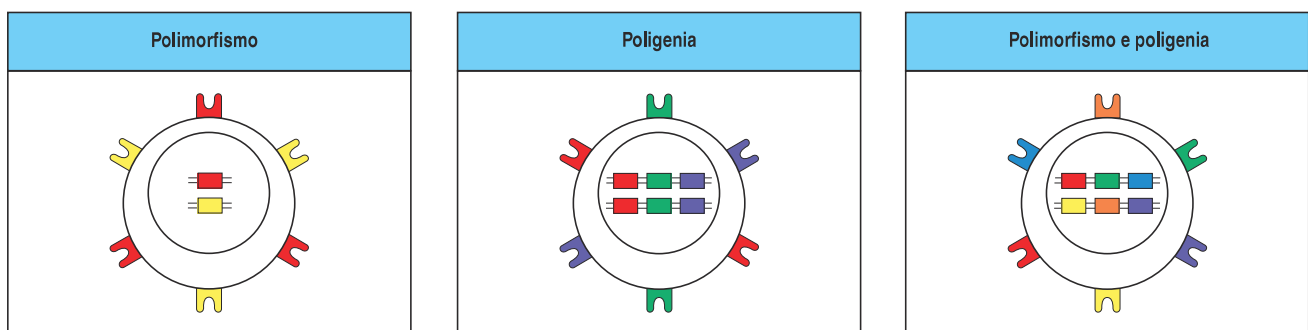


Figura 5.16 O polimorfismo e a poligenia contribuem para a diversidade das moléculas do MHC expressas por um indivíduo. O elevado polimorfismo dos loci do MHC assegura uma diversidade na expressão dos genes MHC na população como um todo. Contudo, não importa quão polimorfos sejam os genes, nenhum indivíduo pode expressar mais do que dois alelos do mesmo gene. A poligenia, ou presença de vários genes relacionados com funções semelhantes, assegura que cada indivíduo produza um número diferente de moléculas do MHC. O polimorfismo e a poligenia são combinados para produzir a diversidade de moléculas do MHC observadas tanto nos indivíduos como na população em geral.

único locus gênico e seu produto proteico em uma espécie. As variantes gênicas que ocupam um locus são chamadas de alelos. Há mais de 400 alelos em alguns *loci* dos genes MHC de classe I e II (Figura 5.14), cada alelo estando presente em uma frequência relativamente alta na população. Por essas razões, a chance de que um mesmo locus do MHC em ambos os cromossomas de um indivíduo codifique o mesmo alelo é pequena. A maioria dos indivíduos será **heterozigota** nesses *loci* do MHC. Uma determinada combinação dos alelos do MHC em um único cromossoma é conhecida como **haplótipo do MHC**. A expressão dos alelos do MHC é codominante, com o produto proteico de ambos os alelos expressos na mesma célula, e os dois produtos gênicos capazes de apresentar antígenos às células T (Figura 5.15). O extenso polimorfismo em cada locus tem o potencial de dobrar o número de diferentes moléculas do MHC expressas por um indivíduo, aumentando, assim, a diversidade já disponível pela poligenia (Figura 5.16).

Dessa maneira, com três genes MHC de classe I e quatro conjuntos potenciais de genes MHC de classe II em cada cromossoma 6, o organismo humano expressará tipicamente seis diferentes moléculas do MHC de classe I e oito diferentes moléculas do MHC de classe II em suas células. Para os genes MHC de classe II, o número de diferentes produtos pode aumentar ainda mais pela combinação das



cadeias α e β codificadas por diferentes cromossomas (de modo que duas cadeias α e duas cadeias β podem dar origem a quatro proteínas diferentes, por exemplo). Em camundongos, foi demonstrado que nem todas as combinações de cadeias α e β podem formar dímeros estáveis, e, portanto, na prática, o número exato de diferentes moléculas do MHC de classe II expressas dependerá dos alelos presentes em cada cromossoma.

Todas as proteínas do MHC de classes I e II são polimórficas, em maior ou menor grau, com exceção da cadeia DR α e de seu homólogo, no camundongo, E α . Essas cadeias não variam quanto a sua sequência entre diferentes indivíduos e são ditas **monomórficas**. O fato pode indicar uma restrição funcional que previne variações nas proteínas DR α e E α , embora essa função especial não tenha sido encontrada. Muitos camundongos, tanto domésticos como selvagens, apresentam uma mutação no gene E α que impede a síntese da proteína E α e, como resultado, não expressam as moléculas H-2E na superfície celular. Assim, se as moléculas H2-E tiverem uma função especial, é pouco provável que seja essencial.

Evidências sugerem que o MHC surgiu depois da divergência evolutiva dos ágnatas (vertebrados sem mandíbulas) por múltiplas duplicações gênicas de um gene desconhecido ancestral que gerou os genes de classe I e II, que sofreram posterior divergência genética. Os polimorfismos de genes de MHC individuais parecem ter sido fortemente selecionados por pressões evolutivas. Vários mecanismos genéticos contribuem para a geração de novos alelos. Alguns desses novos alelos surgem por mutações de ponto, e outros, por **conversão gênica**, um processo no qual uma sequência em um gene é substituída, em parte, por sequências de um gene diferente (Figura 5.17).

Os efeitos da pressão seletiva em favor do polimorfismo podem ser vistos claramente no padrão de mutações de ponto nos genes MHC. Mutações de ponto podem ser classificadas como alterações de substituição, que modificam um aminoácido, ou alterações silenciosas, que simplesmente mudam o códon, mas não alteram o aminoácido. Alterações de substituição ocorrem dentro do MHC em uma frequência mais alta em relação às substituições silenciosas do que se esperaria, fornecendo evidência de que o polimorfismo foi selecionado ativamente para a evolução do MHC. As próximas seções descrevem como os polimorfismos do MHC beneficiam a resposta imune e como a seleção direcionada pelo patógeno pode ser responsável pelo grande número de alelos de MHC.

5-13 O polimorfismo do MHC afeta o reconhecimento do antígeno pelas células T, influenciando a ligação peptídica e os contatos entre o receptor da célula T e a molécula do MHC

Os produtos dos alelos do MHC individuais podem diferir uns dos outros em até 20 aminoácidos, tornando cada variante proteica completamente distinta. A maioria dessas diferenças está localizada nas superfícies expostas do domínio extracelular mais distante da membrana e no sulco de ligação peptídica em particular (Figura 5.18). Vimos que os peptídeos se ligam a moléculas do MHC de classe I por resíduos de ancoramento específicos (Seção 3-14 e 3-15). Muitos dos polimorfismos nas moléculas do MHC de classe I afetam os aminoácidos que revestem essas bolsas e, conseqüentemente, sua especificidade de ligação. Por isso, os resíduos de ancoramento dos peptídeos que se ligam a cada variante alélica são diferentes. O conjunto de resíduos de ancoramento que permite a ligação a uma dada molécula do MHC de classe I recebe a denominação **sequência motivo**, e isso pode ser usado para prever a sequência de peptídeos dentro de uma proteína que potencialmente é capaz de ligar-se àquele alelo (Figura 5.19). Essas previsões podem ser muito importantes no projeto de novas vacinas.

Em casos raros, o processamento de uma proteína não produzirá peptídeos com motivos adequados para ligar-se a qualquer molécula do MHC expressa nas cé-

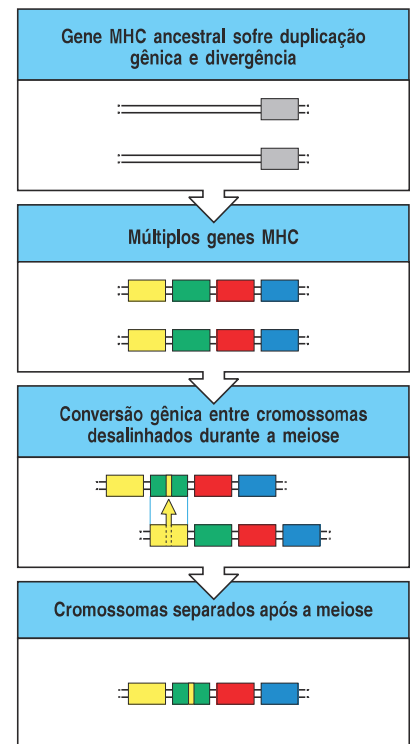


Figura 5.17 A conversão gênica pode criar alelos novos ao copiar sequências de um gene MHC para outro. Sequências podem ser transferidas de um gene para outro gene similar, mas diferente, por um processo conhecido como conversão gênica. Para que isso aconteça, os dois genes devem estar próximos durante a meiose. Isso pode ocorrer como consequência do desalinhamento de dois cromossomas homólogos pareados quando há muitas cópias de genes similares arranjadas em tandem (algo como abotoar na casa errada). Durante o processo de *crossing-over* e recombinação do DNA, uma sequência de DNA de um cromossoma é, às vezes, copiada para o outro, substituindo a sequência original. Dessa forma, várias mudanças nucleotídicas podem ser inseridas de uma só vez em um gene, causando mudanças de aminoácidos simultâneas entre a nova sequência gênica e a sequência original. Devido à similaridade entre os genes MHC e a sua ligação íntima, a conversão gênica ocorreu várias vezes na evolução dos alelos do MHC.