

NIVELES SERICOS DE LA FORMA SOLUBLE DE LA MOLECULA DE ADHESION INTERCELULAR 1 (s-ICAM-1) EN LA INFECCION POR HIV EN NIÑOS

EDUARDO GADDI, JEANETTE BALBARYSKI, CLAUDIO CANTISANO, GRACIELA BARBONI, MARCELA CANDI, VERA GIRAUDI

División Inmunología Clínica, Departamento de Medicina, Hospital General de Niños Dr. Pedro de Elizalde, Buenos Aires

Resumen La molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) es una molécula unida a la membrana celular que está involucrada en las interacciones adhesivas, célula con célula, del sistema inmune. El propósito de este estudio fue medir los niveles séricos de la forma soluble de ICAM-1 (s-ICAM-1) en 25 pacientes pediátricos HIV-1(+). Se compararon los valores de s-ICAM-1 con parámetros de activación inmune como IgA y $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2m$), y de replicación viral como adenosina deaminasa (ADA). Se encontró que los niveles de s-ICAM-1 en los pacientes infectados por el HIV-1 estaban significativamente aumentados ($p < 0.05$) con respecto al grupo control de niños sanos. Además dichos valores fueron más elevados en pacientes con manifestaciones clínicas severas de infección, en comparación con los no sintomáticos o con manifestaciones clínicas leves. No hubo diferencia en los niveles de s-ICAM-1 entre los niños que serorrevirtieron y los controles sanos. Se halló una correlación positiva entre los niveles de s-ICAM-1 y las concentraciones séricas de IgA, $\beta 2m$ y ADA. Similarmente, hubo una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de IgA, $\beta 2m$ y ADA. En conclusión, el incremento en los niveles de s-ICAM-1 en los pacientes pediátricos HIV-1 (+), sería otra de las múltiples alteraciones inmunes observadas durante la infección por el HIV-1, pudiendo estar involucrada en el desarrollo de la disfunción inmunológica durante la progresión de la enfermedad.

Abstract *Soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) levels in HIV infected children.* Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a membrane bound molecule that is involved in cell to cell adhesive interactions within the immune system. The aim of this study was to measure the concentrations of soluble ICAM-1 (s-ICAM-1) in 25 HIV-1 infected pediatric patients. We compared s-ICAM-1 values to parameters of immune activation-such as IgA and $\beta 2$ microglobulin ($\beta 2m$) and viral replication such as adenosine deaminase (ADA). s-ICAM-1 levels were found to be significantly increased in HIV-1 infected children when compared with healthy controls. Levels of s-ICAM-1 were higher in patients with severe forms of HIV-1 infection in comparison with those with a mild form of the disease or non symptomatic infection. No differences in titers of s-ICAM-1 were recorded between seroreverters and healthy controls. A positive correlation between levels of s-ICAM-1 and IgA, $\beta 2m$ or ADA concentrations was detected. Similarly, there was statistically significant correlation between levels of IgA, $\beta 2m$ or ADA. In conclusion, increased s-ICAM-1 levels in HIV-1 pediatric patients appeared to be another important feature among the immune disturbances triggered by HIV-1 infection. s-ICAM-1 might be involved in the development of the immunologic dysfunction during the progression of the disease.

Key words: s-ICAM-1, IgA, $\beta 2$ microglobulin, adenosine deaminase, HIV-1 pediatric infection

La molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) es una glicoproteína de membrana de 80 a 114 kD, miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Se expresa en células hematopoyéticas y no hematopoyéticas, incluidas las células T, B, fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales. La expresión de esta molécula en las distintas líneas celulares puede incrementarse por la acción de diferentes citoquinas. ICAM-1 sirve como un ligando para el MAC-1 y para el antígeno asociado a la

función leucocitaria 1 (LFA-1). También está involucrada en la adhesión de las células T y células presentadoras de antígenos.

La adhesión celular mediada por ICAM-1 ocurre como evento temprano durante la inflamación tisular y la inducción de la respuesta inmune^{1,2}.

También fue descrita una forma soluble, s-ICAM-1, que contiene buena parte de la estructura y función de la porción extracelular del ICAM-1 unido a la célula y que resulta del clivaje proteolítico del unido a la membrana. Aunque su función fisiológica no está claramente determinada, su liberación desde las células está regulada por los mismos estímulos que aumentan la expresión de ICAM-1³.

Recibido: 8-IV-1999

Aceptado: 16-VI-1999

Dirección postal: Dra. Vera Giraudi, Desaguadero 2439, 1417 Buenos Aires, Argentina
Tel: (54-11) 4566-3795

E-mail: vgiraudi@intramed.net.ar

Los niveles de esta molécula están elevados en la inflamación, los procesos infecciosos, cáncer⁴, y también durante la infección por HIV en pacientes adultos⁵.

s-ICAM-1 junto con el LFA-1, participan en la formación de sincicios^{6, 7}, e inducen la replicación viral al mediar en la adherencia celular⁸.

El objetivo del presente trabajo es medir los niveles séricos de s-ICAM-1 en una población pediátrica HIV(+).

Además, se compararon dichos niveles con parámetros de activación inmune como IgA⁹ y β2 micro-globulina (β2m)^{10, 11} y de replicación viral como adenosina deaminasa (ADA)¹².

Pacientes y métodos

Se trabajó con una población de 25 niños HIV(+) (11 varones y 14 mujeres) y 25 niños sanos HIV(-) (15 varones y 10 mujeres) como grupo control (Co). Los pacientes HIV(+) presentaron la siguiente distribución etaria: 0 a 2 años = 10 niños, 2 a 6 años = 12 niños, mayores de 6 años = 3 niños, mientras que la del grupo control fue: 0 a 2 años = 10 niños, 2 a 6 años = 13 niños, mayores de 6 años = 2 niños. La seropositividad de los pacientes fue confirmada por análisis de ELISA y Western Blot, habiendo adquirido la infección por transmisión vertical en todos los casos. Los niños fueron agrupados según el compromiso clínico, de acuerdo con los criterios del CDC, 1994¹³. Seis pacientes estaban en la categoría N (asintomática), 6 en A (ligeramente sintomática), y 7 en la categoría C (severamente sintomática). También fue incluido un grupo de 6 niños nacidos de madres HIV(+) que al momento de la evaluación de los resultados habían negativizado la serología (SR). El consentimiento informado fue obtenido de los padres de los niños estudiados. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética de la Institución.

De cada paciente HIV(+) se tomó una muestra de sangre en el momento de la evaluación clínica-inmunológica de rutina. Las muestras de sangre de los pacientes controles se obtuvieron durante la evaluación pre-quirúrgica de cirugías programadas en el Servicio de Cirugía y Ortopedia del Hospital Pedro de Elizalde.

Las condiciones socio-económicas-culturales de la población estudiada fueron de nivel medio, mientras que las nutricionales eran las adecuadas para la edad de los pacientes.

Las concentraciones séricas de s-ICAM-1 se midieron por ELISA (R&D System, USA). Este ensayo implica la reacción simultánea del s-ICAM-1 presente en la muestra o estándar, con dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra diferentes epitopes de la molécula de s-ICAM-1. El límite de detección del método es 0.35 ng/ml, con estándares entre 0 y 46.05 ng/ml. Las muestras fueron diluidas 1 en 20 al momento del ensayo. La IgA sérica fue evaluada por nefelometría (QM 300, Sanofi Pasteur), mientras que la β2m por inmunodifusión radial (The Binding Site, UK), utilizando un suero control en cada placa. Los niveles de ADA se evaluaron por un método colorimétrico, en el que la actividad enzimática se midió a través de la formación de inosina y amoníaco, determinándose este último por medio de la reacción de infodenol¹⁴.

En la comparación de los niveles de s-ICAM-1 entre los diferentes estadios clínicos se utilizó el test de Kruskal-Wallis. En las correlaciones se utilizó el método de Pearson (r). En todos los casos se consideró la significación estadística cuando la probabilidad (p) fue menor de 0.05.

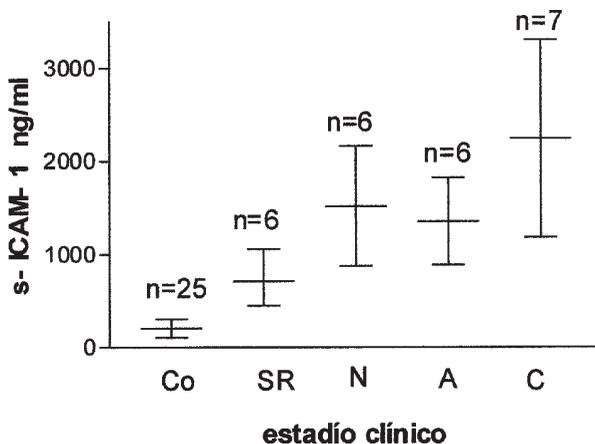
Resultados

El valor medio (M) y desvío estándar (DE) de s-ICAM-1 en los 25 pacientes HIV(+) fue 1492 ± 488 ng/ml (M ± DE), significativamente aumentado comparado con los controles HIV(-): 206 ± 98 ng/ml (p < 0.01). Los valores medios y los desvíos de los niveles de s-ICAM-1 de los pacientes en cada uno de los estadios clínicos y en el grupo control se observan en la Figura 1. Dichos valores estaban significativamente aumentados en los estadios N, A y C, con respecto al grupo control HIV (-). Las diferencias entre los pacientes que serorrevirtieron y los controles no fueron significativas.

También se evaluó la correlación entre s-ICAM-1 y parámetros de activación inmune (IgA, β2m) y replicación viral (ADA) (Tabla 1).

Las concentraciones de s-ICAM-1 presentaron correlación positiva con los niveles de IgA, β2m y ADA (Figura 2, Tabla 1).

Asimismo se observó correlación positiva entre estas tres últimas variables (Tabla 1).



CO = controles; SR = serorrevirtidos; N = asintomáticos; A = ligeramente sintomáticos; C = severamente sintomáticos

Fig. 1.- Niveles de la forma soluble de la molécula de adhesión intercelular 1 (s-ICAM-1) (M ± DE) en 25 pacientes HIV(+) en diferentes estadios clínicos y en 25 controles sanos HIV(-)

TABLA 1.- Correlaciones (valores r y p) entre los niveles de la forma soluble de la molécula de adhesión intercelular 1 (s-ICAM-1), IgA, β2 microglobulina (β2m) y adenosina deaminasa (ADA) en 25 pacientes HIV(+)

Moléculas	IgA	β2m	ADA
s-ICAM-1	0.46 p < 0.05	0.55 p < 0.05	0.70 p < 0.01
IgA		0.49 p < 0.05	0.46 p < 0.05
β2m			0.59 p < 0.01

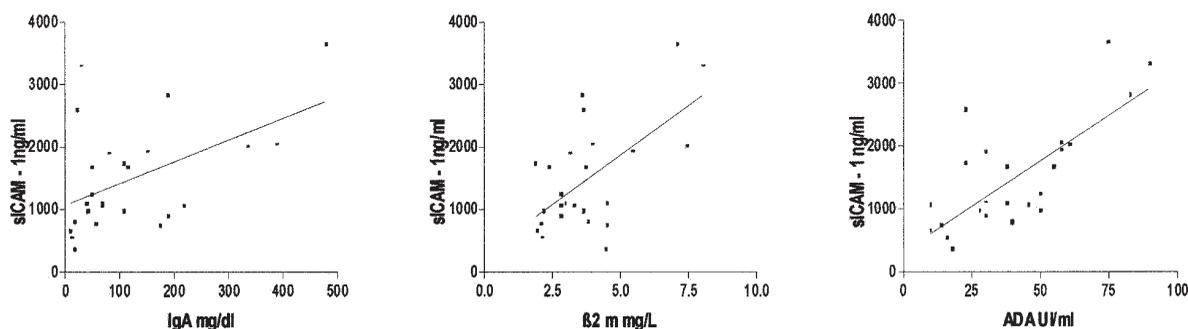


Fig. 2.- Correlaciones entre las concentraciones séricas de s-ICAM-1, y los niveles de IgA, β 2 microglobulina (β 2m) y adenosina deaminasa (ADA).

Discusión

El incremento de los niveles séricos de ICAM-1 en la infección por HIV está relacionado con la activación inmune¹⁵. Distintos estudios han informado incrementos sostenidos y significativos en las concentraciones de s-ICAM-1 en pacientes adultos HIV(+) con el progreso de la enfermedad^{16, 19}. Sin embargo, y hasta nuestro conocimiento, no tenemos referencias del comportamiento de esta molécula en pacientes pediátricos HIV (+).

El curso de la infección pediátrica es diferente. En el niño, al infectarse por transmisión vertical, el virus se introduce en un sistema inmunitario virgen y en desarrollo, generando características en la evolución de la enfermedad diferentes a las del adulto. Las mismas no están del todo aclaradas, y la información obtenida en adultos no puede ser extrapolada a la población pediátrica²⁰.

Estudios previos demuestran la expresión de las moléculas ICAM-1 y LFA-1, hasta en el 80% de las células T infectadas²¹, sugiriendo un aumento en la liberación de s-ICAM-1 hacia la circulación por parte de las células T y B activadas a consecuencia de la acción viral.

En este estudio, si bien el número de pacientes que seroconvirtieron fue bajo, los niveles de s-ICAM-1 no mostraron diferencias significativas con el grupo control. Contrariamente, el comportamiento de s-ICAM-1 en los pacientes infectados fue diferente, sugiriendo que la infección viral activa sería determinante en la sobreexpresión de esta molécula.

El incremento de s-ICAM-1 en los pacientes HIV(+) asintomáticos, sería un marcador de progresión de la enfermedad, puesto que indicaría la activación temprana del sistema inmune, aun antes de la aparición de signos y síntomas clínicos.

El aumento de los niveles de s-ICAM-1 podría ser esencial en la patogénesis de la infección, ya que se ha postulado que el sistema ICAM-1/LFA-1, intervendría en el mecanismo citopático de formación de sincicios y en la propagación viral a través de la transmisión célula-célula²². Además dicha interacción es un potente co-es-

tímulo para la activación antígeno específica de células T en reposo²³. La correlación positiva hallada en los pacientes infectados entre los niveles de IgA, β 2m y s-ICAM-1, indicaría que la mayor activación inmune observada con la progresión de la enfermedad, se acompaña de la liberación incrementada de dichas moléculas por parte de las células activadas.

La adherencia celular mediada por ICAM-1, sería un paso importante en la transmisión de señales post-transduccionales que inducen un aumento en la replicación del HIV, mientras que el incremento en la actividad de ADA, es reflejo de la lisis celular subsecuente a tal replicación²⁴.

La correlación entre los niveles de s-ICAM-1 y ADA, indicaría que la actividad de ambas moléculas respondería a mecanismos inmunopatogénicos relacionados entre sí.

El aumento de s-ICAM-1 es un nuevo aspecto de las múltiples alteraciones producidas durante la infección por el HIV. Los altos niveles circulantes de esta molécula podrían contribuir a las alteraciones del sistema inmune observadas durante la progresión de la enfermedad. Son necesarios estudios longitudinales a fin de determinar si la medida de la concentración sérica de s-ICAM-1, aunque no específica, tiene valor predictivo o pronóstico en los pacientes HIV(+), como así también saber cuál es el papel que desempeña esta molécula en la evolución de la enfermedad hacia SIDA.

Bibliografía

1. Springer T, Dustin M, Kishimoto T, Marlin S. The lymphocyte function associated LFA-1, CD2 and LFA-3 molecules: cell adhesion receptors of the immune system. *Ann Rev Immunol* 1987; 5: 223-52.
2. Springer T. Adhesion receptors in the immune system. *Nature* 1990; 346: 425-36.
3. Rothlein R, Mainolfi E, Czajkowski M, Marlin S. A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol* 1991; 147: 3788-93.

4. Gearing A, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 1993; 14: 506-12.
5. Most J, Zangerle R, Herold M, et al. Elevated concentrations of circulating intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) in HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993; 6: 221-6.
6. Berman P, Nakamura G. Adhesion mediated by intercellular adhesion molecule 1 attenuates the potency of antibodies that block HIV-1 gp 160- dependent syncytium formation. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994; 10: 85-93.
7. Fauci A, Butini L, DeFougerolles A, et al. Intercellular adhesion molecules ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, function as counterreceptors for lymphocyte function-associated molecule 1 in human immunodeficiency virus-mediated syncytia formation. *Eur J Immunol* 1994; 24: 2191-5.
8. Shattock R, Griffin G. Cellular adherence enhances HIV replication in monocytic cells. *Res Virol* 1994; 145: 139-45.
9. Fahey J, Taylor J, Detels R, et al. The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type-1. *N Engl J Med* 1990; 322: 166-72.
10. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner E, Werner-Feldmayer G, Wachter H. β 2 microglobulin and immune activation. *Clin Chem* 1989; 35: 2158.
11. Ellaurie M, Rubinstein A. β 2 microglobulin concentrations in pediatric human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1990; 9: 807-9.
12. Iñigo M, Ruiz Lopez de Tejada M, Torres-Tortosa M, Sanchez-Porto A. Serum adenosine deaminase levels in intravenous drug users with and without infection due to human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 478-9.
13. CDC. Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR* 1194; 43: 1-10.
14. Giusti G, Galanti B. Adenosine deaminase. In *Methods of enzymatic analysis*. New York, Academic Press Inc 1974; 1092-9.
15. Diez Ruiz A, Kaiser G, Jager H, Birkman J, Zilz G, Wachter H, et al. Increased levels of serum intercellular adhesion molecule 1 in HIV infection are related to immune activation. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 102: 56-60.
16. Galea P, Vermont C, Le Contel C, Wydenes J, Chermann J. Circulating cell adhesion molecules in HIV-1 infected patients as indicator markers for AIDS progression. *Res Immunol* 1997; 148: 109-17.
17. Norday L, Aukrust P, Muller F, Froland S. Abnormal levels of circulating adhesion molecules in HIV-1 infection with characteristic alterations in opportunistic infections. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 81: 16-21.
18. Gattegno L, Bentata-Peyssare M, Granowski S, Chaoucke K, Ferriere F. Elevated concentrations of circulating intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and of vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) in HIV infection. *Cell Adhes Commun* 1995; 3: 179-85.
19. Sipsas N, Sfrikakis PP, Sfrikakis P, Choremi H, Kordossis T. Serum concentrations of soluble intercellular adhesion molecule 1 and progress towards disease in patients infected with HIV. *J Infect* 1994; 29: 271-82.
20. Plaeger-Marshall S, Isacescu V, O'Rourke S, Bertoli J, Bryson Y, Stiehm R. T-cell activation in pediatric AIDS pathogenesis: Three-color immunophenotyping. *Clin Immunol Immunopathol* 1994; 71: 19-26.
21. Rossen R, Smith C, Laughter A, Noonan C, Anderson D, McShawm W, et al. HIV-1 stimulated expression of CD11/CD18 integrins and ICAM-1: A possible mechanism for extravascular dissemination of HIV-1 infected cells. *Trans Assoc Am Physicians* 1989; 102: 117-30.
22. Golding H, Gruber M, Webb D, Gerrard T, Mostowski H, Vujcic L. Re-evaluation of the involvement of the adhesion molecules ICAM/LFA-1 in syncytia formation of HIV-1 infected subclones of a CEM T-cell leukemic line. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1991; 7: 45-53.
23. Shaw S, Van Seventer G, Shimizu Y, Horgan K. The LFA-1 ligand ICAM-1 provide an important costimulatory signal for T-cell receptor mediated activation of resting T-cells. *J Immunol* 1990; 144: 4579-86.
24. Matsuda J, Tsukamoto M, Gohekik K, Saitoh N, Kawasugi K, Kinoshita T. Serum adenosine deaminase and neopterin levels are increased in a majority of hemophiliacs irrespective of infection with human immunodeficiency virus type-1. *Clin Infect Dis* 1993; 16: 260-4.

La universidad debe formar profesionales emprendedores con iniciativa, curiosidad investigadora, juicio correcto, amor a su profesión y a sus semejantes, capaces de plantear problemas nuevos y de resolverlos acertadamente.

Bernardo A. Houssay (1887-1971).

La investigación científica, Buenos Aires: Editorial Columbia, 1955, p 38