

*Endotoxins and allergic diseases*Cinara R. Braga¹, Maria Cândida V. Rizzo², Charles K Naspitz³, Dirceu Solé³

1 – Mestre em Pediatria; 2 - Pesquisadora Associada e Dou-tora em Medicina; 3 – Professor Titular – Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria – Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina

Resumo**Objetivo:** Descrever a participação das endotoxinas (ET) na expressão das doenças alérgicas.**Método:** Dados obtidos por levantamento biblio-gráfico de estudos em língua inglesa, espanhola e por-tuguesa, no Medline e Lilacs, tendo como termos de busca: endotoxinas, lipopolissacárides e doenças alér-gicas.**Resultados:** São revistas as características princi-pais das ET bacterianas, os locais onde já foram iden-tificadas, sua circulação ligada à proteína carreadora, sua ligação a receptores específicos, sua ação sobre células envolvidas na resposta inflamatória bem como na indução da síntese de citocinas também envolvidas na resposta alérgica. Pacientes asmáticos ou com rini-te têm resposta acentuada na presença de ET inalada ou instilada no nariz.**Conclusões:** Há evidências de maior gravidade da asma em pacientes expostos a quantidades elevadas de ET no seu ambiente. A ET atua como agente potencia-lizador da resposta inflamatória e também como um importante fator na manutenção do processo inflama-tório crônico das vias aéreas.*Rev. bras. alerg. imunopatol.* 2001; 24(5):196-201 endotoxina, lipopolissacarídeos, asma, rinite alérgica, inflamação alérgica**Abstract****Objective:** To describe the role of endotoxins (ET) in clinical presentation of allergic diseases.**Method:** Data obtained from Medline and Lilacs searches and relevant publications from the English, Spanish, and Portuguese medical literature, having these terms for search: endotoxins, lipopolysaccharides (LPS), and allergic diseases.**Results:** The main ET characteristics are reviewed. Sites where ET have been identified is presented. ET circulates linked to a LPS-binding-protein, and acts binding to specific receptors. ET activates cells invol-ved in the inflammatoryEm estudo recente de provocação nasal especí-fica com *Dermatophagoides pteronyssinus*, ob-servamos positividade em concentrações menores quando a instilação foi realizada em associação ao LPS⁵².

O ambiente doméstico, dependendo do controle ambiental, pode facilitar a multiplicação de áca-ros domésticos, assim como de fungos, de bacté-rias e seus produtos. Esses dados levam à hipóte-se de que os fatores alérgicos não seriam o único fator causal de crises asmáticas, mas atuariam em associação a outros estímulos inespecíficos. Esses achados sugerem a habilidade da ET na potencia-lização da resposta inflamatória como um impor-tante fator na manutenção do processo crônico das vias aéreas.

Referências bibliográficas

1. Horak B, Dutkibwicz J, Solarz K. Microflora and acarofauna of bed dust from homes in Upper Sile-sia, Poland. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1996; 76:41-50.
2. Dutkiewicz J. Exposure to dust-borne bacteria in agriculture. I Environmental studies. II Immuno-logic survey. *Arch Environ Health.* 1978;33:250-70.
3. Rylander R. The role of endotoxin for reactions after exposure to cotton dust. *Am J Ind Med.* 1987;12:687-97.
4. Lugtenberg B, Van Alphen I. Molecular archite-cture and functioning of the outer membrane of *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria. *Biochem Biophys Acta.* 1983;735:51-115.
5. Peterson CM, Eichenfield LF. Scabies. *Pediatr Ann.* 1996;25:97-100.
6. Rylander R, Haglind P. Airborne endotoxins and humidifier disease. *Clin Allergy.* 1984;14:109-12.
7. Di Luzio NR, Friedmann TJ. Bacterial endotoxins in the environment. *Nature.* 1973;244:49-51.
8. Schorm AB, Brandenburg K, Loppnow H, Zäh-ringer U, Rietschel ET, Carrol SF, *et al.* The char-ge of endotoxin molecules influences their confor-mation and IL-6-inducing capacity. *J Immunol.* 1998;161:5464-71.
9. Rylander R, Bake B, Fischer JJ, Helander IM. Pulmonary function and symptoms after inhala-tion of endotoxin. *Am Rev Respir Dis.* 1989;140: 981-6.
10. Mayeux PR. Pathobiology of lipopolysaccharide. *J Toxicol Environ Health.* 1997;51:415-53.

response as well as in the production of cytokines involved in the allergic response. Asthmatic patients and/or patients with rhinitis have an increased response (bronchial or nasal) after ET inhalation or intranasal instillation.

Conclusions: There are evidences of increase in asthma severity of patients exposed to high amounts of environmental ET. ET acts as a powerful increasing inflammatory response agent and also as an important factor in maintaining airways chronic disease.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2001; 24(5):196-201 endotoxin, lipopolysaccharides, asthma, allergic rhinitis, allergic inflammation

Introdução

O papel das bactérias na alergia à poeira doméstica é pouco entendido. Trabalhos preliminares sugerem que as bactérias sejam componentes imunotóxicos da poeira doméstica, sendo consideradas potencialmente alergênicas¹⁻³.

As bactérias gram-negativas (BGN) apresentam três membranas que formam o envelope celular, sendo uma membrana externa complexa, uma camada intermediária, fina, de peptidoglicano e uma membrana citoplasmática interna⁴.

O princípio ativo participante da indução dos efeitos tóxicos das BGN reside no envelope celular e é denominado endotoxina (ET), termo esse introduzido no século XIX para descrever os componentes das BGN. As ET são substâncias termoestáveis, constituintes da membrana externa das BGN, presentes na poeira orgânica e nas cavidades nasais e oral dos homens⁵. As ET estão presentes nas paredes celulares de bactérias ou como lipopolissacarídeos livres, como por exemplo: na poeira doméstica, na água de torneira da maioria das cidades (0,04-1,0 mg/ml)⁶, e no leite produzido comercialmente (30 a 130 mg/ml)⁷. As ET são liberadas para o exterior de modo constante, em decorrência de processo lítico da bactéria.

Quimicamente, as ET são lipopolissacarídeos (LPS) constituídos por um heteropolissacarídeo hidrofílico (núcleo e cadeia O específica) covalentemente ligados à porção lipídica hidrofóbica, chamada de lipídeo A, que ancora a molécula à parte externa da membrana⁸ ([figura 1](#)).

Embora os termos ET e LPS sejam empregados como sinônimos, na poeira encontram-se as ET ligadas à parede celular ou fragmentos bacterianos, enquanto os LPS são as ET altamente purificadas⁹.

Os membros da família das enterobactérias (*Escherichia sp* e *Salmonella sp*) expressam heteropolissacarídeo composto

11. Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res.* 1990;49:186-90.
12. Rietschel ET, Brade H, Brade L, Brandenburg K, Schade U, Seydel U, *et al.* Lipid A, the endotoxin center of bacterial lipopolysaccharides: relation of chemical structure to biological activity. *Prog Clin Biol Res.* 1987;231:25-30.
13. Brade L, Brandenburg K, Kuhn HM, Kusumoto S, Macher I, Rietschel E, *et al.* The immunogenicity and antigenicity of lipid A are influenced by its physicochemical state and environment. *Infect Immun.* 1987;55:2636-44.
14. Carswell EA, Old JJ, Kassel RL, Green S, Fiore R, Williamson B. The cell and endotoxins. *Proc Natl Acad Sci.* 1975;3666-70.
15. Mannel DN, Moore RN, Mergenhagen SE. Endotoxin-induced tumor cytotoxic factor. In Schlessinger D (ed) *Microbiology*, Am Soc Microbiol, Washington. 1980 p.141-3.
16. Luderitz O, Galanos C, Rietschel ET. Endotoxins of gram-negative bacteria. *Pharm Ther.* 1982;15: 383-42.
17. Rosenstreich DL, Wilton JM. The mechanisms of action of macrophage in the activation of T-lymphocytes in vitro by antigens and mitogens. In Rosenthal AS (ed) - *Proceedings of the 9th Leukocyte Culture Conference*, Academic Press, New York. 1975 p113-32.
18. Mizel SB, Oppenheim JJ, Rosenstreich DL. Characterization of lymphocyte-activating factor (LAF) produced by a macrophage cell line, p388D1. II. Biochemical characterization of LAF induced by activated T cells and LPS. *J Immunol.* 1978;120:1504-14.
19. Dentener MA, Von Asmuth EJU, Francot GJM, Marra NN, Buurman WA. Antagonistic effects of lipopolysaccharide binding protein and bactericidal/permeability-increasing protein on lipopolysaccharide-induced cytokine release by mononuclear phagocytes. Competition for binding to lipopolysaccharide. *J Immunol.* 1993;151:4258-65.
20. Pabst MJ, Johnston RB. Increased production of superoxide anion by macrophages exposed in vitro to muramyl dipeptide or lipopolysaccharide. *J Exp Med.* 1980;151:101-14.
21. Funatogawa K, Matsuura M, Nakano M, Kiso M, Hasegawa A. Relationship of structure and biological activity of monosaccharide lipid A analogues to induction of nitric oxide production by murine macrophage. *Infect Immun.* 1991;66:5792-8.
22. Tobias PS, Soldau K, Kline L, Lae JD, Kato K, Martin TP, Ulevitch RJ. Cross-linking of lipopolysaccharide (LPS) to CD14 on THP-1 cells mediated by LPS-binding protein. *J Immunol.* 1993; 150:3011-7.
23. Haefliger-Cavaillon N, Chaby R, Cavaillon JM, Szabó L. Lipopolysaccharide receptor on rabbit peritoneal macrophages. I Binding characteristics. *J Immunol.* 1982;128:1950-54.
24. Brown MS, Goldstein JL. Receptor-mediated endocytosis: insights from the lipoprotein receptor system. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1979;76:3330-7.
25. Krieger M, Herz J. Structure and functions of multiligand lipoprotein receptors, 1994.
26. Hampton RY, Golenbock DT, Pemman M, Krieger M, Raetz CRH. Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptor. *Nature.* 1991;352:342-55.
27. Morrison DC, Lei MG, Kirikae T, Chen TY. Endotoxin receptors on mammalian cells. *Immunobiology.* 1993;187:212-6.
28. Raetz CRH, Ulevitch RJ, Wright SD, Sibley CH, Ding A, Nathan CF. Gram-negative endotoxin: an extraordinary lipid with profound effects on eukaryotic signal transduction. *FASEB J.* 1991;5: 2655-60.
29. Inngalls RR, Golenbock DT. CD11c/Cd18, a transmembrane signaling receptor for lipopolysaccharide. *J Exp Med.* 1995;181:1473-5.
30. Haziot A, Chien S, Ferrero E, Low MG, Silber R, Goyert SM. The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. *J Immunol.* 1988; 141:547-52.
31. Wright SD, Ramos RA, Patel M, Miller DS. Selecting a factor in plasma that

por um núcleo oligo-sacarídeo ligado a um polímero de oligossacarídeo, denominado antígeno ou cadeia O¹⁰. Cada sorotipo, entre os grupos de BGN, é caracterizado por uma única estrutura de cadeia O e a variação dos polissacarídeos que a compõem é que dá a especificidade antigênica das espécies de BGN¹¹. O lipídeo A é comum a todas as BGN e conecta as cadeias polissacarídicas, sendo responsável pela toxicidade dos LPS^{12,13}.

Os LPS interagem diretamente com células de defesa, particularmente aquelas de origem monocítica; são um ativador potente de macrófagos e induzem a síntese de mediadores inflamatórios. Entre esses encontram-se os derivados lipídicos do ácido araquidônico (mais notadamente o fator ativador de plaquetas), de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)¹⁴⁻¹⁶; interleucina (IL)-1^{17,18}; IL-6 e IL-8¹⁹. A ligação do lipídeo A ao receptor de superfície do macrófago leva à produção de radicais tóxicos de oxigênio¹⁹, óxido nítrico^{20,21} e enzimas hidrolíticas²².

Os LPS ligam-se a receptores de membrana de especificidade variável, contidos nos monócitos circulantes e nos macrófagos teciduais. Alguns receptores têm sido caracterizados:

- a) Receptor tipo lecitina ligante dos LPS por sua parte glicânica²³, cujo mecanismo de sinalização intracelular não está descrito até o momento;
- b) Os receptores "scavenger", descobertos por Brown & Goldstein em 1979²⁴, os mecanismos que regulam a expressão desses receptores estão sendo investigados. Os locais de maior expressão desses receptores são os macrófagos teciduais; dividem-se em tipo I e tipo II²⁵, sendo ambos detectados em macrófagos "in vivo" e "in vitro", contribuindo na remoção das ET do sistema circulatório (no fígado pelas células endoteliais sinusoidais e células de Kupfer)²⁶.
- c) Receptor de 73kDa de fraca afinidade pelos LPS, localizado na membrana dos monócitos, linfócitos, neutrófilos e plaquetas²⁷;
- d) Complexo CD11/CD18 (β 2 integrinas) que interage com a porção lipídica dos LPS, potencializando sua degradação^{28,29};
- e) CD14 que representa o principal receptor dos LPS; é constituído por uma proteína de membrana (glicosilfosfatidilinositol) presente em macrófagos, monócitos e, em menor quantidade, em neutrófilos ativados³⁰. Tem a função de receptor celular para complexos de proteínas ligantes de LPS (LBP-LPS)³¹ induzindo a produção de citocinas^{32,33}.

Recentemente, foi descrita uma nova função para o CD14, atuando como um regulador da atividade das células T.

opsonizes lipopoly-saccharide-bearing particles for recognition by CD14 on phagocytes. *J Exp Med.* 1992;176:719-27.

32. Wright SD, Ramos RA, Hermanowski-Vsatka A, Rockwell P, Detmers PA. Activation of the adhesive capacity of CR3 on neutrophils by endotoxin: dependence on lipopolysaccharide binding protein and CD14. *J Exp Med.* 1991;173:1281-86.
33. Ulevitch RJ. Recognition of bacterial endotoxin by receptor-dependent mechanisms. *Adv Immunol.* 1993;52:267-85.
34. Baldini M, Lohman IC, Halonen M, Erickson RP, Holt PG, Martinez FD. A polymorphism in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulation soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am J Resp Cell Mol Biol.* 1999;20:976-83.
35. Bazil V, Horrejsi V, Baudys M, Kristofova H, Strominger JL, Kostka W, et al. Biochemical characterization of a soluble form of the 53-kDa monocyte surface antigen. *Eur J Immunol.* 1986; 16:1583-89.
36. Loppnow H, Steelter F, Schonbeck U, Schluter C, Ernest M, Schutt C, et al. Endotoxin activates human vascular smooth muscle cells despite lack of expression of CD14 mRNA or endogenous membrane CD14. *Infect Immun.* 1995;63:1020-30.
37. Goldblum SE, Brann TW, Ding X, Pugin J, Tobias PS. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein and soluble CD14 function as accessory molecules for LPS-induced changes in endothelial barrier function in vitro. *J Clin Invest.* 1994;93:692-702.
38. Pugin J, Heumann D, Tomasz A, Kravchenko V, Akamatsu Y, Nishijimi M, et al. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity.* 1993;1:509-16.
39. Skarnes RC. In vivo interaction of endotoxin with a plasma lipoprotein having esterase activity. *J Bact.* 1968;95:2031-4.
40. Tobias PS, Soldau K, Ulevitch RJ. Identification of lipid A binding site in the acute phase reactant lipopolysaccharide-binding protein. *J Biol. Chem.* 1989;264:867-71.
41. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14 a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science.* 1990;249:1431-3.
42. Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, et al. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science.* 1990;249:1429-34.
43. Tobias PS, Mathison J, Mintz D, Lee JD, Kravchenko V, Kato K, et al. Participation of lipopolysaccharide-binding protein in lipopolysaccharide-dependent macrophage activation. *Am J Resp Cell Mol Biol.* 1992;7:1456-66.
44. Vogelzang PFJ, Van der Gulden JWJ, Folgering H, Kolk JJ, Heederik D, Preller L, et al. Endotoxin exposure as a major determinant of lung function decline in pig farmers. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:15-18.
45. Michel O, Ginanni R, Duchateau J, Vertongen F, Le Bom B, Sergysels R. Domestic endotoxin exposure and clinical severity of asthma. *Clin Exp Allergy.* 1991;21:441-48.
46. Michel O, Duchateau J, Sergysels R. Effect of inhaled endotoxin on bronchial reactivity in asthmatic and normal subjects. *J Appl Physiol.* 1989; 66:1059-64.
47. Saitou M, Kida S, Kaise S, Suzuki S, Ohara M, Kasakawa R. Enhancement of eosinophil survival by lipopolysaccharide through releasing granulocyte-macrophage colony stimulating factor from mononuclear cells from patients with bronchial asthma. *Fukushima J Med Sci.* 1997;43:75-85.
48. Michel O. Les endotoxines bactériennes: un facteur pathogène de l'asthme?. *Rev Med Brux.* 1994;15:17-32.
49. Michel O, Kips J, Duchateau J, Vertongen F, Robertson L, Collet H, et al. Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am J Crit Care Med.* 1996;154:1641-46.
50. Rizzo MCV, Nasipz CK, Fernandez-Caldas E, Lockey RF, Mimica I, Solé

Antígenos bacterianos po-dem favorecer o desenvolvimento de células Th1 a partir de células T CD4+, por uma via dependente de CD14³⁴, em uma fase precoce da vida.

O CD14 também circula como proteína solúvel (sCD14)³⁵. Complexos de sCD14 podem ativar diretamente células que não expressam o CD14 na sua superfície³⁶, incluindo células endoteliais³⁷ e epiteliais³⁸.

Os LPS presentes na corrente sangüínea ligam--se rapidamente a proteínas séricas, chamadas de LBP (proteínas ligantes de LPS), identificadas primeiramente por Skarnes em 1968³⁹. A LBP é uma proteína plasmática de 60 kDa que se liga com alta afinidade ao lipídeo A dos LPS⁴⁰. É produzida no fígado⁴² e aumenta a resposta inflama-tória dos LPS⁴³. O complexo LPS-LBP liga-se à superfície da célula que expressa o CD14. O com-plexo LPS-LBP aumenta a capacidade de ligação dos LPS às células, bem como a ativação de ma-crófagos e neutrófilos, mesmo com baixas con-centrações de LPS^{40,42}. Sob condições de normali-dade, pequenas quantidades de LBP estão presen-tes dentro do compartimento alveolar⁴². O plasma humano, normalmente contém cerca de 6 mg CD14 solúvel/ml e 5-10 mg LBP/ml⁴³.

A inalação de 20mg de LPS induz, após 45 mi-nutos, uma diminuição do volume expiratório for-çado no primeiro segundo (VEF₁), de forma mo-derada mas significativa, sendo este efeito mais prolongado em asmáticos do que em indivíduos normais^{9,44,45}. O LPS inalado induz também uma resposta inflamatória sistêmica, com aumento de TNF-a, leucocitose e neutrofilia⁴⁶. Os LPS pro-longam a sobrevida dos eosinófilos em indivíduos asmáticos, por aumentar a produção do fator esti-mulador de colônias de granulócitos e macrófa-gos pelas células mononucleares do sangue peri-férico⁴⁷.

A resposta brônquica obstrutiva significativa após inalação de LPS está associada a um aumen-to da hiper-reatividade brônquica não específica, que se normaliza em um período de 24 a 48 horas e se restabelece completamente após sete dias^{46,48}.

Estudos recentes, em pacientes sensibilizados aos ácaros da poeira doméstica e expostos a ní-veis elevados de alérgenos, mostram que as con-centrações de ET na poeira doméstica são um de-terminante importante da intensidade clínica da asma⁴⁸⁻⁵¹.

D. Endotoxin exposu-re and symptoms in asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol.* 1997;8:121-6.

51. Costa LF, Rizzo MCV, Arruda LK, Kuramoto ACK, Daher S, Naspietz CK. The relationship bet-ween the severity of asthma and levels of endoto-xin and mite allergens in house dust. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:S21.

52. Braga CR. Provocação nasal com LPS e LPS as-sociado a alérgenos de ácaros (Dp), em um grupo de crianças com rinite alérgica e em um grupo controle. Universidade Federal de São Paulo-Es-cola Paulista de Medicina (Tese de Mestrado), São Paulo. 2000, pp 163.

Endereço para correspondência

Dirceu Solé

Rua dos Otonis 725, Vila Clementino

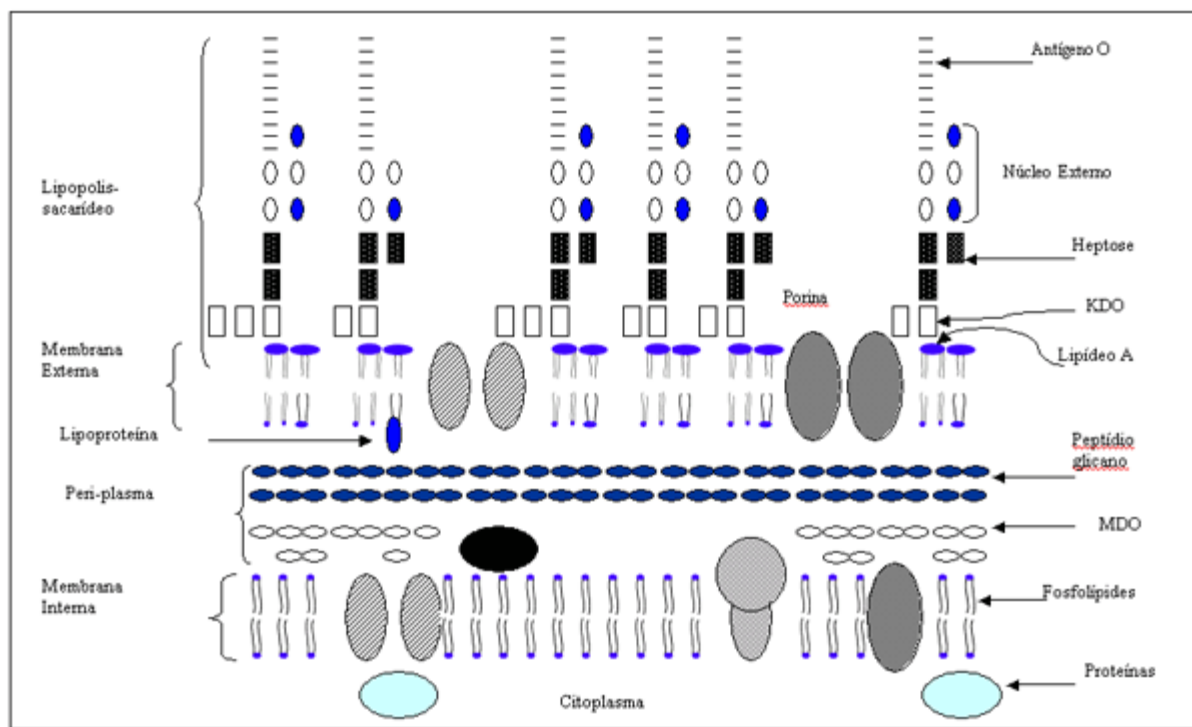
040025-002 - São Paulo - SP

Fone/Fax: 0XX-11-5579.1590

E-mail: gaai@nox.net



Figura 1 - Envelope da *Escherichia coli*, para maiores detalhes veja o texto.



[\[Home Page SBAI\]](#) [\[Índice Geral\]](#) [\[Índice do Fascículo\]](#)

A Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia é publicação oficial da Sociedade Brasileira de Alergia e Imunopatologia.
Copyright 2001- SBAI -Av. Prof. Ascendino Reis, 455 - São Paulo - SP - Brasil - CEP: 04027-000