

NÚCLEO DE ESTUDOS DE DOENÇAS AUTO-IMUNES

HOSPITAL DE S.ANTÓNIO - ICBAS

**FACTORES PREDISPONENTES AO DESENVOLVIMENTO
DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO E SUA
IMPORTÂNCIA NA PRÁTICA CLÍNICA**

ANA SOFIA LÁZARO MENDES

Professor Orientador: Dr. António Joaquim dos Santos Pereira Sá Marinho

Mestrado Integrado em Medicina

2009 - 2010

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar a minha gratidão ao Dr. António Marinho pelos seus conselhos e apoio dados ao longo desta pesquisa. Esteve sempre aberto a novas ideias e realmente apreciei a liberdade e o incentivo que ele me deu durante todo o trabalho.

Queria também agradecer aos meus pais e irmãos pela paciência que tiveram...

RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistémico é uma doença autoimune na qual há lesão de órgãos e tecidos. Estas lesões são mediadas por autoanticorpos e pela deposição de complexos imunes. Todos os órgãos podem estar envolvidos. O Colégio Americano de Reumatologia desenvolveu um conjunto de critérios de classificação para o Lúpus.

Uma combinação particular de factores genéticos, imunológicos, hormonais e ambientais é necessária ao desenvolvimento do Lúpus – compreendendo o chamado “Mosaico da Autoimunidade”.

O conhecimento sobre os factores envolvidos na autoimunidade tem crescido nos últimos anos. Marcadores genéticos têm sido identificados. Os factores imunológicos foram revistos e novos achados sobre os componentes do sistema imune associados ao Lúpus estão a ser divulgados, tais como: defeitos nas células T reguladoras; envolvimento de receptores Toll-like específicos e deficiência de componentes do complemento. Inúmeros estudos têm mostrado que o aparecimento de autoanticorpos em doentes com Lúpus tende a seguir um curso previsível, com a acumulação progressiva de autoanticorpos específicos antes do seu início clínico. Em relação aos factores hormonais, não só os estrogénios e androgénios, mas também a prolactina e a vitamina D desempenham um papel importante na autoimunidade. A relação entre gravidez (especialmente no período pós-parto) e indução/exacerbação do Lúpus foi mais precisamente definida. Grandes progressos têm sido alcançados relativamente aos factores ambientais. Infecções víricas, radiação ultravioleta, fármacos, tabagismo, stress e vacinas têm sido associados ao Lúpus.

O objectivo deste artigo consiste em rever a literatura sobre factores de risco e indicadores clínicos e serológicos e propor uma metodologia de cuidados e vigilância para os indivíduos de alto risco a quem temos acesso, que são na prática os familiares de doentes com Lúpus.

Palavras-chave: lúpus eritematoso sistémico, patogénese, mosaico da autoimunidade, autoanticorpos, genes, hormonas, factores ambientais, factores imunológicos, prevenção

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA	1
IMUNOPATOLOGIA	2
1. AUTOANTICORPOS	2
2. LESÃO DE TECIDOS MEDIADA POR AUTOANTICORPOS	3
3. PAPEL DAS CÉLULAS T	4
4. FONTE DE AUTOANTICORPOS	7
HORMONAS	7
TRIGGERS AMBIENTAIS	11
1. INFECÇÕES	11
2. RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA	12
3. FÁRMACOS	13
4. TABAGISMO	13
5. STRESS	14
6. VACINAS	15
INDICADORES CLÍNICOS E SEROLÓGICOS	16
PROPOSTA DE METODOLOGIA DE CUIDADOS E VIGILÂNCIA EM INDIVÍDUOS DE ALTO RISCO	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Autoanticorpos no LES	2
Tabela 2: Critérios para a Classificação do LES	16

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Interação entre a célula T e Célula Apresentadora do Antígeno	5
Figura 2: Interação Célula T- Célula B	5
Figura 3: Formação de bolhas na superfície da célula apoptótica	7
Figura 4: Acumulação de Autoanticorpos no Lúpus	18
Figura 5: Resultados do Teste de Anticorpos Antinucleares numa População Hipotética	18

SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA

A taxa de concordância do Lúpus Eritematoso Sistémico (LES) em gémeos monozigóticos e dizigóticos é de 25% e 2%, respectivamente. ⁽¹⁾ Estes valores sugerem que os factores genéticos desempenham um papel importante no desenvolvimento da doença.

Vários genes contribuem para a susceptibilidade ao Lúpus. Numa pequena proporção de doentes (< 5%), um único gene pode ser responsável pela doença. No entanto, na maioria dos doentes, vários genes são necessários para o desenvolvimento da doença. ⁽¹⁾

Genes da classe II do Complexo de Histocompatibilidade Major (MHC) têm sido associados ao Lúpus (particularmente o HLA DR2 e DR3) e à presença de certos autoanticorpos como os anti-Sm (proteína ribonuclear nuclear pequena), anti-Ro, anti-La, anti-nRNP (proteína ribonuclear nuclear) e anti-DNA. Deficiências hereditárias de um dos seguintes componentes do complemento - C1q, C2 ou C4 – também influenciam a susceptibilidade à doença, como será explicado mais adiante. ⁽¹⁾

Vários genes não-MHC (incluindo os genes que codificam a proteína de ligação à manose, o factor de necrose tumoral α [TNF α], o receptor da célula T [TCR], a interleucina 6 [IL 6], o receptor do complemento 1 [CR1], o Fc γ RIIA e Fc γ RIIIA [ambos receptores Fc da IgG]) têm sido ligados ao Lúpus. ⁽¹⁾

Nos últimos anos, tem sido estabelecida uma associação entre deficiência selectiva de imunoglobulina A (SIgAD) e autoimunidade. ⁽²⁾

A Imunoglobulina A (IgA) é o segundo anticorpo mais comum no soro e o principal anticorpo nas secreções externas, desempenhando um papel chave na protecção imune.

Os indivíduos com SIgAD possuem vários autoanticorpos que na maioria dos casos não estão associados a doença clínica. Contudo, doenças autoimunes, incluindo o Lúpus, têm ocorrido em doentes com SIgAD (5,2% das crianças e 2,6% dos adultos). ⁽²⁾

Existem duas teorias que tentam explicar a associação entre SIgAD e doenças autoimunes. De acordo com a primeira, a absorção excessiva de antígenos da mucosa

ultrapassa a capacidade de eliminação desses antígenos que apresentam reacção cruzada com autoantígenos. Esta hipótese não explica porque é que apenas alguns doentes com SIgAD desenvolvem uma doença autoimune. A segunda teoria refere que SIgAD e várias doenças autoimunes partilham factores genéticos (HLA-A1, B8, DR3). Estes são responsáveis por alterações no sistema imune, sobretudo nas células T reguladoras, que levam à SIgAD e à autoimunidade.⁽²⁾ Em conclusão, as doenças autoimunes ocorrem mais frequentemente em indivíduos com SIgAD do que na população geral.

Desta forma, os níveis de IgA devem ser determinados em todos os indivíduos com uma doença autoimune e especialmente naqueles em risco de desenvolver uma condição autoimune no futuro.⁽²⁾

IMUNOPATOLOGIA

1. AUTOANTICORPOS

A pele e o rim são os órgãos que melhor têm sido estudados em doentes com Lúpus. Em ambos os casos, há inflamação e deposição de anticorpos. Estes anticorpos são autoanticorpos uma vez que se ligam a constituintes normais das células e tecidos dos indivíduos com Lúpus. Desta forma, a produção de autoanticorpos constitui o distúrbio imunológico central no Lúpus.

Na tabela 1, estão listados os autoanticorpos e a importância clínica dos mesmos em doentes com Lúpus.⁽³⁾

Tabela 1: Autoanticorpos no LES		
<u>ANTICORPO</u>	<u>PREVALÊNCIA (%)</u>	<u>UTILIDADE CLÍNICA</u>
ANA	98	O melhor teste de triagem; os testes repetidamente negativos tornam improvável o Lúpus
Anti-dsDNA	70	Títulos elevados são específicos do Lúpus e, em alguns doentes, correlacionam-se com a actividade da doença
Anti-Sm	25	Específico do Lúpus; a maioria dos doentes possui também anti-RNP; mais comum em afro-americanos e asiáticos do que em caucasianos

Anti-RNP	40	Não é específico do Lúpus; os títulos elevados estão associados a várias síndromes reumáticas; mais comum em afro-americanos do que em caucasianos
Anti-Ro	30	Não é específico do Lúpus; associado à síndrome seca, ao lúpus cutâneo subagudo e ao lúpus neonatal; associado a menor risco de nefrite
Anti-La	10	Associado habitualmente ao anti-Ro; associado a menor risco de nefrite
Anti-Histona	70	Mais frequente no Lúpus induzido por fármacos
Anti-Fosfolípido	50	Três testes disponíveis – ELISA para a cardiolipina e β_2G1 , tempo de protrombina sensível (DRWT); risco de coagulação, perda fetal e trombocitopenia
Anti-Eritrócito	60	Medido como teste de Coombs directo; uma pequena proporção de doentes desenvolve hemólise óbvia
Anti-Plaquetário	30	Associado a trombocitopenia, porém a sensibilidade e especificidade não são adequadas; não tem utilidade na prática clínica
Anti-Ribossómico	20	Em algumas séries, um teste positivo no soro correlaciona-se com depressão ou psicose devida ao atingimento do Sistema Nervoso Central

ANA: Anticorpo Antinuclear; **dsDNA:** DNA de cadeia dupla; **Sm:** partículas nucleares consistindo em vários polipéptidos diferentes; **RNP:** ribonucleoproteína; **Ro:** complexo ribonucleoproteico; **La:** proteína de ligação ao RNA.

2. LESÃO DE TECIDOS MEDIADA POR AUTOANTICORPOS

A maioria dos estudos realizados sobre a lesão de tecidos mediada por autoanticorpos tem focado o papel dos anticorpos anti-dsDNA (anticorpos contra o DNA de cadeia dupla) em doentes com nefrite lúpica, existindo actualmente duas teorias para explicar este processo.

Berden tem proposto que os anticorpos anti-dsDNA, em doentes com Lúpus, ligam-se aos nucleossomas que entraram na corrente sanguínea aquando da apoptose das células.

Estes complexos anticorpo-nucleossoma fixam-se na membrana basal dos rins e activam o complemento, iniciando-se o processo de glomerulonefrite. ⁽⁴⁾

O segundo modelo propõe que os anticorpos anti-dsDNA, anticorpos anti-nucleossoma ou ambos apresentam uma reacção cruzada com proteínas do rim. Eles têm, assim, um efeito patogénico directo nas células renais. Entre os possíveis antigénios alvo no rim, a α -actinina é a proteína que mais interesse tem suscitado. Esta é essencial para a manutenção dos podócitos que constituem a barreira de filtração glomerular. ⁽⁴⁾

3. PAPEL DAS CÉLULAS T

Os autoanticorpos podem estar presentes em pessoas saudáveis sem causar lesão/doença. Os autoanticorpos patogénicos em doentes com Lúpus apresentam determinadas características que lhes permitem causar doença. A investigação clínica e estudos em animais têm mostrado que os anticorpos IgG com maior afinidade de ligação ao dsDNA (DNA de cadeia dupla) estão mais fortemente associados à lesão dos tecidos do que os anticorpos IgM ou IgG de baixa afinidade. A produção de anticorpos IgG de elevada afinidade é conduzida pelo antigénio. Este liga-se à imunoglobulina na superfície dos linfócitos B, estimulando a proliferação das células B. Quanto maior a afinidade das imunoglobulinas para o antigénio, maior a estimulação e proliferação celular. Na presença desse antigénio, há uma pressão selectiva contínua sobre os linfócitos B que induz a expressão e secreção de imunoglobulinas com elevada afinidade para aquele antigénio. Em geral, este processo só pode ocorrer em linfócitos B que estão a ser estimulados por linfócitos T (linfócitos T *Help*) ou pelo antigénio. ⁽⁴⁾

O conceito de linfócito T *Help* é crucial na compreensão da patogénese do Lúpus. Cada linfócito T possui um receptor na superfície com a capacidade de interagir com um antigénio particular associado a uma molécula MHC na superfície da célula apresentadora de antigénio (APC). A apresentação do complexo antigénio-MHC não é suficiente para estimular a célula T.

Como apresentado na figura 1 é necessário que se estabeleça uma interacção molecular entre o linfócito T e a APC (coestimulação). ⁽⁴⁾

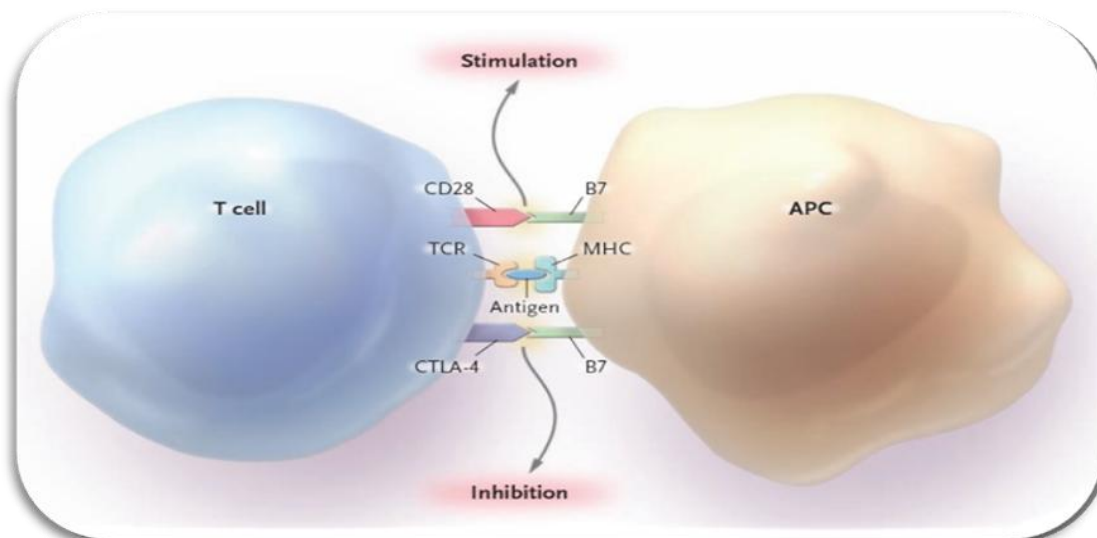


Figura 1: Interação entre a célula T e Célula Apresentadora do Antígeno (APC) - A APC apresenta na sua superfície o antígeno ligado à molécula do complexo de histocompatibilidade maior (MHC). Este complexo interage com o receptor da célula T (TCR). O efeito na célula T depende da interação entre outras moléculas presentes na superfície das duas células. São ilustradas duas interações possíveis: B7 com CD28 - estimulação - e B7 com a proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico (CTLA-4) - inibição.

A figura 2 mostra a célula B e a célula T a estimularem-se mutuamente.

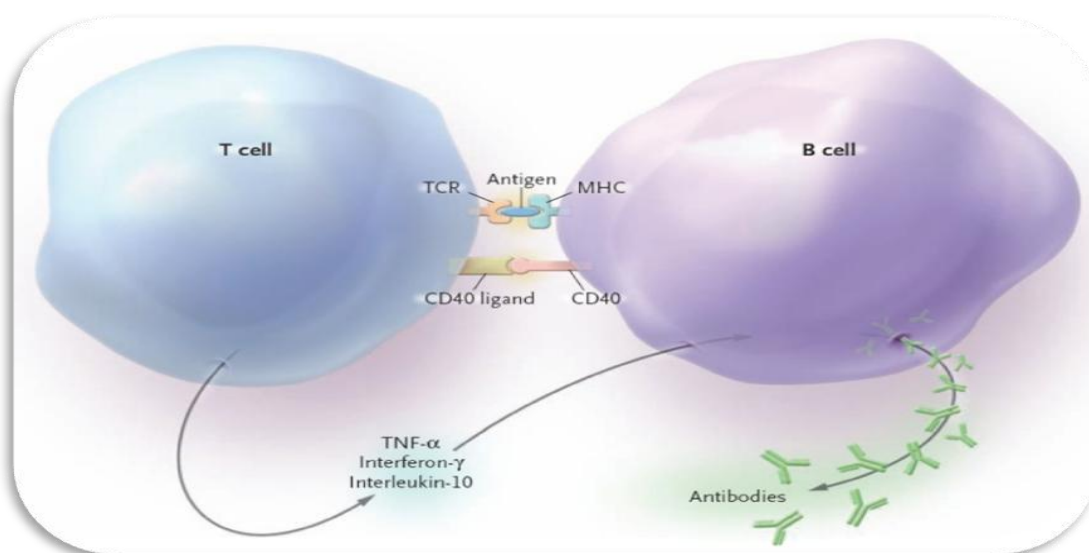


Figura 2: Interação Célula T- Célula B - A célula B funciona como uma APC. A coestimulação é feita através da interação entre o CD40 e o ligando CD40. Esta interação estimula a célula T a produzir citocinas, algumas das quais actuam na célula B, promovendo a produção de anticorpos. MHC: Complexo de Histocompatibilidade Maior; TCR: Receptor da Célula T; TNF: Factor de Necrose Tumoral.

As citocinas libertadas pela célula T (TNF α , interleucina 10 [IL 10], interferão γ) actuam sobre a célula B promovendo a divisão celular, a troca de IgM por IgG e alterações na sequência molecular do anticorpo que permitem que este estabeleça uma ligação mais forte com o antígeno.

Desta forma, os linfócitos T tornam possível a produção de autoanticorpos IgG de elevada afinidade. Este tipo de anticorpos está fortemente associado à lesão de tecidos no Lúpus.⁽⁴⁾

As células B e T específicas do autoantígeno, que interagem para produzir autoanticorpos patogénicos, estão ausentes em pessoas saudáveis. Vários mecanismos podem ser responsáveis pela ausência de tais células como: a remoção/inactivação de células B autorreactivas ou a alteração da cadeia leve do anticorpo expresso por um linfócito B autorreactivo de tal forma que o anticorpo perde a capacidade de se ligar ao autoantígeno.⁽⁴⁾

As histonas são complexos proteicos que mantêm o DNA enrolado sobre si mesmo, sendo por isso um dos constituintes do nucleossoma. Lu et al mostraram que os péptidos derivados das histonas H2B₁₀₋₃₃, H4₁₆₋₃₉, H4₇₁₋₉₄, H3₉₁₋₁₀₅, H2A₃₄₋₄₈ e H4₄₉₋₆₃ estimulavam as células T de doentes com Lúpus (mas não de pessoas saudáveis) a produzir citocinas. Os autores sugeriram que a estimulação destas células T *Help* pelos péptidos específicos vai-lhes permitir ajudar as células B a responder aos epítomos antigénicos derivados dos nucleossomas. Desta forma, a interacção entre aqueles linfócitos B e os linfócitos T pode levar à produção de autoanticorpos patogénicos de elevada afinidade. Anticorpos antinucleossomas estão presentes em doentes com Lúpus, desempenhando um papel patogénico importante.⁽⁴⁾

As células T reguladoras inibem a activação das células T *Help* e das células B. Segundo Valencia et al⁽⁵⁾, as células T reguladoras de doentes com Lúpus activo têm menor capacidade de inibir a proliferação de células T *Help* do que as células T reguladoras de doentes com Lúpus inactivo ou de indivíduos saudáveis.

4. FONTE DE AUTOANTICORPOS

Os nucleossomas são fragmentos de cromatina libertados aquando da apoptose celular. Durante este processo, formam-se bolhas de material celular que, quando não

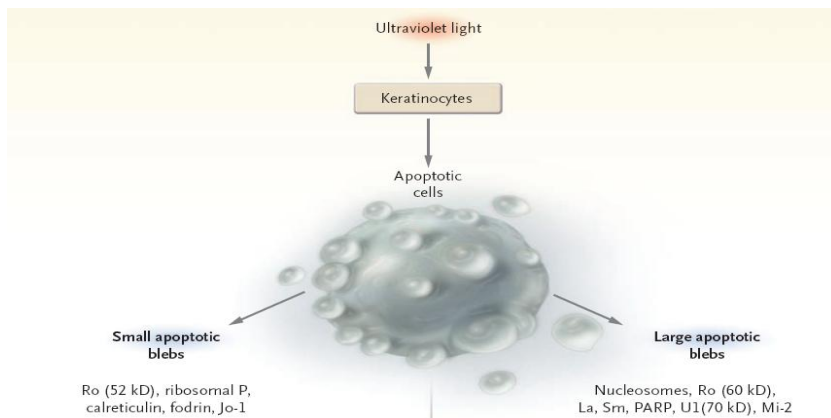


Figura 3: Formação de bolhas na superfície da célula apoptótica - Apoptose de queratinócitos expostos à radiação ultravioleta.

fagocitadas, aderem à superfície de outras células. Os antígenos que estão normalmente dentro das células ficam assim expostos (ver figura 3), podendo

desencadear uma reacção auto-imune. ⁽⁴⁾

Estes antígenos incluem nucleossomas, Ro (ribonucleoproteína) 62, Ro 50, La (proteína de ligação ao RNA) e fosfolípidos. Como referido anteriormente, anticorpos para estes antígenos são comuns em doentes com Lúpus.

A remoção de fragmentos apoptóticos não é normal em doentes com Lúpus. In vitro, mostrou-se que os macrófagos dos doentes com Lúpus fagocitavam consideravelmente menos material apoptótico. O C1q (subunidade do componente do complemento C1) tem um papel importante na fagocitose. Liga-se aos fragmentos apoptóticos para que estes possam ser fagocitados pelos macrófagos que possuem receptores C1q na sua superfície. Deficiências homozigóticas do C1q, C2 e C4 são raras, mas a presença de qualquer uma delas predispõe ao desenvolvimento do Lúpus. ⁽⁴⁾

HORMONAS

O Lúpus é nove vezes mais frequente em mulheres em idade reprodutiva do que em homens. Além disso, as exacerbações do Lúpus ocorrem habitualmente durante a gravidez enquanto que as remissões são mais comuns depois da menopausa ou da falência ovárica

induzida pela ciclofosfamida. Estes achados sugerem que as hormonas sexuais femininas são reguladores cruciais da actividade do Lúpus.⁽⁶⁾

Os estrogénios e a prolactina são imunomoduladores que intervêm no processo de autoimunidade. No compartimento da célula B, tanto a prolactina como os estrogénios são imunoestimuladores que afectam a maturação e selecção das células B autorreactivas e, consequentemente, a produção de anticorpos. Aquelas hormonas tornam possível a maturação de células B autorreactivas secretoras de autoanticorpos que podem levar ao aparecimento clínico do Lúpus. A progesterona tem um efeito imunossupressor.⁽⁶⁾

Durante vários anos, evitou-se a prescrição de contraceptivos orais e estrogénios exógenos em mulheres com Lúpus devido aos efeitos dos estrogénios na indução da autoimunidade.

Contudo, existem várias razões clínicas para a prescrição de contraceptivos orais em mulheres com Lúpus. Primeiro, a concepção e a gravidez planeadas para o período de remissão têm melhores resultados.⁽⁷⁾ Segundo, as mulheres com doença activa grave ou aquelas que recebem fármacos potencialmente teratogénicos devem usar um método contraceptivo eficaz. Terceiro, os contraceptivos orais podem preservar a função ovárica e, por conseguinte, prevenir a infertilidade resultante do tratamento com a ciclofosfamida.⁽⁸⁾ Por último, os contraceptivos orais podem reduzir a perda óssea e a osteoporose em doentes tratadas com glicocorticóides. A constatação destas vantagens suscitou interesse em se estabelecer, mais claramente, os efeitos dos contraceptivos orais na actividade do Lúpus.

Petri et al e Sánchez-Guerrero et al realizaram grandes estudos prospectivos que demonstraram a segurança dos contraceptivos orais em mulheres com Lúpus. O estudo OC-SELENA realizado por Petri et al⁽⁹⁾ foi um ensaio duplamente cego que envolveu 183 mulheres na pré-menopausa com Lúpus. As mulheres foram randomizadas para receber contraceptivos orais combinados ou placebo. Setenta e seis por cento tinham doença inactiva e vinte e quatro por cento tinham doença activa estável. As taxas de exacerbações ligeiras a graves foram semelhantes nos dois grupos de estudo. Concluiu-se assim, que os contraceptivos orais não aumentavam a taxa esperada de exacerbações em mulheres com Lúpus ligeiro ou moderado. Sánchez-Guerrero et al⁽¹⁰⁾ desenvolveram um ensaio clínico

com 162 mulheres com Lúpus as quais foram randomizadas por três grupos: estrogénio-progestativo; progestativo e dispositivo intrauterino. O score SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) médio no início do estudo variou entre 5.0 e 6.4 nos três grupos. Verificou-se que a actividade global da doença, o score SLEDAI máximo, a incidência de exacerbações e de efeitos adversos fora semelhante entre as mulheres com Lúpus, independentemente do tipo de contraceptivo utilizado.

Estes dois estudos forneceram informação prospectiva que suporta o uso de contraceptivos orais combinados em mulheres com doença estável inactiva ou moderadamente activa.

Relativamente à segurança da Terapêutica Hormonal de Substituição (THS), Jill Buyon et al ⁽¹¹⁾ realizaram um ensaio duplamente cego que envolveu 351 doentes na menopausa as quais foram randomizadas para receber THS ou placebo durante 1 ano. As exacerbações graves foram raras em ambos os grupos e não foram significativamente maiores no grupo da THS. As mulheres que receberam THS tiveram mais exacerbações ligeiras a moderadas do que as do grupo controlo (1,14 exacerbações vs 0,86 exacerbações/pessoa-ano). Concluiu-se assim, que a THS em mulheres com Lúpus não aumenta significativamente o risco de exacerbações graves, mas aumenta o risco de exacerbações ligeiras a moderadas, pelo que se mantém em geral, a norma de não utilização.

Num estudo caso-controlo retrospectivo, Namjou et al ⁽¹²⁾ investigaram os possíveis efeitos da histerectomia no início do Lúpus e nos critérios estabelecidos pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR). Estes autores concluíram que as doentes com história de histerectomia antes do início do Lúpus tinham uma doença menos grave (menos nefrite, menos anticorpos anti-dsDNA) e de início mais tardio do que as mulheres com Lúpus não-histerectomizadas.

Nos últimos anos, a relação entre gravidez e indução/exacerbação do Lúpus foi mais precisamente definida. A gravidez depende de uma adaptação do sistema imune materno que se torna tolerante aos antigénios fetais de origem paterna. Uma das mais importantes alterações imunológicas que ocorrem durante a gravidez consiste na

substituição de células Th1 por células Th2 ao nível da barreira feto-placentária e da circulação materna.⁽¹³⁾

Em condições fisiológicas, os estrogénios estimulam tanto a resposta imune celular como a humoral (citocinas Th1 e Th2). No entanto, em concentrações mais altas, como aquelas que são atingidas durante a gravidez, os estrogénios inibem a resposta mediada por células (citocinas Th1) e induzem a produção de anticorpos (citocinas Th2). Por esta razão, as doenças mediadas por células Th2, como o Lúpus, tendem a piorar durante a gravidez.⁽¹³⁾

Hiperprolactinemia foi observada em 15-33% dos doentes com Lúpus. Em dois estudos, o tratamento com bromocriptina melhorou significativamente a actividade da doença e reduziu a taxa de exacerbações em doentes com Lúpus ligeiro a moderado. A suspensão da bromocriptina foi seguida pela exacerbação da doença.⁽¹⁴⁾ Estes achados estão de acordo com o efeito imunoestimulador da prolactina anteriormente referido.

Os androgénios também estão envolvidos na patogénese do Lúpus. As mulheres com Lúpus apresentam uma oxidação acelerada da testosterona a qual resulta em efeitos imunomoduladores, uma vez que a testosterona suprime a produção de anticorpos anti-dsDNA. Além disso, a dehidroepiandrosterona (DHEA), um androgénio sintético, tem mostrado benefício terapêutico em doentes com Lúpus ligeiro.⁽⁶⁾

A vitamina D desempenha um papel importante ao nível do sistema imune. Estudos prospectivos realizados em doentes com artrite reumatóide, diabetes mellitus tipo 1 e esclerose múltipla sugeriram um papel importante da vitamina D como factor ambiental modificável em doenças autoimunes. Kamen et al⁽¹⁵⁾ mostraram que os níveis séricos de 25-hidroxivitamina D (25[OH]D) eram significativamente mais baixos em doentes com Lúpus recentemente diagnosticado do que em controlos. Estes resultados sugerem que a deficiência de vitamina D é um factor de risco importante para o desenvolvimento do Lúpus. Estes autores recomendam assim o screening da deficiência de 25[OH]D em todas as pessoas em risco de desenvolver uma doença autoimune. O tratamento da deficiência de 25-hidroxivitamina D pode ter benefícios não só no sistema imune, mas também a nível ósseo.

1. INFECÇÕES

Uma doença autoimune pode ser desencadeada por agentes infecciosos em indivíduos geneticamente susceptíveis.

Existem cinco mecanismos ⁽¹⁶⁾ que explicam o modo como uma infecção pode induzir autoimunidade:

- **Imitação Molecular** - O agente infeccioso apresenta um epítopo que é estruturalmente semelhante ao do autoantígeno;
- **Expansão do Epítopo** - A activação local exagerada das células apresentadoras de antígeno, devido ao processo inflamatório, pode condicionar um processamento e apresentação excessivos dos antígenos e, conseqüentemente, estimular a activação de um grande número de células T com diferentes especificidades;
- **Activação Policlonal** - A infecção dos linfócitos B induz a proliferação destas células, estimulando assim, a produção de anticorpos e de complexos imunes circulantes que podem causar lesão dos tecidos do próprio organismo;
- **Activação Bystander** - A produção aumentada de citocinas induz a expansão de células T autorreactivas, previamente presentes no indivíduo em quantidades insuficientes para causar doença;
- **Superantígenos Víricos e Bacterianos** – Os superantígenos víricos e bacterianos têm a capacidade de se ligar ao domínio variável da cadeia β do receptor da célula T (TCR), e, por conseguinte, a uma grande variedade de células T com diferentes especificidades.

A infecção pelo vírus de Epstein-Barr (EBV) é aquela cuja relação com o desenvolvimento do Lúpus está mais bem estabelecida. Um estudo caso-controlo envolvendo crianças e jovens adultos, mostrou que os anticorpos anti-EBV estavam

presentes em 99% dos casos e o DNA do EBV foi encontrado em 100% dos doentes (proporções muito mais altas do que as do grupo controlo).⁽¹⁷⁾

Várias explicações têm sido propostas para esta associação. A semelhança molecular entre o antigénio 1 nuclear do EBV e os anticorpos específicos do Lúpus (como anti-dsDNA, anti-Ro e anti-La) é o mecanismo actualmente mais aceite para explicar a associação entre o EBV e o Lúpus.⁽¹⁸⁾

Na maioria dos casos, não é uma infecção isolada, mas sim o conjunto de infecções ao longo da vida, que induzem uma doença autoimune em indivíduos geneticamente predispostos. A estimulação da autoimunidade pode então ser considerada como um processo cumulativo que tem início nos primeiros anos de vida. Edwards CJ et al⁽¹⁹⁾ demonstraram uma associação entre níveis elevados de anticorpos antinucleares (ANAs) na idade adulta e infecções específicas como a rubéola e o sarampo durante a infância.

Actualmente, é aceite que as infecções desempenham um papel importante no desenvolvimento da autoimunidade. Contudo, em alguns casos, as infecções protegem os indivíduos de doenças autoimunes. O mesmo agente infeccioso (ex: vírus da hepatite B) pode induzir uma doença autoimune específica (ex: APS) e proteger de outra doença autoimune (ex: Lúpus).⁽¹⁸⁾

2. RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

A radiação ultravioleta (UV), especialmente a radiação ultravioleta B (UVB), é um factor ambiental bem conhecido na indução e exacerbação do lúpus eritematoso sistémico e cutâneo.⁽¹⁾⁽²⁰⁾ Os doentes com Lúpus deveriam ser aconselhados a protegerem-se da luz solar tanto quanto possível.⁽²⁰⁾

Como já foi referido anteriormente, a radiação UV induz a apoptose dos queratinócitos humanos, levando à formação de bolhas, constituídas por antigénios nucleares e citoplasmáticos, que aderem à superfície das células. Desta forma, os autoantigénios ficam expostos ao sistema imune, podendo desencadear uma resposta autoimune.⁽¹⁾

A luz solar provoca doença cutânea e exacerbações da doença sistémica em doentes com Lúpus, especialmente naqueles com anticorpos anti-Ro.⁽²⁰⁾

3. FÁRMACOS

A lista de fármacos envolvidos na etiologia do Lúpus continua a aumentar. O Lúpus pode aparecer logo após o início do tratamento com determinado agente ou vários anos depois. As manifestações clínicas e as alterações laboratoriais observadas nestes doentes incluem febre, artralgia, pleurite, pericardite, leucopenia, trombocitopenia, anemia e elevação da velocidade de sedimentação. Sinais como rash malar/discóide, fotossensibilidade, úlceras orais e alopecia bem como distúrbios neurológicos ou renais são raros. Os achados laboratoriais típicos consistem em anticorpos contra diferentes complexos histona: anticorpos anti-histona estão presentes em mais de 75% dos doentes com Lúpus induzido por fármacos. Anticorpos anti-dsDNA são raros. ⁽²¹⁾

Os fármacos cuja associação com o Lúpus tem sido mais bem estabelecida incluem: agentes anticonvulsivantes, penicilamina, sulfasalazina, bloqueadores β , tiazidas, estatinas, terbinafina, entre outros. ⁽²¹⁾

4. TABAGISMO

O tabagismo tem sido associado ao desenvolvimento da autoimunidade. Ele induz lesão dos tecidos e aumento da apoptose através da geração de radicais livres, libertação de metaloproteinasas e indução da expressão Fas na superfície dos linfócitos. Os radicais livres podem interagir com o DNA e causar mutações genéticas e activação de genes responsáveis pelo desenvolvimento de doenças autoimunes. O aumento da sensibilidade das células aos sinais apoptóticos pode aumentar a quantidade de material apoptótico a ser eliminado por um mecanismo fagocitário deficiente em indivíduos com maior risco para doenças autoimunes. Além disso, o fumo do tabaco induz inflamação e, por conseguinte, aumento dos níveis de leucócitos, fibrinogénio, Proteína C Reactiva (PCR), molécula 1 de adesão intercelular (ICAM-1) e selectina E. Estes achados, suportam a ideia que, não fumar pode ser uma medida preventiva para o desenvolvimento de doenças autoimunes em indivíduos geneticamente predispostos. ⁽²²⁾

O tabagismo tem sido associado com o Lúpus, em particular. Uma metanálise, que englobou estudos realizados entre 1966-2002, revelou um risco aumentado de Lúpus em fumadores actuais (RR 1.5 [95% CI 1.09, 2.08]), mas não em ex-fumadores (RR 0.98 [95%

CI 0.75, 1.27]). Em relação às manifestações clínicas, verificou-se que os doentes com Lúpus fumadores tinham mais casos de pleurite e peritonite do que os não fumadores.⁽¹⁶⁾

5. STRESS

O stress, físico e psicológico, tem sido implicado no desenvolvimento de doenças autoimunes. Vários estudos retrospectivos mostraram que uma alta proporção de doentes (superior a 80%) foi exposta a um nível elevado de stress antes do início da doença, o que faz pensar que o stress possa ser um estímulo para o seu desenvolvimento.⁽¹⁶⁾ Infelizmente, não só o stress causa doença, mas também a própria doença causa stress significativo, gerando-se assim um ciclo vicioso.⁽²⁰⁾

Presume-se que as hormonas neuroendócrinas libertadas durante o stress (como epinefrina, norepinefrina, acetilcolina, substância P, péptido intestinal vasoactivo, glucagão, insulina e factores de crescimento) levem à desregulação do sistema imune e ao aumento da produção de citocinas, resultando no desenvolvimento de doenças autoimunes atópicas ou na diminuição das defesas do hospedeiro.⁽²³⁾

Tem sido proposto que episódios repetidos de stress psicológico, agudo ou crónico, induzem uma resposta de fase aguda, desencadeando, posteriormente, um processo inflamatório crónico, como acontece na aterosclerose e em certas doenças metabólicas. Há evidência que o fígado e o endotélio sejam as principais fontes de citocinas, particularmente da IL-6. A IL-6 e a PCR provavelmente desempenham um papel importante no desenvolvimento desse processo inflamatório que leva à resistência à insulina e ao desenvolvimento de diabetes mellitus tipo II não-insulino dependente. De facto, o stress psicológico pode activar uma resposta de fase aguda a qual faz parte da resposta inflamatória imune inata.⁽²³⁾

Estudos epidemiológicos sugerem que a exposição a eventos psicológicos traumáticos está associada à utilização excessiva dos serviços de saúde, início de doenças específicas e morte prematura.⁽²⁴⁾

Assim, estratégias de coping devem ser implementadas em doentes com Lúpus com o objectivo de os ajudar a lidar com os problemas relacionados com a doença (como dor,

fadiga, limitações na mobilidade e dificuldades nas actividades da vida diária [AVD]) que são muitas vezes geradores de stress. ⁽²⁴⁾

6. VACINAS

A relação entre vacinas e autoimunidade é bidireccional. Por um lado, as vacinas ao prevenirem o aparecimento de condições infecciosas, impedem o desenvolvimento de doenças autoimunes nos indivíduos em que o processo de autoimunidade é despoletado por infecções. Por outro lado, os vários casos descritos na literatura ⁽²⁵⁾ de doenças autoimunes que surgiram após a vacinação sugerem que o processo de autoimunidade possa ser despoletado pelo conteúdo antigénico das vacinas ou pelo adjuvante que é utilizado para aumentar a reacção imune.

Contudo, os casos de reacções autoimunes que ocorreram após a vacinação constituem menos de 0.01% de todas as vacinas administradas no mundo, e na maioria dos casos, essas reacções foram ligeiras e autolimitadas. ⁽²⁰⁾

Em indivíduos com uma doença autoimune já conhecida, as vacinas parecem ser bem toleradas. Elas não causam mais exacerbações do que aquelas que seriam esperadas ocorrer espontaneamente, como parte da história natural da doença. Por causa da popularidade e do uso generalizado da vacina influenza os seus efeitos foram examinados em várias doenças autoimunes, incluindo no Lúpus. A vacina influenza é segura em doentes com Lúpus e não afecta as manifestações clínicas, incluindo a função renal, a actividade da doença ou a necessidade de corticosteróides ou fármacos imunossupressores. Contudo, a vacina pode estimular a produção de autoanticorpos por um curto período de tempo, mas sem significado clínico. ⁽²⁶⁾

Na maioria dos indivíduos (incluindo aqueles com doenças autoimunes estabelecidas), as vacinas víricas não causam aumento do risco de doenças autoimunes sistémicas e deveriam ser administradas de acordo com as recomendações actuais devido à sua eficácia inquestionável na redução da morbilidade e mortalidade em todas as faixas etárias. ⁽²⁰⁾

INDICADORES CLÍNICOS E SEROLÓGICOS

O Lúpus é uma doença heterogênea caracterizada por autoimunidade multisistêmica, estando por isso associado a uma grande variedade de apresentações clínicas. Esta variabilidade pode levar a um atraso no diagnóstico e intervenção terapêutica.

O diagnóstico do Lúpus baseia-se em elementos clínicos e autoanticorpos

Tabela 2: Critérios para a Classificação do LES (1997)

<u>CRITÉRIO</u>	<u>DEFINIÇÃO</u>
1.Exantema Malar	Eritema malar fixo, plano ou em relevo
2.Exantema Discóide	Manchas eritematosas em relevo com escamação ceratótica e tampão folicular
3.Fotossensibilidade	Exantema da pele como reacção não habitual à luz solar
4.Úlceras Orais	Úlcera orais ou nasofaríngeas, habitualmente sem dor
5.Artrite	Artrite não erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas caracterizada por fragilidade, edema ou derrame
6.Serosite	Pleurite ou pericardite
7.Alterações Renais	Proteinúria persistente (> 0,5 g/d) ou restos celulares de qualquer tipo
8.Alterações Neurológicas	Convulsões (na ausência de outras causas) ou psicose (na ausência de outras causas)
9.Alterações Hematológicas	Anemia hemolítica ou leucopenia (<4000/ml) ou linfopenia (< 1500/ml) ou trombocitopenia (<100.000/ml)
10.Alterações Imunológicas	Anti-dsDNA ou anti-Smith ou achados + para anticorpos anti-fosfolipídicos (1- nível anormal de anticorpos anticardiolipina 2- teste da sífilis falso positivo ou 3-anticoagulante lúpico +)
11.Anticorpos Antinucleares	Título anormal de ANAs na ausência de fármacos

característicos. O ACR desenvolveu um conjunto de critérios de classificação para o Lúpus, os quais estão listados na tabela 2: quatro dos onze critérios têm de estar presentes. ⁽²⁷⁾ Usando as várias combinações possíveis entre aqueles critérios de classificação, cerca de 330 apresentações clínicas podem ocorrer associadas ao Lúpus.

Num estudo retrospectivo, Latisha D. Heinlen, et al ⁽²⁸⁾ mostraram que os sintomas englobados pelos critérios de classificação do Lúpus estão frequentemente presentes antes do seu diagnóstico e que o desenvolvimento de autoanticorpos geralmente precede o aparecimento dessas manifestações clínicas.

Também Melissa R. Arbuckle, et al ⁽²⁹⁾ demonstraram que o Lúpus clínico é precedido por alterações autoimunes complexas que estão em curso muitos anos antes do diagnóstico. Estes autores usaram as amostras séricas do *Department of Defense Serum Repository* obtidas, anualmente, de indivíduos das Forças Armadas U.S. e a partir das bases de informação militar identificaram os indivíduos com Lúpus. Desta forma, puderam avaliar as amostras séricas de 130 pessoas antes de lhes ter sido diagnosticado o Lúpus, bem como as amostras de 130 controlos, entre 1992 e 1999. Verificou-se que 88% dos doentes com Lúpus eram positivos para pelo menos um dos autoanticorpos testados em média 3.3 anos antes do diagnóstico. Entre os controlos, a percentagem de indivíduos com pelo menos um autoanticorpo positivo foi de 3,8%. Dos autoanticorpos testados, os ANAs (diluição $\geq 1:120$) foram os mais prevalentes. Estavam presentes em 78% dos indivíduos antes do diagnóstico do Lúpus. Anticorpos antinucleares, antifosfolipídicos, anti-Ro e anti-La foram detectados mais cedo do que os anticorpos anti-Sm e anti-RNP (média, 3.2 anos versus 1.4 anos antes do diagnóstico; $P=0.005$). No caso dos anticorpos anti-dsDNA, o intervalo médio entre a detecção e o início da doença foi de 2.2 anos, ou seja, este tipo de anticorpos foi detectado mais tarde do que os anticorpos antinucleares ($P=0.06$), mas mais cedo do que os anticorpos anti-RNP ($P=0.005$).

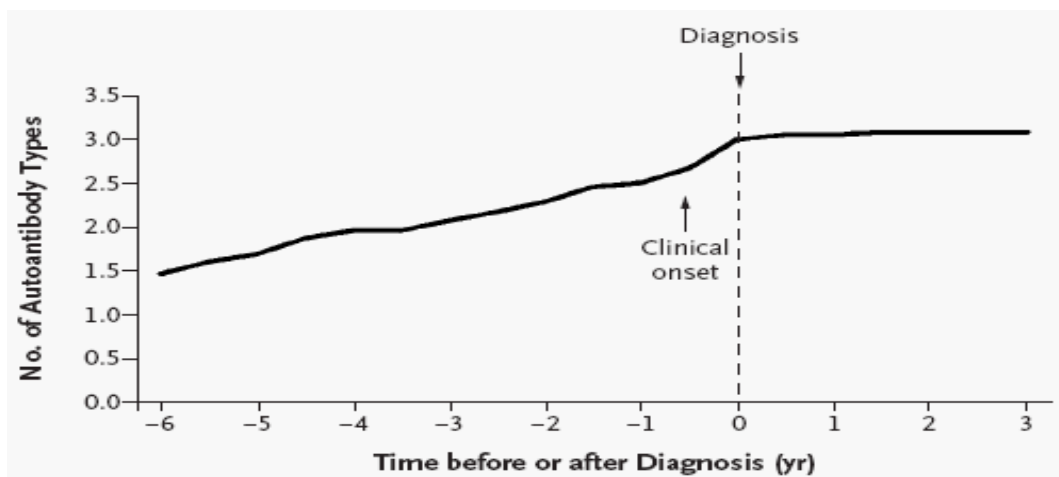


Figura 4: Acumulação de Autoanticorpos no Lúpus - A curva mostra o número médio de diferentes tipos de autoanticorpos em relação com o momento do diagnóstico do lúpus. As setas representam o momento do diagnóstico e o aparecimento do primeiro critério.

Com estes resultados, concluiu-se que o aparecimento de autoanticorpos em doentes com Lúpus tende a seguir um curso previsível, com a acumulação progressiva de autoanticorpos específicos antes do seu início clínico (ver figura 4).

Uma explicação teórica para o facto de autoanticorpos estarem presentes antes do diagnóstico é que o diagnóstico foi atrasado. Contudo, na maioria dos casos, é praticamente impossível determinar o início preciso do Lúpus.

O screening para o Lúpus é iniciado com o teste de ANAs uma vez que a presença destes anticorpos é normalmente considerada essencial para o seu diagnóstico. Um resultado negativo praticamente o exclui. Contudo, o teste de ANAs é relativamente pouco específico (ver figura 5) e um resultado falso positivo é provável em familiares de 1º grau de doentes com história de Lúpus. ⁽³⁰⁾ Na maioria das

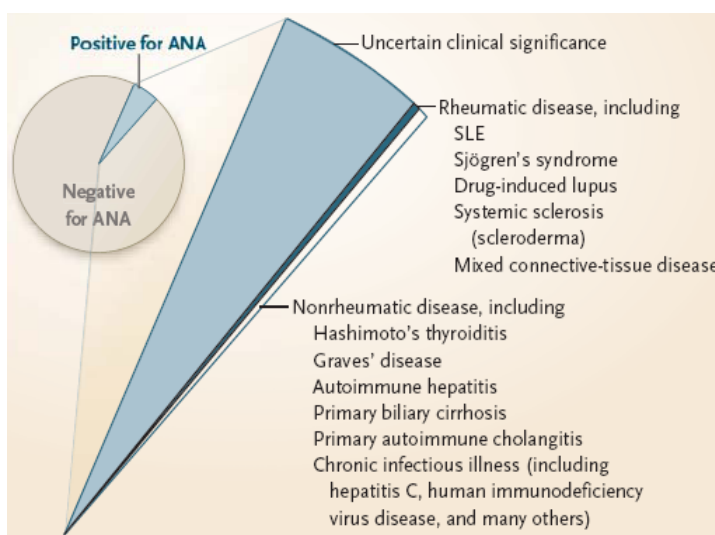


Figura 5: Resultados do Teste de Anticorpos Antinucleares (ANAs) numa População Hipotética

pessoas com um teste positivo para anticorpos antinucleares (ou outros anticorpos), o Lúpus nunca se desenvolverá.⁽³¹⁾ Suarez-Almazor et al⁽³²⁾ avaliaram o padrão de utilização e o valor preditivo do teste de ANAs em doentes referenciados à consulta de reumatologia pelo médico de família. Estes autores concluíram que a dor músculo-esquelética difusa e a fadiga estavam significativamente associadas com a pesquisa de ANAs, embora a maioria dos doentes com aqueles sintomas tenha frequentemente fibromialgia ou doença do tecido conjuntivo localizada. Neste estudo, o valor preditivo positivo dos ANAs para o Lúpus foi de 12%. Assim, o valor preditivo dos ANAs depende da probabilidade pré-teste. As *guidelines* sugerem que a pesquisa de ANAs deve ser reservada para os indivíduos que apresentam manifestações da doença em dois ou mais órgãos.⁽³³⁾

Numa população heterogénea, é provável que alguns indivíduos com níveis de autoanticorpos elevados possuam um fundo genético susceptível e, por conseguinte, tenham maior risco de desenvolver uma doença autoimune. É agora, bem reconhecido que o início da doença nesses indivíduos é provavelmente precedido pela expressão de um número crescente de autoanticorpos anos antes do início dos sintomas clínicos. Ainda que o screening na população geral não seja recomendado, deveriam ser realizados estudos para avaliar o seu impacto em familiares de primeiro grau de doentes com Lúpus. De certa forma, os autoanticorpos podem funcionar como marcadores preditivos de uma doença em desenvolvimento (em pessoas ainda saudáveis).⁽³⁴⁾ Nesse sentido, apresentamos a seguinte metodologia que implica o reconhecimento de “subsets” de ANAs positivos de alto risco.

PROPOSTA DE METODOLOGIA DE CUIDADOS E VIGILÂNCIA EM INDIVÍDUOS DE ALTO RISCO

O conhecimento cada vez maior sobre as doenças autoimunes e o aumento da disponibilidade dos testes laboratoriais para a detecção de ANAs levou a um aumento do número de casos de indivíduos com sintomas inespecíficos como febre, fadiga, mialgia ou poliartralgias (provavelmente manifestações temporárias) e um teste positivo para ANAs.

Como já foi referido anteriormente, nos últimos anos tem sido claramente demonstrado que os autoanticorpos precedem o início das manifestações clínicas, não só no Lúpus, mas também noutras doenças autoimunes, ou seja, os autoanticorpos funcionam

como marcadores de uma possível doença no futuro em pessoas saudáveis. Por conseguinte, indivíduos com autoanticorpos no soro, principalmente aqueles com outros factores de risco como: genes ligados a doenças autoimunes; certas anormalidades imunológicas (deficiência do complemento, deficiência de IgA); doenças associadas ao estilo de vida (tabagismo, exposição solar) e história familiar de Lúpus devem ser submetidos a vigilância médica. A identificação destes indivíduos numa fase mais inicial da doença pode resultar num tratamento mais precoce, melhor qualidade de vida e melhoria do prognóstico naqueles doentes.⁽²⁰⁾ Por outro lado, pode gerar preocupação e stress num grande número de indivíduos com um teste positivo para ANAs que nunca desenvolverá a doença.

Alguns estudos têm comparado doentes com Lúpus familiar versus esporádico com base nas manifestações clínicas e laboratoriais com o objectivo de identificar os indivíduos com forte predisposição genética. SM Al-Mayouf, et al⁽³⁵⁾ concluíram que os doentes com Lúpus familiar eram mais jovens e apresentavam mais frequentemente rash discóide no momento do diagnóstico; foi também observada uma grande diferença na origem dos doentes (58% dos indivíduos com Lúpus familiar pertenciam à região Este da Arábia Saudita). AL Sestak, et al⁽³⁶⁾ compararam doentes com Lúpus familiar e esporádico estratificados segundo a raça e encontraram diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes raças. Por exemplo, a fotossensibilidade e o rash malar foram menos frequentes em Afro-americanos, mas o rash discóide foi mais frequente nesta população. Os Europeus-americanos apresentaram significativamente menos doença renal, proteinúria e anticorpos anti-Sm do que os Afro-americanos ou os Hispânicos. F Abutiban, et al⁽³⁷⁾ não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os casos de Lúpus familiar e esporádico. Kenneth M. Kaufman, et al⁽³⁸⁾ demonstraram que o alelo 1858T do PTPN22 está associado com o Lúpus familiar, mas não com o Lúpus esporádico em Europeus-americanos.

Os estudos de família são assim realizados em centros com etnias díspares e metodologias de vigilância diferentes. Devido à ausência de estudos multicêntricos, não existe na literatura uma metodologia de cuidados e proposta de vigilância para familiares directos de doentes com Lúpus.

Na prática clínica, os indivíduos de alto risco a que temos acesso são os familiares de doentes com Lúpus com ANAs positivos em título elevado e os indivíduos assintomáticos com ANAs ocasionais positivos em título superior a 1/640.

Para ambos os grupos deveria ser recomendada a:

- 1) Vigilância médica anual ou de acordo com a clínica;
- 2) Restrição da exposição solar, fármacos (como a hidralazina, procainamida, isoniazida, metildopa, quinidina, minociclina) e tabagismo;
- 3) Prescrição de Vitamina D - nos indivíduos com défice;
- 4) Prescrição de Hidroxicloroquina - nos indivíduos com anticorpos altamente preditivos do Lúpus (anti-dsDNA ou anti-Sm).

Actualmente, é bem reconhecido que o sucesso do tratamento das doenças autoimunes depende de um diagnóstico precoce. Neste momento, com as informações já disponíveis na base de dados, devem ser realizados estudos retrospectivos que determinem o risco preciso de desenvolvimento do LES nos indivíduos de alto risco acima referidos.

Nos próximos anos, deverão ser realizados estudos prospectivos que permitam aferir a melhor orientação a dar aos indivíduos de alto risco a que temos acesso na prática clínica. Uma vez que a passagem da fase pré-clínica para a fase clínica do LES pode levar vários anos, uma estratégia de monitorização e follow-up a longo prazo é necessária. Estes estudos terão assim o poder e a aplicabilidade exigidos para a prática de uma medicina baseada na evidência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) “Mok CC, et al (2003) Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol* 56:481-490.”
- (2) “Shoenfeld Y, et al (2008) The Mosaic of Autoimmunity: Genetic Factors Involved in Autoimmune Diseases. *Isr Med Assoc J* 10:3-7.”
- (3) “Hahn B (2008) Systemic lupus erythematosus. In: Harrison`s Principles of Internal Medicine (McGraw-Hill, ed), página 2076. New York.”
- (4) “Rahman A, et al (2008) Systemic lupus erythematosus: Mechanisms of disease. *N Engl J Med* 358:929-39.”
- (5) “Valencia X, et al (2007) Deficient CD4+CD25 (high) T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 178:2579-88.”
- (6) “Zandman-Goddard G, et al (2007) Gender and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 6:366-372.”
- (7) “Clowse MEB, et al (2005) The impact of increased lupus activity on obstetric outcomes. *Arthritis Rheum* 52:514-21.”
- (8) “Slater CA, et al (1999) Preserving ovarian function in patients receiving cyclophosphamide. *Lupus* 8:3-10.”
- (9) “Petri M, et al (2005) Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 353:2550-8.”
- (10) “Sánchez-Guerrero J, et al (2005) A trial of contraceptive methods in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 353:2539-49.”
- (11) “Buyon J, et al (2005) The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. *Ann Intern Med* 142:953-962.”
- (12) “Namjou B, et al (2009) The effects of previous hysterectomy on lupus. *Lupus* 18:1000-1005.”
- (13) “Doria A, et al (2006) Estrogens in pregnancy and systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci* 1069:247-256.”
- (14) “Orbach H, et al (2007) Hyperprolactinemia and autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 6:537-542.”
- (15) “Kamen D, et al (2006) Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 5:114-117.”

- (16) “Shoenfeld Y, et al (2008) The Mosaic of Autoimmunity: Hormonal and Environmental Factors Involved in Autoimmune Diseases. *Isr Med Assoc J* 10:8-12.”
- (17) “James JA, et al (1997) An increased prevalence of Epstein-Barr virus infection in young patients suggests a possible etiology for systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 100:3019-26.”
- (18) “Kivity S, et al (2009) Infections and autoimmunity – friends or foes? *Trends Immunol* 8:409-414.”
- (19) “Edwards CJ, et al (2006) Infections in infancy and the presence of antinuclear antibodies in adult life. *Lupus* 15:213-217.”
- (20) “Shepshelovich D, et al (2006) Prediction and prevention of autoimmune diseases: additional aspects of the mosaic of autoimmunity. *Lupus* 15:183-190.”
- (21) “Sarzi-Puttini P, et al (2005) Environment and systemic lupus erythematosus: An overview. *Autoimmunity* 38(7):465-472.”
- (22) “Costenbader KH, et al (2006) Cigarette smoking and autoimmune disease: what we can learn from epidemiology? *Lupus* 15:737-745.”
- (23) “Stojanovich L, et al (2008) Stress as a trigger of autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 7:209-213.”
- (24) “Kozora E, et al (2005) Major life stress, coping styles, and social support in relation to psychological distress in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 14(5):363-72.”
- (25) “Shoenfeld Y, et al (2000) Vaccination and autoimmunity – vaccinosis: a dangerous liaison? *J Autoimmun* 14:1-10.”
- (26) “Abu-Shakra M, et al (2007) Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus: Safety and immunogenicity issues. *Autoimmun Rev* 6:543-546.”
- (27) “Hochberg MC (1997) Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40:1725.”
- (28) “Heinlen L, et al (2007) Clinical criteria for systemic lupus erythematosus precede diagnosis, and associated autoantibodies are present before clinical symptoms. *Arthritis Rheum* 7:2344-2351.”
- (29) “Arbuckle M, et al (2003) Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 349:1526-33.”
- (30) “Shmerling R (2003) Autoantibodies in Systemic Lupus Erythematosus — There before You Know It. *N Engl J Med* 349:1499-1500.”

- (31) “Wandstrat A, et al (2006) Autoantibody profiling to identify individuals at risk for systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* 27:153-160.”
- (32) “Suarez-Almazor ME, et al (1998) Utilization and predictive value of laboratory tests in patients referred to rheumatologists by primary care physicians. *J Rheumatol* 25(10): 1980-5.”
- (33) “Guidelines for referral and management of systemic lupus erythematosus in adults (1999) American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Systemic Lupus Erythematosus Guidelines. *Arthritis Rheum* 42:1785-96.”
- (34) “Shoenfeld Y, et al (2008) The Mosaic of Autoimmunity: Prediction, Autoantibodies, and Therapy in Autoimmune Diseases. *Isr Med Assoc J* 10:13-19.”
- (35) “Mayouf SM, et al (2006) Juvenile systemic lupus erythematosus in multicase families from Saudi Arabia: comparison of clinical and laboratory variables with sporadic cases. *Lupus* 15:616-618.”
- (36) “Sestak AL, et al (2008) Patients with familial and sporadic onset SLE have similar clinical profiles but vary profoundly by race. *Lupus* 17:1004-1009.”
- (37) “Abutiban F, et al (2009) Comparison between familial and sporadic systemic lupus erythematosus in Kuwaiti patients. *Lupus* 18:86-91.”
- (38) “Kaufman K, et al (2006) Evaluation of the Genetic Association of the PTP22 R620W Polymorphism in Familial and Sporadic Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 54:2533-2540.”