

# Síndromes de deficiencia de adhesión leucocitaria

M.C. Rodríguez Sainz

Servicio de Inmunología. Hospital General Universitario «Gregorio Marañón». Madrid

## Resumen

Los síndromes de deficiencia de adhesión leucocitaria (*leukocyte adhesion deficiency* [LAD]) engloban un conjunto de patologías causadas por defectos en el reconocimiento, la adhesión y la migración de los leucocitos mieloides hacia los lugares de invasión microbiana, lo que provoca la falta de defensa innata del huésped frente a bacterias, hongos u otros microorganismos. Se distinguen dos tipos: LAD I y LAD II. Los síndromes LAD I y sus variantes están causados por mutaciones que impiden la expresión o la función de las integrinas de la clase  $\beta$ -2 (integrinas CD11/CD18, o integrinas leucocitarias). Por el contrario, los sujetos con LAD II tienen unas características clínicas similares, pero conservan intacta la expresión y la función de las integrinas leucocitarias. El fundamento molecular de la deficiencia de tipo LAD II es un defecto en la glucosilación de los ligandos situados en los leucocitos, reconocidos por la familia de las moléculas de adhesión de las selectinas. Recientemente, se ha atribuido el defecto a mutaciones en un transportador de fucosa localizado en el aparato de Golgi. El establecimiento de las bases moleculares de los síndromes LAD ha generado nuevas perspectivas en el estudio de los mecanismos de acumulación leucocitaria, que son de gran relevancia en múltiples síndromes de inmunodeficiencias, así como en ciertas enfermedades inflamatorias que acaban desencadenando una lesión tisular.

## Palabras clave

Síndromes LAD, bacterias, integrinas leucocitarias

## Introducción

El sistema fagocítico es la primera línea de defensa frente a las infecciones por bacterias y hongos, e incluye neutrófilos, monocitos y macrófagos tisulares. En condiciones normales, las células fagocíticas circulantes en la sangre se extravasan para dirigirse a los focos de infección, atraídas por estímulos quimiotácticos. Su capacidad microbicida está relacionada, principalmente, con la liberación del contenido de sus gránulos (mieloperoxidasa, lisozima, elastasa, catepsinas, proteinasas, colagenasas...) a los fagosomas (que contienen el microorganismo fagocitado), o con la producción de metabolitos tóxicos a través del metabolismo oxidativo. Otros mecanismos de lisis son la liberación del contenido de sus gránulos al exterior celular o la lisis de los microorganismos recubiertos de anticuerpos (Ac) (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo [ADCC]).

## Abstract

*Title:* Leukocyte adhesion deficiency syndromes

Leukocyte adhesion deficiency (LAD) syndromes involve defective tethering, adhesion, and targeting of myeloid leukocytes to sites of microbial invasion. This results in failures of innate host defenses against bacteria, fungi, and other microorganisms. Two types, LAD I and LAD II syndromes, have been identified. LAD I and variant LAD I syndromes are caused by mutations that impair expression or function of integrins of the beta 2 class (CD11/CD18 integrins, or "leukocyte integrins"). In contrast, subjects with LAD II have similar clinical features, but intact leukocyte integrin expression and function. The molecular basis for LAD II is defective glycosylation of ligands on leukocytes recognized by the selectin family of adhesion molecules, as well as defective glycosylation of other glycoconjugates. The defect has recently been attributed to mutations in a novel fucose transporter localized to the Golgi apparatus.

Establishing the molecular basis for LAD syndromes has generated insights into mechanisms of leukocyte accumulation relevant to a broad variety of immunodeficiency syndromes as well as to diseases and disorders of unregulated inflammation that result in tissue damage.

## Keywords

LAD syndromes, bacteria, leukocyte integrins

Por regla general, la manifestación clínica de los defectos en el sistema fagocítico implica la aparición de infecciones bacterianas y fúngicas, frecuentemente por microorganismos poco patógenos, de presentación insidiosa y con pocos signos de respuesta inflamatoria asociada.

Entre las formas primarias de alteraciones del sistema fagocítico se encuentra la deficiencia de adhesión leucocitaria (LAD). La adhesión de los leucocitos al endotelio capilar de la región inflamada constituye, junto con la migración transendotelial, la quimiotaxis y la fagocitosis, el eje en torno al cual pivota la respuesta inmunitaria innata. El fundamento fisiológico de la migración leucocitaria desde el espacio intravascular hacia los tejidos depende de una clase de moléculas de superficie conocidas como «moléculas de adhesión». Muchas interacciones célula-célula se fundamentan en la adhesión y en la

transducción de señales a través de varias moléculas de adhesión, particularmente las integrinas. El estudio de las funciones de estas moléculas se ha potenciado mediante el desarrollo de anticuerpos monoclonales (activadores o bloqueadores), a partir de modelos experimentales de ratones *knockout*<sup>1</sup> y del estudio de los escasos individuos en que se detecta una ausencia o una disfunción de alguna de las moléculas de adhesión. En esta revisión se describen las LAD desde un punto de vista molecular y los avances en el conocimiento de tales moléculas, sin entrar en detalle en otros aspectos, clínicos, diagnósticos o terapéuticos<sup>2</sup>.

## Deficiencia de adhesión leucocitaria tipo I (LAD I), o déficit de CD18

La proteína CD18 constituye la cadena  $\beta$  de un conjunto de moléculas heterodiméricas ( $\alpha/\beta$ ) que engloban la familia  $\beta$ -2 de las integrinas. Esta familia incluye CD11a/CD18 (también denominada LFA1), CD11b/CD18 o CR3 (también denominada Mac-1) y CD11c/CD18 o CR4 (p150,95). En condiciones normales, la expresión de las integrinas  $\beta$ -2 en los leucocitos (linfocitos, neutrófilos, macrófagos...) facilita las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular, gracias a la unión de dichas integrinas a sus ligandos, denominados ICAM1 (CD54), ICAM2 (CD102), ICAM3 e iC3b. En líneas generales, los ICAM se expresan sobre el endotelio activado, o bien sobre otras células leucocitarias<sup>3</sup>. Todas las células del organismo expresan integrinas sin excepción; dentro de las integrinas, la familia  $\beta$ -2 tiene una expresión exclusiva y restringida a células hematopoyéticas: mientras la integrina CD11a/CD18 se expresa en todos los leucocitos, las integrinas CD11b/CD18 y CD11c/CD18 se expresan preferencialmente en las células de linaje mielóide. En términos generales, las integrinas leucocitarias controlan el tráfico, la migración y la infiltración leucocitaria a los diferentes compartimientos del sistema inmunitario, tanto en las situaciones de inflamación como durante los diferentes estadios de diferenciación leucocitaria.

La LAD es una enfermedad rara que se hereda de forma autosómica recesiva, con manifestaciones clínicas, generalmente en los dos primeros años de vida, que consisten en infecciones bacterianas recurrentes. Los agentes microbianos más comunes son *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp., *Proteus* sp. y enterococos<sup>4</sup>.

La enfermedad se debe a alteraciones del gen que codifica la proteína CD18, situado en el cromosoma 21, concretamente en la región 21q22.3. La enfermedad puede ser moderada o grave, según el grado de expresión (leve o nula) de la proteína, lo que a su vez depende de las alteraciones génicas existentes. En la mayoría de los casos hay mutaciones y deleciones puntuales, y aunque se produce ARNm para CD18, la proteína es anómala e incapaz de unirse a la cadena  $\alpha$  correspondiente (CD11a, CD11b, CD11c). La mayoría de las mutaciones descritas en la subunidad  $\beta$  se encuentran en una región N-terminal, conservada y conocida como el dominio  $\beta$ -1, que da lugar a un

defecto en la formación del heterodímero  $\alpha$ - $\beta$ <sup>5</sup>. Menos frecuentemente, es imposible detectar ARNm de CD18, porque haya una afectación grave de la expresión de la proteína.

Por tanto, se van a alterar todas las funciones dependientes, directa o indirectamente, de procesos de adhesión celular, como la extravasación de células fagocíticas hacia focos de inflamación, los procesos de opsonización, la quimiotaxis, la agregación celular, la fagocitosis y la lisis celular por contacto, ejercida por células *natural killer* (NK) y células T citotóxicas.

Los pacientes presentan infecciones recurrentes necróticas cutáneas y del tejido celular subcutáneo, una cicatrización defectuosa y graves gingivitis y periodontitis. La enfermedad puede ser mortal en el primer año de vida o seguir un curso benigno.

Son frecuentes las infecciones por bacterias grampositivas y negativas y, a veces, por hongos. Raramente se producen infecciones virales (p. ej., varicela), por lo que éstas tienen un curso limitado. Esto implica que la función fagocítica está más alterada que la linfocitaria, ya que los linfocitos también expresan LFA1.

La cicatrización defectuosa se manifiesta por cicatrices displásicas y el retraso en la caída del cordón umbilical (incluso superior a tres semanas). Esto probablemente se debe a la ausencia del infiltrado normal de monocitos/macrófagos, que contribuye a la cicatrización mediante la producción de factores de angiogénesis, como las citocinas y el factor de crecimiento tumoral beta (TGF- $\beta$ ).

En los casos moderados se detecta algo de CD18 en la superficie celular, aunque menos que en condiciones normales. Clínicamente, aparecen gingivitis, infecciones (raramente graves) y lesiones cutáneas. En las formas severas, la expresión de CD18 es indetectable y aparecen infecciones sistémicas graves y de carácter recurrente. Los rasgos inmunológicos más destacados de esta patología se recogen en la tabla 1.

## Deficiencia de adhesión leucocitaria tipo II (LAD II)

Recientemente, se ha descrito una segunda forma de LAD en la que existen dismorfias craneofaciales, defectos neurológicos e infecciones recurrentes. Los pacientes carecen del antígeno H eritrocitario y tienen un fenotipo Bombay (hh); se ha denominado también síndrome de Rambon-Hasharin, o LAD II. En este caso los niveles de CD18 son normales, pero hay una expresión defectuosa del hidrato de carbono de Lewis X sializado (sLe<sup>x</sup>), que es el ligando de distintas moléculas de adhesión (E-selectina y P-selectina). Dicha interacción interviene en condiciones normales en la extravasación de células fagocíticas desde la circulación y en el proceso de recirculación linfocitaria. Mientras que en la LAD I la familia de las integrinas es la más afectada, en la LAD II el sistema más implicado es el de las selectinas.

## TABLA 1

**Rasgos inmunológicos distintivos de la deficiencia de adhesión leucocitaria tipo I***Principales aspectos inmunológicos*

- Leucocitosis y retraso en la separación del cordón umbilical
- Herencia autosómica recesiva
- Recurrencia de infecciones necrosantes de los tejidos blandos y periodontitis
- Defectos en la quimiotaxis leucocitaria y en las funciones citotóxicas (CTL, NK y ADCC)
- Expresión deficiente de las proteínas de adhesión leucocitaria CD11a/CD18, CD11b/CD18 y CD11c/CD18

Este síndrome se ha descrito tan sólo en cinco pacientes y parece transmitirse de forma autosómica recesiva. Los episodios infecciosos y su gravedad son moderados, y el único síntoma clínico persistente es la periodontitis crónica grave. El retraso en la separación del cordón umbilical, bastante característico de la LAD I, no se ha observado en ninguno de los pacientes con LAD II. La ausencia de sLe<sup>x</sup>, un ligando importante de las selectinas leucocitarias, conduce a un profundo defecto de la migración leucocitaria, que afecta a la quimiotaxis y se acompaña de una profunda neutrofilia. Aparte del defecto leucocitario, estos pacientes presentan un retraso mental y de crecimiento graves.

El defecto primario se encuentra en el metabolismo de la fucosa, con ausencia de todos los glicanos fucosilados en las membranas de las superficies celulares. Recientemente, se ha publicado que el defecto se encuentra en un transportador específico de GDP-fucosa al interior del aparato de Golgi, de modo que la fucosilación no tiene lugar. Como es bien sabido, el aparato de Golgi sirve como principal sitio de glucosilación de proteínas en las células. Los azúcares nucleotídicos que sirven de sustrato a las glucosiltransferasas del aparato de Golgi se sintetizan en su mayoría en el citoplasma, y deben transportarse al compartimiento del lumen del aparato de Golgi mediante portadores específicos. Parte de los genes que codifican tales transportadores se clonaron inicialmente en 1996, lo que reveló una familia de proteínas estructuralmente muy conservada, con múltiples dominios transmembrana<sup>5</sup>. Dentro de esta familia se encuentra el transportador de la GDP-fucosa. El defecto genético exacto del transportador todavía se desconoce, pero puede tratarse de un defecto heterogéneo: cuatro de los pacientes estudiados son de origen árabe, mientras el quinto es de origen turco. Parece que el defecto primario es algo diferente, puesto que la administración de fucosa resultó eficaz en el niño turco pero no dio resultados favorables en los pacientes de origen árabe<sup>7</sup>. De hecho, el fenotipo de falta de fucosilación indicado puede deberse a un defecto del transporte de fucosa al interior del lumen del aparato de Golgi o a un defecto en cualquiera de las enzimas que intervienen en la vía de síntesis de la GDP-fucosa, que es el sustrato de las fucosiltransferasas, y puede estar causado por un defecto en la conversión de GDP-manosa a GDP-fucosa<sup>8</sup>.

**Datos de laboratorio**

En la LAD, los datos de laboratorio muestran frecuentemente una leucocitosis extrema, incluso en periodos libres de infección (15.000-70.000 células/ $\mu$ L), probablemente debida a la ausencia de extravasación normal de granulocitos, por su adherencia defectuosa. Se hallan disminuidas la producción de Ac T-dependientes *in vivo*, la actividad citotóxica de las células T *in vitro*, la citotoxicidad NK y la ADCC. Las funciones de los neutrófilos independientes de CD18 están conservadas: degranulación, activación del metabolismo oxidativo por estímulos solubles y fagocitosis de partículas recubiertas de inmunoglobulina (Ig) G. Mediante citometría se detecta una notable disminución o ausencia de CD18 en la superficie de los leucocitos.

La LAD II se puede detectar en el laboratorio mediante anticuerpos frente al azúcar sLe<sup>x</sup>. Por tanto, el diagnóstico bioquímico puede establecerse evaluando la ausencia del epítipo de sLe<sup>x</sup> sobre las membranas de los neutrófilos con el empleo de anticuerpos específicos.

**Tratamiento**

Las infecciones cutáneas deben tratarse de forma intensiva con antibióticos, debido a su mala cicatrización. En algunos casos, se utilizan antibióticos de forma profiláctica para disminuir el riesgo de infecciones. También pueden ser útiles las transfusiones de granulocitos. Los tratamientos locales en combinación con los antibióticos sistémicos en las formas de la enfermedad más benignas pueden mejorar las periodontitis frecuentes, pero en muchos casos el éxito es cuestionable, y puede producirse una pérdida prematura de los dientes<sup>9</sup>.

En determinadas ocasiones, además de estos tratamientos estándares, se ha realizado un trasplante de médula ósea con éxito; curiosamente estos trasplantes en los pacientes con LAD I prenden con cierta facilidad, al contrario de lo que ocurre con la mayoría de los pacientes con defectos fagocíticos<sup>10</sup>. Hasta la fecha, el trasplante de células madre hematopoyéticas es el único tratamiento curativo para los síndromes LAD I; no obstante, esta aproximación está limitada por las toxicidades relacionadas con el trasplante y la enfermedad de injerto contra huésped. Se están realizando ensayos de terapia génica, en los que las líneas celulares de los pacientes reexpresan la proteína defectuosa, mediante la introducción en su genoma de vectores retrovirales que portan el gen de la proteína.

Por tanto, cabe la posibilidad de realizar terapia génica somática a partir de células de médula ósea. En la década pasada, se efectuaron trabajos experimentales que demostraron que la transferencia de la subunidad CD18 corrige el defecto estructural y funcional de la LAD I. Estos estudios han sentado las bases para el inicio de un ensayo clínico de transferencia génica retroviral en dos pacientes con un fenotipo grave de la enfermedad, y los resultados obtenidos hasta el momento parecen bastante satisfactorios<sup>11</sup>.

Se han efectuado menos estudios sobre planteamientos de terapia génica en la LAD II; no obstante, la disponibilidad del genoma humano completo puede proporcionar herramientas complementarias para identificar los posibles defectos en los transportadores de azúcares, o en otras proteínas implicadas en la ruta de glucosilación de proteínas, que pueden ser susceptibles de tratamiento con terapia génica o simplemente con suplementos en la dieta, hasta el momento imposibles de diagnosticar y tratar<sup>12</sup>. ■■■

## Bibliografía

1. Etzioni A, Doerschuk CM, Harlan JM. Similarities and dissimilarities between humans and mice looking at adhesion molecules defects. *Adv Exp Med Biol.* 2000; 479: 147-161.
2. Inwald D, Davies EG, Klein N. Demystified adhesion molecule deficiencies. *Mol Pathol.* 2001; 54(1): 1-7.
3. 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: 175-194.
4. Etzioni A, Frydman M, Pollack S, Avidor I, Phillips ML, Paulson JC, et al. Recurrent severe infections caused by a novel leukocyte adhesion deficiency. *N Engl J Med.* 1992; 327(25): 1.789-1.792.
5. Hogg N, Bates PA. Genetic analysis of integrin function in man: LAD-1 and other syndromes. *Matrix Biol.* 2000; 19(3): 211-222.
6. Gerardy-Schahn R, Oelmann S, Bakker H. Nucleotide sugar transporters: biological and functional aspects. *Biochimie.* 2001; 83(8): 775-782.
7. Etzioni A, Tonetti M. Leukocyte adhesion deficiency II-from A to almost Z. *Immunol Rev.* 2000; 178: 138-147.
8. Durand G, Seta N. Protein glycosylation and diseases: blood and urinary oligosaccharides as markers for diagnosis and therapeutic monitoring. *Clin Chemistry.* 2000; 46(6): 795-805.
9. Meyle J, Gonzales JR. Influences of systemic diseases on periodontitis in children and adolescents. *Periodontol 2000.* 2001; 26: 92-112.
10. Fischer A, Landais P, Friedrich W, Gerritsen B, Fasth A, Porta F, et al. Bone marrow transplantation (BMT) in Europe for primary immunodeficiencies other than severe combined immunodeficiency: a report from the European Group for BMT and the European Group for Immunodeficiency. *Blood.* 1994; 83(4): 1.149-1.154.
11. Bauer TR Jr, Hickstein DD. Gene therapy for leukocyte adhesion deficiency. *Curr Opin Mol Ther.* 2000; 2(4): 383-388.
12. Hirschberg CB. Golgi nucleotide sugar transport and leukocyte adhesion deficiency II. *J Clin Invest.* 2001; 108(1): 3-6.