



DOENÇAS DE ADESÃO LEUCOCITÁRIA

REBECCA SANTOS VIEIRA DA SILVA; JÚLIA OLIVEIRA DA SILVA; MARCELO SAMPAIO NARCISO

RESUMO

O objetivo da inflamação, a qual é deflagrada quando em contato com agentes patológicos, é eliminar a causa inicial da lesão, coordenar as reações do sistema imunológico inato, eliminar as células lesadas e os tecidos danificados para iniciar a sua reparação e restaurar a sua função. Para tanto, o acesso de leucócitos da corrente sanguínea aos tecidos agredidos e/ou danificados por diapedese é essencial para o advento de processos inflamatórios. Nesse sentido, esta revisão literária visa ressaltar os processos moleculares que definem como tais células participam não só deste quadro, mas também em diversos outros mecanismos importantes para a homeostase. No cenário destes eventos, destaca-se o papel das integrinas durante a diapedese de leucócitos em direção ao sítio inflamatório, sendo imprescindível para a prevenção de infecções fúngicas e bacterianas recorrentes, bem como para a cicatrização de feridas e desenvolvimento ósseo. Nesse contexto, as doenças caracterizadas como deficiências de adesão leucocitária (*leukocyte adhesion deficiencies*, LADs) surgem como distúrbios genéticos que afetam sobremaneira a vida dos indivíduos, interferindo o acesso dos leucócitos no âmbito tecidual. Nesta revisão, o foco incide sobre as LADs dos tipos I e III. No primeiro tipo, o defeito é a não-expressão de cadeias comuns do tipo beta 2 de integrinas (CD18) na membrana plasmática de leucócitos, sendo mais frequente, enquanto na segunda - muito mais rara - o defeito envolve a proteína kindlina-3 a qual, mesmo com a normalidade das integrinas na membrana plasmática de leucócitos, inviabiliza a sua ativação. Apesar de apresentarem suas particularidades, ambos os tipos de LAD possuem semelhanças quanto à sintomatologia, ao diagnóstico e ao tratamento. Infelizmente, há somente um único tratamento verdadeiramente eficaz, o que sugere que deveria haver novos investimentos para novas pesquisas e descobertas a fim de modificar o atual cenário epidemiológico dessas doenças.

Palavras-chave: integrinas; leucócitos; LAD I; LAD III; sistema imunológico.

1 INTRODUÇÃO

O estímulo da resposta inflamatória demanda um importante processo de migração leucocitária que garante a defesa do indivíduo contra patógenos invasores. Tal processo ocorre a partir de uma cascata de adesão que depende da expressão de diversas famílias de moléculas de adesão (CRUVINEL, 2010). Dentro desse contexto, diversas patologias podem ser descritas, entre as quais estão incluídas as deficiências de adesão leucocitária (*leukocyte adhesion deficiencies*, LADs), um conjunto de distúrbios autossômicos recessivos que alteram a expressão de moléculas de adesão na membrana plasmática de leucócitos, comprometendo assim o seu acesso da corrente sanguínea aos tecidos e, conseqüentemente a resposta imunológica, deixando o indivíduo mais suscetível a diversas infecções (VAN DE VIJVER et al., 2012).

As integrinas são glicoproteínas transmembranares compostas de duas subunidades (alfa e beta), associadas de modo não covalente. Os domínios extracelulares do heterodímero de integrina se ligam a domínios específicos de proteínas da matriz extracelular, tais como isoformas de laminina e de fibronectina, ou a ligantes presentes na superfície de células, como as selectinas expressas na membrana plasmática das células endoteliais dos vasos sanguíneos. As integrinas constituídas de subunidades beta 2, tais como CD11a/CD18 (também conhecidas como LFA-1), CD11b/CD18 (também conhecidas como CR3) e CD11c/CD18 (também conhecidas como CR4) - expressas quase exclusivamente na membrana plasmática de leucócitos - medeiam interações célula-célula, ao invés de interações célula-matriz (FERRAZ; FERNANDEZ, 2014). Especificamente, a LFA-1 (CD18/CD11) permite a ligação dos leucócitos à proteína ICAM de células endoteliais nos locais onde ocorre uma resposta inflamatória, permitindo a diapedese (FAGERHOLM et al, 2019). Desta forma, esse processo ocorre em condições de fluxo sanguíneo elevado e envolve a cascata de adesão leucocitária com sucessivas etapas, como rolamento, adesão firme, e extravasamento dos leucócitos para o tecido. É importante pontuar que essas integrinas, nesse contexto, são ativadas em sua porção citoplasmática, pela molécula chamada kindlina-3, uma proteína que permite sua ativação e conformação de afinidade alta, permitindo a estabilização dos leucócitos para a passagem para os tecidos.

Nesse contexto, em detrimento da atividade imunológica do indivíduo, a supressão ou comprometimento da função das integrinas beta 2 acarretam em raros distúrbios de imunodeficiência, dentre os quais destacam-se as LADs dos tipos I e III.

A deficiência de adesão leucocitária do tipo I (LAD-I) é um raro distúrbio com gravidade determinada por uma mutação na cadeia comum beta 2 (CD18) da família das integrinas beta 2, visto que há uma mutação no gene *ITGB2* (VAN DE VIJVER et al., 2012), responsável por sua codificação. Tal mutação impede a dimerização correta da cadeia CD18 com a molécula CD11 (CD18/CD11 ou LFA-1) na membrana plasmática de leucócitos, sobretudo de neutrófilos, prejudicando o alcance da conformação ativa da integrina e, conseqüente, a adesão leucocitária às superfícies endoteliais, processos essenciais ao extravasamento e deflagração da resposta imunológica e processos inflamatórios (VAN DE VIJVER et al., 2012). Como consequência, pacientes acometidos com LAD-I frequentemente apresentam leucocitose, justamente pelo impedimento à diapedese.

Conforme comentado, a efetiva adesão dos leucócitos à camada endotelial que reveste os vasos sanguíneos ocorre em uma sequência de eventos, incluindo o rolamento da célula ao longo da superfície endotelial luminal, adesão firme ou parada, com propagação/rastejamento ao longo de tal superfície, culminando na transmigração do leucócito através do endotélio (por via paracelular ou transcelular). Nesse contexto, o papel crucial da CD18 é durante o rastejamento, visto que o complexo do qual faz parte (LFA-1) atua como uma espécie de mecanossensor, sondando o endotélio em busca de pontos de saída adequados, seja por rota paracelular ou transcelular. Desta forma, não só a resposta imunológica do indivíduo estaria prejudicada, mas também diversas outras funções desempenhadas no organismo por integrinas do tipo beta 2, tais como restrição na sinalização a receptores de antígenos (BCR) em linfócitos B, regulação da ativação de linfócitos T por células dendríticas, e fagocitose, entre outros eventos associados a respostas imunológicas (FAGERHOLM et al, 2019).

Uma vez que a gravidade da LAD-I parece estar diretamente relacionada com o grau de expressão do CD18, considera-se a forma grave correspondente a uma baixíssima expressão de CD18 (inferior a 2%), enquanto que a forma moderada corresponde a uma expressão superior a 2%. Embora ambas as formas apresentem sintomas semelhantes, a taxa de mortalidade na forma grave é muito alta - ou seja, apresentando o pior prognóstico, onde cerca de 75% dos indivíduos afetados morrem na infância (COX; WEATHERS, 2008), com pacientes dificilmente atingindo a fase adulta sem uma intervenção terapêutica adequada

(NOVOA et al, 2018). Mais de 300 casos de LAD-I foram relatados nos últimos 50 anos, dos quais a manifestação mais grave de LAD-I representa quase o dobro do número de casos da forma mais moderada (NOVOA et al, 2018). Quanto às manifestações clínicas, estas consistem em infecções bacterianas e fúngicas, normalmente observadas logo após o nascimento, devido ao tráfego leucocitário reduzido no tecido inflamado. De acordo com revisões recentes (2018/2019), as infecções mais comumente observadas incluem onfalite, sepse, otite média, infecções no trato respiratório, e infecção periodontal (NOVOA et al, 2018; GORJIPOUR et al, 2019). Ressaltam-se ainda dificuldades de cicatrização de feridas, bem como separação tardia do cordão umbilical.

O diagnóstico provável se dá pela redução da expressão de CD18 acompanhada da sintomatologia característica, assim como também a evidência de infecções bacterianas ou fúngicas persistentes, além de exames laboratoriais que destacam a contagem de leucócitos acima do normal ($\geq 12.000/\mu\text{L}$; normal: $5000-13500/\mu\text{L}$), ou por exame de citometria de fluxo para determinação do nível de deficiência da LAD-I, baseando-se no uso de anticorpos para os antígenos associados a CD18 (COX; WEATHERS, 2008). O diagnóstico precoce se mostra definitivo para a submissão imediata ao tratamento, o qual atualmente se concentra no transplante de células-tronco hematopoiéticas, sendo o único tratamento viável no caso mais grave de LAD-I - ainda que ocorram taxas relativamente altas de mortalidade (NOVOA et al, 2018). Em uma revisão recente sobre a análise de casos de LAD-I, um paciente tratado com transplante de células-tronco hematopoiéticas veio a óbito devido a infecção e sepse em função das condições de imunossupressão (GORJIPOUR et al, 2019).

A deficiência de adesão leucocitária do tipo III (LAD-III) consiste numa rara doença em que, apesar da expressão normal das cadeias beta 2 das integrinas, estas exibem uma disfunção. Isso ocorre, sobretudo, devido à ocorrência de mutações no gene que codifica a proteína kindlina-3, a qual é responsável por regular o domínio citoplasmático da integrina e permitir a conformação de alta afinidade (FAGERHOLM et al, 2019). Assim, a mutação define um grave fenótipo uma vez que a ativação completa de integrinas é inviabilizada e, conseqüentemente, também inviabilizando a marginação de leucócitos para que a diapedese seja bem sucedida. Como resultado, os pacientes acometidos por essa doença - apesar de mais rara em relação à LAD-I, apresentam osteopetrose, visto que a kindlina-3 é essencial para que os osteoclastos (cuja origem é hematopoiética) exibam uma firme interação com às superfícies ósseas (ETZIONI, 2014).

Diante do exposto, vale pontuar que, dentro da cascata de adesão leucocitária para a diapedese, a etapa de rolamento dos leucócitos sobre a superfície endotelial ocorre normalmente. Assim, os leucócitos conseguem perceber sinais moleculares indutores da ativação das integrinas, como a interação com proteínas de membrana das células endoteliais, a exemplo de selectinas e ICAMs (ativação no sentido da região luminal em direção ao citoplasma da célula endotelial), ou como a percepção das quimiocinas do ambiente (ativação no sentido da superfície basal da célula endotelial em direção à superfície luminal) (FAGERHOLM et al, 2019). No entanto, no contexto da LAD-III, os leucócitos falham em responder a tais sinais e promover a ativação das integrinas; conseqüentemente, a etapa de adesão firme não ocorre. Isso acarreta em um prejuízo considerável para o status imunológico do indivíduo, uma vez que não somente a diapedese é dependente da ativação das integrina do tipo beta 2, mas também importantes processos, tais como fagocitose, regulação dos linfócitos T por células dendríticas, e agregação plaquetária.

Quanto às manifestações clínicas, elas se assemelham àquelas da LAD-I, em que há recorrentes infecções bacterianas e fúngicas, separação tardia do cordão umbilical, periodontite e retardo na cicatrização de feridas. Entretanto, além desses, destacam-se na LAD-III, intensas hemorragias, e portanto, mais fatais, podendo levar à morte neonatal, inclusive. Nesse quesito, a forma mais grave da LAD-III consiste na trombostenia de

Glanzmann (ETZIONI, 2014), na qual ocorre a mutação da integrina beta 3, responsável por ligar-se a proteínas de matriz extracelular, incluindo o fibrinogênio, e possibilitar o estancamento sanguíneo. Visto que a agregação plaquetária requer ativação de integrinas dos tipos beta 1 e beta 3, explica-se a gravidade da LAD-III, em que todas as integrinas têm ativação defeituosa. Outro fato importante a ser destacado é a ocorrência, na LAD-III, de osteopetrose; isso relaciona-se à proteína Kindlina-3, essencial para que os osteoclastos formem projeções citoplasmáticas de adesão dependentes de integrinas, caracterizadas como podossomas, sobre a superfície óssea. Sendo assim, a mutação no gene da Kindlina-3 e a sua não expressão inviabilizam a ação homeostática de osteoclastos, o que culmina em ossos densos devido à atenuada reabsorção (PENNA; VILLA; CAPO, 2021). Acerca do diagnóstico previsto em literatura, o sequenciamento do gene que codifica a proteína Kindlina-3 pode ser útil para a confirmação e montagem do histórico familiar. Além disso, a percepção da expressão normal de CD18 nos leucócitos, acompanhada de ausente ativação de integrinas, também é um parâmetro relevante. O único tratamento relatado promissor - ou seja, realmente fato curativo, com correção de todos os sintomas - foi o transplante de células-tronco hematopoiéticas, o qual deve ser feito o mais precocemente possível para evitar complicações (ETZIONI, 2014).

Tendo em vista os aspectos discutidos, o presente trabalho se justifica pela relevância do tema no contexto da clínica médica, visto que o reconhecimento e, conseqüentemente, o diagnóstico precoce - seja da LAD-I, seja da LAD-III - são essenciais para que se promova o tratamento terapêutico o quanto antes nos indivíduos acometidos com tal condição. Nesse parâmetro, esta revisão de literatura toma como objetivos norteadores elucidar os aspectos moleculares e patológicos, bem como facilitar a compreensão do desencadeamento das formas de LADs para, enfim, reforçar os mais adequados métodos de diagnóstico e tratamentos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para o embasamento teórico, por intermédio do levantamento de artigos, foram realizadas três pesquisas independentes na base de dados PubMed. Para a primeira pesquisa, foram usadas as palavras-chave *LAD AND β integrins*, para as quais foram encontrados 171 artigos. Para as palavras-chave *infection AND leukocyte adhesion deficiency type-1* foram encontrados 72 artigos. Finalmente, para a palavras-chave *leukocyte adhesion deficiency type-3* foram encontrados 15 artigos. Na base de Scholar Google, foram usadas as palavras-chave *Leukocyte adhesion defect type I AND Leukocyte adhesion defect type III AND β integrins AND Leukocyte Trafficking* e foram encontrados 9680 artigos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A deflagração do processo inflamatório é intrinsecamente necessária à proteção do indivíduo contra antígenos. Para que ocorra de forma bem sucedida, é nítida a importância das moléculas de adesão (vide Figura 1), as quais intermedeiam não só a diapedese de leucócitos para tecidos inflamados, mas também a fagocitose, a restrição na sinalização de receptores em linfócitos B, e a ativação de linfócitos T por células dendríticas, garantindo a plena competência imunológica. Nesse sentido, entender o que ocorre no ambiente próximo às células endoteliais é essencial, sobretudo a atividade de selectinas e quimiocinas e a estrutura de integrinas. Os diferentes tipos de integrinas, especificamente, têm sua expressão finamente regulada, além de serem ativadas em seu domínio citoplasmático para diferentes conformações que definem graduais níveis de afinidade com seus ligantes. Tamanho detalhamento no controle da diapedese evidencia a importância desse processo e, conseqüentemente, percebe-se que problemas em qualquer etapa pode significar uma forte ameaça à integridade do

indivíduo.

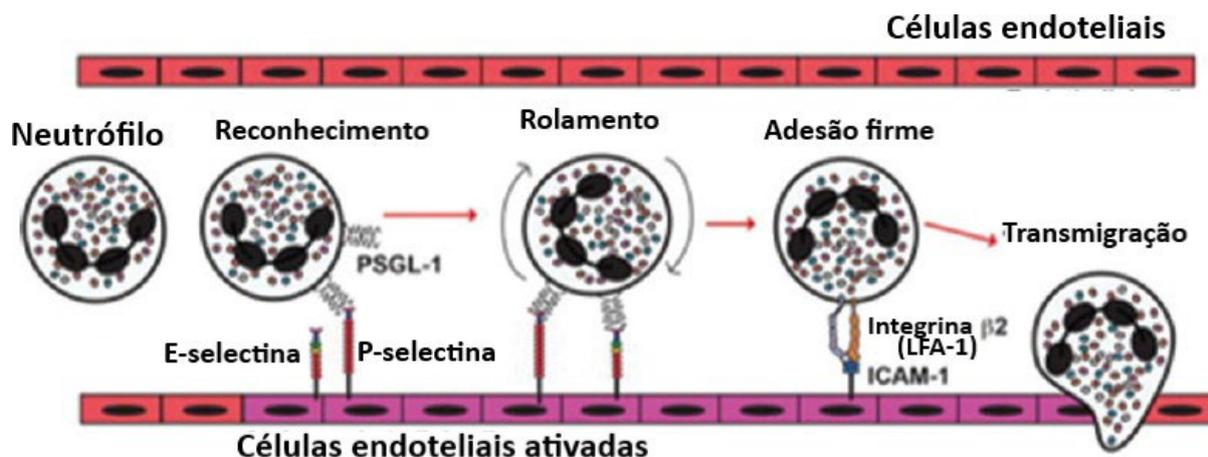


Figura 1: Processo de adesão leucocitária. Esquema demonstrando as etapas de interações entre leucócitos (por ex., neutrófilo) e o endotélio vascular para a ocorrência da diapedese, evidenciando os processos de adesão leucocitária, rolamento, adesão firme, e extravasamento dos leucócitos para o tecido. Adaptado a partir de Roli Singh, Preeti Sharma, Vijay Wadhawn, Neutrophils defending the defenders.

Dentre as doenças relacionadas à migração leucocitária, as deficiências de adesão leucocitária, as quais podem se manifestar de diferentes formas, se mostram as mais preocupantes. A LAD-I consiste em uma mutação que limita a expressão da cadeia CD18, componente beta 2 de uma integrina leucocitária, impedindo que este forme um heterodímero (LFA-1) e assuma sua conformação ativa, interferindo negativamente na adesão leucocitária, sobretudo dos neutrófilos, às superfícies endoteliais. O grau de gravidade desse distúrbio tem forte relação com o nível em que o CD18 é expresso, podendo se manifestar na sua forma moderada ou grave, sendo a última com maior taxa de mortalidade. A LAD-III, por sua vez, é mais rara e tem como problema não a expressão das beta-2-integrinas, mas a sua indevida ativação por moléculas reguladoras, sobretudo a Kindlina-3. Nesse caso, as peculiares implicações vão além da atividade imunológica e, de forma bastante preocupante, ocasionam hemorragias em recém-nascidos (por vezes ainda na unidade hospitalar neonatal) devido à disfunção da agregação plaquetária necessária para a coagulação sanguínea. Além disso, o desenvolvimento ósseo também é gravemente impactado, uma vez que a função dos osteoclastos não ocorre plenamente. Dessa forma, é lógico entender o porquê de essa tipologia da doença ser mais fatal, uma vez que inviabiliza aspectos importantes do desenvolvimento do indivíduo e que se relacionam com a sua autonomia.

De acordo com a análise de casos, os paciente acometidos com LAD-I ou LAD-III apresentam como sintomatologia geral variados graus de infecção bacteriana e fúngica, dos quais se destacam sepse, otite média e infecção no trato respiratório, sendo quadros recorrentes que, sem o rápido diagnóstico e tratamento, frequentemente levam a óbito. Nesse sentido, o diagnóstico provável em ambos os casos é determinado pelo apanhado do quadro clínico alinhado com exames laboratoriais, sendo determinado pela realização de análise genética. Para ambos, o único tratamento relatado promissor, de fato curativo, com correção de todos os sintomas, foi o transplante de células-tronco hematopoiéticas, o qual deve ser feito o mais precocemente possível para evitar complicações. Entretanto, ainda se observa uma considerável taxa de letalidade em pacientes tratados com transplante de células-tronco hematopoiéticas, demonstrando a necessidade da busca por novas metodologia terapêutica de maneira a proporcionar uma maior eficácia de tratamento e conforto para esses pacientes.

4 CONCLUSÃO

A partir das análises e discussões dos artigos selecionados para confecção deste trabalho, infere-se que a compreensão das bases moleculares se mostra indissociável das manifestações patológicas e clínicas das deficiências de adesão leucocitária. Por isso, a aplicação o quanto antes dos disponíveis métodos de diagnóstico é essencial para que o tratamento seja o mais eficaz possível e para que as taxas de letalidade sejam reduzidas. Ressalta-se, ainda, que seria interessante o desenvolvimento de mais pesquisas no âmbito de novas linhas de tratamento, visto que nos artigos selecionados, não foi constatado nenhum outro método tão eficaz quanto o transplante de células tronco hematopoiéticas. Não houve nenhum obstáculo ou conflito durante a produção do trabalho

REFERÊNCIAS

- CRUVINEL, Wilson de Melo *et al.* Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, p. 434-447, 2010.
- COX, Darren P.; WEATHERS, Dwight R. Leukocyte adhesion deficiency type 1: an important consideration in the clinical differential diagnosis of prepubertal periodontitis. A case report and review of the literature. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 105, n. 1, p. 86-90, 2008.
- ETZIONI, Amos. Leukocyte adhesion deficiency III-when integrins activation fails. **Journal of clinical immunology**, v. 34, n. 8, p. 900-903, 2014.
- FAGERHOLM, Susanna C. *et al.* Beta2-integrins and interacting proteins in leukocyte trafficking, immune suppression, and immunodeficiency disease. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 254, 2019.
- FERRAZ, Francielle Bonet; FERNANDEZ, Jorge Hernandez. Integrinas na adesão, migração e sinalização celular: associação com patologias e estudos clínicos. **Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos**, v. 9, n. 2, p. 25-34, 2014.
- GORJIPOUR, Houshang *et al.* Leukocyte adhesion deficiency type 1: A case series and review of the literature. **EMJ Allergy Immunol**, v. 4, n. 1, p. 95-100, 2019.
- NOVOA, Elena Almarza *et al.* Leukocyte adhesion deficiency-I: a comprehensive review of all published cases. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, v. 6, n. 4, p. 1418-1420. e10, 2018.
- PENNA, Sara; VILLA, Anna; CAPO, Valentina. Autosomal recessive osteopetrosis: mechanisms and treatments. **Disease Models & Mechanisms**, v. 14, n. 5, p. dmm048940, 2021.
- SINGH, Roli; SHARMA, Preeti; WADHWAN, Vijay. Neutrophils defending the defenders. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP**, v. 25, n. 1, p. 177, 2021.
- VAN DE VIJVER, Edith *et al.* Hematologically important mutations: leukocyte adhesion deficiency (first update). **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 48, n. 1, p. 53-61, 2012.