

Lúpus Eritematoso Sistémico: Atualização Etiopatogénica

Índice

Introdução	2
Métodos	4
<u>1. Mecanismos Imunológicos</u>	4
<u>a) Imunidade Inata</u>	4
<u>b) Imunidade adquirida</u>	8
Linfócitos B	8
Linfócitos T	10
O papel dos Autoanticorpos	13
<u>2. Genética</u>	18
<u>3. Factores Ambientais, Hormonais e Epigenéticos</u>	24
<u>a) Factores Hormonais</u>	24
<u>b) Factores Ambientais e Ocupacionais</u>	26
<u>c) Factores Infecciosos</u>	27
Discussão e Conclusão	29
Referências	34

Introdução

O Lúpus Eritematoso Sistémico (LES) é uma doença auto-imune, crónica e multissistémica, caracterizada pela produção de auto anticorpos, inflamação generalizada e dano tecidual. Atinge vários sistemas e órgãos, como a pele, articulações, sistema nervoso central, sistema cardiovascular, rins, e os sistemas hematológico e imunológico, tendo um largo espectro de manifestações clínicas. As manifestações mais comuns são as cutâneas, como o eritema malar e a fotossensibilidade, e as músculo-esqueléticas, nomeadamente, a artrite. (1) O curso da doença é variável, tomando geralmente um padrão de surto-remissão, podendo, no entanto, ter também uma actividade crónica, sendo tendencialmente mais ligeiro nos casos em que existem envolvimento cutâneo e musculoesquelético isolados e mais severo na presença de doença renal e envolvimento do Sistema Nervoso Central. (2)

Dada a grande variedade de manifestações possíveis e a falta de especificidade de muitos sintomas, partilhados por várias doenças sistémicas, o diagnóstico não é fácil de estabelecer. Assim, o diagnóstico é feito com base numa combinação de alterações clínicas e laboratoriais. Em 2012, foram revistos e validados os critérios de diagnóstico para o LES do American College of Rheumatology (ACR), que classificam um doente como tendo LES na presença de nefrite lúpica confirmada por biópsia com ANA ou anticorpos anti-dsDNA ou de 4 dos 11 critérios de diagnósticos - Serosite, úlceras orais, artrite, fotossensibilidade, alterações hematológicas, envolvimento renal, ANA, Fenómenos imunológicos (anticorpos anti-dsDNA e anti-Sm), manifestações neurológicas, Eritema malar e Eritema discóide - incluindo um critério clínico e um imunológico. (3) A aplicação destes critérios tem uma sensibilidade de 85% e uma especificidade de 95% para o diagnóstico de LES.(4)

Embora as taxas de mortalidade tenham diminuído globalmente, um terço das mortes associadas ao LES ocorre em doentes com menos de 45 anos. As principais causas de mortalidade precoce (5 a 10 anos após o diagnóstico) são devidas a doença severa e infecção associada ao tratamento com imunossuppressores, sendo que a mortalidade tardia (35 anos após o diagnóstico) deve-se à ocorrência de enfarte agudo do miocárdio ou AVC secundários a aterosclerose. (2)

A disfunção do sistema imunitário e consequente produção de autoanticorpos desempenham um papel central na patogenia e no surgimento de manifestações clínicas da doença. Existem vários mecanismos propostos para a produção de auto-anticorpos, desde um defeito na apoptose (5) a um papel preponderante dos linfócitos T, que, em doentes com LES apresentam defeitos tanto na função sinalizadora, como na efetora, reflectindo uma perda global de imunotolerância. (6) (7)

A perda de imunotolerância, com subsequente desregulação da resposta imunitária e surgimento da doença, parece ser uma consequência de factores genéticos na presença de desencadeantes ambientais e eventos estocásticos dentro do sistema imunitário (como recombinações génicas aleatórias que ocorrem durante a selecção de receptores das células T e imunoglobulinas), tendo estudos recentes implicado mais de 30 loci na patogénese da doença. (6) (8)

No entanto, a etiopatogenia precisa não está esclarecida. Um exemplo que ilustra o quão pouco se conhece sobre o LES é o facto de durante 50 anos não ter sido aprovado nenhum fármaco pela FDA para o tratamento específico do lúpus, até ao surgimento do *Belimumab* em 2011.(7)

Um melhor entendimento da etiopatogenia do lúpus poderá contribuir para o diagnóstico precoce e desenvolvimento de terapêuticas mais eficazes para esta doença.

Assim, este trabalho tem como objectivo fazer uma revisão, compilação e actualização dos dados mais recentes relativos à etiologia e patogenia do LES.

Métodos

Para realizar este artigo de revisão foram pesquisados artigos científicos, artigos de revisão, estudos de caso, capítulos de livros e diretrizes escritos em inglês, obtidos na base de dados da PubMed, publicados entre 1979 e 2015, utilizando as seguintes palavras-chave: “Systemic lupus erithematosus”, “Pathogenesis”, “Etiology” “Autoantibodies”, “Immune system dysregulation” e “Genetic susceptibility”. Foram também consideradas outras publicações de interesse, encontradas nas listas de referências dos artigos selecionados. Entre os artigos encontrados, foram escolhidos aqueles com maior relevância para o tema proposto, dando maior relevância aos artigos publicados após 2005, num número total de 57 referências bibliográficas.

1. Mecanismos Imunológicos

a) Imunidade Inata

Mecanismos de imunidade inata aberrantes desempenham um papel importante na patogénese do LES, contribuindo tanto para a lesão tecidual através da libertação de citocinas pró-inflamatórias, como para a activação anormal de linfócitos B e T autorreactivos, sendo que estes últimos levam à produção de anticorpos patogénicos e à lesão de órgãos-alvo. (6) Os auto-anticorpos patogénicos no LES são dirigidos sobretudo ao ADN de cadeia dupla (ds-DNA). Ora, o ADN humano é pouco imunogénico e não tem epitopos para células T, o que poderia iniciar uma resposta via células *T-helper*. Ainda assim, complexos ADN-histonas, nucleossomas, são libertados

em grande quantidade na circulação de doentes com LES e vão servir de alvos para a resposta humoral. (9)

A morte celular é o mecanismo que mais provavelmente serve como fonte de autoantígenos para esta resposta imune anormal, sendo que esta morte celular pode ocorrer por apoptose ou necrose. A apoptose é uma morte programada e regulada, em que a membrana celular se mantém intacta prevenindo a libertação dos componentes intracelulares. No entanto, se as células que sofrem apoptose não forem removidas rapidamente, perdem a integridade da sua membrana tornando-se secundariamente necróticas, libertando material citoplasmático e nuclear modificado, facilitando assim processos inflamatórios e respostas imunes contra autoantígenos nucleares. Normalmente o material resultante da morte celular é removido por um sistema eficaz (macrófagos, células polimorfonucleares e células dendríticas), mas têm surgido evidências crescentes de que existe uma deficiência neste sistema de limpeza, tanto em modelos animais de LES como em humanos.(10) Para além das deficiências no sistema de limpeza dos restos celulares pensa-se que o próprio processo de apoptose está alterado nos doentes com LES tendo sido descrito um aumento da apoptose dos linfócitos periféricos em doentes com LES. (11)

Para além disso, foi encontrado em doentes com LES uma deficiência na actividade fagocítica para leveduras e bactérias (12) e foi demonstrado *in vitro* que os macrófagos de doentes com LES têm uma actividade fagocítica deficitária, são mais pequenos e morrem mais cedo do que os macrófagos de doadores em LES. Foi ainda demonstrado que existe um defeito heterogéneo na fagocitose por células polimorfonucleares nos doentes com LES e, num grupo de doentes, foi encontrado um defeito específico na fagocitose de células necróticas e cromatina degradada. Assim uma clearance diminuída

pode ser a razão pela qual surge a acumulação do material apoptótico nos tecidos de doentes com LES. (9)

As células, que se encontram nas regiões cutâneas, mucosas e glandulares, desempenham um papel fundamental na iniciação da resposta imunitária, ao apresentarem os antígenos nos órgãos linfóides secundários e secretarem factores estimuladores linfocitários, desencadeando assim uma resposta linfocitária através da activação e expansão de clones de células T (13). Em condições normais, as células T autorreactivas sofrem selecção negativa no timo. No entanto, células T autorreactivas têm sido encontradas em doentes com LES e mostraram-se capazes de induzir a formação de autoanticorpos anti-dsDNA *in vitro* (14) Num cenário de *clearance* de antígenos defeituosa, o aumento de autoantígenos disponíveis nos tecidos, pode causar uma rotura nos mecanismos de tolerância periférica, predispondo os doentes a desenvolver fenómenos de auto-imunidade. Por exemplo, as células dendríticas foliculares (CDF) nos tecidos linfóides são capazes de ligar partículas opsonizadas por C3d via receptor CD21 e apresentar autoantígenos modificados a células B autorreactivas, sendo que estas podem assim migrar para zonas ricas em linfócitos T onde se encontram em condições de se diferenciar em plasmócitos ou células de memória. (9) Assim, a retenção de autoantígenos na superfície de CDF pode sobrepor-se aos mecanismos de tolerância das células B e T nos doentes com LES. (15) Para além dos defeitos na *clearance* por células polimorfonucleares, macrófagos e anormalidade nas células dendríticas, também estão implicados na patogénese do LES outros mecanismos como uma deficiência relativa de pentraxinas. As pentraxinas são proteínas de fase aguda e estão envolvidas na regulação da inflamação. No organismo humano, o principal membro desta família é a proteína C reactiva (PCR). A PCR liga-se à lisofosfatidilcolina exposta pelas células que estão a sofrer apoptose ou necrose e vai

produzir uma activação do complemento pela via clássica, o que faz com que as células sejam opsonizadas e haja uma grande libertação de quimiocinas. A própria PCR também vai actuar como opsonina, pois interage com o receptor Fc das células fagocíticas, o que leva a uma fagocitose ainda mais eficaz das células apoptóticas. É um facto há muito conhecido que os níveis de PCR estão mais baixos em doentes com LES do que em indivíduos normais, sendo que estes níveis reduzidos de PCR podem assim contribuir para uma clearance defeituosa das células moribundas no LES. Um outro membro desta família, a pentraxina longa PTX3, é libertado pelas células endoteliais e mononucleares em resposta a sinais pró-inflamatórios (IL-1, IL-6 e TNF α). Há estudos que sugerem que a PTX3 sequestra restos celulares impedindo a sua internalização por células apresentadoras de antígenos, possivelmente para prevenir respostas autoimunes, embora o mecanismo pelo qual ocorre este sequestro ainda seja desconhecido (5)

Também têm sido observados nos doentes com LES níveis e actividade reduzida de Dnases (já que é tanto da I no soro como da II nos fagócitos) e defeitos do complemento. (16) O C1q e a DNase 1 cooperam na degradação de cromatina resultante de necrose. Foi encontrada uma deficiência de DNase I no soro de doentes tanto com LES como com AR, mas apenas os doentes com LES mostraram uma clearance defeituosa de material necrótico, o que pode ser devido à actividade reduzida do complemento, concomitante. (9) (15-17) A deficiência hereditária de C1q mostra muitas características típicas do LES sendo esta a provas mais forte da importância desta proteína do complemento na patogénese da autoimunidade dirigida contra estruturas nucleares. (15–17)

Já a DNase II degrada o ADN apoptótico nos lisossomas dos fagócitos. Nestas condições os macrófagos com deficiência de DNase II produzem TNF α que leva por sua

vez à produção de várias citocinas, o que reforça a hipótese de que o ADN que escapa à remoção e degradação normal contribui para o desenvolvimento de autoimunidade crónica. (17)

b) Imunidade adquirida

Linfócitos B

Uma característica importante do LES é a activação anormal de células B e sua diferenciação em plasmócitos produtores de anticorpos patogénicos e células de memória com uma especificidade para autoantígenos com uma imunoglobulina de superfície que é habitualmente de alta afinidade, devido a uma hipermutação somática das regiões variáveis da imunoglobulina e possível *switch* para o isotipo IgG.(18)

As células B activadas nos tecidos linfóides e no sangue de doentes com LES expressam o ligando CD154/TNFSF5/CD40 e as interacções homotípicas CD154-CD40/TNFRSF5 entre as células B dos tecidos linfóides e do sangue periférico são cruciais para a diferenciação em células secretoras de anticorpos (plasmócitos). (19) Esta diferenciação é afectada pela estimulação contínua por meio do factor activador de células B (BAFF/BlyS/TNFSF13B) através de dois dos seus receptores, o BCMA (Antígeno de maturação de células B) e o receptor do BAFF (BAFF-R/BR3) e ainda de um terceiro receptor o TACI (*transmembrane activator-1 and calcium modulator and cyclophilin ligand-interactor*). (17) (20)

A interacção BAFF-BAFF-R na maturação e sobrevivência das células B primárias foi relatada inicialmente em ratos com BAFF-R deficiente ou mutado, o que levava a diminuições drásticas das contagens de células B no sangue e uma diminuição do tempo de vida destas células. (21) Estes defeitos podiam ser revertidos pela sobreexpressão do factor anti-apoptótico Bcl-Xl (da família Bcl2), sugerindo que as interacções BAFF-

BAFF-R promovem a sobrevivência das células B ao prevenirem ou impedirem a apoptose. Por outro lado a sobreexpressão de BAFF leva à rápida hiperplasia dos clones de linfócitos B e fenómenos de auto-imunidade semelhantes aos encontrados no LES e no Síndrome de Sjogren. (22) Assim, o BAFF parece desempenhar 2 papéis na manutenção das células B primárias: por um lado, é um regulador chave da homeostase primária das células B, ao controlar a sua fase final de diferenciação e, por outro, vai desempenhar um papel fundamental na manutenção da tolerância das células B.(19-21)

Níveis elevados de BAFF têm sido observados no soro de doentes com LES, contribuindo para a produção de auto-anticorpos anti-DNA. Assim, os níveis de BAFF podem correlacionar-se com a actividade da doença nos doentes com lúpus. Para além disso, os defeitos na clearance de material apoptótico descritos anteriormente (ver 1.1) Imunidade Inata) parecem contribuir para um aumento da expressão de BAFF, sendo razoável especular que níveis aumentados de BAFF resultantes da apresentação de auto-antígenos às células da imunidade inata, podem amplificar ainda mais a produção de anticorpos pelas células B e exacerbando assim as manifestações da doença. (22)

As células secretoras de imunoglobulinas caracterizam-se pela expressão muito elevada de CD138 e pela presença de uma imunoglobulina intracelular. Existem dois subconjuntos deste tipo de células, as de longa duração (que se encontram sobretudo na medula óssea) e os plasmócitos de vida curta que são gerados nas repostas imunes normais e que secretam anticorpos no LES. Estes últimos geralmente permanecem nos tecidos onde são gerados, sendo assim sensíveis aos agentes anti-proliferativos. As células secretoras de imunoglobulinas que secretam anticorpos anti-dsDNA nos doentes com LES são mais provavelmente plasmócitos de vida curta, pois o tratamento com agentes anti-proliferativos, como por exemplo a hidroxiureia, diminui os níveis séricos de anticorpos anti-dsDNA. (18)

Como já foi visto anteriormente, a activação das células B está alterada, por vários mecanismos. O número de linfócitos B, em todas as fases de activação, está aumentado nos doentes com LES e estas células mostram uma resposta mais exacerbada ao cálcio citoplasmático e são mais sensíveis à estimulação por citocinas como a IL-6 do que células B de controlos saudáveis. Assim, parece que as células B de doentes com LES têm uma maior predisposição à activação policlonal por antigénios, citocinas e outros estímulos. (11)

Linfócitos T

O linfócito T é um componente crítico do sistema imune adaptativo, com múltiplas funções. No LES existem alterações patológicas de várias destas funções, nomeadamente uma diminuição do número de células T circulantes e um enviesamento da resposta T para a ajuda às células B (*B cell help*) levando a um aumento da produção de anticorpos. (11) A capacidade de proliferação e resposta à estimulação pela IL-2 também parecem estar diminuídas. A razão exacta pela qual existe uma resposta Th1 defeituosa no LES não se encontra esclarecida, mas fenómenos de *downregulation* através da produção de citocinas Th2, uma interacção defeituosa entre as APC (células apresentadoras de antigénios) e os linfócitos T, efeitos supressores das células CD8+ e NK (*natural killer*), a presença de inibidores da IL-2 bem como a diminuição do número dos seus receptores, são mecanismos possíveis. (23) (24,25)

A activação das células T começa com o TCR (receptor de células T), que reconhece péptidos estranhos na superfície das células apresentadoras de antigénios (APC). Estes receptores devem ser igualmente capazes de reconhecer e ignorar os auto-antigénios. O influxo de cálcio após a activação nas células T de doentes com LES é mais rápido e acentuado que nas células T normais. Esta resposta exacerbada é muito provavelmente de origem multifactorial, embora uma contribuição-chave seja a troca de

uma das subunidades do TCR, a CD3 ζ , que se encontra diminuída no LES. Por sua vez, o FcR γ (receptor Fc de cadeias γ) é capaz de se ligar ao TCR substituindo a subunidade em falta. (23)

Embora o FcR γ seja semelhante ao CD3 ζ na sua estrutura, ele vai activar uma via de sinalização diferente, sendo que a correlação entre esta substituição e a resposta mais rápida ao influxo de cálcio no LES já foi demonstrada. Apesar de o mecanismo exacto não estar esclarecido, esta resposta alterada ao cálcio nas células T de doentes com LES leva a que haja uma produção diminuída de IL-2. Embora as consequências desta depleção de IL-2 não sejam ainda completamente conhecidas, prevê-se que sejam muitas, dada a miríade de funções que esta citocina desempenha na regulação das respostas imunes. (7) Para além dos defeitos na sinalização, outras alterações funcionais estão presentes nas células T doentes com LES. Um exemplo disto é o facto de a actividade citotóxica das células T CD8 positivas estar diminuída no LES. Esta falta de capacidade para suprimir as células infectadas pode levar a uma activação B policlonal contínua com subsequente produção de anticorpos. Ademais, um defeito na morte celular pode explicar ainda a predisposição dos doentes com LES para um excesso de activação dos macrófagos.(11)

As células T reguladoras (Treg) são um subconjunto de células T capazes de suprimir a actividade de outras células T, particularmente as auto-reactivas sendo que está descrita a diminuição deste subtipo celular nos doentes com LES. A sobrevivência e função das células Treg são dependentes da IL-2, assim a depleção relativa de IL-2 no LES pode contribuir para um número reduzido de células Treg e concomitantemente para um aumento da actividade da doença. (24)

As células T têm também uma função importante na activação e diferenciação das células B, sendo que uma função excessiva e descontrolada das células T *helper* parece segundo alguns autores ser a via final central na patogénese do LES. (11) O principal sinal estimulador é a ligação do CD40L na superfície das células T ao CD40 na superfície das células B, sendo esta ligação facilitada na presença de citocinas como a IL-10. As células T de doentes com LES expressam níveis mais elevados de CD40L do que o normal, podendo assim ter um efeito de hiperestimulação nas células B. (25)

Também a migração e adesão se encontram alteradas no LES, nomeadamente nos estados de inflamação. Esta migração em resposta à CXCL12 (uma quimiocina produzida em vários tecidos) é mais rápida nas células T de doentes com LES, o que pode ser explicado pela sobre expressão ou activação do CXCR4 o receptor da CXCL12. Este receptor também vai estar aumentado nas células B no lúpus, sendo que este aumento de CXCR4 se correlaciona com a actividade da doença, envolvimento renal e neuropsiquiátrico. (26) Já a adesão encontra-se alterada devido ao facto de as células T no LES expressarem níveis aumentados de CD44, uma molécula de adesão celular, nomeadamente do subtipo CD44v3 e CD44v6, sendo que este padrão de adesão molecular característico é encontrado nas células T que infiltram o rim na nefrite lúpica. A CD44v3 (mas não a CD44v6) tem sido implicada nos infiltrados de células T nas lesões cutâneas auto-imunes, incluindo as encontradas no LES. (27)

As células Th17 são um subtipo de células T produtoras de IL-17 e já foram implicadas em várias doenças auto-imunes. O número destas células encontra-se aumentado nos doentes com LES, nomeadamente nos rins de doentes com nefrite lúpica. Pensa-se que a IL-17 amplifica a resposta inflamatória ao estimular o recrutamento de outras células imunes efectoras. A IL-17 pode ainda ser produzida num subtipo de células T CD4-CD8-, ou seja duplamente negativas (DN), e o achado de

populações de células T DN expandidas tem sido descrito em várias condições auto-imunes (28)

Finalmente, também foi descrita uma disfunção mitocondrial nas células T no LES, disfunção essa que vai conduzir a um aumento do *stress* oxidativo nestas células. Embora os mecanismos e consequências desta alteração sejam complexos e não sejam ainda completamente compreendidos, estas células T com mitocôndrias disfuncionais mostram uma actividade aumentada de mTOR (*mammalian target of rapamycin* - alvo da rapamicina nos mamíferos), que é uma molécula capaz de regular o potencial transmembranar mitocondrial, sendo um regulador chave da actividade metabólica. No sistema imune mais especificamente, esta molécula vai regular a produção de IFN- α e a manutenção da tolerância imune ao nível das células Treg e das células dendríticas, podendo inclusivamente promover respostas Th2 em detrimento das Th1. Assim, o mTOR parece estar envolvido em vários aspectos da patogénese do LES, tornando-se um alvo terapêutico apetecível. Em condições de nutrição suficiente a sinalização via mTOR vai estar activa, permitindo a síntese proteica e o aumento de volume celular. Tem sido constatado que no LES a sinalização via mTOR se encontra aumentada e nos estudos com rapamicina, esta tem-se mostrado eficaz no tratamento diminuindo a proliferação celular.(29)

O papel dos Autoanticorpos

Uma das principais características do LES é a presença de títulos elevados de autoanticorpos contra componentes nucleares, citoplasmáticos, da superfície celular e ainda moléculas solúveis como a IgG e factores de coagulação sendo que a resposta humoral, que tem como característica principal a produção de anticorpos contra o ADN de cadeia dupla (ds-DNA), tem sido largamente usada como marcador da actividade da doença(6)

Embora a forma como estes autoanticorpos causam lesão tecidual não esteja completamente elucidada, alguns estudos mostram que na nefrite lúpica, além da formação de imunocomplexos e activação do complemento, os anticorpos anti-dsDNA contribuem para a patogénese através da sua ligação directa ou indirecta a antigénios causadores de reacção cruzada nas células renais e/ou componentes da matriz extracelular, levando à activação e proliferação de células do sistema imune com consequente inflamação e fibrose. Alguns antigénios capazes de provocar reacções cruzadas foram indentificados, como por exemplo, a anexina II e a alfa actinina. (30)

Foi publicado em 2003 um estudo (31) que teve como objectivo investigar o aparecimento e progressão do desenvolvimento de anticorpos antes do diagnóstico de LES, bem como a relação temporal entre o surgimento de autoanticorpos e as primeiras manifestações clínicas de LES. Neste estudo, foi avaliado o soro de 130 doentes, obtido antes de o diagnóstico estar estabelecido, tendo sido demonstrado que os anticorpos mais prevalentes presentes antes do diagnóstico são os anticorpos antinucleares (ANA), que foram encontrados em 78% dos doentes. (31) Em 90% dos doentes estudados com anticorpos positivos, estes desenvolveram-se antes da primeira manifestação. No entanto, foram encontradas diferenças na distância temporal entre o surgimento dos anticorpos e as primeiras manifestações para os vários anticorpos estudados. De facto, foi considerado que os anticorpos podiam ser divididos em três grupos, de acordo com o intervalo de tempo decorrente do seu surgimento à data do diagnóstico, como se encontra ilustrado na Tabela 1. Foi também avaliada a taxa de seroconversão para os doentes que alguma vez tiveram uma pesquisa de autoanticorpos positiva, tendo sido evidenciado que a taxa de seroconversão foi de aproximadamente 20% durante o ano anterior ao diagnóstico para anticorpos antinucleares, anti-Ro ou anti-La e de 30% para anticorpos anti-dsDNA. Por outro lado, a taxa de detecção inicial no ano anterior ao

diagnóstico de anticorpos anti-Sm foi de 82% e para os anticorpos anti-RNP foi de 75%, reflectindo a relação temporal estreita entre o surgimento destes anticorpos e a doença clínica. (31)

Cluster de Anticorpos	Distância em anos até ao diagnóstico
Anticorpo Antifosfolipídico,	3.4
Anticorpo Anti-Ro,	
Anticorpo Anti-La	
Anticorpo anti-dsDNA	2.2
Anticorpo anti-Sm,	1.2
Anticorpo anti-RNP	

Tabela 1 - Distância média em anos desde o surgimento no soro de 3 *clusters* de autoanticorpos até ao diagnóstico de LES. Dados retirados de Arbuckle M.R., McClain Micah T., Rubertone M.V., Scofield H., Dennis G.J., James J.A., Harley J.B. Development of Autoantibodies before the Clinical Onset of Systemic Lupus Erythematosus. *The New England Journal of Medicine*. Outubro de 2003. 349;16.

Os anticorpos anti-nucleares, um pilar da autoimunidade, incluem várias subpopulações de anticorpos com especificidades diferentes. (32) Sendo o LES uma doença excepcionalmente heterogénea, tem sido estudada a hipótese de os vários fenótipos da doença estarem associados a diferentes subespecificidades de ANA. Na verdade, vários estudos têm demonstrado a existência de uma correlação entre o perfil de autoanticorpos produzidos e as manifestações clínicas da doença. (32–36)

Entre os ANAs, os anticorpos anti-Sm e anti-RNP são de grande importância na prática clínica. Os anticorpos anti-Sm são detectáveis em 5 a 30% dos doentes com LES e são mais prevalentes nos indivíduos de raça negra. Dada a sua elevada especificidade para o LES, eles estão incluídos nos critérios serológicos para o diagnóstico da doença e tem sido demonstrado que a sua presença está associada à actividade e gravidade do

envolvimento renal. Os anticorpos anti-RNP podem ser encontrados em 25-47% dos doentes, sendo mais prevalentes nos doentes que têm fenômeno de Raynaud e estão associados a um envolvimento renal mais ligeiro e a doença mista do tecido conjuntivo. (4)(32)

Outros estudos recentes sugerem que o cluster antiSm/snRNP está mais associado a serosite do que o cluster anti-Ro/anti La. (11) Foi ainda reportado que casos de LES com anticorpos anti ds-DNA e/ou anti-Sm têm maior probabilidade de desenvolver eritema malar e envolvimento renal, (36) sendo que a presença de anticorpos anti-dsDNA tem sido repetidamente associada a doença renal, serosite e envolvimento hematológico. (31,36)

Por outro lado, a doença cutânea e fotossensibilidade têm sido mais associadas ao *cluster* anti-Ro/anti-La. (35)

Thompson *et al* (37) avaliaram os perfis de anticorpos séricos de um grupo de 117 doentes com LES, tendo comparado os achados clínicos com os laboratoriais e assim dividido os doentes em grupos de acordo com o seu perfil de autoimunidade. Doentes com um perfil de anticorpos negativo mostraram menos alterações clínicas e laboratoriais comparados com os outros subconjuntos de doentes. Pelo contrário, doentes com anticorpos anti ds-DNA e /ou anti-Sm (perfil A) têm um aumento estatisticamente significativo de eritema malar, envolvimento renal e hematológico e hipocomplementémia, quando comparados com o grupo com o perfil negativo. Doentes com anticorpos anti-nRNP (perfil B) aparentemente têm um curso clínico diferente daqueles que têm o perfil A e têm um aumento estatisticamente significativo de surgimento de fenômeno de Raynaud, quando comparados com o grupo com o perfil negativo. Doentes com anticorpos anti-Ro e/ou anti-La (perfil C) têm um aumento

estatisticamente significativo nos eritemas relacionados com o Lúpus e fotossensibilidade. Nenhum dos doentes estudados tinha anticorpos anti-centrómero ou anti-Scl 70 (perfil D). Anticorpos anti histonas (perfil E), estavam presentes em doentes com lúpus induzido por drogas. (36)

Os perfis de anticorpos séricos dos doentes com LES, resumidos na Tabela 2, parecem assim ter implicações clínicas, terapêuticas e prognósticas, sendo que o seu estudo pode levar a desenvolvimentos significativos nos campos do diagnóstico e da terapêutica desta doença.

Anti ds-DNA Anti-Sm	<ul style="list-style-type: none"> • Nefrite lúpica. • Eritema malar, • Serosite, • Envolvimento hematológico • Hipocomplementémia
Anti-Ro/anti La	<ul style="list-style-type: none"> • Fotossensibilidade • Eritema malar • Eritema discóide
Anti-RNP	<ul style="list-style-type: none"> • Serosite • Eritema malar • Doença mista do tecido conjuntivo • Fenómeno de Raynaud
Anti-histonas	<ul style="list-style-type: none"> • Lúpus induzido por drogas

Tabela 2 - Perfis de autoanticorpos encontrados em doentes com LES e sua tradução clínica

2. Genética

Um forte papel da genética na patogenia do lúpus é sugerido pela elevada hereditariedade (> 66%) e pela elevada concordância entre gémeos monozigóticos (24-57%) quando comparada a gémeos dizigóticos e irmãos não gémeos (2-5%)(38,39)

A primeira associação genética a ser estabelecida para o LES foi com a região HLA (*Human Leukocyte antigen*) no cromossoma 6p21.3, já nos anos 70. Esta região codifica mais de 200 genes, muitos deles com papéis imunológicos conhecidos e pode ser subdividida nas regiões I, II e III. (37,38) Vários estudos GWA (*genome wide association*) em populações europeias e asiáticas têm demonstrado que o maior número de alelos de risco para o LES reside na região HLA, o que se traduz numa multiplicidade de efeitos genéticos. (40) Os genes da classe II HLA-DR2 e HLA-DR3 têm sido consistentemente encontrados em doentes com LES em várias populações europeias, sendo que cada um dos alelos confere um risco relativo até duas vezes superior. Estas associações também foram confirmadas em populações asiáticas. Para além disto, o papel dos alelos HLA Classe II associados ao LES na iniciação de respostas relevantes por autoanticorpos foi demonstrado em ratos humanizados que expressavam o transgene HLA-DR3, mas não outros alelos DR ou DQ. (38) Embora muitos estudos se tenham concentrado sobretudo nas moléculas da classe HLA-DR Classe II, resultados mais recentes têm levantado a hipótese de que alelos de susceptibilidade importantes se podem encontrar na Classe III da região HLA. Mais especificamente, os genes MSH5 e SKIV2 foram implicados como factores predisponentes ao desenvolvimento de LES independentemente dos *loci* HLA classe II em estudos britânicos e norte-americanos. (41)

Os genes C1q, C2, C4A e C4B que codificam a via do complemento contribuem para um aumento da susceptibilidade e gravidade da doença. Um compromisso precoce

na produção destes componentes pode diminuir a clearance das células apoptóticas aumentando assim o *pool* de autoantígenos disponíveis, ou diminuindo a solubilidade dos imunocomplexos. Deficiências completas de C2 e C4 são raras, mas estão associadas a um risco elevado de desenvolver LES. Mais de 75% dos doentes com deficiência de C4 e cerca de 20% dos doentes com deficiência de C2 desenvolvem LES ou uma doença lúpus-like. Os genes C4A e C4B codificam respectivamente as proteínas do complemento C4-A e C4-B, que têm características funcionais diferentes. O alelo C4A nulo está associado à susceptibilidade para o LES em vários grupos étnicos, incluindo populações europeias e do Este Asiático. As variações do número de cópias (CNV – copy number variations) dos genes C4 determinam o número basal de proteínas do complemento circulantes que funcionam na clearance de imunocomplexos (IC), que de outra forma levariam a autoimunidade. Diminuições no número de cópias C4A (mas não C4B) predispõem para o desenvolvimento de LES, enquanto um aumento do número de cópias de C4A é um factor protector contra o desenvolvimento de LES. (38)

Múltiplos alelos que influenciam as linhagens de células B e T têm sido associados ao LES. O gene *PTPN22* que codifica a proteína tirosina fosfatase 22, uma fosfatase linfocitária específica (LYP) que inibe a activação dos linfócitos T, parece desempenhar um papel em múltiplos fenótipos auto-ímmunes. Isto põe em evidência uma partilha de mecanismos entre estas doenças, apesar das várias apresentações clínicas. O *PTPN22* foi inicialmente identificado como um gene candidato para a diabetes tipo 1 e para a artrite reumatóide, tendo sido subsequentemente demonstrada a sua associação com o LES e a tiroidite auto-ímmune. Pensa-se que o polimorfismo de risco R620W, que é uma variante de aumento de função, leva a um aumento na actividade desta fosfatase, funcionando assim como um inibidor da sinalização via TCR, sendo que esta

sinalização reduzida funcionará como um factor de risco para o desenvolvimento de fenómenos de auto-imunidade. (42)

O membro da superfamília de factores de necrose tumoral TNFSF4, (também conhecido como OX40L) e o seu receptor, são expressados nas células apresentadoras e nos linfócitos T activados, respectivamente, sendo que, no seu conjunto, a ligação TNFSF4/TNFSFR4 funciona como estimuladora de células T. A sinalização mediada pelo OX40L inibe a geração e função das células T reguladoras CD4+ tipo I, produtoras de IL-10 mas aumenta a activação e diferenciação das células B e a produção de IL-17. Existe um haplotipo de 13 marcadores identificado na região a montante da região codificadora *TNFSF4* que está correlacionado com um aumento de expressão de OX40L. Os níveis aumentados de OX40L produzem uma destabilização da tolerância periférica, através tanto do aumento da interacção entre as células T e as células apresentadoras de antígenos, como das consequências funcionais da activação de células T, aumentando assim a predisposição para o LES. (43) Associações entre alguns SNPs marcadores do *TNFSF4* e um risco aumentado de LES foram confirmadas através de Estudos GWA em populações Chinesas, Europeias e na América Latina. (44)

A via de sinalização através dos receptores das células B tem sido largamente estudada, sendo que a sua desregulação parece contribuir sobremaneira para a patogénese do LES. Nomeadamente os genes *BANK1*, *BLK* e *LYN* foram recentemente associados ao aumento de risco para esta doença. Alterações na BANK1 (B cell scaffold protein with ankyrin repeats), uma proteína adaptadora que medeia a ligação entre as proteínas da família de tirosina cinases Src e os canais de cálcio na superfície das células B, parecem levar a uma alteração do limiar de activação das células B. O gene *LYN* (*Yamaguchi sarcoma viral oncogene*), que codifica uma tirosina cinase que actua como ligando para a BANK1 tem sido associado ao LES através de estudos de GWA. A

tirosina cinase BLK (*B lymphoid tyrosine kinase*) afecta funções associadas com o desenvolvimento das células B antes do aparecimento do receptor de células B (BCR). Ela faz parte da família Src e influencia a proliferação, diferenciação e auto tolerância das células B. Vários estudos têm identificado mutações no gene que a codifica, sendo esta proteína subexpressa, o que aumenta a predisposição para o desenvolvimento da doença. (38–41)

Os mecanismos de imunidade inata têm recebido um interesse crescente nos últimos anos. A maioria das células produz interferão tipo I durante a resposta precoce à infecção vírica, sobretudo as células dendríticas. Níveis aumentados de interferão têm sido consistentemente encontrados em doentes com LES. O IFN promove a maturação dendrítica e a produção de citocinas pró-inflamatórias o que vai ter um amplo espectro de efeitos no sistema imune, tais como a estimulação de respostas do tipo Th1, activação de linfócitos B e regulação da apoptose. (5,38)

Estudos recentes têm relatado que os factores reguladores do IFN e sobretudo o IRF5 estão fortemente associados a níveis séricos elevados de IFN α e aos títulos de auto-anticorpos nos doentes com LES. O IRF5 (factor regulador do interferão 5) regula a expressão dos genes dependentes do interferão, citocinas pró-inflamatórias e genes envolvidos na apoptose. Os níveis de IRF5 são aumentados pelo IFN α e o IRF5 induz a produção de IFN α , gerando a possibilidade de este eixo de *feedback* positivo ser parte do mecanismo molecular que produz as alterações encontradas no LES. (45)

Vários outros genes com influência na via do IFN e funções da imunidade inata relacionadas têm sido associados ao LES. O *IRAK 1* (receptor da IL-1 associado a cinase) codifica uma proteína cinase com o mesmo nome e localiza-se no cromossoma X. Está envolvido na sinalização via família TIR (Toll/IL-1 receptor). A IRAK1 liga

vários receptores de imunocomplexos à proteína ativadora/adaptadora central, a TRAF6 e regula várias vias, tanto na imunidade inata como na adaptativa. Em modelos animais de LES foi demonstrado que a IRAK1 regula o factor nuclear κ B (NF κ B) na sinalização e activação do TCR bem como na indução do IFN α e IFN γ implicando o IRAK no LES. Também em estudos de diferentes grupos étnicos múltiplos SNPs (single nucleotide polymorphisms) dentro do *IRAK1* foram associados ao LES. Dada a sua localização no cromossoma X surgiu ainda a hipótese de que uma maior expressão do *IRAK 1* pode contribuir para uma predominância do LES no género feminino. (38)

O gene *STAT4* codifica a proteína transdutora de sinal e activadora da transcrição 4 (STAT4) e tem sido associado ao LES em vários estudos GWA em populações europeias e asiáticas, sendo que já em estudos anteriores de genes candidatos, polimorfismos do *STAT4* tinham sido associados ao lúpus. Uma das variantes de risco (rs7574865) parece estar relacionada a um fenótipo mais agressivo da doença, caracterizado por manifestações em idades mais precoces (< 30A), à presença de anticorpos anti-dsDNA, nefrite lúpica e a um aumento da sensibilidade à sinalização via IFN- α nas células mononucleares no sangue periférico. Funcionalmente parece haver um efeito sinérgico entre a STAT4 e o IRF5 no aumento do risco de desenvolver LES, sendo que os indivíduos que têm um ou mais alelos de risco tanto do *STAT4* como do *IRF5* têm um potencial maior para desenvolver a doença. (38,44)

Uma associação entre o LES e um haplotipo de risco da proteína 3 induzida pelo fator de necrose tumoral α (TNFAIP3) foi identificada através de um estudo GWA que testava a associação do LES a 300000 SNPs. Este haplotipo parece estar presente apenas numa minoria dos doentes, conferindo-lhes no entanto um prognóstico mais sombrio. Estudos na artrite reumatóide, Doença de Crohn e psoríase, sugerem que a TNFAIP3 actua em várias doenças auto-imunes com efeitos genéticos potenciais

complexos e variados. (46) Já o *TREX1* codifica a exonuclease de reparação de 3'ADN 1 e também está associado à indução de respostas via IFN. Esta enzima (TREX1) verifica a ADN polimerase e possivelmente participa na degradação de ADN aquando da apoptose. Uma deficiência no gene que a codifica, implica uma menor reparação do ADN danificado, levando à acumulação de retroelementos de ADN activados endógenos (que esta exonuclease também metaboliza) e assim, a uma potente resposta via IFN Tipo I.

Vários membros da família de receptores Fcγ (FcγR) estão implicados na patogénese do LES. Os genes *FCGR2A*, *FCGR3A*, *FCGR2B* e *FCGR3B* codificam FcγRs (receptores Fcγ de baixa afinidade para IgG) e estão envolvidos nas respostas imunes dependentes de anticorpos. (41) Múltiplas variantes funcionais destes genes têm sido identificadas como factores de risco para o LES por estarem associadas a uma afinidade diminuída para partículas opsonizadas pela IgG2 e diminuição da *clearance* de imunocomplexos (SNPs não sinónimos no *FCGR2A*), à alteração das afinidades de ligação dos receptores para ICs codificados contendo IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4, levando a uma *clearance* menos eficiente (SNPs não sinónimos no *FCGR3A*), compromisso da inibição da cativação dos linfócitos B (SNPs não sinónimos no domínio transmembranar dos *FCGR2B*) e diminuição do *uptake* de imunocomplexos e da adesão dos neutrófilos aos ICs (CNVs no *FCGR3B*). (5) (40)(47) Devido ao facto de alguns destes alelos serem herdados em conjunto, a presença de múltiplos alelos de risco pode contribuir para um risco aumentado de desenvolver LES.

Várias associações fenotípicas têm sido estabelecidas com genes específicos. Neste contexto, surge a hipótese de que a genotipagem dos doentes com LES e a análise dos seus perfis genéticos possa ser uma ferramenta útil para prever que manifestações os doentes vão desenvolver ao longo do curso da doença. Sanchez *et al* (46) analisaram

um conjunto de alelos de risco para o LES em populações europeias, afro-americanas e hispânicas, sendo que foram encontradas associações estatisticamente significativas entre o alelo de risco para o lúpus *ITGAM* e o envolvimento renal, sobretudo na população europeia. Também o *TNFSF4* foi associado com o envolvimento renal, não só na população europeia, mas também na hispânica. Adicionalmente foi encontrada uma associação entre o gene *FCGR2A* e o eritema malar, o *ITGAM* e o eritema discóide, o *STAT4* e aftas orais e entre o *IL21* e os distúrbios hematológicos.

Estudos futuros, sobre a influência genética não só na susceptibilidade à doença, mas também o estudo das associações entre alelos de risco e manifestações específicas da doença, inclusivamente para identificar e caracterizar *loci* que não têm uma relação conhecida com a função imune, podem ser de grande interesse e trazer novas informações relevantes no que toca à patogenia, diagnóstico e mesmo prognóstico dos doentes com lúpus.

3. Factores Ambientais, Hormonais e Epigenéticos

O LES é uma doença multifactorial, sendo que o seu surgimento e as manifestações clínicas parecem depender de uma interacção entre factores de susceptibilidade genética e da sua interacção com factores ambientais e eventos estocásticos no sistema imunitário. Os factores candidatos a serem considerados iniciadores da doença incluem as hormonas sexuais femininas, a exposição aos raios ultravioletas (UV), tabagismo e infecções por bactérias e/ou vírus capazes de despoletar uma activação policlonal das células B. (18)

a) Factores Hormonais

Mais de 85% dos doentes com LES são do sexo feminino, sendo que a maior taxa de incidência é encontrada nos anos pré-menopausa (20-50 anos). Também os doentes

com síndrome de Klinefelter parecem mais propensos ao desenvolvimento de LES, o que sugere uma possível contribuição das hormonas sexuais endógenas na predisposição para desenvolver a doença (ou ao facto de terem mais um cromossoma X com uma maior expressão do *IRAK 1* (37)). (8) Parece também existir um metabolismo anormal dos estrogénios, tanto em homens como em mulheres nos doentes com LES, através do aumento da 16 α hidroxilação da estrona, resultando em concentrações aumentadas de estrona e estradiol mais potentes. (48) As mulheres com LES também apresentam concentrações diminuídas de androgénios sendo que a concentração plasmática de androgénios se correlaciona inversamente com a actividade da doença. Assim, um excesso de estrogénios, bem como uma actividade hormonal inadequada dos androgénios tanto em homens como em mulheres com lúpus, pode ser responsável pela alteração das respostas imunes no LES. (49)

É já sabido que concentrações tanto fisiológicas como suprafisiológicas de estrogénios facilitam as respostas imunes humorais, levando a um aumento da proliferação das células B e à produção de anticorpos. Por outro lado, doses elevadas de estrogénios inibem as respostas pelas células T, incluindo a produção de IL-2 e aumentam a expressão de CD40L, sendo assim aparente que as células T dos doentes com LES são mais sensíveis aos estrogénios. Ademais, é sabido que alterações hormonais repentinas desencadeiam surtos de LES. (50)

A prolactina também parece desempenhar um papel na imunoestimulação, afectando o risco para o desenvolvimento de auto-imunidade. Um estudo epidemiológico relatou uma prevalência aumentada de anticorpos anti-dsDNA, anti-Ro e Anti-Sm em 33 mulheres com hiperprolactinémia quando comparadas com um grupo de mulheres com níveis de prolactina normais. (51) Para além disto, a

hiperprolactinémia crónica parece estimular as respostas humorais e acelerar os fenómenos de autoimunidade em modelos animais de LES. (52)

Embora os defeitos hormonais não tenham uma relação causal directa com o surgimento do LES, um microambiente criado por diferentes valores de hormonas pituitárias e gonadais pode criar um contexto favorável para o desenvolvimento da doença em indivíduos susceptíveis, e alterações deste microambiente (nomeadamente quando ocorrem variações nos níveis de esteróides sexuais), conjugadas com factores ambientais ainda não esclarecidos, podem explicar o padrão de surto-remissão característico do LES. (11)

b) Factores Ambientais e Ocupacionais

Pouco é conhecido no que toca à influência de factores ambientais e ocupacionais na susceptibilidade ao LES.

A exposição à luz solar é um dos principais factores responsáveis por desencadear as manifestações cutâneas no LES. Como já foi descrito anteriormente, a clearance defeituosa de material apoptótico é um dos mecanismos que possivelmente desencadeia a inflamação nos doentes com LES. Sabe-se hoje que a radiação UV, particularmente a UVB, é um potente indutor da apoptose dos queratinócitos, levando assim à libertação de antigénios nucleares e citoplasmáticos, podendo assim desempenhar um papel nas lesões cutâneas do LES ao aumentar a disponibilidade de autoantigénios e induzir a produção de autoanticorpos. (53) Para além disto, a radiação UV altera a localização e química do ADN e dos antigénios Ro e nRNP, aumentando a sua imunogenicidade. (54)

Sabe-se que os metais pesados podem induzir doença renal auto-imune ou síndromes *lupus-like*, embora mais dados sejam necessários.

O pó de sílica é abundante no quartzo e na areia e é importante na produção de materiais de construção, vidro e cerâmicas. A exposição a níveis elevados deste pó respirável induzem silicose pulmonar e a exposição ocupacional pode ainda estar associada aos ANA e outros anticorpos séricos, bem como ao desenvolvimento concomitante de doença renal, esclerodermia, artrite e outras doenças auto-imunes, como o LES. O mecanismo fisiopatológico proposto para a acção da sílica na desregulação do sistema imune, passa pela ingestão das partículas de sílica respiráveis pelos macrófagos alveolares, com conseqüente inflamação, activação dos fibroblastos e efeito adjuvante na produção de anticorpos. (8)

As amins aromáticas e as hidrazinas, encontradas em alguns solventes, tintas para cabelos e fumo do tabaco, têm recebido bastante atenção devido às suas semelhanças estruturais com alguns medicamentos associados ao lúpus induzido por drogas. O metabolismo das amins aromáticas e das hidrazinas envolve uma série de enzimas, incluindo a NAT (N-acetiltransferase hepática), a glutathione S transferase e o sistema do citocromo P450. Assim, uma avaliação mais completa do papel potencial da variabilidade genética destes sistemas enzimáticos no metabolismo destes químicos pode ser interessante na avaliação de possíveis contribuições para a patogenia do LES. (55)

c) Factores Infeciosos

O início das manifestações clínicas do LES é precedido amiúde por uma infecção, mas a existência ou não de uma relação causal tem sido difícil de provar. A hipótese, que de momento parece mais provável, é a de que o LES pode resultar de uma resposta aberrante ou da falta de regulação da resposta imunitária a um agente patogénico relativamente comum. Os doentes com LES apresentam frequentemente níveis de anticorpos contra agentes microbianos específicos mais elevados do que os controlos

saudáveis, no entanto é bastante improvável que um agente infeccioso individual seja a causa da doença. (56)

Anticorpos contra vírus específicos podem por vezes ter reacções cruzadas com autoantigénios, sendo um exemplo o do vírus Epstein-Barr (EBV) e do anticorpo anti-Sm. O EBV, à semelhança do CMV (citomegalovírus), do Herpes zoster e do herpes simplex, é um herpesvírus. Uma característica comum a todos os herpesvírus é a sua capacidade de persistência no organismo num estado de latência, reemergindo após reactivação. Num estudo de caso-controlo foi demonstrado que a ocorrência, prévia ao diagnóstico de LES, de infecção por herpes zoster e o uso de agentes imunossupressores estava associado a um aumento do risco de desenvolver lúpus. Esta associação, a ser confirmada em estudos futuros, pode apoiar a hipótese de que as infecções por herpesvírus são um factor importante na etiologia do LES. (56)

No que diz respeito aos retrovírus, tanto endógenos como exógenos, apesar de vários estudos terem sido realizados neste sentido, ainda não existem provas conclusivas no que toca a uma possível relação com o LES.

A investigação da possível relação com outro tipo de infecções é bastante limitada. A exposição a superantigénios bacterianos tem sido implicada no surgimento de surtos da doença secundários à activação policlonal induzida pelos superantigénios. Por outro lado, também foi levantada uma hipótese interessante que liga a malária a um risco reduzido de desenvolver LES, possivelmente devido ao efeito dessa infecção nos macrófagos. (8)

Discussão e Conclusão

Embora os mecanismos patofisiológicos e a etiologia exacta do LES ainda não estejam completamente esclarecidos, eles estão a ser progressivamente desvendados, sendo a origem da doença muito provavelmente multifactorial. Assim, para que surjam manifestações da doença, parece ser necessária a conjugação de uma susceptibilidade genética na presença de factores desencadeantes ambientais e da ocorrência de eventos estocásticos dentro do sistema imunitário.

Tratando-se de uma doença auto-imune, vários aspectos do sistema imunitário têm sido estudados como potenciais mecanismos patogénicos, sendo que tanto a imunidade inata como a adaptativa estão envolvidas.

Os mecanismos de imunidade inata aberrantes desempenham um papel importante na patogénese do LES, contribuindo tanto para a lesão tecidual através da libertação de citocinas pró-inflamatórias, como para a activação anormal de linfócitos B e T autorreactivos. Entre estes mecanismos conta-se a clearance defeituosa de material apoptótico, que vai funcionar como um fornecedor de autoantígenos, estes últimos sendo, por sua vez, reconhecidos pelas células dendríticas (5) que desempenham um papel fundamental na regulação das respostas imunes adaptativas ao activarem as células B e T. Também as CD parecem estar implicadas na patogénese do LES ao promoverem respostas imunes humorais extrafoliculares, tornando-se assim alvos terapêuticos interessantes, embora os mecanismos exactos pelos quais isto acontece ainda não estejam completamente esclarecidos. (6) Também estão implicadas na patogénese do LES uma deficiência relativa de pentraxinas, a cuja família pertence a proteína C reactiva, níveis e actividade reduzida de DNase I no soro e defeitos do complemento. (16)

Uma característica importante do LES é a activação anormal de células B e sua diferenciação em plasmócitos produtores de anticorpos patogénicos e células de memória com uma especificidade para autoantígenos com uma imunoglobulina de superfície que é habitualmente de alta afinidade, devido a uma hipermutação somática das regiões variáveis da imunoglobulina e possível *switch* para o isotipo IgG. (18) Recentemente, têm sido identificadas as interacções ligando-receptor e as vias de sinalização envolvidas na activação e diferenciação das células B em plasmócitos e células de memória. Assim, surge a possibilidade de a hiperreactividade das células B no LES, mediada por um número definido de interacções ligando-receptor (incluindo a sinalização via CD40R e BAFF-R) ser um futuro alvo-terapêutico específico na abordagem do LES.

O linfócito T é um componente crítico do sistema imune adaptativo, com múltiplas funções. No LES existem alterações patológicas de várias destas funções, nomeadamente uma diminuição do número de células T circulantes, um enviesamento da resposta T para a ajuda às células B (*B cell help*) levando a um aumento da produção de anticorpos. (11) A capacidade de proliferação e resposta à estimulação pela IL-2 também parecem estar diminuídas. A razão exacta pela qual existe uma resposta Th1 defeituosa no LES não se encontra esclarecida, mas fenómenos de *downregulation* através da produção de citocinas Th2, uma interacção defeituosa entre as APC (células apresentadoras de antígenos) e os linfócitos T, efeitos supressores das células CD8+ e NK (*natural killer*), a presença de inibidores da IL-2 bem como a diminuição do número dos seus receptores, são mecanismos possíveis. (23-25) O desenvolvimento de agentes farmacológicos capazes de actuar nas células T melhorando a sua função, pode mostrar-se assim interessante no desenvolvimento de terapêuticas futuras.

Uma das principais características do LES é a presença de títulos elevados de autoanticorpos contra componentes nucleares, sendo que a resposta humoral no lúpus tem sido largamente usada como marcador da actividade da doença. Esta resposta tem como principal alvo o ADN de cadeia dupla (ds-DNA) e é responsável pelo dano tecidual e lesão orgânica. Vários estudos têm sido realizados nesta área para atingir não só uma melhor compreensão das implicações dos perfis de anticorpos séricos dos doentes no desenvolvimento da auto-imunidade, mas também para estudar a sua relação com manifestações clínicas específicas. De particular relevo é o facto de alguns anticorpos (ANA, anti-Ro, anti-La e antifosfolipídicos) precederem o início das manifestações por vários anos, enquanto outros (anti-Sm e anti-nRNP) aparecerem apenas meses antes das primeiras manifestações. Já os anticorpos anti-dsDNA são intermédios entre estes dois grupos. Embora todos estes anticorpos sejam encontrados no LES, alguns deles também podem ser encontrados em indivíduos saudáveis. Por exemplo, os anticorpos anti-Ro e anti-La são relativamente comuns em pessoas que não têm nem, nunca chegam a desenvolver qualquer manifestação de LES. Já os anticorpos anti-dsDNA, anti-Sm e anti-nRNP são muito raros em pessoas saudáveis. (51) Daqui podemos inferir que os testes para detecção de auto-anticorpos vão ter diferentes especificidades, e assim, implicações na aferição da existência ou não de fenómenos de auto-imunidade e na predição de possíveis fenómenos de auto-imunidade futuros.

Sendo o LES uma doença excepcionalmente heterogénea, tem sido estudada a hipótese de os vários fenótipos da doença estarem associados a diferentes subespecificidades de ANA. Na verdade, vários estudos têm demonstrado a existência de uma correlação entre o perfil de autoanticorpos produzidos e as manifestações clínicas da doença. (32–36) Doentes com um perfil de anticorpos negativo mostraram menos alterações clínicas e laboratoriais comparados com os outros subconjuntos de

doentes. Pelo contrário, doentes com o perfil A (com anticorpos anti ds-DNA e /ou anti-Sm) têm um aumento estatisticamente significativo de eritema malar, envolvimento renal e hematológico e hipocomplementémia, quando comparados com o grupo com o perfil negativo. Doentes com o perfil B (anticorpos anti-nRNP) aparentemente têm um curso clínico diferente daqueles que têm o perfil A e têm um aumento estatisticamente significativo de surgimento de fenómeno de Raynaud, quando comparados com o grupo com o perfil negativo. Doentes com o perfil C (anti-Ro e/ou anti-La) têm um aumento estatisticamente significativo nos eritemas relacionados com o Lúpus e fotossensibilidade. O perfil E (anticorpos anti histonas) foi encontrado em doentes com lúpus induzido por drogas. (36) Os perfis de anticorpos séricos dos doentes com LES parecem assim ter implicações clínicas, terapêuticas e prognósticas, sendo que o seu estudo pode levar a desenvolvimentos significativos nos campos do diagnóstico e da terapêutica desta doença.

Uma forte influência genética para estas alterações imunológicas, é sugerida dada a elevada hereditariedade e concordância entre gémeos encontrada no LES. Múltiplos alelos de risco para o LES têm sido e continuam a ser identificados tanto em estudos de genes candidatos como, mais recentemente, em estudos GWA. Também as associações fenotípicas para os *loci* de susceptibilidade no LES têm sido estudadas. Os mecanismos pelos quais estes polimorfismos contribuem para a expressão da doença continuam a ser, na sua maioria, desconhecidos. No entanto, a premissa geral é a de que a sua presença causa mudanças funcionais na resposta imune, levando a que o sistema imunitário esteja mais predisposto para a autorreactividade quando exposto a certos estímulos ambientais e hormonais. É bastante improvável que a presença de apenas um alelo de risco isoladamente constitua um factor de risco significativo. (57) Neste contexto, parece mais provável que os doentes sejam portadores de combinações de

vários alelos de risco, que quando presentes em conjunto são capazes os tornar mais vulneráveis ao surgimento da doença. A influência genética e a sua interacção com as várias alterações imunológicas não chegam para explicar toda a etiopatogenia da doença. Um facto bem conhecido sobre o LES é o de que o risco para desenvolver a doença é substancialmente mais elevado nas mulheres do que nos homens. Diferenças nos perfis hormonais são parte da explicação para as diferenças encontradas, mas muitas questões permanecem sem resposta. Também existem diferenças epidemiológicas entre os vários grupos étnicos, sugerindo uma influência do *status* socioeconómico e de exposições ambientais e ocupacionais. Também a influência dos vários factores genéticos varia com a etnicidade, reflectindo talvez exposições a agentes infecciosos patogénicos resultantes dos padrões migratórios.

Conclui-se, assim, que o LES é um de uma doença auto-imune complexa influenciada por numerosas interacções imunológicas, genéticas, hormonais e ambientais. Os mecanismos exactos de todas estas interacções ainda não são conhecidos na sua globalidade, mas um estudo mais aprofundado pode levar a um melhor entendimento da etiopatogenia da doença, a diagnósticos mais precoces, ao desenvolvimento de terapêuticas mais eficazes que conduzissem por fim a uma menor mortalidade e um aumento da qualidade de vida para os doentes.

Referências

1. Goldman Lee SAGCM 24th ed. P (PA): ES 2012 [cited 2015 O 22].
2. Kasitanon N, Magder LS, Petri M. Predictors of survival in systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2006;85(3):147–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16721257>
3. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677–86.
4. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* [Internet]. 1997;40(9):1725. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9324032>
5. Munoz LE, Gaipl US, Franz S, Sheriff A, Voll RE, Kalden JR, et al. SLE - A disease of clearance deficiency? *Rheumatology.* 2005;44(9):1101–7.
6. Choi J, Kim ST, Craft J. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus-an update. *Curr Opin Immunol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2012;24(6):651–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2012.10.004>
7. Lo MS, Tsokos GC. Treatment of systemic lupus erythematosus: New advances in targeted therapy. *Ann N Y Acad Sci.* 2012;1247(1):138–52.
8. Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, St. Clair EW, Parks CG, Gilkeson GS. Hormonal, environmental, and infectious risk factors for developing systemic

- lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1998;41(10):1714–24.
9. Burlingame RW, Rubin RL. Subnucleosome structures as substrates in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Immunol Methods.* 1990;134(2):187–99.
 10. Herrmann M, Voll RE, Zoller OM, Hagenhofer M, Ponner BB, Kalden JR. Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1998;41(7):1241–50.
 11. Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol* [Internet]. 2003;56(7):481–90. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1769989&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 12. Manderson AP, Botto M, Walport MJ. The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2004;22:431–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15032584>
 13. Yao C, Zurawski SM, Jarrett ES, Chicoine B, Crabtree J, Peterson EJ, et al. Skin dendritic cells induce follicular helper T cells and protective humoral immune responses. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674915004856>
 14. Crispín JC, Kyttaris VC, Terhorst C, Tsokos GC. T cells as therapeutic targets in SLE. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2010;6(6):317–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2010.60>
 15. Gaipl US, Munoz LE, Grossmayer G, Lauber K, Franz S, Sarter K, et al.

- Clearance deficiency and systemic lupus erythematosus (SLE). *J Autoimmun.* 2007;28(2-3):114–21.
16. Gaipf US, Voll RE, Sheriff A, Franz S, Kalden JR, Herrmann M. Impaired clearance of dying cells in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 2005;4(4):189–94.
 17. Kaplan MJ. Apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2004;112(3):210–8.
 18. Grammer AC, Lipsky PE. B cell abnormalities in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2003;5 Suppl 4:S22–7.
 19. Grammer AC, Slota R, Fischer R, Gur H, Girschick H, Yarboro C, et al. Abnormal germinal center reactions in systemic lupus erythematosus demonstrated by blockade of CD154-CD40 interactions. 2003;112(10).
 20. Bossen C, Cachero TG, Tardivel A, Ingold K, Willen L, Dobles M, et al. TACI , unlike BAFF-R , is solely activated by oligomeric BAFF and APRIL to support survival of activated B cells and plasmablasts. 2016;111(3):1004–13.
 21. Schiemann B et al. No Title. *Science* (80-). 2001;293:2111–4.
 22. Cancro MP, Cruz DPD, Khamashta M a. The role of B lymphocyte stimulator (BLyS) in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest.* 2009;119(5):1066–73.
 23. Kyttaris VC et al. Calcium signaling in systemic lupus erythematosus T cells: a treatment target. 2011;63(7):2058–66.
 24. Lee J, Wang L, Lin Y, Yang Y, Lin D. Inverse correlation between CD 4 + regulatory T-cell population and autoantibody levels in paediatric patients with

- systemic lupus erythematosus. 2006;4:280–6.
25. Desai-Mehta A, Lu L, Ramsey-Goldman R, 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(9):2063–73.
 26. Chong B, Mohan C. Targeting the CXCR4/CXCL12 axis in systemic lupus erythematosus. *Expert Opin Ther Targets.* 2009;13:1147-11.
 27. Crispín JC, Keenan B, Finnel M et al. Expression of CD44 variant isoforms CD44v3 and CD44v6 is increased on T cells from patients with systemic lupus erythematosus and is correlated with disease activity. *Arthritis Rheum.* 2010;(62):1431–7.
 28. Wong CK, Lit LCW, Tam LS, Li EKM, Wong PTY, Lam CWK. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: Implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin Immunol.* 2008;127(3):385–93.
 29. Fernandez D, Perl A. mTOR signaling: a central pathway to pathogenesis in systemic lupus erythematosus? *Discov Med [Internet].* 2010;9(46):173–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3131182&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 30. Yung S, Chan T. Mechanisms of Kidney Injury in Lupus Nephritis – the Role of Anti-dsDNA Antibodies. *Front Immunol.* 2015;6:475.
 31. Rubertone M V, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, Ph D, Harley JB, et al. Development of Autoantibodies before the Clinical Onset of Systemic Lupus

- Erythematosus. 2003;1526–33.
32. Frodlund M, Dahlström O, Kastbom A, Skogh T, Sjöwall C. Associations between antinuclear antibody staining patterns and clinical features of systemic lupus erythematosus: analysis of a regional Swedish register. *BMJ Open* [Internet]. 2013;3(10):e003608. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3808756&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 33. Winfield J, Brunner C, Koffler D. Serologic studies in patients with systemic lupus erythematosus and central nervous system dysfunction. *Arthritis Rheum.* 1978;(21):289–94.
 34. Janwityanuchit S, Verasertniyom O, Vanichapuntu M et al. Anti-Sm: its predictive value in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 1993;(12):350–3.
 35. Chetrit B. The molecular basis of the SSA/Ro antigens and the clinical significance of their autoantibodies. *Rheumatology.* 1992;
 36. Ching K, Bурbel P, Tipton C et al. Two major antibody clusters in systemic lupus erythematosus. *PLoS One.* 2012;(7:e32001).
 37. Tompson D, Juby A, Davis P. The clinical significance of autoantibody profiles in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 1993;(2):15–9.
 38. Harley B. Recent insights into the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Genes Immun* [Internet]. 2009;10(5):373–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3144759/>

39. Deng Y, Tsao BP. Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in the genomic era. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;6(12):683–92.
40. Harley JB, Alarcón-riquelme ME, Criswell LA, Jacob CO, Kimberly RP, Moser KL, et al. Europe PMC Funders Group Genome-wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in *ITGAM* , *PXK* , *KIAA1542* and other loci. 2013;40(2):204–10.
41. Kelley M, Edberg JC, Kimberly RP. Pathways: Strategies for susceptibility genes in SLE. *Autoimmun Rev*. 2010;9(7):473–6.
42. Chung S, Criswell LA. *PTPN22*: its role in SLE and autoimmunity. *Autoimmunity*. 2007;40(8):582–90.
43. Delgado-Vega A et al. Replication of *TNSF4* (*OX40L*) promoter region association with systemic lupus erythematosus. *Genes Immun*. 2009;(10):248–53.
44. Han, JW et al. Genome-wide association study in a Chinese Han population identifies nine new susceptibility loci for systemic lupus erythematosus. *Nat Genet*. 2009;(41):1234–7.
45. Niewold TB, Kelly JA, Kariuki SN, Franek BS, Akaash A, Kaufman KM, et al. NIH Public Access. 2013;71(3):463–8.
46. Graham RR. Genetic variants near *TNFAIP3* on 6q13 are associated with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet*. 2008;(40):1059–61.
47. Sanchez E, Nadig A, Richardson BC, Freedman BI, Kenneth M, Ziegler JT, et al. Systemic Lupus Erythematosus. 2012;70(10):1752–7.

48. Lahita R, Bradlow H. Alterations of estrogen metabolism in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1979;(22):1195–8.
49. Lahita R, Bradlow H et al. Estrogen metabolism in systemic lupus erythematosus: patients and family members. *Arthritis Rheum.* 1982;(25):843–6.
50. McMurray R, Ndebele K, Hardy K et al. 17-beta-estradiol suppresses IL-2 and IL-2 receptor. *Cytokine.* 2001;(14):324–33.
51. Buskila D, Berezin M, Gur H, Lin H, Alosachie I, JW T. Autoantibody profile in the sera of women with hyperprolactinemia. *Autoimmunity.* 1995;(8):415–24.
52. Walker S, Allen S, McMurray R. Prolactin and autoimmune disease. *Trends Endocrinol Metab.* 1993;(4):147–51.
53. Bijl M, Kallenberg CG. Ultraviolet light and cutaneous lupus. *Lupus.* 2006;15(11):724–7.
54. Furukawa F, Kashihara-Sawami M, Lyons M, Norris D. Binding of antibodies to the extractable nuclear antigens SS-A/Ro and SS-B/La is induced on the surface of human keratinocytes by ultraviolet light (UVL): implications for the pathogenesis of photosensitive cutaneous lupus. *J Invest Dermatology.* 1990;(94):77–85.
55. Uetrecht J. Mechanism of drug-induced lupus. *Chem Res Toxicol.* 1988;(1):133–43.
56. Strom B, Reidenberg M, West S, Snyder E, Freundlich B, Stolley P. Shingles, allergies, family medical history, oral contraceptives and other potential risk factors for systemic lupus erythematosus. *Am J Epidemiol.* 1994;(140):632–42.

57. JoséC Crispín and George C. Tsokos. Novel molecular targets in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 2008;7(3):256–61.