

Artigo de Revisão Bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina

**LÚPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO: CAUSAS, MECANISMOS
PATOLÓGICOS E ALVOS TERAPÊUTICOS FUTUROS**

Samuel Barbosa Fonseca

Orientador

Prof. Doutor Manuel Vilanova

Porto, 19 de Junho de 2009

ARTIGO DE REVISÃO

**Lúpus Eritematoso Sistémico: Causas, Mecanismos Patológicos e Alvos Terapêuticos
Futuros**

**Systemic Lupus Erithematosus: Causes, Pathologic Mechanisms and Future
Therapeutic Targets**

Samuel Barbosa Fonseca – ICBAS-UP

samuelbarbosafonseca@hotmail.com

LES: etiopatogénese e novos tratamentos

*** Este artigo foi elaborado segundo as normas de publicação da Acta Reumatológica Portuguesa vigentes à data da proposta do tema**

Resumo

O lúpus eritematoso sistémico é uma doença auto-imune crónica sistémica e heterogénea, cuja etiopatogénese permanece desconhecida, embora se reconheça que factores genéticos e ambientais se combinam para gerar as respostas auto-imunes.

As células apoptóticas são a fonte mais provável dos antígenos para os auto-anticorpos no LES. Alterações nas moléculas com importância na remoção de restos apoptóticos, como os componentes precoces do complemento demonstraram ter uma associação com o lúpus. As células B têm também um papel preponderante nesta doença, dado serem as produtoras dos auto-anticorpos. Moléculas que intervêm na activação das células B, como o CD40L ou o BlyS, estão aumentadas em pacientes com LES e a sua maior expressão associa-se à produção de auto-anticorpos característicos do lúpus. As células T, nomeadamente as células T reguladoras, têm um papel importante no controlo da autoimunidade, e eventualmente também no lúpus. Os receptores toll-like e os receptores Fc têm ganho um papel fundamental na patogénese do LES, sobretudo no que se relaciona com a activação das células B e com o controlo da mesma. Finalmente, citocinas como o interferão, factor de necrose tumoral- α e interleucina-10 também parecem intervir nos mecanismos patológicos desta doença.

Em vários casos, o dano tecidual pelos auto-anticorpos tem-se demonstrado ocorrer através do efeito patológico da ligação directa destes aos seus alvos, e não apenas pela deposição de imunocomplexos e activação do complemento.

Novos agentes terapêuticos têm surgido com base nos estudos mais recentes da etiopatogénese do LES. O seu objectivo tem-se centrado sobretudo na depleção de células B, inibição da interacção das células T com as B, inibição de citocinas ou moléculas estimuladoras.

Esta revisão visa reunir os dados mais recentes acerca da etiopatogénese e, a partir deles, ter uma perspectiva acerca dos futuros tratamentos para o LES.

Palavras-chave: Lúpus Eritematoso Sistémico; etiologia; patogénese; apoptose; tratamento

Abstract

Systemic lupus erithematosus (SLE) is a hetherogeneous systemic chronic autoimmune disease. Its ethiopathogenesis remains unknown, although it is acknowledged that genetic and environmental factors combine to generate the autoimmune response.

Apoptotic cells are the most likely source of the autoantigens recognized by autoantibodies in SLE. Modifications on molecules important for the elimination of apoptotic bodies such as early complement factors have been shown to be associated to SLE. B cells also have an important role in this disease as autoantibody producers. Molecules involved in B cell activation such as CD40L or BLyS, are increased patients with SLE and its higher expression was associated to the production of SLE-characteristic autoantibodies. T cells, and T regulatory cells in particular, also have an important role in the control of autoimmunity and so may be the case in SLE. Toll-like and Fc receptors have progressively acquired an acknowledged role in SLE pathogenesis, mainly in what concerns B cell activation and its control. Finally, cytokines such as interferon, Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-10 also seem to mediate pathological mechanisms of this disease.

In several cases, tissue damage indiced by autoantibodies was shown to occur through the pathologic effect of the direct binding of these molecules to their targets, and not only through their deposition as immune complexes and complement activation.

New therapeutic agents emerged, based on recent studies on SLE ethiopathogenesis. Their action is mainly based in B cell depletion, the inhibition of the interaction of these cells with T lymphocytes, or inhibition of cytokines or co-stimulatory molecules.

This review aims at summarizing the more recent results on the study of SLE ethiopathogenesis and thus to present prospective future treatments for this autoimmune disease.

Keywords: Systemic lupus erythematosus; ethiology; pathogenesis; apoptosis; treatment

Introdução

O lúpus eritematoso sistémico (LES) é uma doença auto-imune com atingimento multissistémico, que pode afectar potencialmente quase todos os órgãos. As manifestações clínicas do LES são muito heterogéneas e podem oscilar entre um rash cutâneo e artralgias até uma serosite, nefrite ou atingimento do SNC (psicose ou convulsões).¹

Cerca de 90% dos doentes são mulheres, normalmente em idade fértil, mas o LES pode afectar ambos os sexos assim como indivíduos de todas as idades e grupos étnicos.

A incidência do LES pode variar consoante a localização geográfica e a raça dos pacientes. As incidências mais baixas de LES ocorrem entre caucasianos americanos e canadianos, 1,4 e 1,6 por 100.000 habitantes, respectivamente. Na Europa, o número de novos casos pode variar entre 2,2 na Espanha até valores mais elevados de 4,7 e 5,0 por 100.000 habitantes na Suécia e França. No Reino Unido, em indivíduos asiáticos e afro-caribenhos, a incidência pode chegar aos 10,0 e 21,9 por 100.000, respectivamente.²

Os padrões da prevalência são semelhantes aos da incidência, 7,4 e 20,6 por 100000 em caucasianos americanos e canadianos, 40,0 na França e 47,8 e 159,4/100000 em asiáticos e afro-caribenhos residentes no Reino Unido.²

Grande parte da patologia do LES está relacionada com a produção de uma grande diversidade de autoanticorpos, maioritariamente contra antígenos nucleares (como ds-DNA, Sm, RNP, Ro, La), e com a deposição de complexos imunes que resulta em inflamação crónica e lesão tecidual.³

A etiologia e patogénese do LES continua pouco compreendida, todavia, face à investigação levada a cabo nas últimas décadas, é hoje aceite que o LES é uma doença multifactorial na qual a interacção entre factores ambientais e genes de susceptibilidade originam respostas imunes anormais que levarão ao desenvolvimento desta doença.¹

Este trabalho pretende rever o estado actual do conhecimento em relação à etiopatogénese do LES, e, face aos dados mais recentes acerca dos mecanismos patogénicos desta doença, rever as perspectivas existentes em relação a novos alvos terapêuticos.

Susceptibilidade Genética

Embora os factores responsáveis pelo início do LES não sejam ainda conhecidos, a predisposição genética é hoje aceite como um elemento chave na susceptibilidade à doença.⁴ A taxa de concordância para LES em gémeos monozigóticos é de cerca de 25% contra 2% para os gémeos dizigóticos,⁵ o que indica que, apesar de importante, a componente genética não é suficiente, por si só, para causar a doença.

Existem imensos estudos que tentaram identificar genes que possam contribuir para a susceptibilidade ao LES, contudo, muitos dos genes identificados ao longo do tempo continuam sem ter o seu papel na etiopatogénese do lúpus confirmado.⁴ Apesar da controvérsia, existem contudo alguns genes que reúnem algum consenso quanto ao seu papel na susceptibilidade ao LES. Entre estes encontram-se alguns alelos que codificam para antígenos de histocompatibilidade, componentes do complemento e receptores do componente Fc da IgG (FcγR).⁴

Foi observada uma frequência aumentada dos alelos HLA-DR2 e DR3 em pacientes caucasianos com LES,⁶ enquanto que os alelos DR3, DR4 e DR9 se verificaram estar numa frequência aumentada em pacientes chineses, japoneses e coreanos, respectivamente.⁷

O gene do componente C4 do complemento também tem sido considerado um gene candidato para uma maior susceptibilidade ao lúpus. O alelo nulo C4AQ*0, que não codifica nenhuma proteína identificável, é um exemplo de um alelo associado a uma susceptibilidade aumentada ao LES,⁸ e que, apesar do forte desequilíbrio de ligação com o alelo HLA-DR3, se verificou ter um efeito independente.⁹ Outras deficiências homozigóticas raras de

componentes precoces da via clássica do complemento, como o C1q, C1r, C1s ou C2, representam o factor de risco mais fortemente associado ao LES para um único gene, apesar de serem encontradas em menos de 1% dos pacientes com lúpus.¹⁰

Alguns genes da família FcγR foram relacionados com uma susceptibilidade aumentada ao LES. O alelo mutante do gene FcγRIIA, que reduz a afinidade da ligação à IgG, foi associado positivamente ao LES em populações caucasianas, numa meta-análise.¹¹ O gene FcγRIIB também foi associado ao lúpus em pacientes japoneses.¹² Um alelo do gene FcγRIIIA foi confirmado como um factor de risco para nefrite lúpica em meta-análises em populações caucasianas e asiáticas,⁷ e polimorfismos “copy-number” (CPN) no FcγRIIIB foram também associados ao LES.⁷ Uma variante regulatória no gene FcRL3 (Fc receptor-like 3), homólogo dos receptores Fcγ clássicos, foi associada a três doenças autoimunes em populações japonesas (artrite reumatóide, tiroidite autoimune e LES).⁷

A lectina 2 de ligação à manose (Mannose Binding Lectin 2, MBL2), que reconhece elementos de manose na superfície de bactérias ou fungos e é capaz de iniciar a activação do complemento, também tem sido associada à patogénese do lúpus.¹³ Os alelos mutantes, que codificam formas proteicas instáveis, estão associados a um efeito modesto na susceptibilidade ao LES.¹⁴

Outros genes, como o *IRF5*, *PDCD1* e *PTPN22*, que codificam respectivamente o factor 5 regulador do interferão (*IRF-5*), o factor da morte programada “programmed death-1” (*PD-1*) e o “tyrosine phosphatase non-receptor type 22” (*PTPN22*), também estão associados a uma susceptibilidade aumentada para LES em determinadas populações.⁷

Factores de Hormonais

Uma vez que a grande maioria dos pacientes com LES são do sexo feminino, e que se verifica maior risco de desenvolver lúpus em mulheres expostas a contraceptivos com

estrogénio ou terapia de substituição hormonal,^{15,16} para além da maior frequência de *flares* durante a gravidez,¹⁷ parece provável um papel importante das hormonas femininas na patogénese desta doença.

O sistema imune humano apresenta um certo dimorfismo sexual, tendo as mulheres uma produção de anticorpos e uma resposta da imunidade celular aumentada após imunizações, enquanto os homens apresentam uma resposta inflamatória mais intensa face a agentes infecciosos.¹⁸ Os estrogénios podem ser um forte estimulador da doença em certas linhagens de ratinhos susceptíveis ao lúpus,¹⁹ para além do facto de fêmeas ovariectomizadas terem melhor sobrevida.²⁰ Os estrogénios e a prolactina são também capazes de regular a sobrevida das células do sistema imune através do sistema Fas/FasL.²¹

Factores de Ambientais

Têm sido propostos vários factores de risco para o LES, contudo, nem sempre as evidências são consistentes. O consumo de tabaco está associado, em alguns estudos, a um risco aumentado de sofrer de lúpus.²²⁻²⁴ Uma metanálise revelou um risco aumentado de LES em fumadores actuais (RR=1,5; IC 95%: 1,09-2,08)²⁵. Freemer et al, revelaram uma associação entre tabagismo actual e níveis séricos aumentados de anticorpos anti-dsDNA.²⁶

Alguns vírus têm sido também propostos como desencadeadores do lúpus, nomeadamente o citomegalovírus (CMV), o vírus Epstein-Barr (EBV) e o parvovírus B19.²⁷ Num estudo sobre lúpus pediátrico 100% dos pacientes eram seropositivos para EBV, contra 69% dos controlos.²⁸ Por outro lado, anticorpos contra o antígeno 1 do EBV reagem cruzadamente com a proteína Ro, em modelos animais, o que pode sugerir um mecanismo de mimetismo molecular no LES.^{29,30} Noutro estudo, o valor médio de anticorpos IgM e IgG específicos para o CMV revelou-se elevado em pacientes com LES, comparativamente com os controlos normais.³¹ É difícil interpretar o significado de serologias virais elevadas em

indivíduos com doenças autoimunes, contudo, devido à raridade do LES, torna-se improvável que infecções comuns sejam o único factor envolvido na sua patogénese.³²

A fotossensibilidade é um sintoma comum dos pacientes com LES. A maioria das lesões cutâneas do lúpus, mas não todas, ocorrem em zonas expostas ao sol e podem ser exacerbadas pela exposição à radiação UV da luz solar ou de outras fontes.³³ A simples exposição à luz solar pode até induzir um *flare* lúpico.³³

A sílica cristalina foi considerada como um outro possível *trigger* em alguns estudos.^{34,35} Outros factores como o álcool, stress, cosméticos ou vacinas também têm sido apontados como possíveis factores de risco. Contudo, a associação entre estes factores e a susceptibilidade ao LES não está ainda bem definida.³²

Etiologia

Apoptose

A apoptose é um processo de destruição celular ordenado e de remoção dos restos celulares. Várias doenças autoimunes têm sido associadas a alterações no processo de apoptose.^{36,37} Durante este processo são expostos componentes nucleares e citoplasmáticos que estão habitualmente fora do alcance do sistema imunitário, e poder despoletar reacções imunes contra elementos do núcleo, citoplasma e membrana.³⁸ Contudo, quando expostas a células apoptóticas, as células dendríticas (DC) não activam as células T, o que já não ocorre no caso de células necróticas.³⁹ A visão mais aceite sobre o assunto é que, durante o *turnover* normal dos tecidos, as células apoptóticas são capturadas pelas DC e transportadas para os gânglios linfáticos onde é induzida tolerância aos antigénios expostos.⁴⁰ Alguma falha no processo de tolerância em relação às células apoptóticas, poderá tornar um indivíduo susceptível ao aparecimento de processos autoimunes e auto-anticorpos.⁴⁰

A *clearance* de células apoptóticas está diminuída *in vitro* e *in vivo* nos pacientes com deficiência do componente C1q do complemento,⁴¹ que por sua vez tem uma forte associação com o desenvolvimento do LES. Moléculas como a MGF-E8 (milk fat globule EGF- factor 8) podem fazer uma ponte entre a superfície das células apoptóticas e os fagócitos, uma vez que se ligam às primeiras e são reconhecidas por receptores das segundas, como o receptor da fosfatidilserina (PS), o que possibilita a fagocitose e a tolerância induzida pela *clearance*.⁴² Além disso, ratinhos *knockout* para MGF-E8 desenvolvem um fenótipo semelhante ao lúpus, e os seus macrófagos conseguem ligar-se, mas não fagocitar, as células apoptóticas,⁴³ o que se assemelha ao que ocorre com os macrófagos dos gânglios linfáticos de pacientes com LES.⁴⁴ *In vitro*, lipossomas contendo PS provocam uma redução da produção da citocina pró-inflamatória IL-12 em macrófagos activados⁴⁵ e aumentam a produção de citocinas anti-inflamatórias *in vivo*.⁴⁶

Um papel da apoptose no desenvolvimento do lúpus é também apoiado por diversos modelos animais, que apresentam função anormal em alguns dos elementos que intervêm neste processo de morte celular.⁴⁷ Alterações na expressão do Fas, FasL, Bcl2/Bim, PD-1, estimulador dos linfócitos B (BLyS ou BAFF) ou TACI (um tipo de receptor do BLyS) levam à acumulação de restos celulares apoptóticos, à formação de anticorpos anti-nucleares e à manifestação de glomerulonefrite *lupus-like*.⁴⁸

Como referido anteriormente, existe acumulação de restos apoptóticos nos centros germinativos dos gânglios linfáticos de pacientes com LES, o que não acontece em indivíduos normais.⁴⁴ Restos celulares/nucleares são observados ligado às células dendríticas foliculares, que normalmente retêm complexos imunes opsonizados por factores do complemento e promovem a activação das células B. Estas fracções celulares poderão assim fornecer o estímulo necessário à sobrevivência de células B autorreactivas, levando à sua diferenciação em plasmócitos e secreção de auto-anticorpos.⁴⁷ Além disso, na medula óssea de pacientes

com LES também pode ser encontrada uma quantidade aumentada de restos apoptóticos, o que, apesar da medula óssea ser um local de intensa apoptose, é raramente observável em indivíduos normais dado a remoção das células apoptóticas ser um processo rápido.⁴⁹

Na epiderme de pacientes com lúpus eritematoso cutâneo (LEC) também são encontrados restos apoptóticos.⁵⁰ A exposição significativa à radiação UV leva à apoptose dos queratinócitos e à acumulação de restos apoptóticos na pele,⁵¹ contudo, ao longo do tempo, as células apoptóticas diminuem nos controles mas acumulam-se nos pacientes com LEC.⁵⁰

A fagocitose de células apoptóticas pode resultar, dependendo do contexto, tanto numa resposta inflamatória como anti-inflamatória. Verificou-se que auto-anticorpos aumentam a fagocitose de células apoptóticas através de opsonização, desviando a resposta imune no sentido da inflamação e da auto-imunidade.^{47,52} Granulócitos e monócitos de pacientes com LES foram capazes de fagocitar fragmentos nucleares, ao contrário dos dos controles. Esta capacidade de fagocitose foi transferida para os fagócitos saudáveis através de anticorpos de pacientes com lúpus. Apenas os granulócitos e monócitos que fagocitaram os fragmentos nucleares produziram grandes quantidades de citocinas inflamatórias.⁴⁷ Isto demonstra a eventual importância dos auto-anticorpos na manutenção da resposta inflamatória à fagocitose de restos celulares apoptóticos.

Auto-anticorpos

A fonte mais provável dos auto-antígenos que vão dar origem aos auto-anticorpos no lúpus são os restos celulares resultantes da apoptose.⁵³ As vesículas apoptóticas expõem na sua superfície moléculas intracelulares, que normalmente não são apresentadas ao sistema imunitário, como nucleossomas, Ro 62, Ro 50, La, entre outros.⁵⁴ Anticorpos contra estas substâncias são frequentes em pacientes com LES, e têm sido associados ao desenvolvimento de lesões cutâneas e de LEC.^{17,33}

Em algumas doenças auto-imunes, entre as quais o lúpus, existe uma modificação dos auto-antígenos induzida pela apoptose, como é o caso da acetilação das histonas induzida pela apoptose, que vão ser um dos alvos dos auto-anticorpos de pacientes com LES.⁵⁵ Outros auto-antígenos, são especificamente clivados pela granzima B durante a morte celular induzida por grânulos de linfócitos citotóxicos, formando partículas únicas, que não ocorrem noutro tipo de formas de morte celular homeostática.⁴⁰ Por outro lado, durante os *flares* lúpicos, os pacientes apresentam uma frequência aumentada de linfócitos T CD8⁺ granzima B⁺ activados, que produzem grandes quantidades de nucleossomas solúveis.⁵⁶

Demonstrou-se também a presença de alguns anticorpos contra moléculas protectoras, como o C1q, a proteína C-reativa, MBL, e a apolipoproteína A1, em pacientes com LES. Estes auto-anticorpos podem ter um papel importante na patogénese do lúpus dada sua importância na remoção de restos apoptóticos.⁵⁷

Complemento

Como já foi abordado anteriormente, a deficiência homozigótica de alguns componentes do complemento está associada a uma susceptibilidade aumentada ao LES. A deficiência homozigótica de C1q pode quase ser considerada uma forma monogénica de LES, já que 93% destes pacientes apresentam LES ou manifestações *lupus-like*.¹⁰ O C1q é essencial para uma remoção eficaz das células apoptóticas, consideradas as fontes primárias de autoantígenos na patogénese do LES.

Células B

Os autoanticorpos, produzidos por células B autorreactivas, têm um papel preponderante na patogénese do LES. Foi possível imunizar coelhos com peptídeos derivados do antígeno Sm (proteína complexada com RNA) e um adjuvante, levando à produção de

anticorpos anti-DNA e ao desenvolvimento de doença auto-imune semelhante ao lúpus,⁵⁸ sugerindo que já existiam nos coelhos células B anti-DNA que escaparam à tolerância central, na medula óssea. O mecanismo pelo qual alguns antígenos nucleares escapam à tolerância do sistema imune ainda não está bem esclarecido. Cerca de 50% das células B imaturas apresentam auto-reactividade, valor que diminui para 6-20% nas células maduras de indivíduos saudáveis.⁵⁹ Na medula óssea, a avidéz do receptor das células B (BCR) para os auto-antígenos é importante para o destino destas células; uma ligação com elevada afinidade aos antígenos do próprio (*self*) promove a via de edição-delecção (“receptor editing”) enquanto as ligações de menor afinidade promovem o desenvolvimento de células anérgicas,⁶⁰ desenvolvendo assim tolerância aos antígenos do próprio. Falhas na indução de anergia ou na edição do BCR poderão levar ao aumento da frequência de células B não-tolerantes ou parcialmente tolerantes nos tecidos linfáticos periféricos, que por sua vez poderão dar origem a células B autorreactivas.⁶⁰

Nos centros germinativos, para que uma célula B se active e secrete anticorpos são necessários uma série de sinais co-estimuladores que modulam os sinais intracelulares do BCR, caso contrário, a ligação somente do antígeno ao BCR leva à apoptose da célula B, gerando tolerância.^{61,62} Alterações nestes moduladores podem ser responsáveis pela activação das células B autorreactivas em vez da sua eliminação, levando à auto-imunidade.⁶²

O CD40 é expresso nos linfócitos B e, quando estimulado pelo seu ligante (CD40L), expresso em grandes quantidades nas células T activadas,⁶³ bloqueia a apoptose induzida pelos antígenos, provocando juntamente com o BCR a activação da célula.⁶⁴ Segundo o ‘*danger model*’, as células T são activadas pelas células apresentadoras de antígenos (APC’s) quando estas são estimuladas por sinais de perigo, como componentes bacterianos, toxinas, citocinas inflamatórias ou células lesionadas.^{65,66} Portanto, as células B podem ser activadas indirectamente por patogéneos através da co-estimulação fornecida pela ligação ao CD40L

expresso nas células T. Ou seja, ao contrário dos auto-antígenos, pólenes ou antígenos alimentares, que não levam à interação com o CD40L, ocorrendo apoptose e tolerância, os agentes infecciosos induzem a sobrevivência e activação das células B.⁶² O CD40L tem a sua expressão aumentada nos linfócitos de pacientes com LES,⁶⁷ e ratinhos transgénicos que têm o CD40L expresso constitutivamente nas células B desenvolvem glomerulonefrite e auto-anticorpos característicos do lúpus.⁶⁸

O BLyS, expresso maioritariamente em células mielóides, também bloqueia a apoptose das células B induzida pela ligação ao BCR, sendo fundamental para a sobrevivência de células B transicionais e de precursores de células B foliculares maduras e da zona marginal.⁶² Tal como no que diz respeito ao CD40L, o BLyS também se encontra aumentado em linfócitos de pacientes com LES,⁶⁹ e ratinhos geneticamente alterados com expressão aumentada de BLyS também desenvolvem uma patologia auto-imune semelhante ao lúpus.⁷⁰

O CD22 e o CD72 são co-receptores inibitórios do BCR, que controlam a intensidade dos sinais produzidos pelo BCR, determinando se as células B serão activadas ou sofrerão apoptose quando estimuladas por antígenos.⁷¹ Ratinhos sem CD22 produzem grandes quantidades de auto-anticorpos,⁷² sugerindo um eventual papel deste antígeno na tolerância aos auto-antígenos.

As células B, uma vez activadas, podem diferenciar-se em plasmócitos (PC) de curta-duração ou fazer parte de uma reacção num centro germinativo da qual se irão formar células B de memória e PC de longa-duração.⁷³ Em ratinhos com LES, foram identificadas células secretoras de auto-anticorpos tanto nos PC de longa-duração quanto nos de curta-duração.⁷⁴ Outros estudos, em modelos animais de susceptibilidade ao LES, indicam que a activação de células B específicas para DNA não ocorre através dos centros germinativos, mas antes através duma via extra-folicular, levando à formação de PC de curta duração.⁶⁰ Pacientes com lúpus, sobretudo durante os *flares*, apresentam uma elevada frequência de células semelhantes

a plasmablastos no sangue.⁷⁵ A via extra-folicular dos plasmablastos tem sido considerada cada vez mais como um possível mecanismo e local primário de produção de auto-anticorpos.⁷⁶

Células T

Apesar de estar bem estabelecido o papel das células B na produção de auto-anticorpos que por sua vez também irão formar imunocomplexos, ambos fundamentais para a patogénese do LES, surge cada vez mais evidência que a função reguladora das células T está alterada e que pode contribuir para a amplificação e perpetuação da resposta autoimune.⁷⁷

As células T de pacientes com LES possuem actividade imunitária reduzida, tanto *in vivo* como *in vitro*, e baixa resposta proliferativa a mitogénios e a antigénios solúveis, contudo, apesar de a sinalização via complexo receptor da célula T (TCR)-CD3 parecer diminuída, as moléculas co-estimuladoras da célula T, tal como as moléculas de adesão, encontram-se aumentadas.⁷⁷ Nos pacientes com LES com envolvimento epitelial (úlceras orais, pleurite e pericardite) a expressão de integrina $\alpha E\beta 7$ (CD103), que se liga à E-caderina expressa nas células epiteliais, está aumentada.⁷⁸ A interacção entre a integrina $\alpha E\beta 7$ e o seu ligando provoca a apoptose das células do epitélio glandular acinar de pacientes com a síndrome de Sjogren,⁷⁹ sendo este um possível mecanismo de dano tecidual também no LES. Por outro lado, em mais de metade dos pacientes com lúpus observa-se uma expressão diminuída da cadeia zeta do TCR (TCR ζ),⁸⁰ o que leva a uma redução da sinalização intracelular da célula T.

A produção de auto-anticorpos depende das células T CD4⁺,⁸¹ o que torna também importante perceber quais os possíveis eventos associados à quebra da tolerância das células T. Nos modelos de LES em ratinhos, a tolerância central mantém-se intacta, pelo que se assume que a quebra de tolerância ocorra na periferia.⁸² As células T reguladoras (Treg),

CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, têm ganho um papel cada vez mais importante na tolerância periférica, sendo células de vida longa, que se pensa controlarem a auto-imunidade.⁸³ Distinguem-se dois tipos de Tregs, as naturais (nTregs), que se desenvolvem no timo, e as adaptativas (aTregs) que se desenvolvem fora do timo e podem ser induzidos pelo TGF- β e IL-2.⁸⁴ O factor de transcrição Foxp3, expresso nas Tregs, controla o seu desenvolvimento e função, o que é apoiado pelo desenvolvimento de síndrome auto-imune linfoproliferativo severo em ratinhos com mutações no Foxp3, que possuem um défice de Tregs; e pela IPEX (imunodesregulação, poliendocrinopatia, enteropatia, ligada ao X), doença recessiva rara e agressiva, com múltiplas manifestações auto-imunes, que ocorre em humanos, e que se deve a uma mutação no gene Foxp3.⁸⁵

A diminuição do número de Tregs foi associada a doença auto-imune multi-orgânica, enquanto que a administração de Tregs singénicas demonstrou anular a doença.⁸⁶ Pensa-se que o efeito das Tregs é específico para determinado antígeno, o que é exemplificado pelo maior eficácia no controlo da diabetes tipo 1 em ratinhos NOD usando Tregs BDC2.5 específicas das ilhotas, em vez de Tregs policlonais,⁸⁷ contudo existem outros estudos que consideram não ser necessário que haja especificidade antigénica na função das Tregs.⁸⁸

A função das Tregs *in vivo* é dependente da IL-10 e/ou do TGF- β , já que a sua função supressora pode ser anulada por anticorpos contra a IL-10 e/ou do TGF- β ,⁸⁹ contudo não se estabeleceu ainda a relação entre esta função supressora e a produção destas citocinas pelas próprias Tregs.⁹⁰ As DC maduras estimulam a proliferação e a acção supressora das nTregs, enquanto que as células dendríticas plasmocitóides (pDC) são capazes de promover a diferenciação de linfócitos T em aTregs.⁹⁰ Existe cada vez mais evidência de que as Tregs exercem parte da sua função através da diminuição da actividade das DC, reduzindo a expressão de marcadores de superfície importantes na activação das células T, como o B7, CD40 e IL-12, redução essa que pode ocorrer através da acção da IL-10 e do TGF- β .^{90,91}

Alterações na quantidade ou função das Tregs revelaram-se importantes na progressão de várias doenças autoimunes específicas de órgão, nomeadamente a diabetes mellitus tipo 1 (DM1),⁹² contudo poucos estudos se debruçaram sobre o papel das células CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ na etiopatogénese do LES. Embora os estudos existentes não tenham sido muito concordantes entre si, alguns mais recentes revelaram diminuição de Tregs na fase activa de pacientes pediátricos com lúpus,⁹³ e verificou-se também redução de Tregs em ratinhos congénicos para o locus *sle1*.⁹⁴ Contudo, a evidência sugere que o defeito na tolerância das células T reguladoras nos ratinhos susceptíveis ao lúpus estará mais na função do que no número reduzido de Tregs.⁸²

TLR

As células B expressam alguns receptores toll-like, como TLR-7 e TLR-9, que reconhecem ácidos nucleicos específicos de alguns agentes patogénicos, como o ds-RNA ou o DNA hipometilado. Quando estimulados por lipopolissacarídeos ou CpG hipometilado, os TLR bloqueiam a apoptose das células estimuladas por antígenos.^{95,96}

O TLR-7 e TLR-9 encontram-se em vesículas citoplasmáticas e não na superfície das células, o que limita o acesso de certas moléculas ao contacto com estes receptores. Uma das vias de acesso é a endocitose mediada pelo BCR, pelo que, auto-antígenos, quando presentes em quantidades excessivas, podem ligar-se tanto ao BCR como ao TLR-7 ou TLR-9, e a estimulação destes dois receptores pode ser suficiente para estimular células B autorreactivas quiescentes.⁹⁷ O TLR-9, apesar de reconhecer DNA bacteriano, também pode ser estimulado pela cromatina, sendo capaz de activar células B auto-reactivas *in vitro*.⁹⁸ No caso do TLR-7, demonstrou-se a resposta anti-Sm dependia deste TLR.⁹⁹ A evidência que resulta destes estudos pode ajudar a esclarecer o facto dos auto-anticorpos no LES terem como alvo preferido certos antígenos nucleares.

In vitro, células B que expressam o receptor para a IgG2a proliferam em resposta a complexos imunes contendo RNA ou DNA, ou proteínas associadas a estes ácidos nucleicos, ligados a IgG2a. Esta resposta pode ser bloqueada por inibidores do TLR-7 e TLR-9. Do mesmo modo, células B de ratinhos deficientes em TLR-7 ou TLR-9 são pouco estimuláveis por complexos imunes contendo RNA ou DNA, respectivamente.⁹⁷

Desde há muito que se sabe que o DNA viral ou bacteriano pode funcionar como adjuvante nas respostas imunes, nomeadamente o DNA rico no padrão CpG não-metilado, padrão este que é raro no DNA dos mamíferos.¹⁰⁰ Contudo, o DNA presente nos imunocomplexos de pacientes com doenças auto-imunes é capaz de activar pDC eficazmente. Uma possível explicação relaciona-se com o facto de pacientes com LES terem defeitos na metilação do DNA,¹⁰¹ ou com a possibilidade de durante a apoptose as células libertarem preferencialmente partes do genoma ricas no padrão CpG hipometilado (como o DNA mitocondrial).⁹⁷ Isto é consistente com a evidência de que o DNA dos complexos imunes dos pacientes com LES é rico em citosina-guanina.¹⁰² Outro aspecto interessante está relacionado com o facto da activação do TLR-7 e -9 ser bloqueada pela cloroquina (medicamento usado na terapêutica do LES), provavelmente devido a evitar a maturação dos endossomas.¹⁰³

Os TLR são também expressos noutras células do sistema imune, como as DC, nas quais também podem ser estimulados por imunocomplexos contendo cromatina.¹⁰⁴ As Tregs também expressão TLRs, nomeadamente TLR-4, -5, -7 e -8.¹⁰⁵ O TLR-8 ao ser activado leva à diminuição da função supressora destas.¹⁰⁶ Como os TLRs são habitualmente activados por produtos derivados de bactérias ou vírus, que fornecem um sinal de perigo para o sistema imune, a diminuição da função das Tregs permitirá que ocorra uma resposta imune vigorosa durante infecções,⁸² contudo diminuirá o controlo sobre as eventuais células auto-reactivas, o que pode em parte justificar o papel das infecções no desencadeamento do LES e dos *flares* lúpicos. Por outro lado, o TLR-4, estimulado directamente pelo LPS, aumenta a proliferação e

actividade das Tregs, limitando uma eventual resposta inflamatória excessiva face a este produto bacteriano.¹⁰⁵

FcγR

Como já foi referido anteriormente, alguns alelos mutantes dos FcγR foram associados a susceptibilidade aumentada ao LES. Dos receptores da família FcγR, apenas o FcγRIIB é inibitório, sendo os restantes (FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIC, FcγRIIIA, FcγRIIIB) activadores; e à excepção do FcγRI, que é de alta afinidade, todos os outros têm baixa ou intermédia afinidade para as IgGs.¹⁰⁷ A maioria das células efectoras do sistema imune inato, como os macrófagos, monócitos, DCs, basófilos ou mastócitos, tem a expressão simultânea de FcγRs activadores e inibitórios, enquanto as células *natural killers* (NK) expressam apenas o receptor activador FcγRIII, e as células B apenas o receptor inibitório FcγRIIB.¹⁰⁷

A ligação de anticorpos aos FcγRs induz uma resposta inflamatória que leva à remoção de células malignas ou infectadas por vírus, mas que pode também ser responsável pela destruição de tecidos saudáveis durante respostas auto-imunes.¹⁰⁷ No caso do FcγRIIB, que tem função inibitória, a diminuição da sua expressão de FcγRIIB leva ao aparecimento de doenças autoimunes ou ao exacerbamento das mesmas em ratinhos,^{108,109} o que suporta a sua importância na modulação da actividade das células B.

Os FcγR activadores e inibitórios presentes nas DCs controlam o seu limite de activação, para além de intervirem na fagocitose de complexos imunes e na apresentação antigénica.^{107,110} DCs de ratinhos *knock-out* para o FcγRIIB apresentam respostas imunes mais intensas e mais duradouras.¹¹¹ Por outro lado, os receptores inibitórios FcγR também previnem a maturação das DCs em condições não inflamatórias, o que é demonstrado pela maturação espontânea destas quando não expressam o FcγRIIB.¹¹²

A terapêutica com IgIV tem sido utilizada com eficácia no tratamento sintomático de certas doenças auto-imunes como o lúpus. Estudos acerca do mecanismo pelo qual as imunoglobulinas policlonais exercem a sua actividade anti-inflamatória permitiram concluir que grande parte deste efeito se deve ao fragmento Fc dos anticorpos.¹¹³ Demonstrou-se que IgIV enriquecidas com fragmentos Fc com ácido siálico tinham uma actividade anti-inflamatória 10 vezes maior,¹¹⁴ e que essa actividade estava dependente da presença do receptor inibitório FcγRIIB.¹¹⁵

Citocinas

Várias citocinas têm sido associadas ao LES ao longo dos anos. O interferão- α (IFN- α) apresenta-se elevado durante os *flares* lúpicos,¹¹⁶ e, além disto, a administração de IFN- α recombinante na terapia de certas neoplasias malignas ou de infecções virais crónicas pode levar à formação de ANA's e ocasionalmente ao desenvolvimento de sintomas característicos do lúpus.¹¹⁷ Estudos genéticos mais recentes identificaram que alguns genes regulados pelo IFN tinham uma expressão aumentada nas células mononucleares de pacientes com LES.¹¹⁸ As pDCs, inicialmente denominadas de células produtoras naturais de IFN, são capazes de produzir grandes quantidades de IFN- α ,¹¹⁹ sendo importantes mediadores do sistema imune inato, nomeadamente perante infecções víricas ou parasitárias. Como já foi referido anteriormente, as pDCs também podem ser estimuladas por imunocomplexos, produzindo IFN- α , em pacientes com LES.¹²⁰ O IFN- α aumenta a expressão do TLR7 em células B humanas,¹²¹ o que as poderá tornar mais reactivas a auto-anticorpos contendo RNA, durante infecções em que haja grandes quantidades de IFNs do tipo I, levando à formação de anticorpos e dos respectivos imunocomplexos, que podem por sua vez activar pDCs, havendo formação de mais IFN- α .⁹⁷ Como também foi referido anteriormente, o gene do IRF-5 tem sido associado a uma susceptibilidade aumentada ao LES. O IRF-5 é expresso

constitutivamente nas pDCs e tem um papel central na indução da produção de IFN do tipo I pelos vírus e agonistas dos TLR7/8.¹²²

O papel do factor de necrose tumoral α (TNF- α) tem sido alvo de alguma controvérsia. Esta citocina foi inicialmente considerada como podendo ter um papel protector no LES, na medida em que a sua administração num modelo experimental de lúpus, os murganhos da estirpe (NZB $\times$ NZW) F1, pode atrasar o desenvolvimento da doença.¹²³ Além disto, em alguns doentes submetidos a terapia com infliximab (anticorpo monoclonal anti-TNF- α), ocorreu o aparecimento de ANAs e anti-dsDNA,^{124,125} embora a maioria dos anticorpos anti-dsDNA fosse da classe IgM, e provavelmente não-patogénicos.¹²⁶ Todavia, em outros modelos de ratinhos que desenvolvem patologia semelhante ao LES verificou-se um efeito benéfico com a terapia anti-TNF.¹²⁷ Para além disto, o lúpus medicamentoso é relativamente raro entre pacientes submetidos a terapêuticas anti-TNF,¹²⁸ e existem mesmo alguns estudos nos quais o infliximab demonstrou ser benéfico.¹²⁹

Em relação à IL-10, os seus níveis apresentam-se elevados nos pacientes com LES, e correlacionam-se com a actividade da doença.¹³⁰ Esta interleucina é um potente estimulador das células B e um inibidor da função das APCs e das células T, e tem uma grande influência na produção de auto-anticorpos no LES.¹³¹ Isto é sugerido num estudo no qual a transferência de células mononucleares de pacientes com LES para ratinhos SCID (Severe Combined Immunodeficiency Disease) leva à produção de anticorpos anti-DNA, sendo essa produção praticamente eliminada com a injeção de anti-IL-10.¹³²

Patogénese

Lesão tecidual

A maioria dos estudos acerca da lesão tecidual pelos auto-anticorpos centra-se no estudo da nefrite lúpica. A nefrite lúpica é uma das manifestações mais graves do LES e pode

levar à insuficiência renal aguda ou crónica. Existem diversas teorias sobre a forma como os auto-anticorpos podem lesar o rim. Por um lado, através formação de imunocomplexos com os nucleossomas, que por sua vez se infiltram na membrana basal dos glomérulos, ocorrendo depois a activação do complemento que iniciará a glomerulonefrite.⁵³ Por outro, existe uma evidência cada vez maior para a possibilidade dos anticorpos anti-DNA se ligarem directamente a antígenos superficiais das células renais ou a componentes da membrana basal.¹³³

No primeiro caso, foi demonstrada a presença de anticorpos anti-nucleossoma em tecidos inflamados de pacientes com lúpus,¹³⁴ assim como a presença de IgG junto com cromatina extracelular nos glomérulos lesados de pacientes com LES.¹³⁵ Por outro lado, não tem sido possível a detecção de imunocomplexos DNA–anti-DNA circulantes em pacientes com LES, nem a administração de imunocomplexos pré-formados resultou em deposição dos mesmos e lesão renal.¹³³

No segundo caso, os anticorpos anti-DNA podem depositar-se na membrana basal dos glomérulos (MBG) através da interacção com DNA ou nucleossomas presos na MBG, ou podem ligar-se directamente a outros antígenos renais.¹³⁶ Vários antígenos, como a laminina, sulfato de heparano, colagénio tipo IV, proteína P ribossómica ou a α -actinina, têm sido propostos como alvos da reacção cruzada dos anticorpos anti-DNA, contudo o seu papel na patogénese da nefrite lúpica permanece obscuro.¹³³ Foi demonstrado que anticorpos anti-DNA de ratinhos susceptíveis ao lúpus, administrados em ratinhos normais, resultam na ligação destes a células renais residentes e à sua penetração no interior destas, ligando-se ao núcleo, e induzindo proliferação glomerular e proteinúria.¹³⁷

A α -actinina é fundamental para manter a função dos podócitos dos glomérulos. Anticorpos anti-DNA que reagem cruzadamente com a α -actinina em ratinhos revelaram uma acção patogénica, provocando proteinúria e glomerulonefrite, enquanto que anticorpos anti-

DNA que não reagiram cruzadamente com este antígeno não provocaram dano renal.¹³⁶ Apesar de não terem sido identificados nas biópsias renais de pacientes com LES, os anticorpos anti- α -actinina, quando presentes no soro de pacientes com lúpus poderão servir como marcadores do envolvimento renal.⁵³

Os anticorpos anti-DNA que se ligam à superfície das células mesangiais e das células epiteliais tubulares proximais são endocitados, levando ao aumento da produção de componentes da matriz extracelular e à produção de citocinas inflamatórias, nomeadamente a IL-6.^{138,139} O micofenolato de mofetil, *in vitro*, diminuiu a ligação de anticorpos anti-DNA às células epiteliais tubulares proximais, reduzindo a produção de IL-6, sugerindo um possível efeito local deste fármaco.¹⁴⁰ No entanto, é importante referir que alguns modelos de ratinhos congénicos manifestam glomerulonefrite na ausência de anticorpos anti-DNA.¹⁴¹

Os anticorpos anti-U1-RNP são anticorpos contra complexos de RNA de cadeia parcialmente dupla e de proteínas do complexo U1-RNP, tal como a U1-A, U1-C e U1-70kDa.¹⁴² Estes anticorpos foram encontrados em 26% de doentes com LES antes do aparecimento das manifestações clínicas, e normalmente aparecem durante o ano que antecede os primeiros sintomas.¹⁴³ Os anticorpos contra o U1-70kDa de restos apoptóticos têm sido associados a lesões cutâneas do lúpus.¹⁴⁴ Um dos mecanismos pelo qual os anticorpos anti-U1-RNP podem causar lesão tecidual é através do aumento da produção de citocinas inflamatórias pelos monócitos,¹⁴⁵ ou através da interacção com as células endoteliais, aumentando a expressão da molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), da molécula de adesão endotelial dos leucócitos 1 (ELAM-1) e de proteínas MHC de classe II.¹⁴⁶

Como referido anteriormente, a radiação UV induz a apoptose de queratinócitos e o aumento de vesículas apoptóticas, que podem ter na sua superfície antígenos como Ro ou La, aos quais se podem ligar os respectivos autoanticorpos, sendo posteriormente fagocitadas por macrófagos e apresentadas aos linfócitos, dando origem a respostas auto-imunes.¹⁴⁷ A

radiação UV, para além da apoptose, também induz a produção de determinadas citocinas, como o TNF- α , IL-1 e IL-10.¹⁴⁸ Algumas destas citocinas estimulam a produção e expressão de certas quimiocinas e moléculas de adesão, que por sua vez recrutam leucócitos para a zona da pele lesionada, exacerbando a resposta inflamatória.¹⁴⁷

Foi estimado que 20-30% das lesões focais em pacientes com LES são provocadas por fenómenos trombóticos e por vasculites, contudo, alguns pacientes apresentam sintomas neuropsiquiátricos e défices cognitivos.¹⁴⁹ Os anticorpos contra os receptores do glutamato têm sido associados às manifestações do lúpus no SNC.¹⁵⁰ Anticorpos contra os receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) NR2A e NR2B foram identificados em 30% de pacientes com LES, independentemente de terem ou não atingimento neuropsiquiátrico.¹⁵¹ Os anticorpos contra o receptor do glutamato AMPA GluR3 ligam-se aos neurónios e são capazes de provocar a morte destes, levando a lesões cerebrais e a défices neurocognitivos.¹⁵¹ Os anticorpos anti-NMDA NR2 também são capazes de se ligar a neurónios e causar lesões hipocámpais e neuronais.¹⁵¹

A vasculopatia é uma das manifestações típicas do LES, e pode afectar os vasos da pele, do coração, dos pulmões, os vasos cerebrais, entre outros. O mecanismo patogénico que tem sido proposto ao longo do tempo é o depósito de imunocomplexos circulantes no endotélio, com posterior activação do complemento.¹⁵² Por outro lado, verificou-se que anticorpos anti-células endoteliais (AECAs) podem estar presentes no soro de 15-88% dos pacientes com lúpus,¹⁵³ e parece provável que a sua presença seja comum na vasculite e na trombose vascular no LES.¹⁵⁴ Foram descritos vários efeitos patológicos relativamente aos AECAs, nomeadamente a activação das células endoteliais, com o aumento de moléculas de adesão; a produção de factor tecidual, com o favorecimento de fenómenos pró-coagulantes; e a apoptose das células endoteliais mediada pelos AECAs.¹⁵³⁻¹⁵⁶

Outro aspecto importante na lesão tecidual no lúpus é o recrutamento de leucócitos mediado por quimiocinas secretadas localmente, representando estas quimiocinas e os respectivos receptores, bons alvos para eventuais novas terapias no lúpus.¹⁵⁷ Ratinhos susceptíveis a manifestações auto-imunes, com deleções em certas quimiocinas ou receptores de quimiocinas, estão protegidos de lesão renal auto-imune.¹⁵⁸

Epitope Spreading

A diversificação e amplificação das manifestações auto-imunes no LES podem ser explicadas pelo processo de ‘*epitope spreading*’, ou seja, a progressão da resposta auto-imune inicial para uma forma crónica da doença, com o aumento dos antígenos alvo dos auto-anticorpos e das células T autorreactivas.¹⁵⁹ A imunização de ratinhos não susceptíveis a doenças auto-imunes com um simples péptido permite a formação de auto-anticorpos com reacção cruzada com outros antígenos, expandindo o processo auto-imune,¹⁶⁰ apoiando a ideia de que as diversas manifestações no lúpus podem surgir a partir de um único auto-antígeno.

Alguns autores admitem que o processo de ‘*epitope spreading*’ possa ocorrer devido à capacidade de algumas células T, específicas para um antígeno do complexo snRNP (*small nuclear ribonucleoprotein complex*), auxiliarem células B autorreactivas específicas para outros antígenos deste complexo (Sm, U1-RNP, etc).^{161,162} Por outro lado, o dano provocado por espécies reactivas de oxigénio (ROS) em determinadas proteínas pode levar à formação de epitopos novos, e ao surgimento de novos auto-anticorpos em várias doenças, incluindo o LES.¹⁵⁹

Novas Terapêuticas

As evidências mais recentes em relação à etiopatogénese do LES levaram ao surgimento de alvos potenciais para novas terapêuticas.

O rituximab, inicialmente aprovado para o tratamento de linfomas não-Hodgking de células B, é um anticorpo quimérico específico para o antígeno CD20, um marcador de superfície presente em células da linhagem B, desde o estágio de pré-linfócito B até ao estágio de célula B madura, mas que não está presente nas células estaminais hematopoiéticas nem nos plasmócitos.¹⁶³ O uso do rituximab na terapêutica do lúpus tem como objectivo a depleção das células B de forma a evitar a sua diferenciação em plasmócitos e diminuir a produção de auto-anticorpos.¹⁶⁴ A diminuição da quantidade de células B ocorre através da acção do complemento, da toxicidade celular mediada por anticorpos e da apoptose.¹⁶⁴ Num ensaio clínico com 18 pacientes com lúpus, 11 dos 17 pacientes que completaram o tratamento com rituximab apresentaram depleção eficaz de linfócitos B, com diminuição da actividade da doença, tendo um deles, que apresentava nefrite de classe IV e proteinúria, sofrido remissão da patologia proliferativa, confirmada por biópsia.¹⁶⁵ Lindholm et al, num estudo com 31 doentes com nefrite lúpica refratária, mostraram que a adição de rituximab à terapêutica habitual resultou num aumento de 25% da taxa de filtração glomerular em 8 doentes.¹⁶⁶ Leandro et al, demonstraram, em 24 pacientes com lúpus grave, que o rituximab era eficaz, não só em pacientes com nefrite lúpica, mas também nas manifestações hematológicas, mucocutâneas e músculo-esqueléticas.¹⁶⁷ Os principais efeitos laterais do rituximab são: febre, arrepios, hipotensão ortostática, broncospasmo, neutropenia, trombocitopenia, astenia, e correlacionam-se com os níveis circulantes de células CD20.¹⁶⁸

O epratuzumab é um anticorpo monoclonal quase completamente humanizado contra o antígeno CD22 presente nas células B, também desde o estágio de pré-linfócito B até ao estágio de célula B madura, e ausente na superfície dos plasmócitos.¹⁶⁹ O mecanismo de

acção do epratuzumab não é bem conhecido, mas é provável que actue influenciando a acção do CD22 sobre o BCR, e também através da depleção das células B circulantes.¹⁷⁰ Os primeiros ensaios clínicos revelaram uma diminuição de 50% na actividade da doença, em 77% dos pacientes,¹⁷¹ sendo contudo as alterações nos marcadores serológicos e nas células B circulantes modestos.¹⁷² Os efeitos laterais do epratuzumab foram ligeiros, incluindo raramente a produção de imunoglobulinas específicas para os anticorpos quiméricos, provavelmente devidas ao baixo componente não humano dos anticorpos.¹⁶⁴

O LPJ-394 ou abetimus sodium é um fármaco formado por quatro epitopos de ds-DNA, que se liga cruzadamente com anticorpos anti-ds-DNA em solução ou com os BCRs anti-ds-DNA na superfície das células B, induzindo apoptose ou anergia destas células.¹⁷³ Em modelos animais de lúpus, o LPJ-394 diminuiu a produção de anti-corpos, melhorou a função renal e aumentou a sobrevida.¹⁷⁴ Um ensaio clínico multicêntrico, randomizado, controlado por placebo, em 230 doentes com LES, revelou uma diminuição dos *flares* renais nos pacientes tratados com LPJ-394, relativamente ao grupo placebo.¹⁷⁵

O belimumab é um anticorpo humanizado contra o BLYS. Em modelos animais o BlyS demonstrou ser essencial ao desenvolvimento de células B e plasmócitos.¹⁷⁶ Ensaio clínicos de fase I demonstraram que o belimumab é um agente seguro em pacientes com LES e, embora não se tenha verificado uma melhoria significativa nos *scores* sobre a actividade da doença, verificou-se uma maior redução de células B nos pacientes tratados com belimumab.¹⁷⁷

Como referido anteriormente, o CD40L é importante na activação das células B e o seu bloqueio pode eventualmente diminuir a produção de auto-anticorpos. Dois anticorpos monoclonais diferentes contra o CD40L foram desenvolvidos (IDEC-131 e GB9588) e realizaram-se quatro ensaios, três com o IDEC-131 e um com o GB9588, que contudo, no geral, não revelaram benefícios significativos relativamente ao grupo placebo.¹⁶⁴

As moléculas co-estimuladoras B7-1 e B7-2 (CD80 e CD86), expressas na superfície das APC's, são necessárias à activação de células T *naive*, através da ligação ao antígeno CD28 das células T.¹⁶⁴ Após a interacção B7-CD28, as células T *naive* passam a expressar a molécula CTLA4 (ou CD152), que também se liga aos antígenos B7, originando um sinal inibitório nas células T activadas, limitando a sua resposta proliferativa.¹⁶⁴ O abatacept (CTLA4-Ig), uma proteína de fusão constituída pela porção Fc de uma imunoglobulina e pelo domínio extracelular da molécula CTLA-4, bloqueia a estimulação das células T mediada pelo CD28 dado competir pela ligação antígenos B7.¹⁷⁸ Este agente já está licenciado para uso na artrite reumatóide estando a decorrer ensaios clínicos de fase III para o LES moderado a grave.¹⁷⁹ Em ratinhos lúpicos, o abatacept diminuiu a produção de auto-anticorpos, a proteinúria e a mortalidade.¹⁶⁵

Como referido anteriormente, o IFN tem sido associado ao LES. Um anticorpo monoclonal humanizado contra o IFN- α foi desenvolvido para ser utilizado no lúpus, mas ainda não existem dados disponíveis *in vivo*.¹²² A administração de anticorpos anti-IFN- γ ou de um receptor solúvel para esta citocina em modelos de ratinhos com lúpus demonstrou uma melhoria da doença, sem toxicidade directa ou efeitos adversos.¹⁶⁵

Apesar da controvérsia sobre o papel do TNF- α na patogénese do LES, discutida anteriormente, o infliximab demonstrou algum benefício em pequenos ensaios,¹²⁹ embora a melhoria nos sintomas não tenha sido sustentada ao longo do tempo e não tenha havido melhoria global da doença.¹⁶⁵

Em relação à IL-10, um anticorpo monoclonal contra esta citocina demonstraram uma diminuição da quantidade de anti-ds-DNA e um atraso na evolução da doença em ratinhos susceptíveis ao lúpus.¹⁶⁵ Este anticorpo foi também testado em 6 pacientes com lúpus refractário às terapêuticas anti-inflamatórias e imunossupressoras, tendo sido demonstrado

uma melhoria clínica, particularmente nos sintomas articulares e cutâneos, embora sem alterações nos parâmetros serológicos da doença.¹⁸⁰

O BB5.1, um anticorpo contra o componente 5 do complemento (C_5) também foi testado em ratinhos com lúpus, tendo-se verificado uma melhoria da sobrevida.¹⁸¹ O objectivo deste anticorpo é impedir a clivagem do C_5 em C_{5a} e C_{5b} , de forma a não permitir a formação do complexo de ataque membranar C_{5b-9} e a impedir a libertação de moléculas inflamatórias, como o C_{5a} .¹⁶⁵

Para além dos agentes referidos anteriormente, estão sendo investigados outros agentes biológicos contra outros alvos moleculares, como a IL-6 e a IL-1.¹⁶⁵ Os primeiros estudos em ratinhos têm demonstrado resultado positivos.¹⁶⁵ O bindarit, que inibe a expressão da quimiocina MCP-1 (“monocyte chemoattractant protein-1”), responsável pelo recrutamento de monócitos para os glomérulos de pacientes com nefrite lúpica, tem revelado também bons resultados nos estudos iniciais em ratinhos.¹⁶⁵

Conclusão

Apesar dos avanços verificados nos últimos anos, a etiopatogénese do lúpus ainda se mantém algo obscura. Vários factores genéticos e ambientais parecem associar-se para quebrar a tolerância do organismo ao próprio, embora se desconheça o momento e as circunstâncias exactas em que ela ocorre. Receptores celulares como os TLRs e FcγRs, as citocinas TNF- α e IFN e ainda as Tregs, associados às disfunções no processo de apoptose, têm ganho cada vez mais preponderância na patogénese do LES. Contudo, tal como se tem verificado em diferentes modelos de ratinhos com lúpus, diferentes mecanismos podem intervir neste processo. Apesar das manifestações clínicas e das características serológicas semelhantes, também é provável que nos pacientes a etiologia do LES tenha intervenientes

diferentes de doente para doente. Isto poderá também reflectir diferentes evoluções e respostas da doença à terapêutica.

As recentes descobertas neste campo possibilitaram o surgimento de novos alvos para a terapia do lúpus. Vários agentes biológicos têm sido desenvolvidos para actuarem contra citocinas, interferirem nas vias de co-estimulação de células B e T, levarem à depleção de células B, entre outros mecanismos de acção. Contudo ainda são escassas as evidências quanto à sua utilização no LES, sendo necessários mais ensaios clínicos. No entanto, após muitos anos de estagnação em relação a novos agentes terapêuticos para o lúpus, as eventuais novas opções permitem-nos ter a ambição futura de melhorar a qualidade de vida e o prognóstico destes doentes, reduzindo os efeitos da imunossupressão crónica.

Referências

1. Hahn BH. Systemic Lupus Erythematosus. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine , 17th Edition. New York: McGraw-Hill Companies, 2008:2075-83
2. Danchenko N, Satia JA, Anthony MS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus* 2006;15:308-318
3. Shirai T, Hirose S. Molecular Pathogenesis of SLE. *Springer Semin Immun* 2006;28:79-82
4. Wakeland EK, Liu K, Graham RR, Behrens TW. Delineating the Genetic Basis of Lupus Erythematosus. *Immunity* 2001;15:397-408
5. Sullivan KE. Genetics of systemic lupus erythematosus: clinical implications. *Rheum Dis Clin North Am* 2000; 26:229-256
6. Harley JB, Moser KL, Gaffney PM, Behrens TW. The genetics of human systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Immunol* 1998;10(6):690-696
7. Kochi Y, Shimane K, Yamamoto K. The genetics of systemic lupus erythematosus: differences across ethnicities. *APLAR Journal of Rheumatology* 2006;9:353-358
8. Yang Y, Chung EK, Zhou B, et al. The intricate role of complement component C4 in human systemic lupus erythematosus. *Curr Dir Autoimmun* 2004;7:98-132
9. Howard PF, Hochberg MC, Bias WB, Arnett FC Jr, McLean RH. Relationship between C4 null genes, HLA-D region antigens, and genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in Caucasian and black Americans. *Am J Med* 1986;81:187-193

10. Carneiro-Sampaio M, Liphaus BL, Jesus AA, Silva CA, Oliveira JB, Kiss MH. Understanding Systemic Lupus Erythematosus Physiopathology in the Light of Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2008;28(Suppl 1):S34-41
11. Karassa FB, Bijl M, Davies KA, et al. Role of the Fcγ receptor IIA polymorphism in the antiphospholipid syndrome: an international meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2003;48:1930-1938
12. Kyogoku C, Dijstelbloem HM, Tsuchiya N, et al. Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: contribution of FCGR2B to genetic susceptibility. *Arthritis Rheum* 2002;46:1242-1254.
13. Seelen MA, Roos A, Daha MR. Role of complement in innate and autoimmunity. *J Nephrol* 2005;18:642-653
14. Lee YH, Witte T, Momot T, et al. The mannosebinding lectin gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus: two case-control studies and a meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2005;52:3966-3974
15. Costenbader KH, Feskanich D, Stampfer MJ, Karlson EW. Reproductive and menopausal factors and risk of systemic lupus erythematosus in women. *Arthritis Rheum* 2007;56:1251-1262
16. Mok CC, Lau CS, Wong RW. Use of exogenous estrogens in SLE. *Semin Arthritis Rheum* 2001;30:426-435
17. Manson JJ, Isenberg DA. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Neth J Med* 2003;61:343-346
18. Lleo A, Battezzati PM, Selmi C, Gershwin ME, Podda M. Is autoimmunity a matter of sex? *Autoimmun Rev* 2008;7:626-630
19. Carlsten H, Tarkowski A, Holmdahl R, Nilsson LA. Oestrogen is a potent disease accelerator in SLE-prone MRL lpr/lpr mice. *Clin Exp Immunol* 1990;80:467-473
20. Cutolo M, Sulli A, Serio B, et al. Estrogens, the immune response and autoimmunity. *Clin Exp Rheumatol* 1995;13:217-226
21. Mor G, Sapi E, Abrahams VM, et al. Interaction of the estrogen receptors with the Fas ligand promoter in human monocytes. *J Immunol* 2003;170:114-122
22. Ghaussy NO, Sibbitt WL Jr, Qualls CR. Cigarette smoking, alcohol consumption, and the risk of systemic lupus erythematosus: a case-control study. *J Rheumatol* 2001;28:2449-2453
23. Nagata C, Fujita S, Iwata H et al. Systemic lupus erythematosus: a case-control epidemiologic study in Japan. *Int J Dermatol* 1995;34:333-337
24. Hardy CJ, Palmer BP, Muir KR, Sutton AJ, Powell RJ. Smoking history, alcohol consumption, and systemic lupus erythematosus: a case-control study. *Ann Rheum Dis* 1998;57:451-455
25. Costenbader KH, Kim DJ, Peerzada J, et al. Cigarette smoking and the risk of systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2004;50:849-857.

26. Freemer MM, King TE Jr, Criswell LA. Association of smoking with dsDNA autoantibody production in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2006;65:581-584
27. Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. Infections and SLE. *Autoimmunity* 2005;38:473-485
28. McClain MT, Poole BD, Bruner BF, Kaufman KM, Harley JB, James JA. An altered immune response to Epstein–Barr nuclear antigen 1 in pediatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:360-368
29. McClain MT, Heinlen LD, Dennis GJ, Roebuck J, Harley JB, James JA. Early events in lupus humoral autoimmunity suggest initiation through molecular mimicry. *Nat Med* 2005;11:85-89
30. Poole BD, Scofield RH, Harley JB, James JA. Epstein–Barr virus and molecular mimicry in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2006;39:63-70
31. Barzilai O, Sherer Y, Ram M, Izhaky D, Anaya J M, Shoenfeld Y. Epstein–Barr Virus and Cytomegalovirus in Autoimmune Diseases: Are They Truly Notorious? A Preliminary Report. *Ann NY Acad Sci* 2007;1108:567-577
32. Simard JF, Costenbader KH. What can epidemiology tell us about systemic lupus erythematosus? *Int J Clin Pract* 2007;61:1170-1180
33. Bijl M, Kallenberg CG. Ultraviolet light and cutaneous lupus. *Lupus* 2006;15:724-727
34. Parks CG, Cooper GS, Nylander-French LA, et al. Occupational exposure to crystalline silica and risk of systemic lupus erythematosus: a population-based, case–control study in the southeastern United States. *Arthritis Rheum* 2002;46:1840-1850
35. Parks CG, Conrad K, Cooper GS. Occupational exposure to crystalline silica and autoimmune disease. *Environ Health Perspect* 1999;107(Suppl. 5):793-802
36. Franz S, Gaipl US, Munoz LE, et al. Apoptosis and autoimmunity: When apoptotic cells break their silence. *Curr Rheumatol Rep* 2006;8:245-247
37. Viorritto IC, Nikolov NP, Siegel RM. Autoimmunity versus tolerance: Can dying cells tip the balance? *Clin Immunol* 2007;122:125-134
38. Atassi MZ, Casali P. Molecular mechanisms of autoimmunity. *Autoimmunity*, 2008;41:123-132
39. 39 – Gallucci S, Lolkema M, Matzinger P. Natural adjuvants: endogenous activators of dendritic cells. *Nat Med* 1999;5:1249-1255
40. Mahoney J, Rosen A. Apoptosis and autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2005;17:583-588
41. Botto M, Dell’Agnola C, Bygrave AE, et al. Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nat Genet* 1998;19:56-59
42. Fadok VA, Voelker DR, Campbell PA, Cohen JJ, Bratton DL, Henson PM. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J Immunol* 1992;148:2207-2216
43. Hanayama R, Tanaka M, Miyasaka K, et al. Autoimmune disease and impaired uptake of apoptotic cells in MFG-E8-deficient mice. *Science* 2004;304:1147-1150

44. Baumann I, Kolowos W, Voll RE, et al. Impaired uptake of apoptotic cells into tingible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002;46:191-201
45. Kim S, Elkon KB, Ma X. Transcriptional suppression of interleukin-12 gene expression following phagocytosis of apoptotic cells. *Immunity* 2004;21:643-653
46. Hoffmann PR, Kench JA, Vondracek A, et al. Interaction between phosphatidylserine and the phosphatidylserine receptor inhibits immune responses in vivo. *J Immunol* 2005;174:1393-1404
47. Munoz LE, van Bavel C, Franz S, Berden J, Herrmann M, van der Vlag J. Apoptosis in pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2008;17:371-375
48. Dieker JW, van der Vlag J, Berden JH. Deranged removal of apoptotic cells: its role in the genesis of lupus. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:282-285
49. Hepburn AL, Lampert IA, Boyle JJ, et al. In vivo evidence for apoptosis in the bone marrow in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1106-1109
50. Kuhn A, Herrmann M, Kleber S, et al. Accumulation of apoptotic cells in the epidermis of patients with cutaneous lupus erythematosus after ultraviolet irradiation. *Arthritis Rheum* 2006;54:939-950
51. Kuhn A, Bijl M. Pathogenesis of cutaneous lupus erythematosus. *Lupus* 2008;17:389-393
52. Frisoni L, McPhie L, Colonna L, et al. Nuclear autoantigen translocation and autoantibody opsonization lead to increased dendritic cell phagocytosis and presentation of nuclear antigens: a novel pathogenic pathway for autoimmunity? *J Immunol* 2005;175:2692-2701
53. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2008;358:929-939
54. Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med* 1994;179:1317-1330
55. Dieker JW, Fransen JH, van Bavel CC, et al. Apoptosis-induced acetylation of histones is pathogenic in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2007;56:1921-1933
56. Blanco P, Pitard V, Viallard JF, et al. Increase in activated CD8+ T lymphocytes expressing perforin and granzyme B correlates with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005;52:201-211
57. Shoenfeld Y, Szyper-Kravitz M, Witte T, et al. Autoantibodies against protective molecules C1q, C-reactive protein, serum amyloid P, mannose-binding lectin, and apolipoprotein A1: prevalence in systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1108:227-239
58. James JA, Gross T, Scofield RH, Harley JB. Immunoglobulin epitope spreading and autoimmune disease after peptide immunization: Sm B/B'-derived PPPGMRPP and PPPGIRGP induce spliceosome autoimmunity. *J Exp Med* 1995;181:453-461
59. Wardemann H, Yurasov S, Schaefer A, Young JW, Meffre E, Nussenzweig MC. Predominant autoantibody production by early human B cell precursors. *Science* 2003;301:1374-1377

60. Shlomchik MJ. Sites and stages of autoreactive B cell activation and regulation. *Immunity* 2008;28:18-28
61. Strasser A, Puthalakath H, O'Reilly LA, Bouillet P. What do we know about the mechanisms of elimination of autoreactive T and B cells and what challenges remain. *Immunol Cell Biol* 2008;86: 57-66
62. Tsubata T. B-cell abnormality and systemic lupus erythematosus. *APLAR Journal of Rheumatology* 2006;9:372-376
63. Banchereau J, Bazan F, Blanchard D, et al. The CD40 antigen and its ligand. *Ann Rev Immunol* 1994;12:881-922
64. Hokazono Y, Adachi T, Wabl M, Tada N, Amagasa T, Tsubata T. Inhibitory co-receptors activated by antigens but not by anti-immunoglobulin heavy chain antibodies install requirement of co-stimulation through CD40 for survival and proliferation of B-cells. *J Immunol* 2003;171:1835-1843
65. Ridge JP, Fuchs EJ, Matzinger P. Neonatal tolerance revisited: turning on newborn T cells with dendritic cells. *Science* 1996;271:1723-1726
66. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science* 2002;296:301-305
67. Desai-Mehta A, Lu L, Ramsey GR, Datta SK. Hyperexpression of CD40 ligand by B and T-cells in human lupus and its role in pathogenic autoantibody production. *J Clin Invest* 1996;97:2063-2073
68. Higuchi T, Aiba Y, Nomura T, et al. Cutting edge: Ectopic expression of CD40 ligand on B-cells induces lupus-like autoimmune disease. *J Immunol* 2002;168:9-12
69. Yoshimoto K, Takahashi Y, Ogasawara M, et al. Aberrant expression of BAFF in T-cells of systemic lupus erythematosus, which is recapitulated by a human T-cell line, Loucy. *Int Immunol* 2006;18:1189-1196
70. Mackay F, Woodcock SA, Lawton P, et al. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J Exp Med* 1999;190:1697-1710
71. Nitschke L, Tsubata T. Molecular interactions regulate BCR signal inhibition by CD22 and CD72. *Trends Immunol* 2004;25:543-550
72. O'Keefe TL, Williams GT, Batista FD, Neuberger MS. Deficiency in CD22, a B-cell-specific inhibitory receptor, is sufficient to predispose to development of high affinity autoantibodies. *J Exp Med* 1999;189:1307-1313
73. Mandik-Nayak L, Ridge N, Fields M, Park AY, Erikson J. Role of B cells in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Curr Opin Immunol* 2008;20:639-645
74. Hoyer BF, Moser K, Hauser AE, et al. Short-lived plasmablasts and long-lived plasma cells contribute to chronic humoral autoimmunity in NZB/W mice. *J Exp Med* 2004;199:1577-1584

75. Arce E, Jackson DG, Gill MA, Bennett LB, Banchereau J, Pascual V. Increased frequency of pre-germinal center B cells and plasma cell precursors in the blood of children with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol* 2001;167:2361-2369
76. Weisel F, Wellmann U, Winkler, TH. Autoreactive B cells get activated in extrafollicular sites. *Eur J Immunol* 2007;37:3330-3333
77. Takeuchi T, Tsuzaka K, Kameda H, et al. Molecular abnormalities of T-cells in systemic lupus erythematosus. *APLAR Journal of Rheumatology* 2006;9:365-371
78. Pang M, Abe T, Fujihara T, et al. Up-regulation of $\alpha E\beta 7$, a novel integrin adhesion molecule, on T cells from systemic lupus erythematosus patients with specific epithelial involvement. *Arthritis Rheum* 1998;41:1456-1463
79. Fujihara T, Fujita H, Tsubota K, et al. Preferential localization of CD8+ $\alpha E\beta 7$ + T-cells around acinar epithelial cells with apoptosis in patients with Sjogren's syndrome. *J Immunol* 1999;163:2226-2235.
80. Liossis SN, Ding XZ, Dennis GJ, Tsokos GC. Altered pattern of TCR/CD3-mediated protein-tyrosyl phosphorylation in T-cells from patients with systemic lupus erythematosus. Deficient expression of the T-cell receptor zeta chain. *J Clin Invest* 1998;101:1448-1457
81. Voll RE, Roth EA, Girkontaite I, et al. Histone-specific Th0 and Th1 clones derived from systemic lupus erythematosus patients induce double-stranded DNA antibody production. *Arthritis Rheum* 1997;40:2162-2171
82. Mudd PA, Teague BN, Farris AD. Regulatory T Cells and Systemic Lupus Erythematosus. *Scand J Immunol.* 2006;64:211-218
83. Hsieh CS, Liang Y, Tyznik AJ, Self SG, Liggitt D, Rudensky AY. Recognition of the peripheral self by naturally arising CD25+ CD4+ T cell receptors. *Immunity* 2004;21:267-277
84. La Cava A. Tregs are regulated by cytokines: Implications for autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2008;8:83-87
85. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005;6:345-352
86. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic selftolerance aintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155:1151-1164
87. Tang Q, Henriksen KJ, BiM, et al. In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. *J Exp Med* 2004;199:1455-1465
88. Thornton AM, Shevach EM. Suppressor effector function of CD4+CD25+ immunoregulatory T cells is antigen nonspecific. *J Immunol* 2000;164:183-190
89. Belghith M, Bluestone JA, Barriot S, M  gret J, Bach JF, Chatenoud L. TGF-beta-dependent mechanisms mediate restoration of self-tolerance induced by antibodies to CD3 in overt autoimmune diabetes. *Nat Med* 2003;9:1202-1208

90. Bluestone JA, Tang Q. How do CD4+CD25+ regulatory T cells control autoimmunity? *Curr Opin Immunol* 2005;17:638-642
91. Cederbom L, Hall H, Ivars F. CD4+CD25+ regulatory T cells down-regulate co-stimulatory molecules on antigen-presenting cells. *Eur J Immunol* 2000;30:1538-1543
92. Peng Y, Laouar Y, Li MO, Green EA, Flavell RA. TGF-beta regulates in vivo expansion of Foxp3-expressing CD4+CD25+ regulatory T cells responsible for protection against diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:4572-4577
93. Lee JH, Wang LC, Lin YT, Yang YH, Lin DT, Chiang BL. Inverse correlation between CD4 regulatory T-cell population and autoantibody levels in paediatric patients with systemic lupus erythematosus. *Immunology* 2006;117:280-286
94. Chen Y, Cuda C, Morel L. Genetic determination of T cell help in loss of tolerance to nuclear antigens. *J Immunol* 2005;174:7692-7702
95. Jongstra-Bilen J, Wielowieyski A, Misener V, Jongstra J. LSP1 regulates anti-IgM induced apoptosis in WEHI-231 cells and normal immature B-cells. *Mol Immunol* 1999;36:349-359
96. Yi AK, Krieg AM. CpG DNA rescue from anti-IgM induced WEHI-231 B lymphoma apoptosis via modulation of I kappa B alpha and I kappa B beta and sustained activation of nuclear factor-kappa B/c-Rel. *J Immunol* 1998;160:1240-1245
97. Marshak-Rothstein A. Toll-like receptors in systemic autoimmune disease. *Nat Rev Immunol* 2008;6:823-835
98. Viglianti GA, Lau CM, Hanley TM, Miko BA, Shlomchik MJ, Marshak-Rothstein A. Activation of autoreactive B cells by CpG dsDNA. *Immunity* 2003;19:837-847
99. Christensen SR, Shupe J, Nickerson K, Kashgarian M, Flavell RA, Shlomchik MJ. Toll-like receptor 7 and TLR9 dictate autoantibody specificity and have opposing inflammatory and regulatory roles in a murine model of lupus. *Immunity* 2006;25:417-28
100. Krieg AM, Yi AK, Matson S, et al. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature* 1995;374:546-549
101. Richardson B, Scheinbart L, Strahler J, Gross L, Hanash S, Johnson M. Evidence for impaired T cell DNA methylation in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1665-1673
102. Sano H, Morimoto C. DNA isolated from DNA/anti- DNA antibody immune complexes in systemic lupus erythematosus is rich in guanine-cytosine content. *J Immunol* 1982;128:1341-1345
103. Macfarlane DE, Manzel L. Antagonism of immunostimulatory CpG-oligodeoxynucleotides by quinacrine, chloroquine and structurally related compounds. *J. Immunol* 1998;160:1122-1131
104. Boulé MW, Broughton C, Mackay F, Akira S, Marshak-Rothstein A, Rifkin IR. Toll-like receptor 9-dependent and -independent dendritic cell activation by chromatin-immunoglobulin G complexes. *J Exp Med* 2004;199:1631-1640

105. Caramalho I, Lopes-Carvalho T, Ostler D, Zelenay S, Haury M, Demengeot J. Regulatory T cells selectively express toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med* 2003;197:403-411
106. Peng G, Guo Z, Kiniwa Y et al. Toll-like receptor 8-mediated reversal of CD4⁺ regulatory T cell function. *Science* 2005;309:1380-1384
107. Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fc γ receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol* 2008;8:34-47
108. Bolland S, Ravetch JV. Spontaneous autoimmune disease in Fc γ RIIB-deficient mice results from strainspecific epistasis. *Immunity* 2000;13:277-285
109. Nakamura A, Yuasa T, Ujike A, et al. Fc γ receptor IIB-deficient mice develop Goodpasture's syndrome upon immunization with type IV collagen: a novel murine model for autoimmune glomerular basement membrane disease. *J Exp Med* 2000;191:899-906
110. Woelbing F, Kostka SL, Moelle K, et al. Uptake of *Leishmania major* by dendritic cells is mediated by Fc γ receptors and facilitates acquisition of protective immunity. *J Exp Med* 2006;203:177-188
111. Bergtold A, Desai DD, Gavhane A, Clynes R. Cell surface recycling of internalized antigen permits dendritic cell priming of B cells. *Immunity* 2005;23:503-514
112. Dhodapkar KM, Kaufman JL, Ehlers M, et al. Selective blockade of inhibitory Fc γ receptor enables human dendritic cell maturation with IL-12p70 production and immunity to antibody-coated tumor cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2005;102:2910-2915
113. Debré M, Bonnet MC, Fridman WH, et al. Infusion of Fc γ fragments for treatment of children with acute immune thrombocytopenic purpura. *Lancet* 1993;342:945-949
114. Kaneko Y, Nimmerjahn F, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of immunoglobulin G resulting from Fc sialylation. *Science* 2006;313:670-673
115. Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science* 2001;291:484-486
116. Rönnblom L, Alm GV. Systemic lupus erythematosus and the type I interferon system. *Arthritis Res Ther* 2003;5:68-75
117. Rönnblom L, Alm GV, Oberg KE. Possible induction of systemic lupus erythematosus by interferon- α treatment in a patient with a malignant carcinoid tumour. *J Intern Med* 1990;227:207-210
118. Baechler EC, Batliwalla FM, Karypis G, et al. Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:2610-2615
119. Rönnblom L, Alm GV. A pivotal role for the natural interferon α -producing cells (plasmacytoid dendritic cells) in the pathogenesis of lupus. *J Exp Med* 2001;194:59-63

120. Vallin H, Blomberg S, Alm GV, Cederblad B, Rönnblom L. Patients with systemic lupus erythematosus (SLE) have a circulating inducer of interferon- α (IFN- α) production acting on leucocytes resembling immature dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 1999;115:196-202
121. Bekeredjian-Ding IB, Wagner M, Hornung V, et al. Plasmacytoid dendritic cells control TLR7 sensitivity of naive B cells via type I IFN. *J Immunol* 2005;174:4043-4050
122. Wenzel J, Tüting T. Identification of type I interferon-associated inflammation in the pathogenesis of cutaneous lupus erythematosus opens up options for novel therapeutic approaches. *Exp Dermatol* 2007;16:454-463
123. Jacob CO, McDevitt HO. Tumour necrosis factor-alpha in murine autoimmune 'lupus' nephritis. *Nature* 1988;331:356-358
124. Charles PJ, Smeenk RJ, De Jong J, Feldmann M, Maini RN. Assessment of antibodies to double-stranded DNA induced in rheumatoid arthritis patients following treatment with infliximab, a monoclonal antibody to tumor necrosis factor alpha: findings in open-label and randomized placebo-controlled trials. *Arthritis Rheum* 2000;43:2383-2390
125. Eriksson C, Engstrand S, Sundqvist KG, Rantapää-Dahlqvist S. Autoantibody formation in patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF alpha. *Ann Rheum Dis* 2005;64:403-407
126. Aringer M, Smolen JS. The role of tumor necrosis factor-alpha in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2008;10:202
127. Edwards CK 3rd, Zhou T, Zhang J, et al. Inhibition of superantigen-induced proinflammatory cytokine production and inflammatory arthritis in MRL-lpr/lpr mice by a transcriptional inhibitor of TNF-alpha. *J Immunol* 1996;157:1758-1772
128. Vedove CD, Del Giglio M, Schena D, Girolomoni G. Drug-induced lupus erythematosus. *Arch Dermatol Res* 2009;301:99-105
129. Aringer M, Graninger WB, Steiner G, Smolen JS. Safety and efficacy of tumor necrosis factor alpha blockade in systemic lupus erythematosus: an open-label study. *Arthritis Rheum* 2004;50:3161-3169
130. Houssiau FA, Lefebvre C, Vanden Berghe M, Lambert M, Devogelaer JP, Renauld JC. Serum interleukin 10 titers in systemic lupus erythematosus reflect disease activity. *Lupus* 1995;4:393-395
131. Llorente L, Richaud-Patin Y. The role of interleukin-10 in systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* 2003;20:287-289
132. Llorente L, Zou W, Levy Y, et al. Role of interleukin-10 in the B lymphocyte hyperactivity and autoantibody production of systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* 1995;181:839-844
133. Yung S, Chan TM. Anti-DNA antibodies in the pathogenesis of lupus nephritis – the emerging mechanisms. *Autoimmun Rev* 2008;7:317-321

134. Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H, et al. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: antinucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43:76-84
135. Kalaaji M, Fenton KA, Mortensen ES, et al. Glomerular apoptotic nucleosomes are central target structures for nephritogenic antibodies in human SLE nephritis. *Kidney Int* 2007;71:664-672
136. Mostoslavsky G, Fischel R, Yachimovich N, et al. Lupus anti-DNA autoantibodies cross-react with a glomerular structural protein: a case for tissue injury by molecular mimicry. *Eur J Immunol* 2001;31:1221-1227
137. Vlahakos D, Foster MH, Ucci AA, Barrett KJ, Datta SK, Madaio MP. Murine monoclonal anti-DNA antibodies penetrate cells, bind to nuclei, and induce glomerular proliferation and proteinuria in vivo. *J Am Soc Nephrol* 1992;2:1345-1354
138. Yung S, Tsang RC, Sun Y, Leung JK, Chan TM. Effect of human anti-DNA antibodies on proximal renal tubular epithelial cell cytokine expression: implications on tubulointerstitial inflammation in lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3281-3294
139. Yung S, Tsang RC, Leung JK, Chan TM. Increased mesangial cell hyaluronan expression in lupus nephritis is mediated by anti-DNA antibody-induced IL-1beta. *Kidney Int* 2006;69:272-280
140. Ng CYC, Yung S, Chan TM. Mycophenolic acid reduces anti-DNA antibody binding and cytokine secretion in renal proximal tubular epithelial cells — implications in lupus nephritis. *Lupus* 2007;16(Suppl 1):63
141. Waters ST, McDuffie M, Bagavant H, et al. Breaking tolerance to double stranded DNA, nucleosome, and other nuclear antigens is not required for the pathogenesis of lupus glomerulonephritis. *J Exp Med* 2004;199:255-264
142. Greidinger EL, Hoffman RW. Autoantibodies in the pathogenesis of mixed connective tissue disease. *Rheum Dis Clin North Am* 2005;31:437-450
143. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003;349:1526-1533
144. Greidinger EL, Casciola-Rosen L, Morris SM, Hoffman RW, Rosen A. Autoantibody recognition of distinctly modified forms of the U1-70kD antigen is associated with different clinical disease manifestations. *Arthritis Rheum* 2000;43:881-888
145. Keith MP, Moratz C, Tsokos GC. Anti-RNP immunity: Implications for tissue injury and the pathogenesis of connective tissue disease. *Autoimmun Rev* 2007;6:232-236
146. Okawa-Takatsuji M, Aotsuka S, Fujinami M, Uwatoko S, Kinoshita M, Sumiya M. Up-regulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and class II MHC molecules on pulmonary artery endothelial cells by antibodies against U1-ribonucleoprotein. *Clin Exp Immunol* 1999;116:174-180
147. Werth VP. Cutaneous lupus: insights into pathogenesis and disease classification. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2007;65:200-204

148. Brink N, Szamel M, Young AR, Wittern KP, Bergemann J. Comparative quantification of IL-1beta, IL-10, IL-10r, TNFalpha and IL-7 mRNA levels in UV-irradiated human skin in vivo. *Inflam Res* 2000;49:290-296
149. DeGiorgio LA, Konstantinov KN, Lee SC, Hardin JA, Volpe BT, Diamond B. A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. *Nat Med* 2001;7:1189-1193
150. Yoshio T, Onda K, Nara H, Minota S. Association of IgG anti-NR2 glutamate receptor antibodies in cerebrospinal fluid with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:675-678
151. Levite M, Ganor Y. Autoantibodies to glutamate receptors can damage the brain in epilepsy, systemic lupus erythematosus and encephalitis. *Expert Rev Neurother* 2008;8:1141-1160
152. Kallenberg CG, Heeringa P. Pathogenesis of vasculitis. *Lupus* 1998;7:280-284
153. Renaudineau Y, Dugué C, Dueymes M, Youinou P. Antiendothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2002;1:365-372
154. Del Papa N, Raschi E, Moroni G, et al. Anti-endothelial cell IgG fractions from systemic lupus erythematosus patients bind to human endothelial cells and induce a pro-adhesive and a pro-inflammatory phenotype in vitro. *Lupus* 1999;8:423-429
155. Bordron A, Révélen R, D'Arbonne F, et al. Functional heterogeneity of anti-endothelial cell antibodies. *Clin Exp Immunol* 2001;124:492-501
156. Cieřlik P, Hrycek A, Kłuciński P. Vasculopathy and vasculitis in systemic lupus erythematosus. *Pol Arch Med Wewn* 2008;118:57-63
157. Vielhauer V, Anders HJ, Schlöndorff D. Chemokines and chemokine receptors as therapeutic targets in lupus nephritis. *Semin Nephrol* 2007;27:81-97
158. Kulkarni O, Anders HJ. Chemokines in lupus nephritis. *Front Biosci* 2008;13:3312-3320
159. Kurien BT, Scofield RH. Autoimmunity and oxidatively modified autoantigens. *Autoimmun Rev* 2008;7:567-573
160. Deshmukh US, Gaskin F, Lewis JE, Kannapell CC, Fu SM. Mechanisms of autoantibody diversification to SLE-related autoantigens. *Ann NY Acad Sci* 2003;987:91-98
161. Deshmukh US, Bagavant H, Lewis J, Gaskin F, Fu SM. Epitope spreading within lupus-associated ribonucleoprotein antigens. *Clin Immunol* 2005;117:112-120
162. Shlomchik MJ, Craft JE, Mamula MJ. From T to B and back again: positive feedback in systemic autoimmune disease. *Nat Rev Immunol* 2001;1:147-153
163. Gopal AK, Press OW. Clinical applications of anti-CD20 antibodies. *J Lab Clin Med* 1999;134:445-450
164. Cordeiro AC, Isenberg DA. Novel therapies in lupus – focus on nephritis. *Acta Reumatol Port* 2008;33:157-169

165. Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum* 2004; 50:2580-2589
166. Lindholm C, Börjesson-Asp K, Zendjanchi K, Sundqvist AC, Tarkowski A, Bokarewa M. Longterm clinical and immunological effects of anti-CD20 treatment in patients with refractory systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2008;35:826-833
167. Leandro MJ, Cambridge G, Edwards JC, Ehrenstein MR, Isenberg DA. B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 24 patients. *Rheumatology* 2005;44:1542-1545
168. García-Carrasco M, Jiménez-Hernández M, Escárcega RO, et al. Use of rituximab in patients with systemic lupus erythematosus: an update. *Autoimmun Rev* 2009;8:343-348
169. Ng KP, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein MR, Cambridge G, Isenberg DA. Repeated B cell depletion in treatment of refractory systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2006;65:942-945
170. Steinfeld SD, Tant L, Burmester GR, et al. Epratuzumab (humanised anti-CD22 antibody) in Primary Sjögren Syndrome: an open label phase I/II study. *Arthritis Res Ther* 2006;8:129-139
171. Dörner T, Kaufmann J, Wegener WA, Teoh N, Goldenberg DM, Burmester GR. Initial clinical trial of epratuzumab (humanized anti-CD22 antibody) for immunotherapy of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2006; 8:74
172. Eisenberg R. Targeting B cells in systemic lupus erythematosus: not just déjà vu all over again. *Arthritis Res Ther* 2006;8:108-109
173. Haubitz M. Exploring new territory: the move towards individualised treatment. *Lupus*. 2007;16:227-231
174. Furie R, Cash J, Cronin M et al. Treatment of Systemic Lupus Erythematosus with LJP 394. *J Rheumatol* 2001;28:257-265
175. Alarcón-Segovia D, Tumlin JA, Furie RA et al. LJP 394 for the prevention of renal flare in patients with systemic lupus erythematosus. Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum* 2003;48:442-454
176. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, et al. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *J Exp Med* 2004;199:91-98
177. Furie R, Stohl W, Ginzler EM, et al. Biologic activity and safety of belimumab, a neutralizing anti-B-lymphocyte stimulator (BLyS) monoclonal antibody: a phase I trial in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2008;10:109
178. Graca L. CTLA4Ig and the therapeutic potencial of T cell co-stimulation blockade. *Acta Reumatol Port* 2008;33:267-276
179. Schneider M. Exploring new territory: considering the future. *Lupus* 2007;16:221-226

- 180.** Llorente L, Richaud-Patin Y, Garcia-Padilla C et al. Clinical and Biologic Effects of Anti-IL10 Monoclonal Antibody Administration in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43:1790-1800
- 181.** Rother RP, Mojcik CF, McCroskery EW. Inhibition of terminal complement: a novel therapeutic approach for the treatment of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004;13:328-334