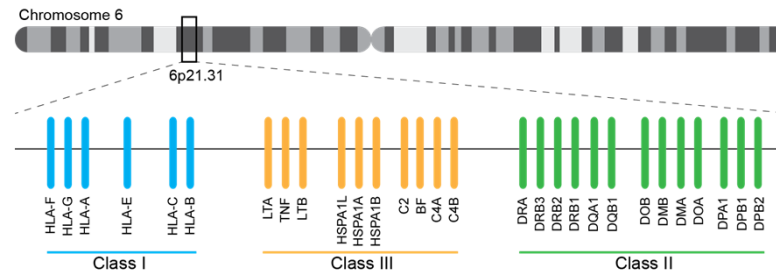


Il Complesso Maggiore di Istocompatibilità (MHC) (Major Histocompatibility Complex)

Human Leukocyte Antigens (HLA)



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

Di cosa parleremo

- scoperta dei geni HLA
- struttura dei geni e molecole HLA
- polimorfismo di molecole HLA
- ruolo di MHC (HLA) e Immunità adattativa
- ruolo dell'HLA nei trapianti
- HLA e predisposizione a malattie genetiche

SCOPERTA DEI GENI MHC-HLA

MHC- Complesso genico identificato a metà degli anni '30 nei topi (sul cromosoma 17) da George Snell perché era coinvolto nell'attecchimento dei trapianti di cute e d'organo.

HLA- 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.

Human Leukocyte Antigens (HLA)

Il sistema **HLA** (Human Leukocyte Antigens) è un insieme di geni che si trova sul braccio corto del cromosoma 6 e forma una regione conosciuta come Complesso Maggiore di Istocompatibilità (Major Histocompatibility Complex, **MHC**).

Questi geni codificano per antigeni di superficie cellulare che servono per il riconoscimento di peptidi estranei.

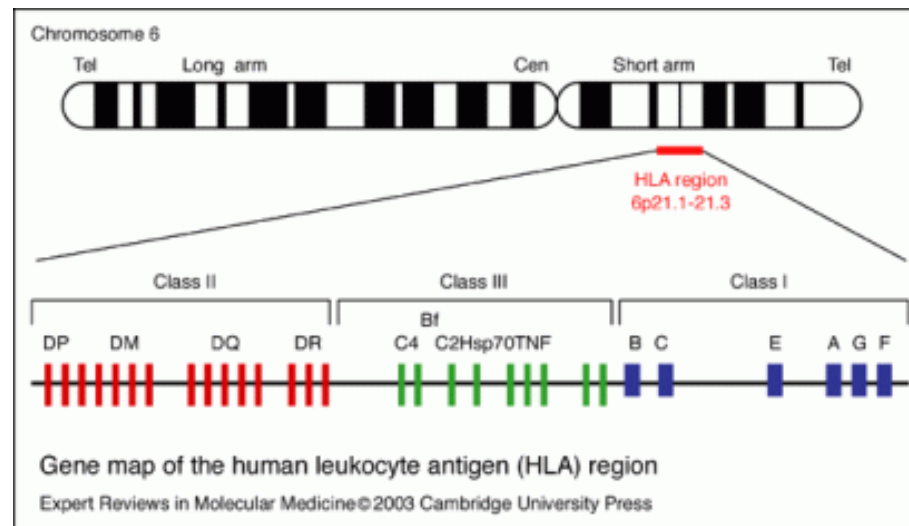
HLA : CONCETTI di base

E' un complesso di MOLTI geni localizzato sul cromosoma 6 nell'uomo

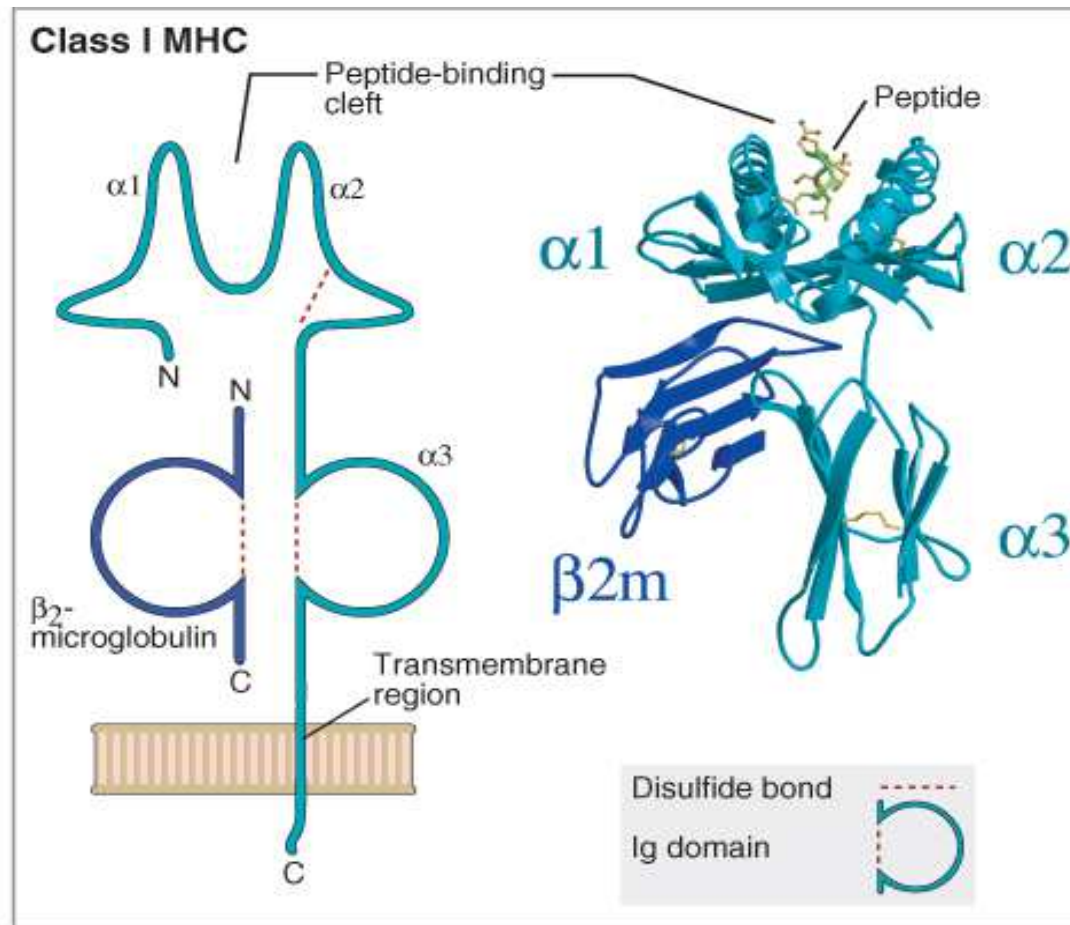
HLA comprende più di 200 geni codificanti

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 proteine del complemento)**



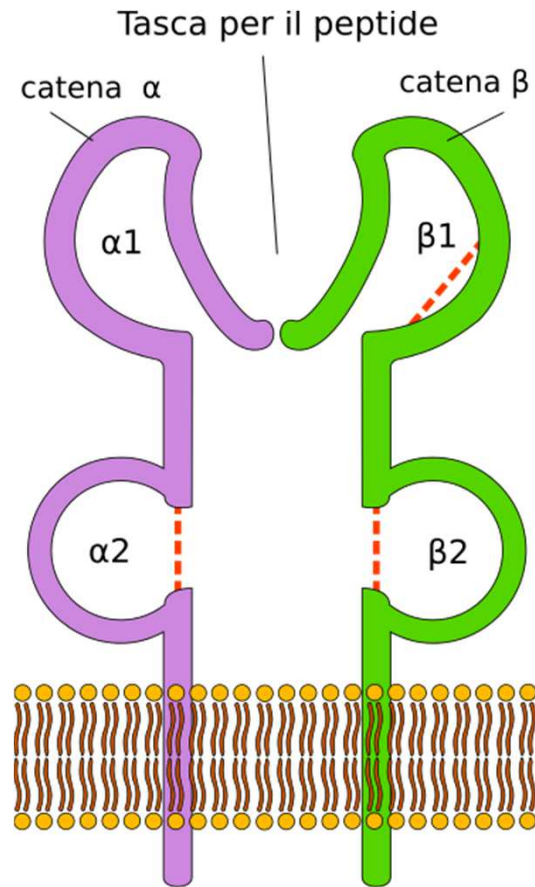
STRUTTURA DELLE MOLECOLE HLA DI CLASSE I



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

Le molecole di classe I sono composte da una catena α polimorfica (suddivisa in 3 domini: $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$) legata in maniera non covalente alla catena β_2 -microglobulina (β_2 m) che ne stabilizza la struttura.

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 , ognuna suddivisa in 2 domini ($\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\beta 1$ $\beta 2$).

Dove sono espresse le molecole HLA

- **Geni HLA di classe I** codificano per proteine che sono espresse 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.
- **Geni HLA di classe II** codificano per proteine che sono espresse da cellule specializzate: **monociti e macrofagi, cellule dendritiche, linfociti B e alcuni tipi di cellule T**.
- **I globuli rossi non esprimono nessuna molecola HLA poiché cellule senza nucleo.**

Qual è la loro funzione ?

I geni HLA-MHC codificano proteine di superficie che sono espresse sulle cellule nucleate di tutti i tessuti e sono coinvolte nella discriminazione fra self e non self e nel riconoscimento di peptidi estranei.

Il ruolo principale delle molecole HLA è di iniziare una risposta immunitaria presentando i peptidi antigenici estranei sulla superficie delle cellule, che devono essere riconosciuti dal recettore dei linfociti T (TCR).

Risposta immunitaria ad agenti estranei

HLA Classe I e VIRUS

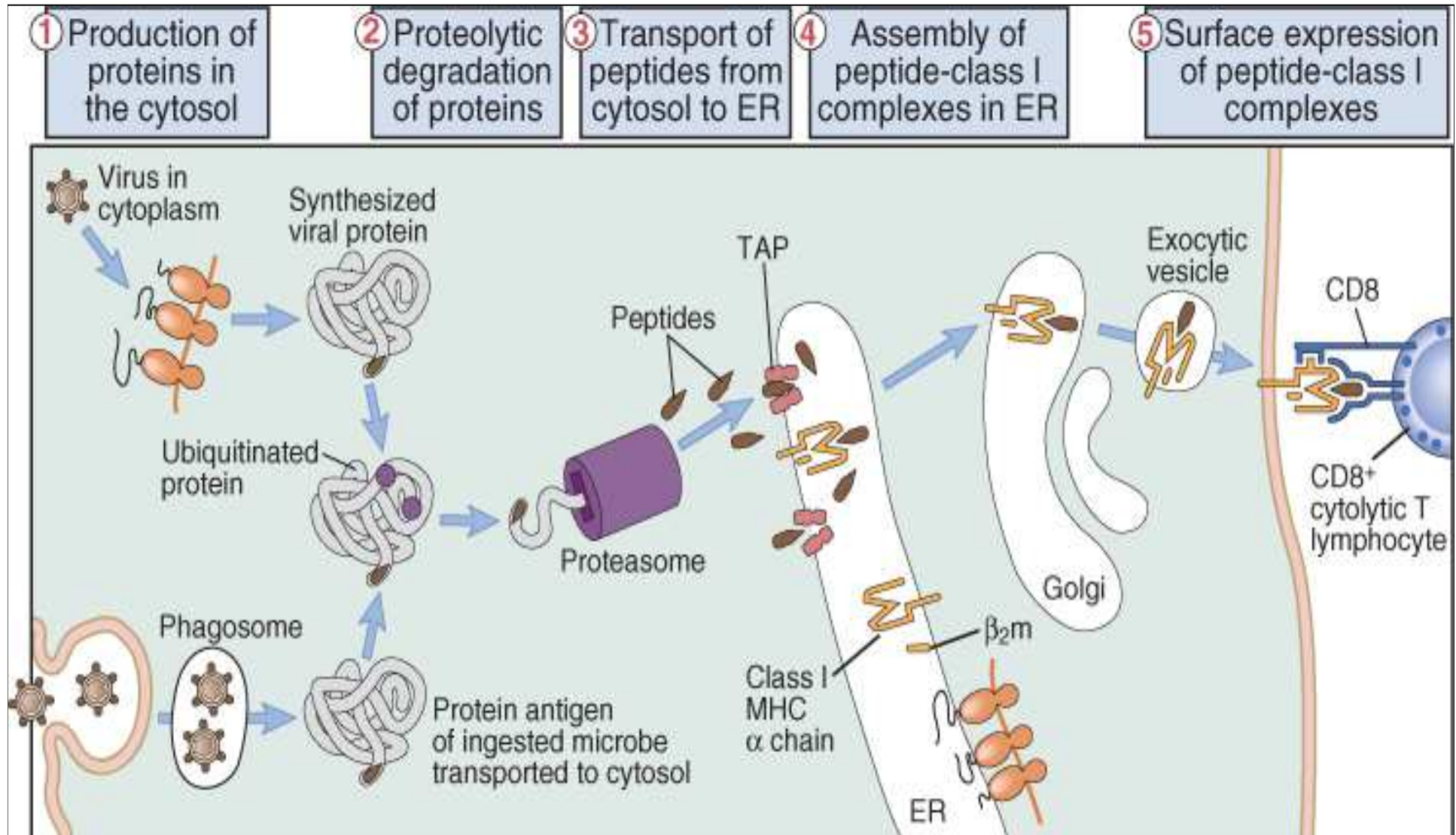
Un virus entra nel corpo umano attraverso una ferita: il virus infetta le cellule, cioè penetra all'interno delle cellule ed inizia a produrre le sue proteine (antigeni virali)

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'HLA DI CLASSE I



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'inflammatione 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.

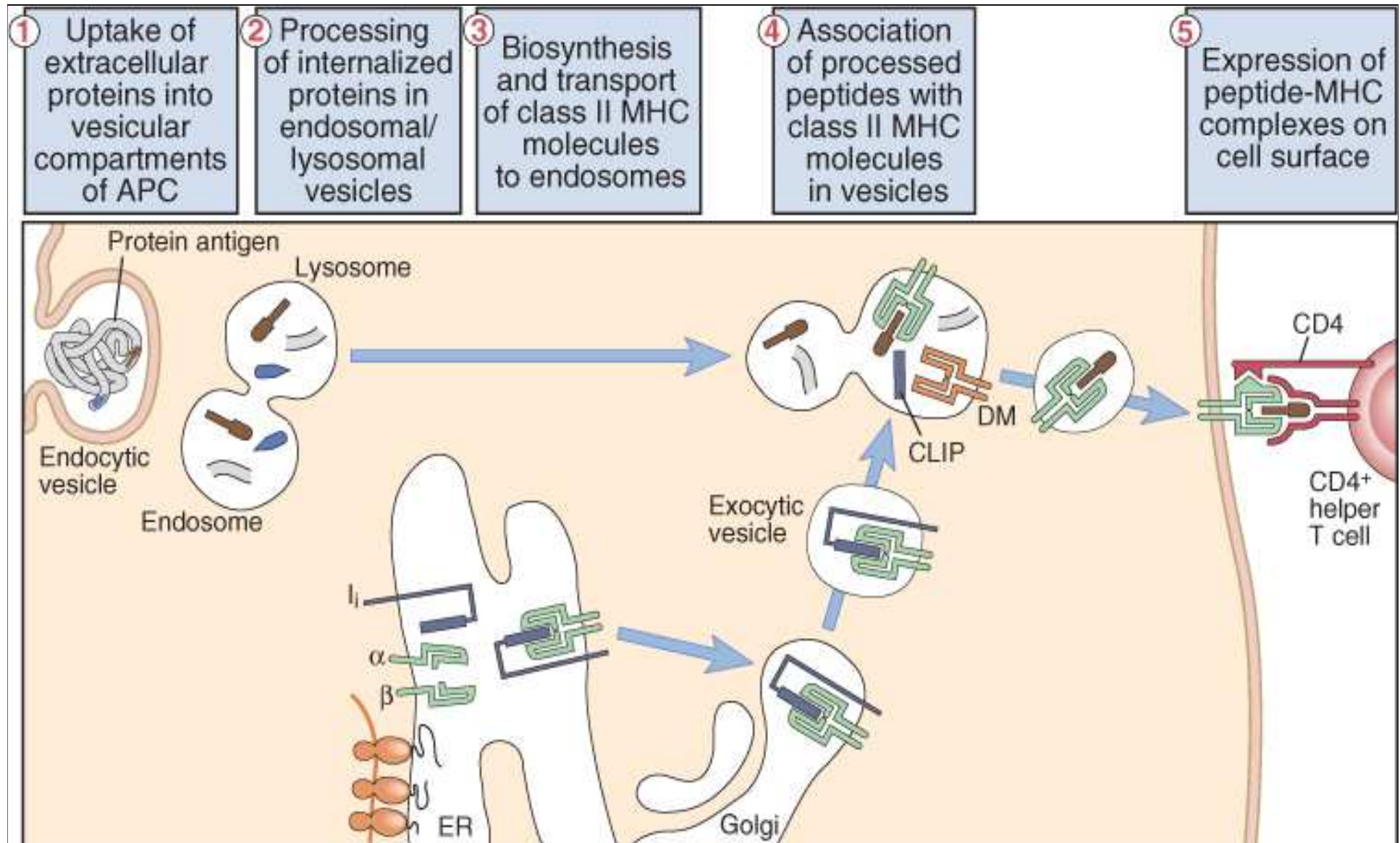
Le cellule dendritiche fagocitano il batterio e frammenti del batterio (antigeni) vengono attaccati sulle proteine HLA Classe II sulla superficie cellulare.

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.

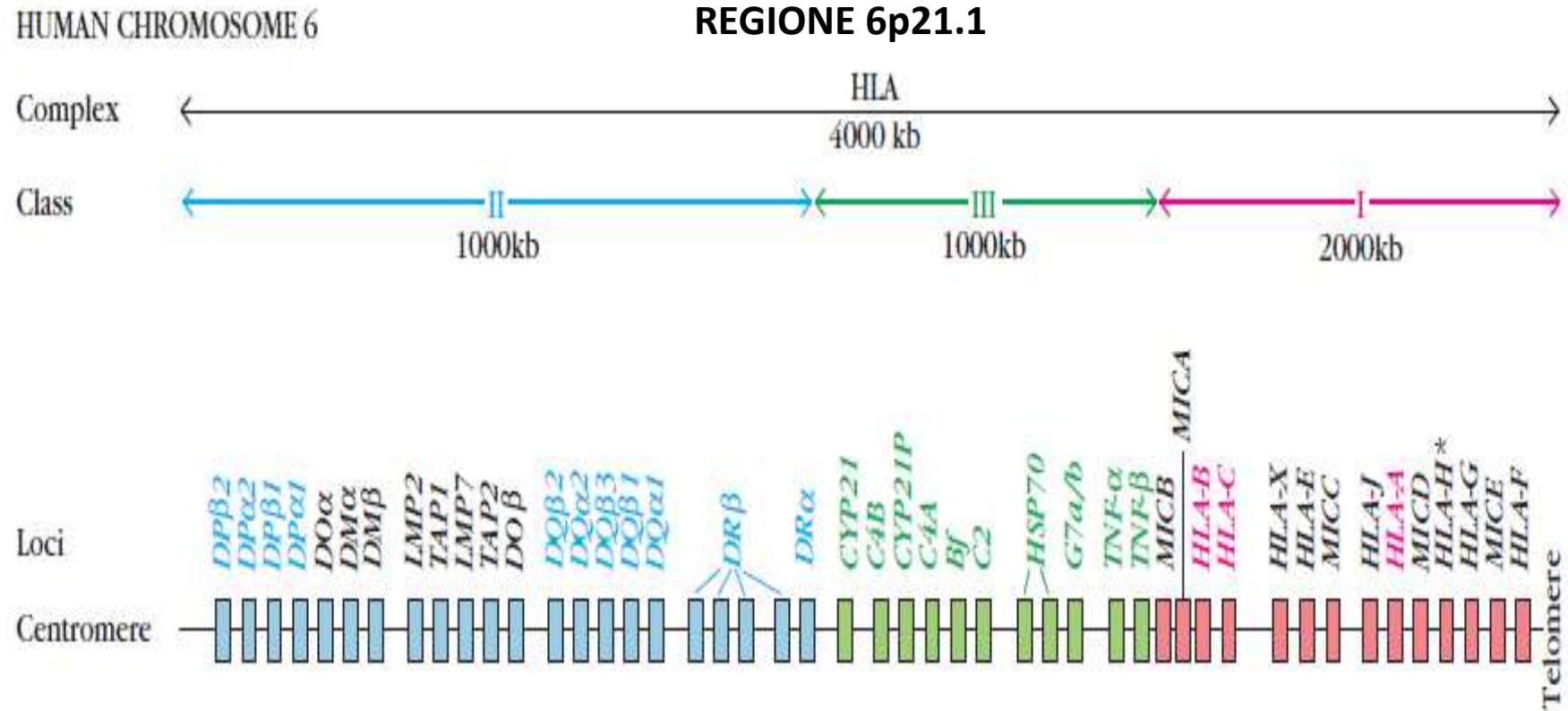
PRESENTAZIONE DELL'ANTIGENE DA PARTE DELL'HLA DI CLASSE II



Il sistema HLA ha 3 caratteristiche fondamentali:

1. È **poligenico**: vi sono numerosi geni che codificano per le proteine di classe I e II con una diversa specificità per i peptidi.
2. È **polimorfico**: ossia esistono numerosi alleli per ogni gene.
3. È **codominante**: in ogni individuo sono espressi i prodotti di entrambi gli alleli (uno ereditato dal padre e uno dalla madre).

II COMPLESSO HLA E' POLIGENICO



Sono stati identificati 253 loci

di questi il 57% codificano un prodotto antigenico.

II COMPLESSO HLA E' POLIMORFICO

Polimorfismi di classe I

Locus	Numero di alleli (Allotipi)
HLA - A	218
HLA - B	439
HLA - C	96

Polimorfismi di classe II

Locus	Numero di alleli (Allotipi)
HLA - DP _A	12
HLA - DP _B	88
HLA - DQ _A	17
HLA - DQ _B	42
HLA - DR _A	2
HLA - DR _{B1}	269
HLA - DR _{B3}	30
HLA - DR _{B4}	7
HLA - DR _{B5}	12

Qual'è la ragione di questo elevatissimo polimorfismo ?

L'elevato polimorfismo ha una spiegazione di tipo evolutivo.

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

Difficilmente potrà comparire un patogeno «non presentabile» da nessun individuo della popolazione.

II COMPLESSO HLA E' CODOMINANTE

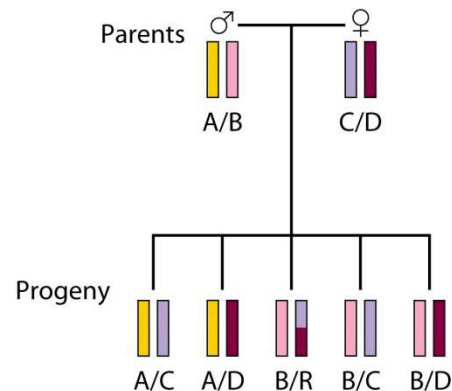
Aplotipo

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 in blocco, viene definito **aplotipo**).

Codominanza

I geni HLA sono codominanti: le proteine codificate da ogni gene parentale sono espresse sulla superficie delle cellule.

(c) Inheritance of HLA haplotypes in a typical human family



II COMPLESSO HLA E' CODOMINANTE

I geni HLA sono **codominanti**, cioè i geni dell'MHC sia del cromosoma paterno che di quello materno codificano per i relativi prodotti proteici.

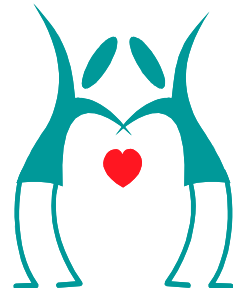
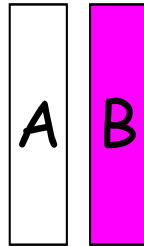
Ogni individuo possiede perciò un "patrimonio" di molecole HLA che sono derivate metà dal padre e metà dalla madre.

L'insieme di tutte queste molecole è definito

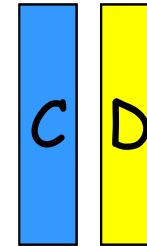
APLOTIPO.

Ereditarietà degli antigeni HLA

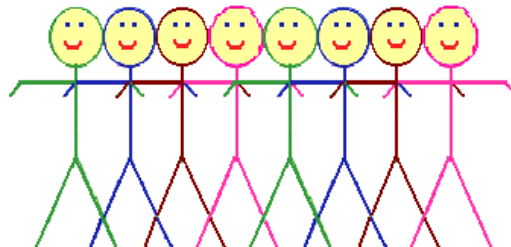
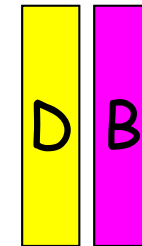
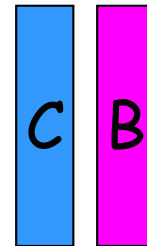
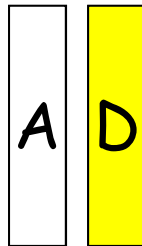
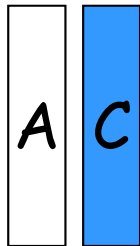
Madre



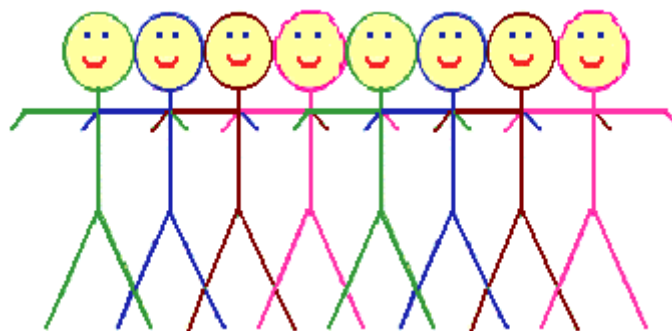
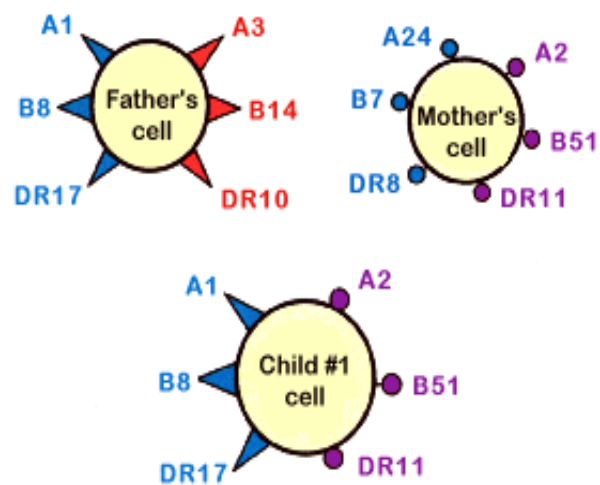
Padre



Figli



Trasmissione ereditaria degli antigeni HLA



A cosa serve il sistema HLA?

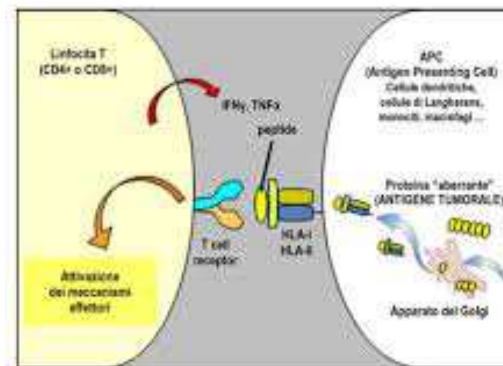
Il suo ruolo è importante:

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

Qual è la loro funzione nella risposta immunitaria?

Possono essere considerate delle navette che portano sulla superficie cellulare peptidi derivati dalla proteolisi di proteine sintetizzate dalla cellula (MHC I) o di proteine che sono state internalizzate per endocitosi (MHC II).

I peptidi sulla superficie cellulare vengono passati al vaglio delle cellule del sistema immunitario e, se riconosciuti come 'non self', vengono attivate funzioni effettrici specifiche.



Cellule dendritiche. In qualità di antigen presenting cells, fagocitano gli antigeni tumorali rilasciati da cellule in necrosi, li processano a livello del Golgi e li presentano in superficie come frammento peptidico legato alle molecole di HLA. L'interazione tra questo complesso ed il recettore delle cellule T (TCR) determina l'attivazione dei linfociti T e dei loro meccanismi effettrici, rappresentati da molecole litiche e citochine infiammatorie.

Qual è la funzione dell'HLA nei trapianti?

HLA e trapianti: **la istocompatibilità**

La funzione del sistema HLA e degli antigeni HLA è di restringere e di regolare la risposta immunitaria in modo altamente specifico

Trapianto: definizione

Il trapianto è un intervento di chirurgia che prevede la sostituzione di una componente di un organismo vivente (tessuto, organo od insiemi complessi), in quanto malfunzionante, con una componente omologa funzionante, espiantata da altro individuo.

Tipi di trapianto

- ISOTRAPIANTO o trapianto **autologo** detto anche autotrapianto, ossia prelievo di tessuto/cellule da uno stesso individuo;
- Trapianto SINGENICO: quando il donatore è un gemello identico
- ALLOTRAPIANTO o trapianto **allogenic** ossia il trapianto di un tessuto od organo tra due individui della stessa specie;
- XENOTRAPAINTO , ossia un trapianto tra due individui di specie diversa.

TRAPIANTO AUTOLOGO

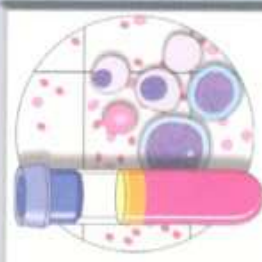


Prelievo da

Trapianto



Midollo osseo



Sangue periferico

Il donatore è il paziente stesso

TRAPIANTO ALLOGENICO

Geneticamente
compatibili



Prelievo da



Trapianto



Midollo osseo



Sangue periferico

Il donatore è diverso dal paziente

Trapianti nella pratica clinica

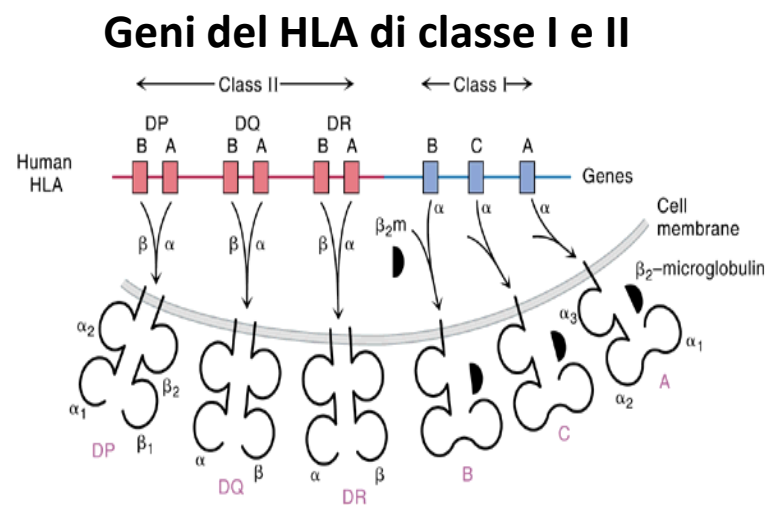
- Cornea
- Rene
- Cuore
- Polmone o cuore/polmone
- Fegato
- Midollo osseo
- Cute
- Osso, cartilagini, vasi sanguigni, insiemi complessi (arti).

Genetica del trapianto nell'uomo (sistemi clinicamente rilevanti)

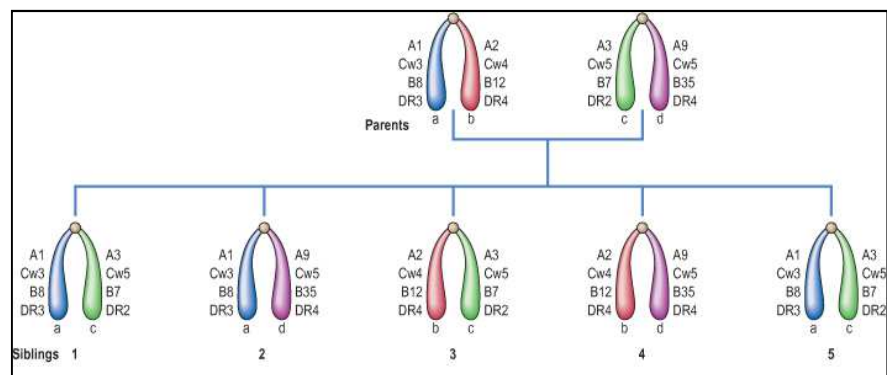
1. Sistema ABO

Genotipo	Fenotipo	Presenza anticorpi naturali
OO	O	Anti-A, -B
AA o AO	A	Anti-B
BB o BO	B	Anti-A
AB	AB	Assenti

2. Sistema Maggiore di Istocompatibilità (Human Leukocyte Antigen – HLA)



Ereditarietà dei geni del HLA in una famiglia

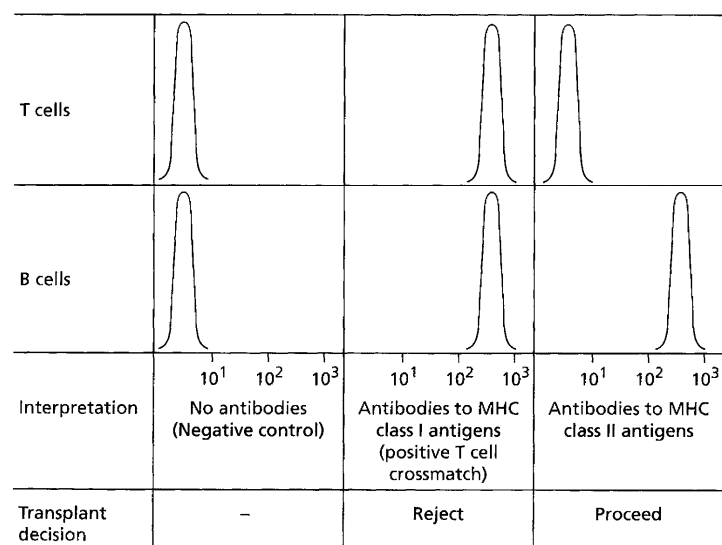


Rilevanza dei sistemi ABO ed HLA nei diversi trapianti

	ABO	HLA
Cornea	Non necessario	Non necessario
Rene	ABO compatibili	HLA matching; mismatch di HLA classe II più rilevante che di HLA classe I
Cuore	ABO compatibili	HLA matching non richiesto ma studi retrospettivi indicano importanza di HLA classe II
Polmone o cuore/polmone	ABO compatibili	HLA matching non richiesto ma studi retrospettivi indicano importanza di HLA classe II
Fegato	ABO compatibili	HLA matching classe I
Midollo osseo	ABO compatibili	HLA matching (solo HLA identici preferenzialmente od almeno un HLA aploidentico)

Indagini pre-trapianto per stabilire la compatibilita' donatore-ricevente

- **Determinazione del gruppo sanguigno ABO**
- **Tipizzazione HLA-A, -B, -C, -DR (-DQ e -DP) ad alta risoluzione (Identificazione in banca dati soggetti riceventi del/i soggetti compatibili in caso di allotrapianto tra non familiari).**
 - Più alto è il numero delle non compatibilità (mismatched) più elevata la probabilità di rigetto.
- **Presenza nel ricevente di anticorpi contro il donatore**



Trapianto di Midollo Osseo

Trapianto di Cellule Staminali Emopoietiche (CSE)

Complessa procedura terapeutica attraverso la quale avviene la sostituzione delle cellule staminali emopoietiche del paziente con cellule staminali emopoietiche di un donatore SANO (*Trapianto Allogénico*).

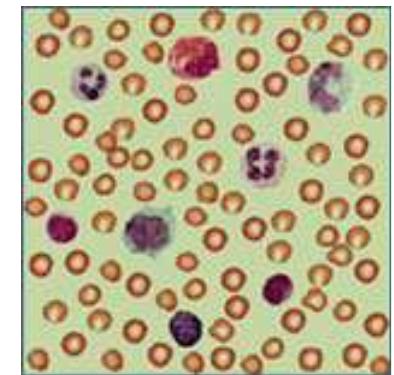
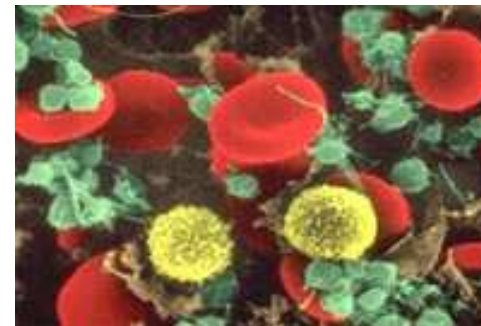
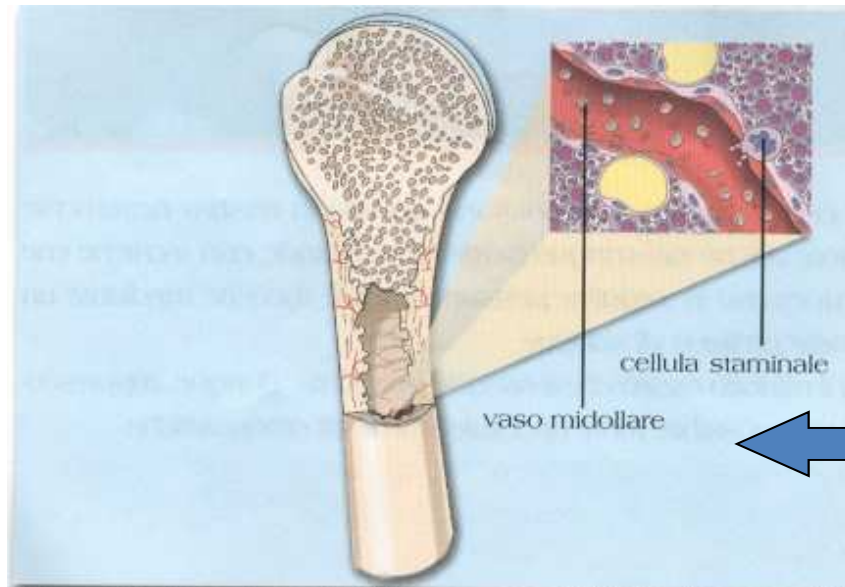
Da dove vengono prelevate le CSE per il trapianto?

- Le cellule staminali emopoietiche sono localizzate principalmente nel ***midollo osseo***
- ma è possibile reperirle anche nel ***sangue circolante***, in seguito a regimi di mobilizzazione
- Esse sono presenti anche nel ***sangue del cordone ombelicale*** del neonato al momento del parto

Cellule staminali ematopoietiche



Hanno la capacità di autorinnovarsi e di proliferare ad un ritmo molto intenso differenziandosi in elementi cellulari maturi del sangue circolante: leucociti, eritrociti, piastrine



Dove si trovano?

Nel midollo osseo (contenuto in bacino, coste, sterno, etc...), nel cordone ombelicale, in minima parte nel sangue periferico

Indicazioni al trapianto di CSE:

- **Malattie neoplastiche**
- **Malattie da immunodeficienza o da errori congeniti**

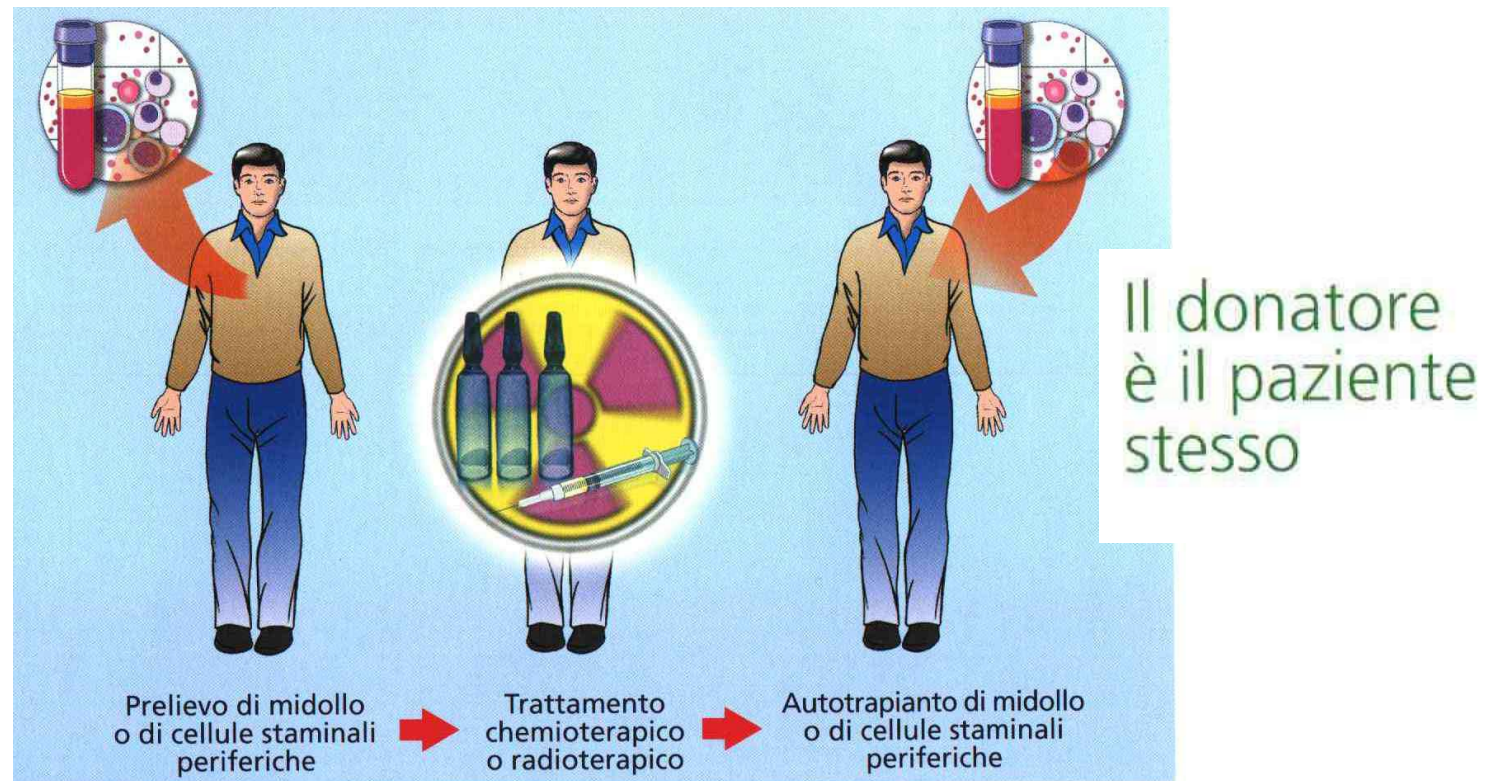
Malattie neoplastiche:

- **Leucemia acuta mieloide e linfoide**
- **Leucemia mieloide cronica**
- **Sindromi mielodisplastiche (leucemia refrattaria con eccesso di blasti; leucemia refrattaria con eccesso di blasti in trasformazione, leucemia acuta mieloide secondaria)**
- **Disordini linfoproliferativi (leucemia linfatica cronica, linfomi non Hodgkin, linfomi di Hodgkin, mieloma multiplo).**

Malattie da immunodeficienza o da errori congeniti:

- **Sindrome da immunodeficienza severa (SCID = Severe Immunodeficiency Disease)**
- **Aplasia midollare severa**
- **Talassemia**
- **Anemia emolitica falciforme**
- **Anemia di Fanconi e anemia di Blackfan Diamond**

IL TRAPIANTO AUTOLOGO



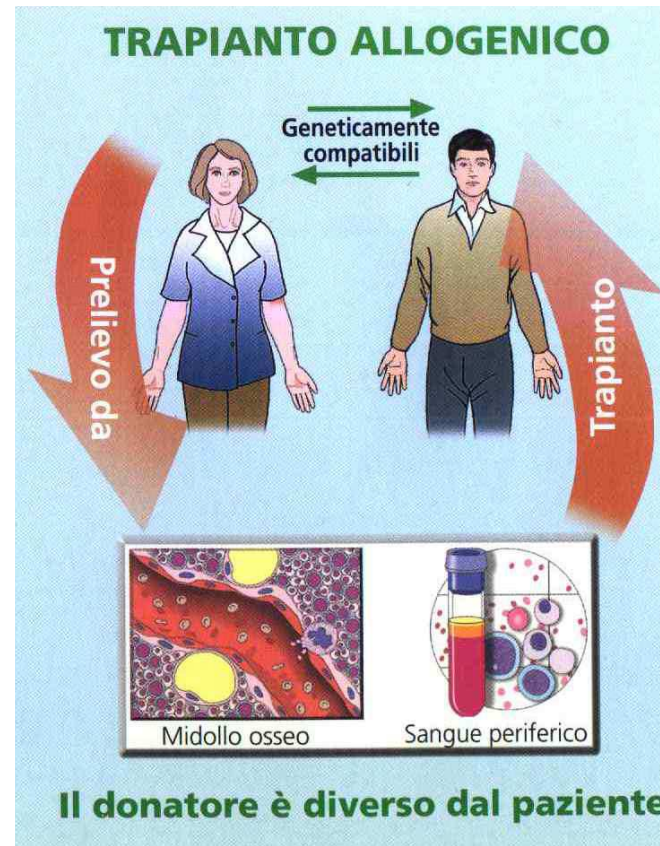
VANTAGGI

- Assenza di ricerca in banche o registri (tempi più brevi)
- Assenza di rigetto
- Ridotta mortalità correlata al trapianto
- Rapida ricostituzione emopoietica

SVANTAGGI

- Assenza di una reazione contro la leucemia o il tumore
- Possibile contaminazione di cellule maligne (ricaduta)

TRAPIANTO ALLOGENICO



VANTAGGI

- ❖ Non contaminazione tumorale
- ❖ Reazione contro la leucemia o il tumore

SVANTAGGI

- ❖ Rigetto
- ❖ Reazione del trapianto contro l'ospite (GVHD)
- ❖ Mortalità correlata al trapianto
- ❖ Eventuale ricerca in banche e registri (italiani/internazionali)

Come avviene il trapianto ?

Il **TMO allogenico** consiste principalmente in due fasi:

1. la prima mirata alla distruzione delle cellule midollari del paziente con una chemio - radioterapia mieloablativa **(fase di condizionamento)**.
2. la seconda fase consiste **nella ricostituzione del patrimonio midollare del paziente**, tramite l'infusione delle cellule staminali prelevate dal donatore **SANO COMPATIBILE**. Queste cellule riescono, infatti, a trovare da sole la strada per colonizzare la sede ossea di loro competenza e iniziare a produrre cellule **NORMALI** del sangue.

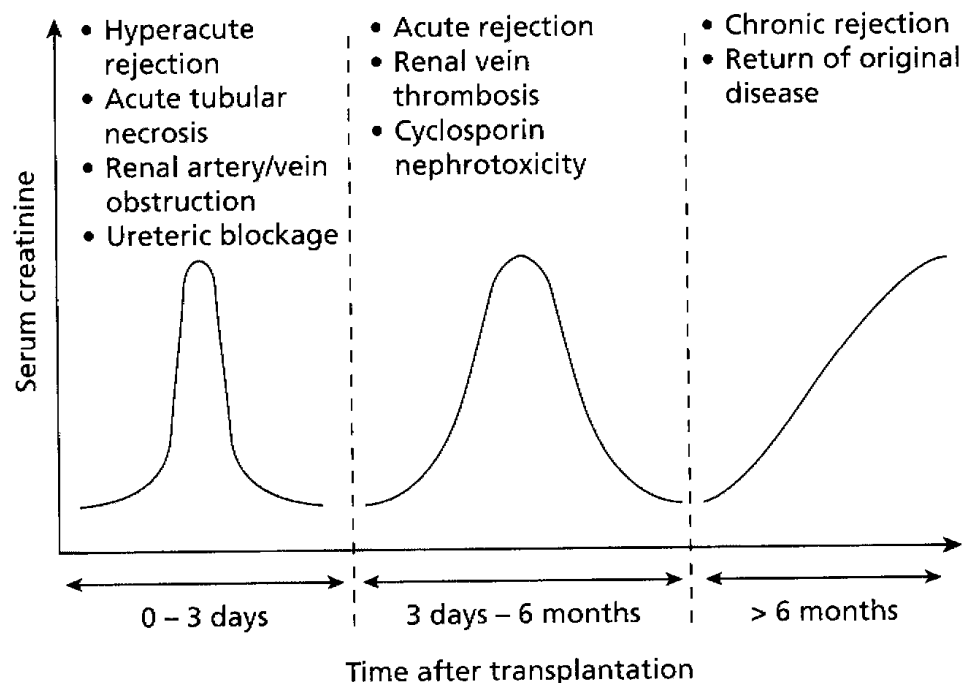
Rigetto del trapianto

Si parla di **rigetto** quando il sistema immunitario di un paziente che è stato sottoposto a trapianto attacca il nuovo tessuto/organo, riconoscendolo come **non-self**.

Timing del rigetto di trapianto

Il rigetto puo' avvenire in momenti diversi dopo il trapianto. In base al tempo in cui avviene il rigetto, che puo' orientare sul meccanismo di rigetto, possiamo distinguere:

- *Rigetto iperacuto (da qualche minuto a poche ore)*
- *Rigetto acuto (da qualche giorno a poche settimane)*
- *Rigetto cronico (dopo alcuni mesi fino a diversi anni dopo)*



Graft Versus Host Disease (GVHD) (1)

- La malattia del rigetto di trapianto contro l'ospite si chiama: ***Graft Versus Host Disease (GVHD)*** .
- Per il tipo di trapianto, le cellule immunitarie derivate dal midollo del donatore, forniscono una risposta esagerata aggredendo il sistema immunitario della persona, riconoscendolo come estraneo.
- Si manifesta più di frequente in trapianti di midollo tra non familiari, ma è frequente anche in soggetti che hanno ricevuto il midollo da consanguinei diversi solo per antigeni minori di istocompatibilità'.

Graft versus Host Disease Acuta cutanea



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

Si manifesta più di frequente in trapianti di midollo tra non familiari, ma è frequente anche in soggetti che hanno ricevuto il midollo da consanguinei, diversi solo per antigeni minori di istocompatibilità'.

A cosa serve il sistema HLA?

Il suo ruolo è importante:

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

Stretta ASSOCIAZIONE tra presenza di specifici antigeni HLA e alcune MALATTIE

MALATTIE ASSOCIATE A HLA class I	HLA I	Relative Risk
SPONDILITE ANCHILOSANTE	B27	90
Reiter disease	B27	35
Psoriatic spondylitis	B27	12
Emocromatosi idiomatica	A3	8
Psoriasis vulgaris	Cw6	13
Behçet disease	B51	16
MALATTIE ASSOCIATE A HLA class II	HLA II	Relative risk
ARTRITE REUMATOIDE	DR4	6
Lupus Eritematosus Sistemico (SLE)	DRB1*0301	3
Sjögren disease	DQB1*0201	12
Diabete insulino dipendente (IDDM)	DR3	5
	DR4	6
	DR3/4	15
	DR2	0.2
Addison disease	DR3	6
Graves disease	DR3	3
Tiroidite Hashimoto	DQ7	5
Morbo Celiaco	DR3	11
Pemphigus vulgaris	DR4	25
Hodgkin disease	DPw2	0.1
Sclerosi Multipla	DRB1*1501	6
	DQB1*0602	6
NARCOLESSIA	DRB1*1501	29
Miastenia 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.

Che cosa è la celiachia ?

La celiachia è un' intolleranza al glutine geneticamente determinata

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

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

La genetica della celiachia

HLA DQ2 e DQ8

Assenti = nessuna malattia

Presenti = malattia possibile

DQ2 + DQ8 +
DQ2 omozigote
DQ2 , DQ8 eterozigote

rischio



DQ2 e/o DQ8 presenti senza malattia

- Il 35-40% della popolazione generale
- il 60-70% dei parenti di primo grado