

Deficiência da adesão leucocitária tipo I

Leukocyte adhesion defect type I

Paolo R. Errante¹, Josias B. Frazão¹, Antônio Condino-Neto¹

Resumo

Objetivo: Buscamos aqui revisar os mecanismos imunopatológicos relacionados à Deficiência da Adesão Leucocitária tipo I (LAD-I). A LAD-I é uma rara enfermidade autossômica recessiva que pode acometer homens e mulheres, caracterizada por infecções bacterianas e fúngicas recorrentes e retardo na cicatrização de feridas. Esta doença cursa em leucocitose e infecções de repetição, acompanhada de retardo na queda do coto umbilical e periodontite com perda de dentes. As infecções cutâneas não apresentam exsudato purulento, podendo evoluir para ulceração por retardo na cicatrização da ferida. A LAD-I é causada por uma mutação na cadeia comum (CD18) da família das beta-2-integrinas, levando a ausência ou expressão deficiente das beta-2-integrinas (heterodímero de CD18 e a família de glicoproteínas CD11), pelas inúmeras mutações no gene CD18. As beta-2-integrinas incluem o antígeno associado a função leucocitária tipo 1 (LFA-1 ou CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18) e p150,95 (CD11c/CD18). Estas proteínas de superfície leucocitária participam da adesão dos leucócitos as células endoteliais e na ligação dos linfócitos T as células apresentadoras de antígeno ou células alvo.

Fonte: A revisão foi realizada por levantamento bibliográfico de banco de dados obtidos através de pesquisa direta, LILACS, MEDLINE e capítulos de livros.

Síntese: A revisão literária demonstra a importância das beta-2-integrinas no processo de adesão dos leucócitos ao endotélio vascular, crítico para a mobilização dos leucócitos dos vasos sanguíneos em direção ao sítio inflamatório, e cognição entre as células da imunidade inata e adaptativa, fundamental para a prevenção de infecções por bactérias e fungos e cicatrização de feridas.

Conclusão: A cadeia comum (CD18) da família das beta-2-integrinas apresenta um papel importante no processo de migração dos leucócitos dos vasos sanguíneos para o tecido inflamado e interação entre células da imunidade inata e adaptativa, prevenindo o surgimento de infecções de repetição e retardo na cicatrização de feridas.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2011;34(6):225-33: LAD-I, CD18, beta-2-integrinas, deficiência da adesão leucocitária tipo 1, defeito dos fagócitos.

Abstract

Objective: Our aim was to review the current immunopathological mechanisms associated with leukocyte adhesion deficiency type I (LAD-I). The LAD-I is a rare recessive disorder that can affect men and women, characterized by recurrent bacterial and fungal infections and delayed wound healing. The disease progresses in leukocytosis and infections of repetition, accompanied by retardation in the fall of the umbilical stump with periodontitis and tooth loss. Skin infections have not purulent, sometimes progressing to ulceration delay in wound healing. The LAD-I is caused by a mutation in the common chain (CD18) family of beta-2-integrins, leading to absent or deficient expression of beta-2-integrin (heterodimer of CD18 and CD11 family of glycoproteins), the many mutations CD18 gene. The integrin beta 2 include the leukocyte function-associated antigen type 1 (LFA-1 or CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18) and p150,95 (CD11c/CD18). These surface proteins involved in leukocyte adherence of leukocytes and endothelial cells in the binding of T lymphocyte in antigen-presenting cells or target cells.

Database: The review was conducted through bibliographic database obtained through direct research, LILACS, MEDLINE and book chapters.

Summary: The literature review shows the importance of beta-2-integrins in adhesion of leukocytes to vascular endothelium, critical to the movement of leukocytes from blood vessels into the inflammatory site, cognition between cells of innate and adaptive immune response, critical to prevent infections by bacteria and fungi and wound healing.

Conclusion: The common chain (CD18) family of beta-2-integrin has an important role in the migration of leukocytes from blood vessels into the inflamed tissue and cognition between cells of innate and adaptive immune response preventing the onset of recurrent infections and delayed wound healing.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2011;34(6):225-33: LAD-I, CD18, beta-2-integrins, leukocyte adhesion deficiency type 1, defect of phagocytes.

Introdução

A migração leucocitária para o sítio de inflamação, etapa importante no processo de defesa do hospedeiro contra patógenos, é um processo dinâmico que envolve múltiplas etapas chamadas em conjunto de cascata de adesão. Estas etapas devem ser orquestradas de forma precisa para asse-

gurar uma rápida resposta com o mínimo de danos ao tecido sadio¹. As várias fases da cascata de adesão são mediadas pela expressão de várias famílias de moléculas de adesão. Apenas recentemente os eventos intracelulares que causam a ativação das integrinas, moléculas mais importantes no

1. Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

Agências financiadoras: CAPES/CNPq; FAPESP.

Artigo submetido em 08.11.2011, aceito em 19.12.2011.

processo de adesão, foram revelados². A última fase da cascata, a transmigração pelo endotélio, tem sido intensamente investigada nos últimos anos e foi descoberto que leucócitos transmigram tanto pelas junções entre as células endoteliais como também utilizam a endocitose para passar pelo endotélio³. Até o presente momento não foram descritos defeitos na transmigração, porém, defeitos em todas as outras fases da cascata de adesão já foram identificados.

A Deficiência da Adesão Leucocitária tipo I (LAD-I) é uma enfermidade autossômica recessiva dos neutrófilos e outros leucócitos, caracterizada por infecções bacterianas e fúngicas recorrentes, ausência de formação de pus e retardo na cicatrização de feridas. Embora já tenham sido reconhecidos três tipos de LAD, a mais comum e conhecida é a LAD-I, causada por diferentes mutações no gene *ITGB2* que codifica a cadeia comum (CD18) da família das beta-2-integrinas, levando a ausência ou expressão deficiente das beta-2-integrinas (heterodímero de CD18 e a família de glicoproteínas CD11) na superfície dos leucócitos^{4,5}. As principais beta-2-integrinas associadas à função leucocitária incluem o antígeno associado à função leucocitária tipo 1 (LFA-1 ou CD11a/CD18), Mac-1 ou CR3 (CD11b/CD18) e p150,95 ou CR4 (CD11c/CD18)^{6,7} (Figura 1).

A ausência ou deficiência na expressão do heterodímero CD18/CD11 na superfície dos neutrófilos e outros leucócitos é crítico no processo de adesão destas células ao endotélio vascular e células epiteliais, fagocitose de partículas estranhas e atividade secretória dos leucócitos associada com

adesão a superfícies⁸⁻¹⁰. Apesar da marcante leucitose, os neutrófilos não são capazes de se acumular em tecidos extravasculares inflamados, uma vez que eles são incapazes de aderir e atravessar o endotélio pós-capilar em resposta a estímulos quimioatrativos. Conseqüentemente, ocorre o acúmulo de células na circulação sanguínea e o surgimento de infecções agudas que se transformam em infecções de repetição, além do retardo na cicatrização de feridas⁴.

A LAD-I e seus equivalentes em cães, bovinos e camundongos knockout demonstraram claramente a importância de adesão leucocitária nos mecanismos de defesa do hospedeiro, e a maioria dos pacientes que apresentam LAD-I evoluem ao óbito no início da vida, caso terapia apropriada não seja administrada¹¹. Embora já tenham sido reconhecidos vários tipos de LAD (LAD-I, ausência de beta-2 integrinas que leva a falta de adesão firme ao endotélio e pavimentação por mutação do gene *ITGB2*; LAD-II, expressão normal do heterodímero CD11/CD18, ausência de ligante de selectina, sialil LewisX, por mutação do gene *FUCT1* que afeta o rolamento dos neutrófilos; LAD-III, defeito na ativação de integrinas via receptor associado à proteína G, por mutação do gene *KLINDLIN3*), a mais comum e conhecida é a LAD-I, uma imunodeficiência causada por defeitos na adesão de leucócitos (especialmente neutrófilos). Mais de 300 pacientes com deficiência de LAD-I já foram identificados e mais pacientes são identificados a cada ano. Nesta revisão focaremos nos mecanismos imunopatológicos e genético-moleculares relacionados à LAD-I e suas conseqüências.

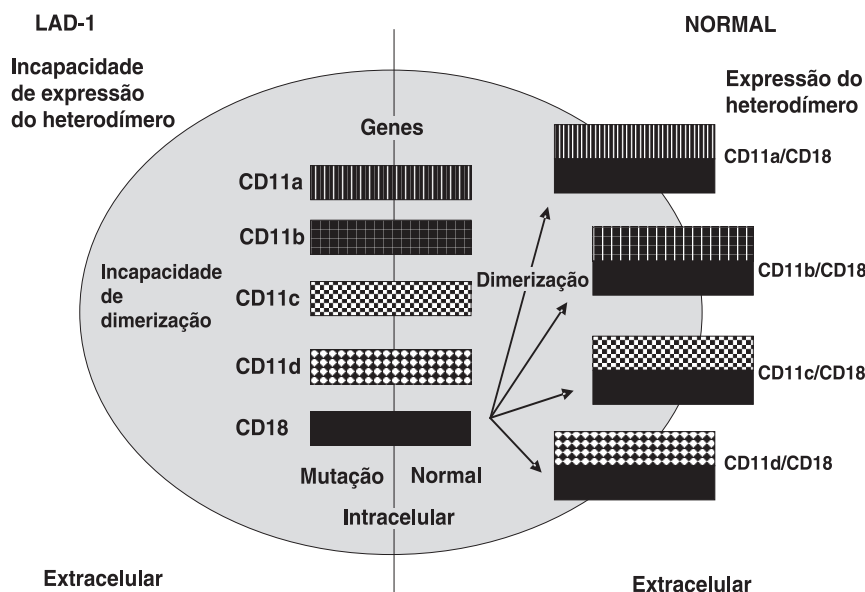


Figura 1 - Representação esquemática da expressão do heterodímero CD11/CD18 na superfície de leucócitos de indivíduos saudáveis e pacientes com LAD-1*

* Em seres humanos saudáveis, o heterodímero CD11/CD18 é expresso na superfície de leucócitos, ao passo que em pacientes com LAD-1, defeitos no gene que codifica a molécula CD18 impedem a expressão de todas as quatro formas do heterodímero CD11/CD18 na superfície dos leucócitos.

A resposta inflamatória

A inflamação é uma resposta protetora do hospedeiro à invasão e colonização dos tecidos por microrganismos, nesse processo estão incluídas as reações vasculares e celulares, que por sua vez, são ativadas por mediadores químicos derivados do plasma, leucócitos e células parenquimatosas. A inflamação pode ser aguda ou crônica. A resposta aguda possui início rápido, curta duração, exsudação plasmática e acúmulo de neutrófilos. A inflamação crônica apresenta duração prolongada, com inflamação ativa, com destruição tecidual e reparo ocorrendo de forma simultânea¹². Ela é causada por micróbios que persistem no foco inflamatório, reações imunes a antígenos próprios ou ambientais e por exposição prolongada a substâncias potencialmente tóxicas. O infiltrado celular é formado basicamente por leucócitos mononuclear, constituído por macrófagos, linfócitos e plasmócitos, e a fibrose é proeminente¹³.

A inflamação possui dois componentes principais, as alterações vasculares e os eventos celulares. As alterações vasculares observadas na inflamação ocorrem na microcirculação sanguínea (arteríolas, capilares e vênulas), responsável por suprir nutrientes e oxigênio aos tecidos, além de remover resíduos indesejáveis. As alterações no fluxo e calibre vascular envolvem a vasoconstrição transitória, seguido de vasodilatação arteriolar causando aumento do fluxo sanguíneo e abertura dos leitos capilares, acarretando calor e eritema local. Com o aumento da permeabilidade vascular (normalmente causada por contração das células endoteliais), são formadas lacunas intercelulares nas vênulas pós-capilares, ocorrendo edema por extravasamento de líquido e proteínas para os tecidos.

Como consequência disso, surgem os eventos celulares da inflamação, que tem início com o processo de marginação leucocitária, causado por mudanças hemodinâmicas na circulação sanguínea^{14,15}. A perda de líquido da circulação para os tecidos aumenta a viscosidade sanguínea e diminui a velocidade da circulação; como as hemácias são menores e se deslocam mais rápido que os leucócitos, estes são empurrados para fora da coluna axial em direção ao endotélio vascular (marginação leucocitária). Isto permite que os leucócitos se acumulem ao longo da superfície endotelial e rolem sobre a sua superfície endotelial (rolamento). No rolamento, ocorre a adesão transitória dos leucócitos ao endotélio, atribuído a interações celulares mediadas pelas moléculas de adesão denominadas selectinas. Quando os leucócitos entram em contato com quimiocinas produzidas localmente, eles são estimulados a expressar receptores de alta afinidade, conhecidos como integrinas. Ao mesmo tempo, citocinas secretadas no local da inflamação (TNF- α , IL-1), ativam as células endoteliais que aumentam a expressão de ligantes de integrinas^{16,17}. A seguir acontece a adesão firme dos leucócitos ao endotélio (pavimentação), mediado pela expressão aumentada de selectinas e expressão de integrinas, com posterior migração dos leucócitos entre as junções intercelulares da região pós-capilar (diapedese ou transmigração), orientados pelas quimiocinas produzidas nos tecidos inflamados, que secretam metaloproteinasas que degradam a membrana basal dos vasos sanguíneos^{12,18-21}. A atração dos leucócitos que saíram do interior do vaso sanguíneo para

o foco inflamatório ocorre por gradiente químico formado por peptídeos bacterianos com terminal N-formilmetionina, interleucina-8 (IL-8), C3a e C5a (componentes do Sistema Complemento), e leucotrieno B₄ (LTB₄) gerado pela via da lipoxigenase do ácido araquidônico²². A ligação destas substâncias a superfície dos leucócitos acarreta a contração do citoesqueleto e projeção de pseudópodes que se ancoram na matriz extracelular (MEC) que puxa a célula em direção a projeção¹⁵. Os leucócitos expressam na sua superfície diferentes classes de receptores como o TLR-4, que reconhece o LPS bacteriano, e receptores transmembrana acoplados a proteína G-7, que reconhecem peptídeos bacterianos. Uma vez que tenham sido recrutados para o local da inflamação, os leucócitos são ativados para exercer suas funções: fagocitose; liberação de enzimas lisossomais e geração de espécies reativas do oxigênio e nitrogênio; síntese de citocinas e metabólitos do ácido araquidônico^{23,24}.

A fagocitose por sua vez, ocorre em três etapas: reconhecimento e fixação do micróbio; engolfamento; destruição e degradação do micróbio. O processo de reconhecimento e fixação é facilitado pela presença de receptores para a porção Fc dos anticorpos (Fc γ R), para C3b e iC3b do Sistema Complemento (CR1, CR2, CR3) na superfície dos leucócitos. A seguir ocorre o engolfamento, onde os pseudópodes dos leucócitos se estendem ao redor do micróbio, formando um vacúolo fagocítico (fagossomo), que é fundido com a membrana dos lisossomos, gerando o fagolisossomo. Dentro do fagolisossomo ocorre a produção de espécies reativas do oxigênio (ânion superóxido, radical hidroxila, peróxido de hidrogênio) pela ativação do complexo NADPH oxidase, e liberação de enzimas lisossomais (proteases ácidas e neutras, elastase), causando a morte e destruição do micróbio²⁵.

A resposta inflamatória aumenta o fluxo linfático, levando antígenos, macrófagos e células dendríticas para os linfonodos de drenagem local. Estas células expressam moléculas de adesão (ICAM-1, LFA-3) e co-estimulatórias (B7-1/B7-2) importantes para o sucesso da apresentação de antígenos aos linfócitos T CD4. Conforme o padrão de citocinas e outros mediadores químicos gerados no tecido inflamado, são desencadeadas respostas imunes adaptativas distintas²⁶.

Moléculas de adesão

As selectinas são proteínas de membrana de cadeia única que contém um domínio extracelular amino-terminal (N-terminal) do tipo lectina. A família das lectinas é formada por três membros, a L-selectina (CD62-L), expresso na superfície dos leucócitos, P-selectina (CD62-P) na superfície do endotélio e das plaquetas, e E-selectina (CD62-E) na superfície das células endoteliais²⁷. As selectinas reconhecem e se unem por meio do domínio lectina a carboidratos que se encontram conjugados a proteínas transmembrana presentes na superfície dos leucócitos (P-selectina, L-selectina) ou endotélio vascular (E-selectina). Os carboidratos que interagem de forma mais efetiva com as selectinas são as formas sialiladas e fucilizadas do tetrassacarídeo sialil LewisX (sLex) e seu isômero sialil Lewis a (sLea). A interação das selectinas com seus ligantes possui afinidades extremamente

baixas, permitindo a adesão dos leucócitos ao endotélio, que são impulsionados pelo fluxo sanguíneo^{15,27,28}.

As integrinas correspondem a um grupo de moléculas heterodiméricas constituídas por duas subunidades polipeptídicas transmembrana denominadas cadeia α ou β . Até o momento, foram descritos 24 heterodímeros de integrinas, compostos por 18 tipos de cadeia α e 8 tipos de cadeia β . Apesar da maior parte das cadeias α e β das integrinas correspondem a antígenos de diferenciação leucocitária, somente as integrinas da subfamília $\beta 2$ são usualmente designadas com a nomenclatura correspondente a tais antígenos, como $\beta 2=CD18$, $\alpha L=CD11a$, $\alpha M=CD11b$, $\alpha X=CD11c$ e $\alpha D=CD11d$ ^{15,29}.

A subfamília $\beta 2$ (beta-2-integrina) consiste de uma cadeia $\beta 2$ ligada à cadeia αL (CD11a/CD18; LFA-1 ou antígeno associado a função leucocitária-1), αM (CD11b/CD18; Mac-1 ou antígeno macrófágico-1), αX (CD11c/CD18, p150,95 ou proteína 150,95) e αD (CD11d/CD18, $\alpha D \beta 2$). As integrinas da subfamília $\beta 2$ são encontradas exclusivamente em leucócitos, podendo atuar como mediadoras da união dos leucócitos as células endoteliais por meio de ligações heterotípicas com moléculas da superfamília das imunoglobulinas¹⁷. A subunidade CD11a é expressa em altas quantidades em linfócitos B e T, e baixas quantidades em monócitos, macrófagos e neutrófilos. Além de favorecer a adesão leucócito-endotélio, o complexo CD11a/CD18 capacita os linfócitos T CD8 a aderir à superfície das células alvo. A subunidade CD11b é expressa na superfície de monócitos, neutrófilos e subpopulações de linfócitos T, e o complexo CD11b/CD18 que é responsável pela adesão, quimiotaxia e fagocitose. A expressão de CD11c é restrita a leucócitos derivados da linhagem mieloide, células NK e subpopulações de linfócitos T e B. O complexo CD11c/CD18 participa do processo de ligação a partículas opsonizadas por iC3b, citotoxicidade mediada por linfócitos T CD8

e quimiotaxia de células da linhagem mieloide. O complexo CD11d/CD18 é expresso de forma restrita a macrófagos e linfócitos^{7,30,31} (Tabela 1).

As integrinas $\beta 1$ e $\beta 2$ interagem fortemente com seus ligantes no endotélio, que correspondem às moléculas ICAM-1 e ICAM-2 que se ligam a LFA-1 (CD11a/CD18) na superfície dos leucócitos; ICAM-1 que se liga a Mac-1 (CD11b/CD18) na superfície dos neutrófilos e monócitos; e VCAM-1 que se liga a VLA-4 na superfície dos linfócitos, monócitos e eosinófilos²⁷. O resultado final é a adesão estável dos leucócitos nas células endoteliais e subsequente passagem pelas junções intercelulares.

Patogênese e manifestações clínicas

A primeira síndrome de LAD foi descrita há mais de 30 anos³², e suas principais características são infecções recidivantes graves e indolentes, primariamente localizados na pele e mucosas, podendo ou não apresentar lesões superficiais eritematosas que podem progredir para ulceração e celulite sem presença de pus. Sítios de infecção com frequência progridem e podem ocasionar disseminação sistêmica dos microorganismos. A resolução das infecções e a cicatrização ocorrem de forma lenta, levando ao surgimento de escaras.

Os trabalhos iniciais apontaram uma deficiência uniforme na baixa expressão de integrinas leucocitárias (Mac-1, LFA-1, p150,95), sugerindo que o defeito primário envolvesse a subunidade $\beta 2$ das integrinas, codificada por gene localizado no braço longo do cromossomo 21q22.333. Subsequentemente, outros defeitos genéticos envolvendo as $\beta 2$ -integrinas foram descritos, a despeito da expressão normal de CD18. A LAD-I foi descrita inicialmente na década de 80 em crianças que apresentavam leucocitose, mobilidade diminuída de neutrófilos, queda tardia do coto umbilical e infecções agudas

Tabela 1 - Moléculas ausentes na superfície de leucócitos na LAD-1 e suas propriedades

Molécula	LFA-1	Mac-1 ou CR3	Gp 150/95 ou CR4
Grupo de designação	CD11a/CD18	CD11b/CD18	CD11c/CD18
Composição da subunidade	aLb2	aMb2	aXb2
Massa molecular (kDa)			
Cadeia α	175.000	165.000	150.000
Cadeia β	95.000	95.000	95.000
Expressão na superfície	Linfócitos, monócitos, macrófagos, neutrófilos, NK	Monócitos, macrófagos, neutrófilos, NK	Monócitos, macrófagos, neutrófilos
Ligante	ICAM-1 (CD54); ICAM-2 (CD102)	iC3b	iC3b
Função	Diapedese, citotoxicidade mediada por linfócitos T CD8, formação de conjugado T-B, citotoxicidade celular dependente de anticorpo	Opsonização, aderência de neutrófilos ao endotélio, agregação de neutrófilos, quimiotaxia de neutrófilos	Aderência de neutrófilos ao endotélio, agregação de neutrófilos

de repetição cujos neutrófilos não expressavam o antígeno leucocitário de superfície Lp95-150, confirmado pelo uso de anticorpos monoclonais para a molécula CD18 na superfície dos leucócitos^{4,7}. Através de clonagem do cDNA de CD18, inúmeras mutações foram descritas no gene codificador da molécula CD18 localizado no cromossomo 21q22.3 e, até o momento, mais de 40 mutações tem sido descritas, incluindo mutação missense, nonsense, splice site, inserção e deleção. O acometimento dos genes *ITGB2* e *FLJ11320* foi descrito em um grupo de pacientes com a doença. Em casos de ausência de consanguinidade, pacientes com LAD-I apresentam mutações distintas nos alelos para CD1834.

A LAD-I é uma enfermidade autossômica recessiva que acomete um em cada 1×10^6 indivíduos, causada por mutações que envolvem o gene *ITGB2* que codifica a cadeia comum CD18 que forma um heterodímero com CD11, expresso na superfície de neutrófilos e outros leucócitos^{34,35}. Na LAD-I, mutações no gene que codificam a molécula CD18 causam falha na formação do heterodímero e transporte da subunidade CD11 para a superfície celular, a despeito da síntese normal do precursor da subunidade CD11. Desta forma, o defeito envolvendo a molécula CD18 resulta na incapacidade de expressão de todas as quatro subunidades de CD11 (CD11a, CD11b, CD11c, CD11d) na superfície dos leucócitos^{12,14,18} (Figura 1). Por conseguinte, as integrinas da subfamília $\beta 2$ estão ausentes ou em quantidades inferiores a 5% na superfície dos leucócitos. Como os monócitos e neutrófilos expressam todos os três membros da família de integrinas $\beta 2$, LFA-1, Mac-1 e gp150.95, isso inabilita neutrófilos e monócitos a aderirem à parede dos vasos sanguíneos, resultando em um profundo defeito na mobilização leucocitária para o sítio extravascular, e o acúmulo de leucócitos nos sítios de migração torna-se reduzido. Biópsias de tecidos infectados demonstram que a inflamação é totalmente desprovida de neutrófilos e é constantemente observada uma leucocitose no sangue periférico (5 a 20 vezes maior que os valores normais)³⁶. Pacientes com LAD-1, durante crises infecciosas agudas exibem leucocitose com contagens superiores a 100.000 leucócitos/ml de sangue³⁴.

Uma vez que as células T ativadas expressam na sua superfície a integrina $\beta 1$ VLA-4, a sua interação com VCAM-1 é suficiente para que os linfócitos T migrem e exerçam suas funções efetoras. A resposta mitógena para PHA e Con-A necessita de interações celulares envolvendo LFA-1 com ICAM-1 e VLA-4 com VCAM-1, isto pode levar a uma resposta proliferativa diminuída de linfócitos T em pacientes com LAD-I. Como os linfócitos B são dependentes da integrina $\alpha 4\beta 7$, para realizar adesão celular, sua migração não é afetada na LAD-I³⁸.

Foram descritas até o momento mais de 300 crianças com essa enfermidade, cujo quadro clínico é acompanhado de onfaloflebite, queda tardia do coto umbilical, infecções bacterianas recorrentes localizadas inicialmente na pele e superfície mucosa, gengivite e periodontite crônica, leucocitose e alta taxa de mortalidade durante os primeiros anos de vida^{34,35}. A gravidade das complicações clínicas das infecções em pacientes com LAD-I aparenta estar diretamente relacionado ao grau da deficiência de expressão da molécula

CD18. Duas formas clínicas ou fenotípicas foram descritas para a enfermidade, a forma grave e a forma moderada. Pacientes com menos de 2% de expressão normal de CD18 na superfície dos leucócitos exibem a forma grave da doença, apresentando episódios graves de infecção e evoluindo ao óbito, a menos que seja realizado transplante alogênico de células hematopoiéticas. As formas moderadas da doença, cuja expressão de CD18 encontra-se ao redor de 2-10% apresentam maior expectativa de vida e os portadores desta enfermidade podem atingir a maturidade. Estes pacientes podem atingir a fase adulta com tratamentos à base de antibióticos em episódios de infecção³⁷. Crianças que sobrevivem à infância normalmente apresentam periodontite e gengivite recorrente, devido à incapacidade dos neutrófilos migrarem diariamente para a cavidade oral³⁹, o que acarreta em uma proliferação do tecido gengival e perda do osso alveolar e dentes, necessitando de antibióticoterapia profilática⁴⁰.

As lesões superficiais encontradas em pacientes com LAD-I são eritematosas, pequenas, não purulentas que podem progredir para ulceração e celulite sem presença de pus. A progressão e resolução desses eritemas ocorrem de forma lenta, levando ao surgimento de escaras. Durante o período neonatal, septicemia ou difusão da infecção para a cavidade abdominal pode ocorrer como complicação de uma onfaloflebite ou queda tardia do coto umbilical (período acima de 21 dias)³⁹.

As infecções são normalmente observadas logo após o nascimento e complicações como celulite facial ou cervical, além de paralisia do nervo facial sinusite e pneumonia são comuns. Otite recorrente, sinusite e pneumonia são frequentes, bem como casos de abscessos periretais e celulite perineal, que podem evoluir para peritonite e septicemia, como complicação do surgimento de fístulas intestinais causadas por infecções bacterianas do trato intestinal. Apendicite, enterocolite necrosante, ulceração intestinal, infecção da traqueia, esofagite por *Candida albicans* e gastrite erosiva são frequentemente reportados nestes pacientes³³. Um amplo espectro de infecções por bactérias gram positivas e gram negativas são relatados, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e enterobactérias. A capacidade de lidar com bactérias piogênicas apresenta-se comprometida em função do papel de opsonização por C3b e iC3b e seu reconhecimento por Mac-1 ou CR3 (CD11bCD18) na superfície dos neutrófilos. O papel de gp150.95 ou CDR4 (CD11cCD18) é menos compreendido, mas tendo em vista que este receptor se liga a fragmentos do complemento e estimula a fagocitose, possuindo um papel significativo na ingestão de bactérias por macrófagos^{4,9,11,29,34,35,37,40}.

Em contraste as suas dificuldades de defesa contra microrganismos de natureza bacteriana ou fúngica, pacientes com LAD-I não exibem uma grande susceptibilidade a infecções virais ou resposta adversa a protocolos vacinais utilizando agentes vivos atenuados^{4,5,8,9,11,41}.

Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico da doença é realizado baseado em critérios estabelecidos pelo ESID e PAGID, que incluem como diagnós-

tico provável, o acometimento de homens e mulheres com redução da expressão de CD18 em neutrófilos (menos que 5% do normal) acompanhado dos seguintes achados; infecção bacteriana ou fúngica de repetição ou persistente, leucocitose acima de 25.000 leucócitos/mm³ de sangue, retardo na queda do coto umbilical ou cicatrização prejudicada. Como diagnóstico definitivo, os critérios incluem acometimento de homens e mulheres com redução da expressão de CD18 em neutrófilos (menos de 5% do normal) acompanhados de mutação do gene para beta-2-integrina e ausência de RNA mensageiro para beta-2-integrina em leucócitos⁴².

A diversidade dos defeitos genéticos levou a identificação de cinco subtipos de LAD-I (I a V), baseado na quantidade de RNA mensageiro de CD18, tamanho e quantidade da proteína CD18 precursora e fenótipo resultante. Mutações pontuais que acarretam em síntese de proteínas defeituosas, com substituições de um único aminoácido, enquanto outros ocasionando defeitos de *splicing*, resultando na produção de proteínas truncadas e instáveis também foram identificados⁴³.

Pacientes do subtipo I não são capazes de produzir RNA mensageiro para CD18, não apresentam precursor de CD18 e apresentam fenótipo clínico grave; pacientes com o subtipo II apresentam baixos níveis de RNA mensageiro, traços de proteína precursora e moderado fenótipo clínico; pacientes com o subtipo III apresentam níveis normais de RNA mensageiro, pequenas quantidades da proteína precursora aberrante e moderado fenótipo clínico. A baixa quantidade de CD18 produzida pelos subtipos II e III é suficiente para a expressão de 3 a 10% da quantidade normal do complexo $\alpha\beta$ maduro na superfície dos leucócitos, e moderado fenótipo clínico. Pacientes com o subtipo IV apresentam quantidades normais de RNA mensageiro, grandes quantidades da proteína precursora aberrante e grave fenótipo clínico, ao passo que pacientes com o subtipo V possuem quantidades normais de RNA mensageiro, proteína precursora de tamanho normal e moderado ou grave fenótipo clínico. A expressão destes dois fenótipos clínicos em pacientes com a forma V de LAD-I sugere o envolvimento de mutações distintas neste subgrupo. Pacientes heterozigotos apresentam aproximadamente metade da expressão do complexo CD11/CD18 na superfície dos neutrófilos e linfócitos e normalmente não apresentam alterações clínicas significativas^{4,5,8,9,11,41}.

Uma das formas de se diagnosticar esta enfermidade consiste na aplicação de uma janela cutânea de Rebuck, onde um pequeno pedaço de pele do antebraço é retirado e uma lamínula é colocada sobre o local. Após duas horas, a lamínula é retirada e substituída por outra a cada duas horas até totalizar 8 horas. A seguir, é realizada a contagem de células aderidas à lamínula. Em uma situação normal, os monócitos começam a surgir em 4 horas, e, após 8 horas, à lamínula encontram-se aderidos predominantemente monócitos⁴⁴.

A utilização de testes *in vitro*, como ensaio de quimiotaxia e aderência de leucócitos é recomendado, tendo em vista que a citometria de fluxo pode detectar a expressão de CD18 na superfície dos leucócitos (Figuras 2 e 3) mesmo na presença de mutação no DNA sendo assim capaz de identificar uma perda de função do heterodímero CD11/CD18.

O diagnóstico gestacional pode ser realizado através da pesquisa de CD18 em células de cordão umbilical ou biópsia coriônica com posterior análise mutacional⁴⁵. O tratamento de pacientes com LAD-1 está diretamente ligado com a gravidade do quadro clínico. A utilização contínua e prolongada de antibióticos diminui a frequência de infecções, embora não elimine a possibilidade de surgimento de episódios graves de infecção. A terapia com IFN- γ recombinante humano também tem sido preconizada, embora com sucesso relativo⁴⁶.

Durante episódios graves de infecção, pode ser realizada a infusão de granulócitos, acompanhada de antibióticoterapia agressiva e o tratamento curativo mais aceito e utilizado no presente compreende o transplante de células tronco hematopoiéticas. O transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas é recomendado para todos os pacientes que apresentam a forma grave da enfermidade, ou em pacientes com a forma moderada que apresentam diminuição na qualidade e expectativa de vida. Estudos recentes envolvendo 36 pacientes demonstraram taxa de sobrevivência de 75% com os melhores resultados de doadores de células de medula óssea com HLA-compatível aos pacientes⁴⁷. O transplante alogênico em pacientes com LAD-1 normalmente é acompanhado de doença do enxerto *versus* hospedeiro, quando comparados com outras enfermidades⁴⁸.

Outra possibilidade de tratamento de pacientes com LAD-I consiste na utilização da terapia gênica somática. Os procedimentos para a realização de um protocolo de terapia gênica envolvem a introdução do gene de interesse no organismo alvo. Inicialmente, deve-se isolar o gene e seus elementos regulatórios, que devem ser introduzidos em um vetor, que pode ou não se integrar ao genoma da célula hospedeira. Os vetores podem ser de dois tipos: o plasmidial, onde o gene é introduzido em um plasmídeo de expressão eucariota, promovendo a síntese da proteína desejada na célula ou tecido alvo; ou a forma viral, onde o gene é introduzido em um vírus atenuado incapaz de causar doença. A partir disto, inúmeras tentativas de transfecção gênica foram realizadas células da linhagem mielóide em seres humanos⁴⁹⁻⁵¹. Em 1999, dois pacientes com LAD-1 foram tratados com terapia gênica somática, onde suas células precursoras obtidas a partir de sangue periférico (CD34) foram tratadas com um vetor retroviral contendo cDNA para CD18, e depois reintroduzidas nos pacientes. Células CD18 positivas foram encontradas no sangue periférico duas semanas depois da infusão, porém estas desapareceram 63 dias após, demonstrando a instabilidade deste vetor⁵². Apesar da terapia gênica ainda ser ineficiente em humanos, estudos envolvendo vetores virais em modelo canino de LAD se mostraram promissores, podendo futuramente se tornar efetivo para o tratamento de LAD-I humana⁵³.

Discussão

O tráfego de leucócitos da corrente sanguínea para o tecido é um evento fisiológico importante que visa à vigilância contínua da presença de antígenos externos, bem como para o rápido acúmulo de leucócitos em locais de resposta inflamatória ou de lesão tecidual. A migração dos leucócitos para locais de inflamação é um processo dinâmico que envol-

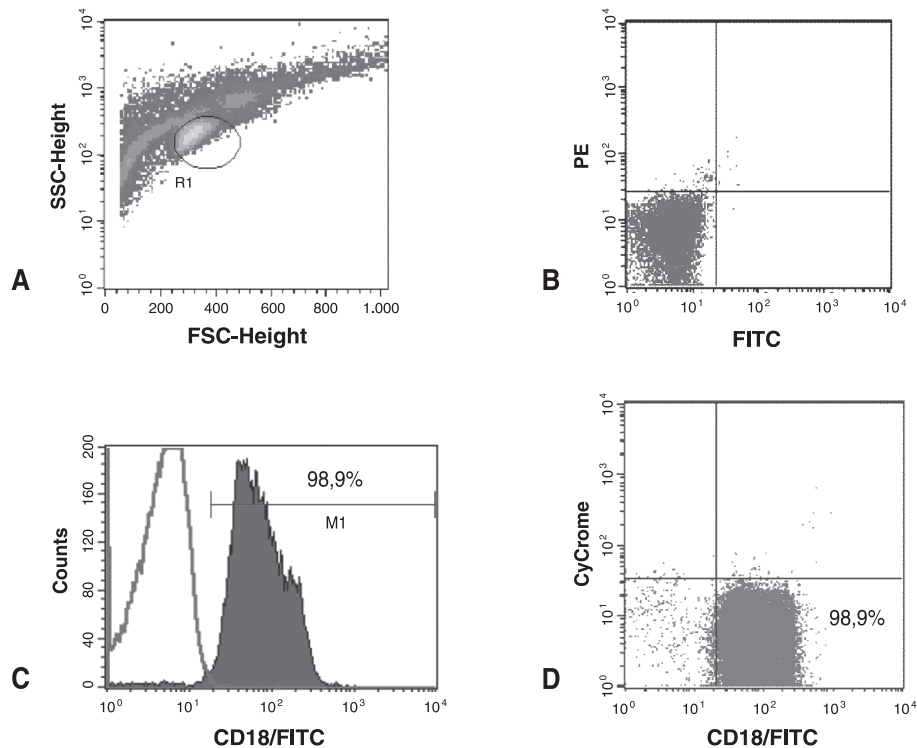


Figura 2 - Citometria de fluxo positiva para CD18 (indivíduo normal)*

* Representação do *Densit plot* (A), com janela de aquisição (R1) para linfócitos. B: *Dot plot* do isotipo. C: histograma. D: *Dot plot* de células marcadas positivamente para CD18/FITC

ve várias etapas em cascata acarretando na adesão. Essas etapas devem ser precisamente orquestradas para garantir uma resposta rápida, com o mínimo de dano ao tecido saudável. A interação dos leucócitos com as células do endotélio vascular é um evento crucial durante a resposta inflamatória e é mediada por diversas famílias de moléculas de adesão. O papel crucial da subfamília das beta-2-integrinas na migração de leucócitos foi estabelecido após a descoberta da LAD-I. A gravidade das infecções em pacientes com LAD-I parece estar diretamente relacionada com o grau de deficiência de CD18. Pacientes com menos de 2% da expressão normal da molécula de superfície exibem uma forma grave da doença, muitas vezes causando a morte ainda na infância, enquanto pacientes com alguma expressão de CD18 de superfície (2,5-10%) manifestam um fenótipo moderado à suave com menos eventos de infecções graves e normalmente sobrevivem até a idade adulta. Em sua forma mais grave, a morte geralmente ocorre na infância, a menos que transplante de medula óssea seja realizado. A análise a nível genético da LAD-I demonstrou que esta imunodeficiência é uma desordem hereditária autossômica recessiva causada por diferentes tipos de mutações no gene codante para a cadeia comum (CD18) da família das beta-2-integrinas, levando

a ausência ou expressão deficiente das beta-2-integrinas (heterodímero de CD18 e a família de glicoproteínas CD11) na superfície dos leucócitos como o antígeno associado à função leucocitária tipo 1 (LFA-1 ou CD11a/CD18), Mac-1 ou CR3 (CD11b/CD18) e p150,95 ou CR4 (CD11c/CD18). Este defeito genético acarreta ausência ou expressão deficiente do heterodímero CD18/CD11 na superfície dos leucócitos, crítico no processo de adesão destas células ao endotélio vascular e células epiteliais, fagocitose de partículas estranhas e atividade secretória dos leucócitos associada com adesão a superfícies. Apesar da marcante leucocitose observada nestes pacientes, os neutrófilos não são capazes de se acumular em tecidos extravasculares inflamados, incapazes de aderir e atravessar o endotélio pós-capilar em resposta a estímulos quimioatrativos. Conseqüentemente, ocorre o acúmulo de células na circulação sanguínea e o surgimento de infecções agudas que se transformam em infecções de repetição, além de ser observado um retardo na cicatrização de feridas.

O diagnóstico de LAD-I inclui redução da expressão de CD18 em leucócitos acompanhados de infecção bacteriana ou fúngica de repetição ou persistente, leucocitose acima de 25.000 leucócitos/mm³ de sangue, retardo na queda do

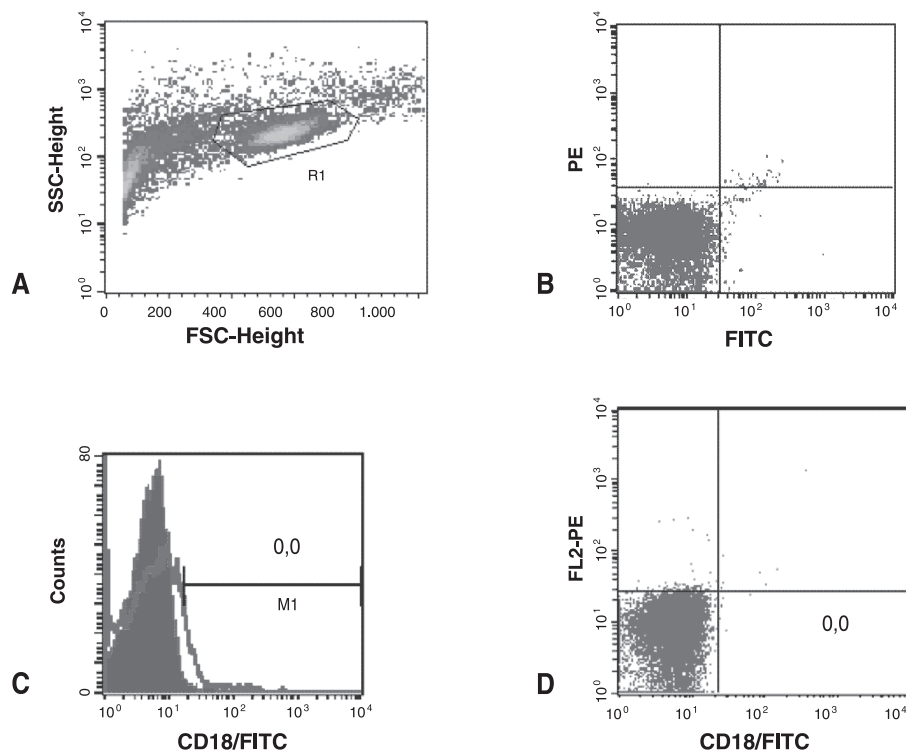


Figura 3 - Citometria de fluxo negativa para CD18 (paciente com LAD-1)*

* Representação do *Densit plot* (A), com janela de aquisição (R1) para linfócitos. B: *Dot plot* do isotipo. C: histograma. D: *Dot plot* de células negativas para CD18/FITC

coto umbilical ou cicatrização prejudicada, mutação do gene para beta-2-integrina e ausência de RNA mensageiro para beta-2-integrina em leucócitos. O tratamento de pacientes com LAD-1 consiste na utilização de antibióticos, terapia com IFN- γ recombinante humano, infusão de granulócitos e transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas. Estudos envolvendo vetores virais podem futuramente se tornar efetivos para o tratamento de LAD-I. Dessa forma pode-se concluir que a molécula CD18 apresenta um papel importante na imunidade e resposta inflamatória.

Referências

- Luadanna V, Cybulsky MI, Nourshargh E, Ley K. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade up to date. *Nat Rev Immunol* 2007;7:790-802.
- Abram CL, Lowell CA: The ins and outs of leukocyte integrin signaling. *Ann Rev Immunol* 2009;27:339-62.
- Wagner DD, Frenette FS: The vessel wall and its interaction. *Blood* 2008;111:5271-81.
- Anderson DC, Schmalstieg FC, Finegold MJ, Huges BJ, Rothlein R, Miller LJ, et al. The severe and moderate phenotypes of heritable Mac-1, LFA-1 deficiency; their quantitative definition and relation to leukocyte dysfunction and clinical features. *J Infect Dis* 1985;152:668-89.
- Anderson DC, Springer TA. Leukocyte adhesion deficiency: an inherited defect in the Mac-1, LFA-1, and p150,95 glycoproteins. *Annu Rev Med* 1987;38:175-94.
- Larson RS, Springer TA. Structure and function of leukocyte integrins. *Immunol Rev* 1990;114:181-217.
- Gahmberg CG, Tolvanen M, Kotovuori P. Leukocyte adhesion: structure and function of human leukocyte β 2-integrins and their cellular ligands. *Eur J Biochem* 1997;245:215-32.
- Springer TA, Thompson WS, Miller LJ, Schmalstieg FC, Anderson DC. Inherited deficiency of the Mac-1, LFA-1, p150,95 glycoprotein family and its molecular basis. *J Exp Med* 1984;160:1901-18.
- Kohl S, Springer TA, Schmalstieg FC, Loo LS, Anderson DC. Defective natural killer cytotoxicity and polymorphonuclear leukocyte antibody-dependent cellular cytotoxicity in patients with LFA-1/OKM-1 deficiency. *J Immunol* 1984;133:2972-8.
- Law SK, Gagnon J, Hildreth JE, Wells CE, Willis AC, Wong AJ. The primary structure of the β subunit of the cell surface adhesion glycoproteins LFA-1, CR3 and p150,95 and its relationship to the fibronectin receptor. *EMBO J* 1987;6:915-9.
- Etzioni A. Leukocyte adhesion deficiencies: molecular basis, clinical findings and therapeutic options. *Adv Exp Med Biol* 2007;601:51-60.
- Rosen SD. Ligands for L-selectin: homing, inflammation, and beyond. *Annual Rev Immunol* 2004;22:129-56.
- Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad, and the ugly. *Trends Cell Biol* 2005;15:599-607.

14. Burns AR, Smith CW, Walker DC. Unique structural features that influence neutrophil emigration into the lung. *Physiological Rev* 2003;83:309-36.
15. Simon SI, Green CE. Molecular mechanics and dynamics of leukocyte recruitment during inflammation. *Annu Rev Biomed Eng* 2005;7:151-85.
16. Biedermann BC. Vascular endothelium: checkpoint for inflammation and immunity. *News Physiol Sci* 2001;16:84-8.
17. Kim CH. The greater chemotactic network for lymphocyte trafficking: chemokines and beyond. *Curr Opin Hematol* 2005;12:298-304.
18. Luster AD, Alon R, Von Andrian UH. Immune cell migration in inflammation: present and future therapeutic targets. *Nat Immunol* 2005;6:1182-90.
19. Nourshargh S, Marelli-Berg FM. Transmigration through venular walls: a key of leukocyte phenotype and function. *Trends Immunol* 2005;26:157-65.
20. Langer HF, Chavakis T. Leukocyte-endothelial interaction in inflammation. *J Cell Mol Med* 2009;13:1211-20.
21. Davis, D.M. Mechanisms and functions for the duration of intercellular contacts made by lymphocytes. *Nat Rev Immunol* 2009;9:543-55.
22. Funk CD. Prostaglandins and leukotriens: advances in eicosanoid biology. *Science* 2001;294:1871-5.
23. Baggiolini M. Chemokines in pathology and medicine. *J Inter Med* 2001;250:91-104.
24. Booth JW, Trimble WS, Grinstein S. Membrane dynamics in phagocytosis. *Semin Immunol* 2001;13:357-64.
25. Underhill DM, Ozinsky A. Phagocytosis of microbes: complexity in action. *Annu Rev Immunol* 2002;20:825-52.
26. Watts C, Amigorena S. Phagocytosis and antigen presentation. *Semin Immunol* 2001;13:373-9.
27. Barkhausen T, Krettek C, van Griensven M. L-selectin: adhesion, signaling and its importance in pathologic posttraumatic endotoxemia and non-septic inflammation. *Exp Toxicol Pathol* 2005;57:39-52.
28. Wagner JG, Roth RA. Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacol Rev* 2000;52:349-74.
29. Arnaout MA. Leukocyte adhesion molecules deficiency; its structural basis, pathophysiology and implications for modulating the inflammatory response. *Immunol Rev* 1990;114:145-80.
30. Dana N, Fathalah DM, Arnaout MA. Expression of a soluble and functional form of the human $\beta 2$ integrin CD11b/CD18. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:3106-10.
31. Cabanas C, Sanchez-Madrid F. CD11c (leukocyte integrin CR4 alpha subunit). *J Biol Regul Homeost Agents* 1999;13:134-6.
32. Anderson DC, Hughes GJ, Smith CW. Abnormal mobility of neonatal polymorphonuclear leukocytes. Relationship to impaired redistribution of surface adhesion sites by chemoattractant factor of colchicine. *J Clin Invest* 1981;68:863-74.
33. Crowley CA, Curnutte JT, Rosin RE, Andre-Schwartz J, Gallin JI, Klempner M, et al. An inherited abnormality of neutrophil adhesion. Its genetic transmission and its association with a missing protein. *N Engl J Med* 1980;302:1163-8.
34. Etzioni A. Genetic etiologies of leukocyte adhesion defects. *Curr Opin Immunol* 2009;21:481-6.
35. Etzioni A. Defects in the leukocyte adhesion cascade. *Clin Rev Allergy Immunol* 2010;38:54-60.
36. Hawkins HK, Heffelfinger SC, Anderson DC. Leukocyte adhesion deficiency: clinical and postmortem observations. *Pediatr Pathol* 1992;12:119-30.
37. Pribila JT, Quale AC, Mueller KL, Shimizu Y. Integrins and T cell-mediated immunity. *Ann Rev Immunol* 2004;22:157-80.
38. Etzioni A. Leukocyte adhesion deficiencies: molecular basis, clinical findings and therapeutic options. *Adv Exp Med Biol* 2007;601:51-60.
39. Waldrop TC, Anderson DC, Hallmon WW, Schmalstieg FC, Jacobs RL. Periodontal manifestations of the heritable Mac-1, LFA-1, deficiency syndrome. Clinical, histopathologic and molecular characteristics. *J Periodontol* 1987;58:400-16.
40. Cox DP, Weather DR. Leukocyte adhesion deficiency type I: an important consideration in the clinical diagnosis of prepubertal periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:86-90.
41. Beatty PG, Ledbetter JA, Martin PJ, Price TH, Hansen JA. Definition of a common leukocyte cell-surface antigen (Lp95-150) associated with diverse cell-mediated immune functions. *J Immunol* 1983;131:2913-8.
42. Bonilla FA, Geha RS. Update on primary immunodeficiency diseases. *J Allerg Clin Immunol* 2006;117(Suppl):435-41.
43. Kishimoto TK, Hollander N, Roberts TM, Anderson DC, Springer TA. Heterogeneous mutations in the β subunit common to the LAF-1, Mac-1, and p150,95 glycoproteins cause leukocyte adhesion deficiency. *Cell* 1987; 50: 193-202.
44. Kuijpers TW, Kuijpers TW, Van Lier RA, Hamann D, de Boer M, Thung LY, et al. Leukocyte adhesion deficiency type-1 (LAD-1)/variant: a novel immunodeficiency syndrome characterized by dysfunctional $\beta 2$ integrins. *J Clin Invest* 1997;100:1725-33.
45. Lorusso F, Kong D, Jalil AK, Sylvestre C, Tan SL, Ao A. Preimplantation genetic diagnosis of leukocyte adhesion deficiency type I. *Fertil Steril* 2006;85:15-8.
46. Weening RS, Bredius RG, Vomberg PP, van der Schoot CE, Hoogerwerf M, Roos D. Recombinant human interferon gamma treatment in severe leukocyte adhesion deficiency. *Eur J Pediatr* 1992;151:103-7.
47. Qasim W, Cavazzan-Calvo M, Davies G, Davis J, Dunval M, Eames G, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for leukocyte adhesion deficiency. *Pediatrics* 2009;123:836-40.
48. Jiang S, Herrera O, Lechler RI. New spectrum of allorecognition pathways: implications for graft rejection and transplantation tolerance. *Curr Opin Immunol* 2004;16:550-7.
49. Wilson JM, Ping AJ, Krauss JC, Mayo-Bond L, Rogers CE, Anderson DC, et al. Correlation of CD18-deficient lymphocytes by retrovirus-mediated gene transfer. *Science* 1990;248:1413-6.
50. Bauer TR, Schwartz BR, Liles WC, Hickstein DD. Retroviral-mediated gene transfer of the leukocyte integrin CD18 into peripheral blood CD34+ cells derived from a patient with leukocyte adhesion deficiency type 1. *Blood* 1998;91:1520-6.
51. Bauer TJr, Hickstein DD. Gene therapy for leukocyte adhesion deficiency. *Curr Opin Mol Ther* 2000;2:383-8.
52. Bauer TR, Kiem H-PJr, Morris JC, Price TH, Ochs HD, Heimfeld S, et al. Retrovirus-mediated gene transfer of CD18 into peripheral blood stem cells in two patients with leukocyte adhesion deficiency. *Mol Ther* 2000;1:S297.
53. Bauer TR, Allen JM, Hai M, Tuschong LM, Khan IF, Olson EM, et al. Successful treatment of canine leukocyte adhesion deficiency by foamy virus vector. *Nat Med* 2008;14:93-7.

Correspondência:
 Antônio Condino Neto
 Av. Prof. Lineu Prestes, 1730
 Lab. Alergia e Imunodeficiências em Humanos,
 Dep. Imunologia, ICB-USP,
 CEP 05508-900 - São Paulo, SP
 E-mail: condino@icb.usp.br