

Sistema Imunitário – Parte III

O delicado equilíbrio do sistema imunológico entre os pólos de tolerância e autoimunidade

Alexandre Wagner Silva de Souza¹, Danilo Mesquita Júnior², Júlio Antônio Pereira Araújo³, Tânia Tieko Takao Catelan⁴, Wilson de Melo Cruvinel⁵, Luís Eduardo Coelho Andrade⁶, Neusa Pereira da Silva⁶

RESUMO

O sistema imunológico é constituído por uma intrincada rede de órgãos, células e moléculas e tem por finalidade manter a homeostase do organismo, combatendo as agressões em geral. A imunidade inata atua em conjunto com a imunidade adaptativa e caracteriza-se pela rápida resposta à agressão, independentemente de estímulo prévio, sendo a primeira linha de defesa do organismo. Seus mecanismos compreendem barreiras físicas, químicas e biológicas, componentes celulares e moléculas solúveis. A primeira defesa do organismo frente a um dano tecidual envolve diversas etapas intimamente integradas e constituídas pelos diferentes componentes desse sistema. A presente revisão tem como objetivo resgatar os fundamentos dessa resposta, que apresenta elevada complexidade e é constituída por diversos componentes articulados que convergem para a elaboração da resposta imune adaptativa. Destacamos algumas etapas: reconhecimento molecular dos agentes agressores; ativação de vias bioquímicas intracelulares que resultam em modificações vasculares e teciduais; produção de uma miríade de mediadores com efeitos locais e sistêmicos no âmbito da ativação e proliferação celulares; síntese de novos produtos envolvidos na quimioatração e migração de células especializadas na destruição e remoção do agente agressor; e finalmente a recuperação tecidual com o restabelecimento funcional do tecido ou órgão.

Palavras-chave: imunidade inata, inflamação, autoimunidade, PAMPs, receptores *toll-like*.

INTRODUÇÃO

Nas doenças autoimunes órgão-específicas e sistêmicas, observa-se perda da capacidade do sistema imunológico do indivíduo em distinguir o que é próprio (*self*) daquilo que não é próprio (*non-self*). Essa capacidade, denominada autotolerância, é mantida nas células imunocompetentes B e T tanto por mecanismos centrais quanto por periféricos.

A perda da autotolerância pode ter causas intrínsecas ou extrínsecas. Causas intrínsecas, isto é, relacionadas a características do próprio indivíduo, estão em geral associadas a

polimorfismos de moléculas de histocompatibilidade; componentes da imunidade inata como o sistema Complemento e receptores *Toll-like*; componentes da imunidade adquirida como linfócitos com atividade regulatória e citocinas além de fatores hormonais, que estão sob controle genético. Fatores ambientais como infecções bacterianas e virais, exposição a agentes físicos e químicos como UV, pesticidas e drogas são exemplos de causas extrínsecas.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado a importância de fatores genéticos na susceptibilidade a doenças autoimunes. Além da agregação familiar, a taxa de concordância para

Recebido em 18/11/2010. Aprovado, após revisão, em 18/11/2010. Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP.

1. Médico Assistente da Disciplina de Reumatologia da UNIFESP

2. Doutorando em Reumatologia – UNIFESP

3. Mestre em Reumatologia pela UNIFESP

4. Mestranda em Reumatologia da UNIFESP

5. Doutorando em Reumatologia da UNIFESP e Professor Assistente de Imunologia dos cursos de Medicina e Biomedicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC-GO.

6. Professor Adjunto da Disciplina de Reumatologia da UNIFESP

Correspondência para: Neusa Pereira da Silva. Rua Botucatu, 740, 3º andar, CEP: 04023-900, São Paulo, Brasil. Tel/fax: 55 (11) 5576-4239.

Email: npsilva@unifesp.br.

doenças autoimunes é maior em gêmeos monozigóticos do que em dizigóticos. Entretanto, mesmo em um indivíduo geneticamente susceptível, geralmente é necessário um “agente desencadeador” ou “gatilho”, para que a autorreatividade ocorra. A perda da tolerância é um processo multifatorial do qual participam tanto fatores intrínsecos quanto extrínsecos.

O papel da susceptibilidade individual determinada por fatores genéticos fica evidente na associação do alelo HLA-B27 com espondilite anquilosante, artrite reativa e artrite psoriásica, bem como dos alelos HLA-DRB1 que apresentam o epítipo compartilhado com artrite reumatoide. A importância da associação de fatores ambientais e genéticos pode ser avaliada, por exemplo, na doença celíaca, na qual a ingestão de glúten por um indivíduo susceptível (portador de HLA-DQ2 e HLA-DQ8) leva à produção de autoanticorpos e desenvolvimento da doença.

Com relação a causas extrínsecas, há diversas revisões recentes sobre o papel de infecções no desenvolvimento de doenças autoimunes¹⁻³ e são frequentes as associações entre infecção e exacerbação de doença autoimune. As infecções podem desencadear a perda da tolerância por vários mecanismos. Entre eles podemos citar: dano tecidual e necrose celular, expondo epítipos crípticos presentes em autoantígenos ou permitindo o acesso de células imunocompetentes a antígenos normalmente isolados; ativação policlonal de células T e B por superantígenos microbianos, como as toxinas produzidas por *S. aureus*; ativação de células imunocompetentes não diretamente envolvidas na resposta ao patógeno, uma situação denominada *bystander activation*; e mimetismo molecular.

O exemplo clássico de mimetismo molecular é a febre reumática após infecção por estreptococos β -hemolíticos do grupo A, na qual anticorpos contra a proteína M do estreptococo que reagem cruzadamente com tecido cardíaco são encontrados no soro de pacientes com febre reumática.

Apoptose, o processo de morte celular programada, é de enorme importância tanto na manutenção da tolerância central e periférica, quanto no controle das populações linfocitárias geradas no curso de uma resposta imune. Um aumento na taxa de apoptose pode resultar em imunodeficiências e há várias evidências de que falhas nos mecanismos de apoptose ou no *clearance* de células apoptóticas podem levar ao desenvolvimento de autoimunidade e linfomas. Células apoptóticas devem ser rapidamente removidas por fagócitos, macrófagos e células dendríticas, impedindo a exposição persistente de autoantígenos. Na síndrome linfoproliferativa autoimune (ALPS), uma doença humana rara, pode-se avaliar o papel crucial da apoptose na manutenção da homeostase das populações de linfócitos. Nesses doentes, há mutações em genes responsáveis

pela codificação de proteínas da via FAS da apoptose. Em decorrência, há progressivo acúmulo de linfócitos, por não sofrerem o habitual processo de controle por apoptose, resultando em linfadenomegalia, hepatoesplenomegalia e linfócitos T autorreativos. Intrigantemente, as manifestações autoimunes nesta síndrome dizem respeito predominantemente ao sistema hematológico, principalmente anemia hemolítica e plaquetopenia autoimunes.

No lúpus eritematoso sistêmico a deficiência na depuração de células apoptóticas parece contribuir para a fisiopatologia, pelo menos de uma parcela de pacientes. Deficiências genéticas de C1, C2 e C4 estão associadas a maior prevalência de lúpus eritematoso sistêmico, embora a força desta associação seja variável para cada um desses elementos. Assim, 90% dos indivíduos deficientes em C1q deverão desenvolver LES, normalmente com importante acometimento renal. A deficiência de C4 estaria associada ao desenvolvimento de LES em 75% dos casos. Já deficiências de C2 podem ser assintomáticas, mas uma fração menor de pacientes desenvolverá LES, embora de menor gravidade.

Atualmente acumulam-se evidências de que a imunidade inata desempenha um importante papel no desenvolvimento da autoimunidade. A reconhecida ligação entre deficiências do sistema Complemento e autoimunidade tem sido explicada pelo prejuízo na remoção de imunocomplexos e células apoptóticas. Outro importante elo entre a imunidade inata e adquirida consiste nos receptores *Toll-like* que reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Alguns desses receptores apresentam especificidade para ácidos nucleicos, como os autoantígenos DNA e ribonucleoproteínas. Processos inflamatórios desencadeados pela imunidade inata podem ter um efeito de estímulo imunológico, denominado efeito adjuvante. Mediadores inflamatórios induzem a expressão de moléculas HLA de classe I e classe II pelas células do tecido lesado, permitindo que essas células funcionem como apresentadoras de antígenos. Nessa situação é possível a apresentação de autoantígenos em um contexto fora do habitual, que pode resultar em autoimunidade.

TOLERÂNCIA CENTRAL DE LINFÓCITOS T

Vários aspectos são relevantes ao considerarmos a quebra dos mecanismos de tolerância com consequente desencadeamento e manutenção de anormalidades autoimunes. Um deles é a natureza multifatorial e poligênica dos quadros autoimunes, existindo tanto genes vinculados à susceptibilidade ao desenvolvimento das doenças, quanto outros estritamente relacionados à gravidade das mesmas. Uma vez que os mecanismos de

recombinação dos múltiplos segmentos gênicos responsáveis por codificar as imunoglobulinas dos linfócitos B (LB) e o TCR dos linfócitos T (LT) sejam aleatórios, receptores com capacidade para reconhecimento de estruturas próprias são certamente produzidos.

Os precursores das células T, originados na medula óssea, migram para o timo, onde sofrem modificações sequenciais intensas caracterizando os diferentes estágios de diferenciação dos LT. Na etapa inicial da maturação há proliferação celular dos timócitos na região mais externa do córtex, rearranjo dos genes do TCR e expressão das moléculas de CD3, TCR, CD4 e CD8 na superfície celular. À medida que os timócitos maturam, migram do córtex para a medula tímica.⁴ O estroma tímico consiste de células epiteliais, macrófagos e células dendríticas derivadas da medula óssea além de fibroblastos e moléculas da matriz extracelular. A interação dos timócitos com as células do microambiente tímico é fundamental para a proliferação, a diferenciação celular, a expressão de moléculas de superfície, como o CD4 e CD8, e a criação do repertório de receptores de LT.⁵

Os timócitos bem-sucedidos na expressão da molécula completa de TCR (cadeias $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$) são submetidos a dois processos diferentes, seleção positiva e, posteriormente, negativa. O processo de seleção positiva baseia-se em critérios de utilidade, com base na avides de ligação do TCR com o complexo de MHC (restrição pelo MHC). A seleção positiva ocorre no córtex tímico, sendo que os timócitos que apresentam TCR capazes de se ligar ao complexo peptídeo-MHC próprio são estimulados a sobreviver e prosseguem na maturação. Os timócitos cujos receptores não reconhecem as moléculas de MHC próprias morrem por apoptose, assegurando que os LT sejam restritos ao próprio MHC. A seleção positiva também associa a restrição das moléculas de classe I e II do MHC aos subtipos de LT, garantindo que as células T CD8⁺ sejam específicas para peptídeos expostos nas moléculas de MHC de classe I e, as CD4⁺, específicas para peptídeos expostos por moléculas de MHC de classe II. A seleção negativa é o processo pelo qual timócitos cujos TCRs se ligam fortemente ao complexo peptídeo-MHC próprio são eliminados, evitando assim a maturação de LT autorreativos. Em tese, o próprio (*self*) imunológico compreende todos os epítomos (determinantes antigênicos) codificados pelo DNA do indivíduo, de modo que todos os demais epítomos sejam reconhecidos como não próprios.

Durante todo o processo de desenvolvimento dos timócitos a maior parte morre por apoptose (em torno de 95%). Isso se deve principalmente aos arranjos mal-sucedidos das cadeias de TCR e aos processos de seleção positiva e negativa, restando

apenas uma pequena parcela (3% a 5 %) que se tornam LT maduros (Figura 1).

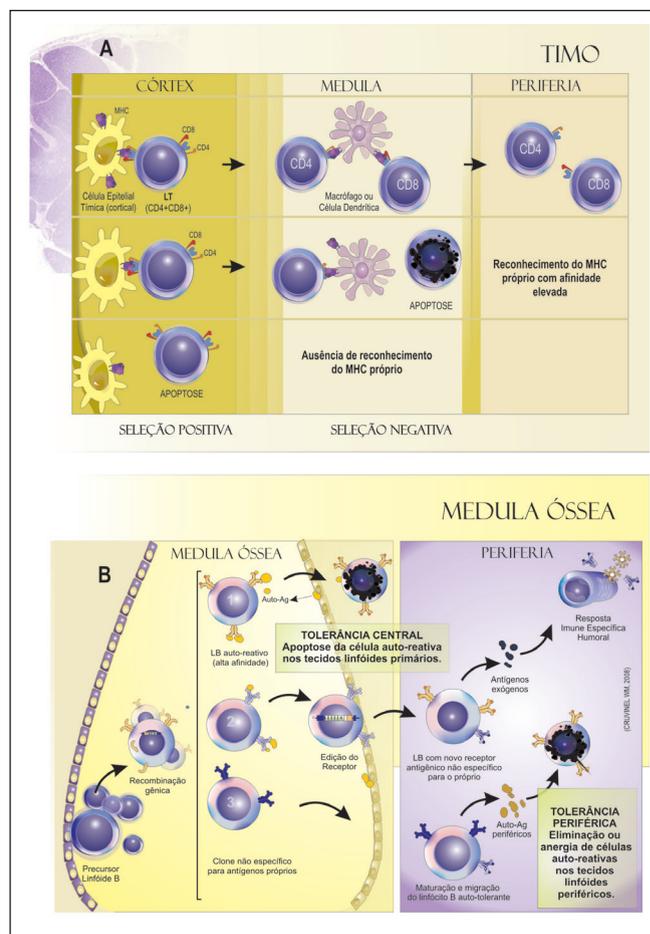
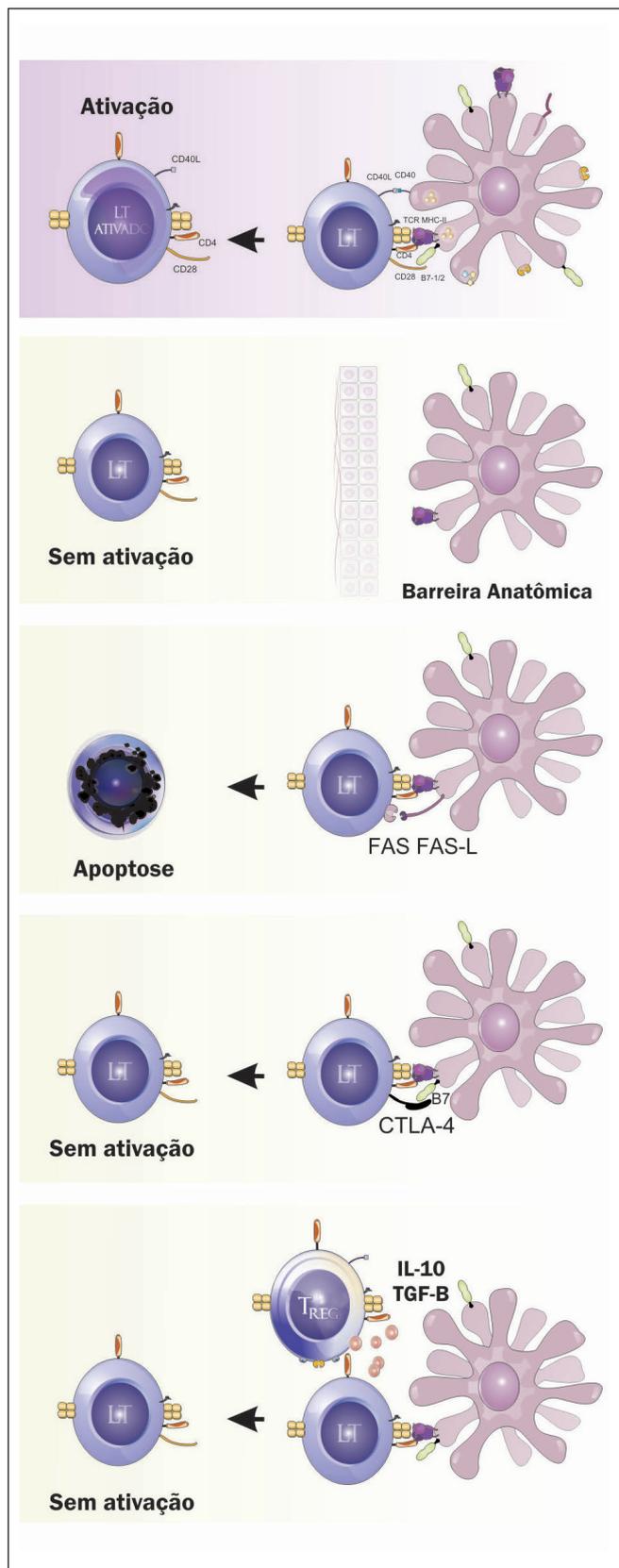


Figura 1

A. Ilustração esquemática dos mecanismos de seleção positiva e negativa para células T no timo. Os timócitos duplo-positivos entram em contato com peptídeos próprios ligados às moléculas de MHC sobre células epiteliais no córtex tímico e sobre macrófagos e células dendríticas na medula tímica. Os timócitos, cujo TCR é incapaz de reconhecer o MHC e peptídeo próprios, morrem por apoptose (seleção positiva). Os timócitos, cujos TCRs reconhecem MHC próprio e peptídeo com elevada afinidade, são removidos por apoptose (seleção negativa). **B.** Representação esquemática dos mecanismos de tolerância central e periférica de linfócitos B. Linfócitos imaturos que reconhecem os antígenos próprios com alta afinidade na medula óssea são eliminados por apoptose (1) ou mudam a sua especificidade antigênica (2). Linfócitos não específicos para antígenos próprios e que sofreram o mecanismo de recombinação (3) migram para periferia. As células que encontram autoantígenos na periferia e são ativadas são eliminadas por apoptose ou se tornam anérgicas. Já as que não possuem especificidade para antígenos próprios ao encontrarem antígenos exógenos são capazes de gerar uma resposta imune.



Estudos recentes sugerem, entretanto, que nem todos os timócitos com alta afinidade para autoantígenos são destruídos por seleção negativa no timo. Alguns timócitos de média e alta afinidade sobrevivem e passam por um processo chamado *non-deletional central tolerance*, que leva à geração de células T CD4⁺ imunossupressoras, denominadas células T regulatórias de ocorrência natural ou T_{REGs}.⁶

TOLERÂNCIA PERIFÉRICA DE LINFÓCITOS T

A tolerância imunológica aos antígenos próprios (*self*) nos LT ocorre principalmente no timo. As células que chegam à periferia deveriam ser imunocompetentes contra antígenos estranhos, porém incapazes de desenvolver resposta imune contra seus próprios antígenos. No entanto, não é isso o que se observa. Diversos estudos⁷ confirmam que células autorreativas estão presentes em baixas quantidades em indivíduos sem quadros autoimunes e podem ser isoladas do sangue periférico e de tecidos linfóides periféricos. Essas observações mostram que existem na periferia LT autorreativos que conseguiram evadir as barreiras dos mecanismos de tolerância, saindo dos órgãos linfóides primários.⁸ Portanto, não é apenas a deleção intratímica dos LT autorreativos a responsável pela tolerância ao próprio; sua manutenção envolve, também, a interação de diversos mecanismos imunológicos na periferia que operam continuamente. A tolerância imunológica periférica está organizada em diferentes e redundantes mecanismos tais como ignorância imunológica, deleção, inibição ou a supressão de clones autorreativos (Figura 2).

A ignorância imunológica pode ser decorrente da separação física entre os antígenos e os LT, tal qual ocorre na barreira hematoencefálica, ou de níveis insuficientes de antígeno para provocar ativação dos respectivos LT. Outro mecanismo muito mais importante consiste na apresentação de antígenos na ausência de coestimuladores, ou “segundo sinal”. Nesta situação há falha de ativação do LT, podendo resultar anergia ou morte celular por apoptose.

Figura 2

Tolerância periférica e mecanismos de indução. Células T que estão fisicamente separadas de seus antígenos específicos, por exemplo, pelo sangue-barreira hematoencefálica, não podem ser ativadas, uma circunstância referida como ignorância imunológica. Células T que expressam a molécula CD95 (FAS) em sua superfície podem receber sinais de indução de apoptose por células que expressam o FAS-L, processo referido como deleção. Um exemplo de inibição pode ser observado pela ligação do CD152 ao CD80 expresso nas APC's, inibindo a ativação das células T. Células T reguladoras podem inibir ou suprimir outras células T, provavelmente pela produção de citocinas inibitórias como IL-10 e TGF-β.

A morte programada por apoptose do LT é desencadeada por uma via extrínseca da apoptose, que envolve a molécula Fas e o seu ligante (FasL). O aumento da expressão do ligante do Fas em células apresentadoras, que estejam apresentando o autoantígeno, pode induzir a apoptose dos LT via ativação da molécula Fas. Defeitos na sinalização das vias de ativação do LT associados a uma resistência a apoptose podem tornar clones de LT autorreativos persistentes na circulação periférica.

Como mencionado anteriormente, um importante mecanismo de tolerância periférica consiste na ausência de um sinal coestimulador, necessário à ativação dos LT, em adição ao sinal primário fornecido pela ligação entre o TCR e o complexo MHC-antígeno. Este sinal secundário é obtido, principalmente, pela interação entre a molécula CD28 presente na superfície dos LT e as moléculas da família B7 (CD80 e CD86), expressas na superfície de células apresentadoras de antígenos (APCs). Na presença de patógenos, as APCs são ativadas e aumentam a expressão das moléculas B7, em nível suficiente para fornecer o sinal secundário e produzir IL-2 pelos LT.⁹ Em condições fisiológicas e ausência de inflamação, os baixos níveis de moléculas B7 nas APC dificultam a ativação completa dos LT autorreativos, favorecendo a anergia ou apoptose dos mesmos quando do encontro de autoantígenos para os quais são específicos.

A inibição do LT pode ser também obtida pela ligação de uma molécula competidora das moléculas coestimulatórias da família B7. Em determinadas condições, as APCs passam a expressar a molécula CTLA-4 (CD152), que tem maior afinidade ao CD28 que as moléculas B7 (CD86 e CD80). No entanto, ao contrário dessas últimas, a CTLA-4 tem ação inibitória sobre os LT, induzindo sua apoptose. O bloqueio da molécula CTLA-4, em camundongos, acelera a progressão do diabetes autoimune.

Os mecanismos de imunossupressão incluem também várias populações celulares com função imunorreguladora, que apresentam como característica básica a capacidade de produção de citocinas imunossupressoras, como IL-4, IL-10 e mTGF- β , além da capacidade de indução de supressão mediada por contato célula-célula por intermédio de moléculas de superfície como o CTLA-4. Células com função imunorreguladora estão envolvidas na modulação e controle dos processos de eliminação de patógenos onde há destruição de tecidos próprios, exposição de autoantígenos e produção de citocinas pró-inflamatórias, condições que favorecem a indução e a manutenção dos eventos autoimunes e necessitam ser controlados. Essas células atuam em uma complexa rede de mecanismos reguladores destinados a assegurar a modulação das respostas imunológicas frente aos diversos antígenos provenientes de agentes infecciosos, tumores, aloantígenos, autoantígenos e alérgenos.

Entre os LT com função imunorreguladora temos as *células T reguladoras de ocorrência natural* (T_{REGs} CD4+ CD25+ CD127^{Low}, Foxp3+), inicialmente descritas por Sakaguchi *et al.*,¹⁰ as *células T_{RI}* que regulam mediante a produção de IL-10 e suprimem o desenvolvimento de algumas respostas de LT *in vivo*,¹¹ e as *células TH3*, capazes de suprimir células-alvo mediante a produção de TGF- β .¹² Existem ainda várias outras células com função reguladora, como os LT CD8⁺CD28⁻, células NK/T, células T $\gamma\delta$, LT duplo-negativos, LT CD8⁺Qa1⁺ e células B CD1⁺. As principais células com função imunorreguladora estão esquematizadas na Figura 3.

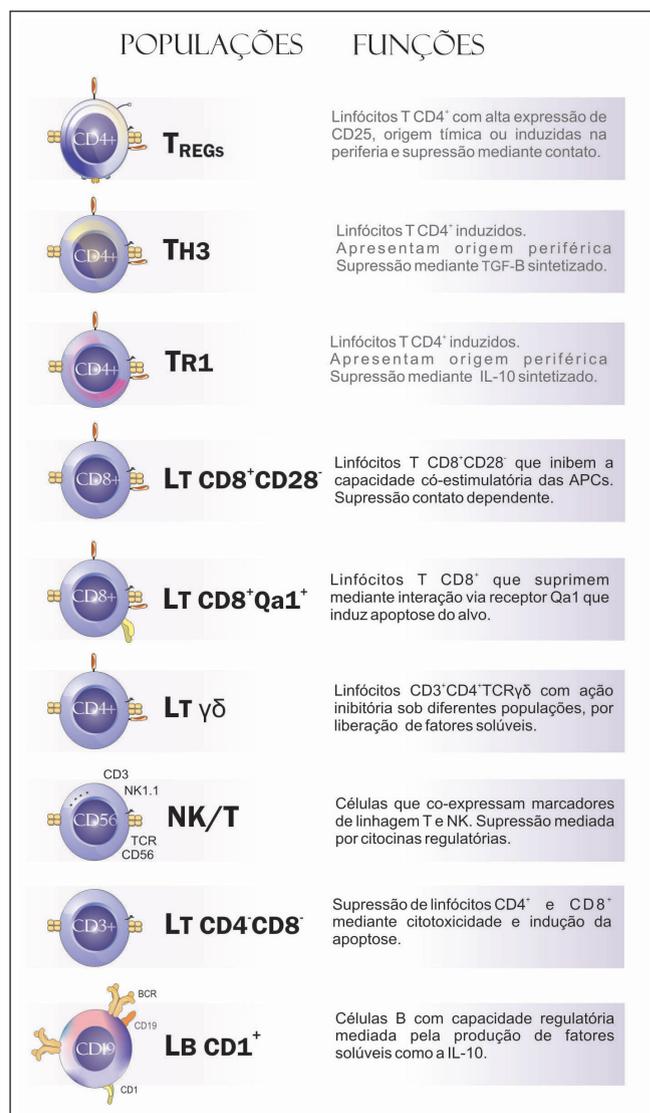


Figura 3
Representação esquemática das principais células com função imunorregulatória, responsáveis pela manutenção dos mecanismos de tolerância periférica.

A relevância das populações celulares reguladoras em doenças reumáticas autoimunes tem sido claramente demonstrada em modelos murinos, em que a ausência de T_{REGs} ou sua depleção desencadeia doenças autoimunes sistêmicas, com elevados títulos de anticorpos antinúcleo, bem como auto-anticorpos órgão-específicos.¹⁴ Achados importantes, como defeitos funcionais, fenotípicos e quantitativos de células reguladoras, têm sido relatados em várias doenças reumáticas autoimunes humanas, evidenciando assim seu importante papel na manutenção da tolerância imunológica e nos mecanismos fisiopatológicos dessas enfermidades.

O estudo das células T com função imunorreguladora tem sido realizado em enfermidades como a artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, doença mista do tecido conjuntivo, síndrome de Sjögren primária, doença de Kawasaki e granulomatose de Wegener. Nessas diferentes doenças reumáticas autoimunes têm sido observadas alterações quantitativas dessas células nos tecidos acometidos e/ou na circulação periférica, defeitos funcionais, resistência à supressão por parte das células-alvo e até mesmo frequência e função normais. Parte dos achados conflitantes encontrados na literatura deve-se provavelmente à rápida evolução conceitual e técnica nessa área, o que acarreta abordagem metodológica heterogênea entre os diversos estudos, com conseqüente discrepância de resultados.

Espera-se que os estudos atualmente em curso possam elucidar com maior precisão o exato papel das células reguladoras nas diferentes doenças e o real papel desempenhado por alterações funcionais e quantitativas dessas células na quebra de tolerância observada em doenças autoimunes. Devido ao caráter multifatorial e multigênico bem como à heterogeneidade clínica de cada doença reumática autoimune, que mais se assemelham a síndromes do que a entidades nosológicas propriamente ditas, não deverá ser surpresa o achado de alterações numéricas e/ou funcionais em apenas uma fração de pacientes com uma dada doença.

LINFÓCITOS T EFETORES E AUTOIMUNIDADE

Há cerca de 20 anos, os LT efetores CD4⁺ começaram a ser categorizados em dois subtipos distintos, T *helper* 1 (Th1) e T *helper* 2 (Th2), tomando por base o padrão de citocinas produzido. Alguns autores valorizavam ainda a existência de uma terceira população celular, as células Th0, representadas por linfócitos indiferenciados capazes de produzir citocinas do perfil Th1 e Th2. Atualmente está claro que, após a estimulação antigênica, conforme o ambiente local de citocinas, os LT CD4⁺ *naive* se proliferam e se diferenciam em diferentes subtipos efetores com características próprias

(Th1, Th2, Th3, T_{REG}, Th17), determinadas pelo perfil de citocinas produzidas e pelas propriedades funcionais.

Conforme esquematizado na Figura 4, as células Th1 caracterizam-se principalmente pela produção de grandes quantidades de INF- γ , enquanto as células Th2 produzem IL-4, IL-5 e IL-13. As respostas Th1 desencadeiam os mecanismos de hipersensibilidade tardia, ativam macrófagos e são muito eficientes na eliminação de patógenos intracelulares. As células Th2 são mais eficientes em auxiliar a resposta imune humoral, desencadeando produção de imunoglobulinas e inflamação eosinofílica, respostas estas mais importantes no combate aos patógenos extracelulares. Os linfócitos Th0 evoluem para diferenciação Th1 ou Th2 ainda em um estágio inicial da ativação celular. Caracteristicamente, as citocinas do perfil Th1 ou Th2 direcionam para o desenvolvimento de sua respectiva via, inibindo a expressão do padrão oposto. Deste modo, uma vez polarizada a resposta imune para o padrão Th1, a via Th2 será inibida, e vice-versa. Isso ocorre devido à regulação do nível de receptores de membrana, da expressão diferencial de fatores de transcrição e de mudanças epigenéticas.⁴

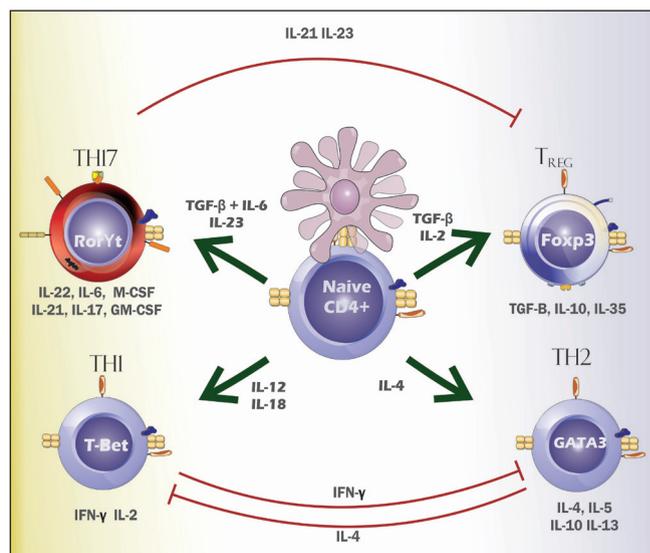


Figura 4 Representação esquemática das diferentes vias de diferenciação das células TH0 com destaque para as citocinas indutoras da diferenciação Th1, Th2, Th17 e T_{REG} e as principais citocinas secretadas.

As respostas imunes efetoras desreguladas, ou exacerbadas, podem levar ao desenvolvimento de doenças alérgicas e autoimunes. As células Th1 são potencialmente pró-inflamatórias e têm sido associadas à indução e progressão de doenças autoimunes. Entretanto, estudos em camundongos transgênicos,

deficientes de INF- γ ou de seu receptor, demonstraram que a perda da sinalização associada ao INF- γ não confere resistência ao desenvolvimento de autoimunidade. Ao contrário, esses animais se apresentam até mais susceptíveis. Uma vez que o INF- γ é uma das principais citocinas das células Th1, essas observações levaram ao questionamento do papel exclusivo das células Th1 na fisiopatologia de doenças autoimunes, abrindo perspectivas para a busca de outro subtipo de LT, distinto da subpopulação Th1, capaz de induzir inflamação tecidual e autoimunidade.

A necessidade de compreensão dos mecanismos imunológicos responsáveis pelas lesões teciduais em diversas enfermidades inflamatórias crônicas e o desenvolvimento de estudos sobre populações de LT efetores levaram à caracterização de LT produtores de IL-17, denominados linfócitos Th17.¹⁵ Pesquisas recentes têm demonstrado que a subpopulação específica de linfócitos T CD4⁺ produtores de IL-17, mais do que células Th1, possui um papel central na patogênese de modelos experimentais de doenças autoimunes.

Estudos realizados em doenças autoimunes como artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, psoríase, esclerose múltipla, esclerose sistêmica, doença inflamatória intestinal, espondilite anquilosante e artrite idiopática juvenil demonstraram a presença de níveis elevados de produtos inflamatórios relacionados à via efetora Th17 ou mesmo a sua participação direta nos mecanismos fisiopatogênicos.

Os conceitos atuais em imunopatologia das doenças inflamatórias crônicas apontam para o papel central das células Th17, que seriam responsáveis por mediar a inflamação tecidual precoce, produzindo citocinas pro-inflamatórias e quimiocinas responsáveis pelo recrutamento de células Th1 aos sítios inflamatórios. Mesmo que células T reguladoras (T_{REGS}) se acumulem também nesses locais, a presença de altos níveis de citocinas inflamatórias torna as células-alvo menos susceptíveis à imunorregulação e diminui o poder imunossupressor das T_{REGS}. Estudos recentes vêm demonstrando uma grande flexibilidade no programa de diferenciação dos LT CD4⁺, existindo uma estreita associação entre a via Th17 e as vias Th1 e T_{REG}.¹⁶ Dependendo das condições de estímulo e do meio no qual se encontram, as células Th17 podem se diferenciar tanto em células Th1 como em células T_{REGS}, o que altera significativamente o resultado final da resposta imune.¹⁶ Dentro deste contexto atual, uma nova subpopulação de LT efetores foi proposta, as células Th9.¹⁷ Os linfócitos Th9 foram recentemente descritos em murinos como células produtoras de grandes quantidades de IL-9, citocina importante nas respostas contra parasitas intestinais.¹⁸ Foi demonstrado também que elas são o resultado da polarização de linfócitos Th2 estimulados na

presença de TGF- β e IL-4, e que não apresentam nenhum dos fatores de transcrição característicos das vias Th1, Th2, Th17 ou T_{REG}.¹⁷ O papel da IL-9 tem sido muito bem documentado na fisiopatologia das condições alérgicas crônicas, no entanto, muito pouco se sabe sobre o papel dessas células nas diversas doenças humanas.

A compreensão destas vias de diferenciação e de seus desequilíbrios nas várias enfermidades autoimunes poderá ajudar no desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visam a ampliar a ação das células reguladoras juntamente com o controle da resposta inflamatória efetora.

TOLERÂNCIA CENTRAL DE LINFÓCITOS B

Quando as imunoglobulinas de membrana, os receptores de LB, são expressas pela primeira vez, ainda na medula óssea, podem ser produzidos receptores autorreativos em consequência do processo aleatório de geração do repertório. Para evitar a liberação de LB autorreativos para a periferia, existem mecanismos de tolerância central e, no caso de falha na eliminação desses linfócitos, existem também mecanismos de tolerância periféricos. Deficiências nesses mecanismos podem levar ao desenvolvimento de autoimunidade.

Os LB imaturos que reconhecem os antígenos próprios com alta afinidade na medula óssea são eliminados ou sofrem reativação dos genes RAG1 e RAG2 (que ocasionam hipermutação somática nas regiões hipervariáveis dos genes de imunoglobulinas) e expressam uma nova cadeia de imunoglobulina, apresentando uma nova especificidade antigênica. Esse processo é conhecido como edição de receptor e é um mecanismo importante para que eventuais LB autorreativos percam sua autorreatividade. Se a edição de receptor falhar em eliminar a autorreatividade, as células são, em geral, deletadas por apoptose (Figura 1B). Eventualmente o LB que reconhece antígenos próprios pode sair para a periferia, porém apresentando baixa expressão de imunoglobulinas de membrana.

TOLERÂNCIA PERIFÉRICA DE LINFÓCITOS B

Eventuais LB autorreativos maduros, ao encontrar o autoantígeno solúvel na periferia na ausência de LT auxiliares, isto é, do segundo sinal de ativação, tornam-se anérgicos, impossibilitados de responder após novos encontros com o antígeno. Se um LB anérgico encontra um LT auxiliar ativado, pode ser eliminado pela interação entre Fas do LB e FasL do LT. Na ausência das vias normais de coestimulação, os linfócitos B anérgicos demonstram maior sensibilidade à apoptose após a ligação do Fas ao seu ligante (FasL). Nesse contexto, a exposição crônica

aos autoantígenos em ambiente fisiológico (não inflamatório) pode contribuir para a manutenção da tolerância.

LB que encontram autoantígenos na periferia não conseguem se domiciliar nos folículos linfóides, provavelmente por falhas na expressão dos receptores de quimiocinas adequados. Existem evidências da existência mecanismo de tolerância periférica para LB que desenvolvem especificidades autorreativas como resultado da hipermutação somática, durante uma resposta a um antígeno estranho, nos centros germinativos. Nesse caso, a hipótese é que a presença de alta concentração local do antígeno levaria esses clones à apoptose.

Todos esses mecanismos enfatizam o fato de que a mera existência de LB autoreativos, em si, não é lesiva. Antes que uma resposta imune possa ser iniciada, os LB precisam encontrar seus antígenos, receber auxílio efetivo dos LT, e seu maquinário de sinalização intracelular precisa ser capaz de responder normalmente.

REDE IDIOTÍPICA

A teoria da rede idiotípica, introduzida na década de 1970, se baseia na interação recíproca entre as regiões variáveis dos anticorpos produzidos por um dado indivíduo. O idiotope é a porção da região variável da molécula de imunoglobulina que interage com o antígeno. Cada idiotope pode atuar como anticorpo frente ao antígeno que reconhece e como antígeno frente a um anticorpo anti-idiotope.¹⁹ Este cenário pode ser imaginado como uma malha interconectada de anticorpos com reatividade recíproca para idiotopos, de tal maneira que se forma uma massa crítica que contribui para a estabilidade do sistema. Estímulos antigênicos extrínsecos representariam distúrbios nessa malha, mas tenderiam a ser assimilados com o retorno ao *status quo*.

Em tese, o sistema imune, na verdade, enxergaria predominantemente a si próprio e a resposta a um antígeno resultaria no aumento de um determinado anticorpo da rede, causando uma perturbação na homeostase do sistema. O aumento do primeiro anticorpo, AB1, reconhecido por AB2, levaria a um aumento deste último, que tenderia a promover uma hiporregulação do primeiro (AB1). O mesmo aconteceria em relação a AB2 e AB3, e assim por diante, tendendo sempre à restauração do equilíbrio do sistema (Figura 5).

Recentemente, renovou-se o interesse em estudar as interações idiotípicas, principalmente em contextos clínicos como, por exemplo, em doenças autoimunes. Na última década, as interações idiotípicas apresentadas por células T têm recebido crescente atenção. Foi proposto que células T anti-idiótípicas funcionam como células T reguladoras no

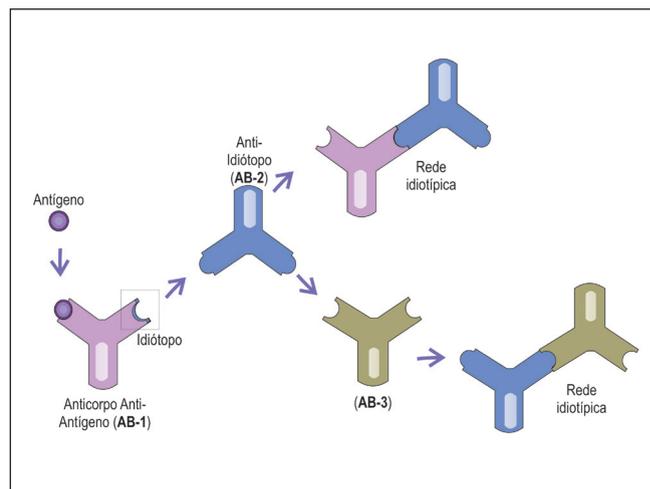


Figura 5

Esquema representativo da rede idiotípica. O domínio formado pelas regiões hipervariáveis da molécula de imunoglobulina (AB-1) caracteriza a especificidade antigênica de um dado anticorpo e é denominado idiotope. Cada idiotope por sua vez é reconhecido por um anticorpo anti-idiotope (AB-2), formando uma rede de reconhecimento idiotípico.

controle das doenças autoimunes. Recentemente, foram obtidas evidências experimentais de que células T idiotípicas e anti-idiótípicas podem coexistir no organismo e formar uma dinâmica rede idiotípica.²⁰

Efeitos terapêuticos expressivos do uso de anticorpos naturais (imunoglobulinas intravenosas) em condições autoimunes e inflamatórias podem servir como primeiro exemplo de intervenção clínica baseada nessas poderosas interações reguladoras. Seguindo o mesmo raciocínio, foi sugerido que células B e/ou imunoglobulinas podem ser usadas de forma terapêutica para aumentar a diversidade e restaurar o repertório dos LT a fim de melhorar seu funcionamento em situações associadas a um repertório restrito.²¹ Assim, os anticorpos exercem um papel não só na interação e sinalização entre LB, mas aparentemente modulam também o desenvolvimento, a manutenção e a função do LT. Acredita-se que as doenças autoimunes podem estar relacionadas a deficiências no controle de anticorpos autorreativos pela rede idiotípica. Imunomodulação de doenças autoimunes e inflamatórias com o uso de imunoglobulina intravenosa pode ter efeitos terapêuticos relevantes. Interações idiotípicas têm sido estudadas na miastenia gravis e na hemofilia A. Recentemente foi proposta uma terapia experimental para diabetes tipo I baseada em vacina composta de peptídeos de idiotipos, e vacinação com anticorpos idiotípicos e anti-idiótípicos foi proposta como terapia no câncer.²²

CÉLULAS DENDRÍTICAS E AUTOIMUNIDADE

As células dendríticas (DCs) são células do sistema imune que têm como principal função processar e apresentar antígenos para outras células, sendo consideradas as mais importantes células apresentadoras de antígeno do organismo (APC). As DCs têm um papel fundamental na manutenção tanto da tolerância central como periférica.^{23,24} Classicamente as DCs podem ser divididas em 2 subtipos principais, mieloides e plasmocitoides, que diferem em sua origem, morfologia e produtos secretados. As DCs mieloides (mDCs) são grandes secretoras de IL-12 e as plasmocitoides (pDCs) de INF- α .

As DCs são encontradas nos mais diversos sítios anatômicos e, uma vez ativadas, migram para órgãos linfoides secundários onde irão interagir intensamente com LT e LB. As DCs têm um papel central no direcionamento das respostas imunes, regulando a ativação e progressão delas.²⁵ Uma vez que as DCs devem limitar os danos teciduais, garantindo ao mesmo tempo a habilidade de responder a patógenos, inúmeros mecanismos de manutenção da tolerância devem atuar ativamente para manter esse equilíbrio fino.

Durante infecções virais, imunocomplexos contendo DNA ou RNA de células apoptóticas ou necróticas são internalizados por DCs e LB, interagindo com os receptores TLRs 7, 8 e 9, que por sua vez irão ativar a via de produção de INF tipo I. As pDCs, em particular, produzem grandes quantidades de INF tipo I que age de modo parácrino sobre outras DCs, aumentando mais ainda a ativação imune (Figura 6). Inúmeras observações clínicas confirmam o papel crítico do INF- α na etiopatogenia de doenças autoimunes, sugerindo que a indução de autoimunidade não requer necessariamente fatores como mimetismo molecular, mas pode estar relacionada apenas a lesão tecidual e ativação da resposta imune inata em indivíduos susceptíveis. Diversas evidências têm mostrado que a ativação de DCs via receptores *Toll-like* (TLRs), em indivíduos geneticamente susceptíveis, pode induzir a autoimunidade pela produção de citocinas pró-inflamatórias, especialmente interferons tipo I (INF- α e INF- β).²⁶

CÉLULAS DENDRÍTICAS E DOENÇAS AUTOIMUNES

As DCs são fundamentais para o início das respostas imunes e, em algumas doenças autoimunes como lúpus eritematoso sistêmico (LES), têm sua função imunoestimuladora exacerbada, ou seja, são mais eficientes em estimular respostas de LT. Vários estudos têm sugerido que o sangue do paciente com LES comporta-se como um meio indutor de maturação

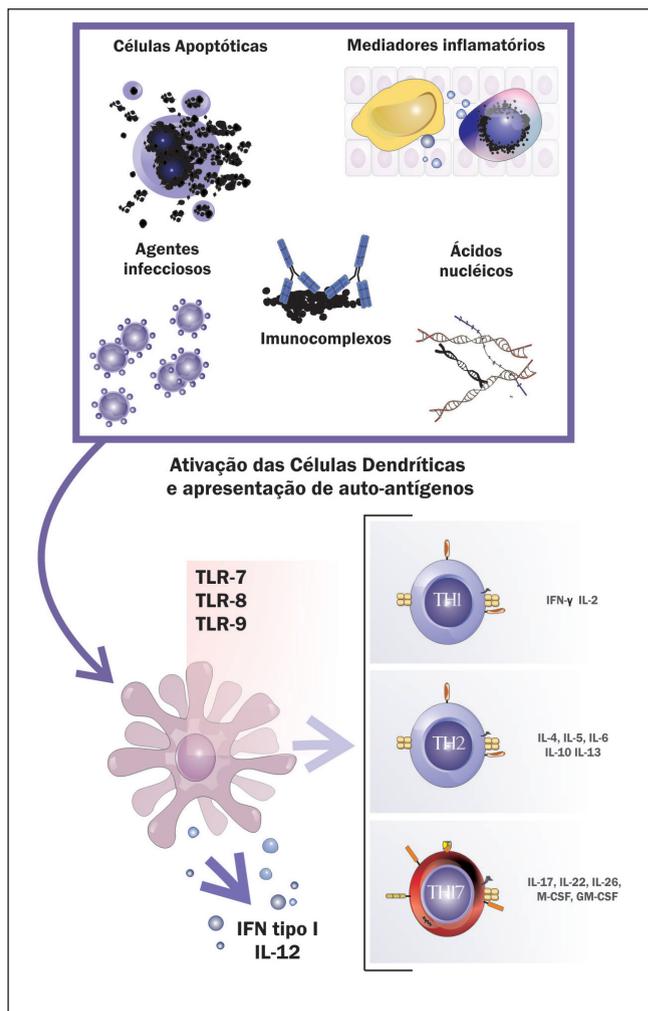


Figura 6

Representação esquemática das células Th1, Th2 e Th17, bem como do papel central das células dendríticas (DCs) no desencadeamento de respostas autoimunes. As DCs podem tornar-se ativadas pelo reconhecimento dos PAMPs, na presença de agentes infecciosos, ou por outros fatores desencadeantes como um processo inflamatório. Após ativação as DCs podem processar e apresentar autoantígenos ativando clones de células T autorreativas e polarizando a resposta imune para diferentes vias (Th1, Th2 ou Th17). Uma vez iniciado o processo de quebra de tolerância, a resposta inflamatória, estimulada pela ação dos INFs tipo I e outras citocinas pró-inflamatórias, será perpetuada e os clones autorreativos serão mantidos.

e diferenciação de DCs. A exposição de monócitos de indivíduos saudáveis ao soro de pacientes lúpicos resulta em uma rápida geração de células com morfologia e função de DCs. No LES os monócitos agem como DCs, induzindo a proliferação de LT alogênicos, representando uma importante fonte de mDCs imunoestimuladoras. O INF- α , no LES, parece ser

o grande indutor de maturação e diferenciação de DCs, pois esta propriedade é inibida pelo uso de anticorpos anti- $\text{INF-}\alpha$. A principal fonte desta citocina são as pDCs e o mecanismo mais aceito para explicar os níveis altos de $\text{INF-}\alpha$ no soro de pacientes lúpicos é o reconhecimento de imunocomplexos, contendo DNA ou RNA de células apoptóticas ou necróticas, que são internalizados pelas pDCs, ativando a via de produção de $\text{INF-}\alpha$. Várias observações clínicas confirmam o papel crítico do $\text{INF-}\alpha$ na etiopatogenia do LES. A terapia com $\text{INF-}\alpha$ para doenças tumorais e infecciosas está frequentemente associada com a indução de autoanticorpos (4%-19%) e uma variedade de sintomas presentes no LES tem sido observada nesses pacientes. Mutações em genes envolvidos na produção de $\text{INF-}\alpha/\beta$ predisõem ao desenvolvimento de LES por aumentar a habilidade das pDCs em liberar essas citocinas após sua ativação. Outras doenças, como tireoidite e diabetes autoimunes, são também marcadas pela ação do $\text{INF-}\alpha$.²⁷

Já a artrite reumatoide e a psoríase estão mais associadas aos efeitos deletérios do $\text{TNF-}\alpha$, uma citocina com alto poder inflamatório e ação sobre múltiplas células e sistemas orgânicos. Acredita-se que as mDCs desses pacientes sejam importantes na quebra da tolerância e exacerbação da produção de TNF estimuladas pelo reconhecimento de imunocomplexos contendo autoantígenos.²⁶

Aprender a manipular apropriadamente o comportamento dessas células em diferentes enfermidades é um dos grandes desafios da imunologia moderna. Se bem-sucedidos, esses esforços poderão representar uma valiosa alternativa terapêutica, seja para induzir imunidade ou mesmo para recuperar a tolerância.

IMUNOBIOLOGICOS

A terapia imunobiológica empregada inclui principalmente citocinas, anticorpos monoclonais e receptores solúveis de citocinas. Diversas citocinas e seus receptores, moléculas de adesão e células que participam da resposta imune, como linfócitos B e T, são alvos da terapia imunobiológica. A terapia imunobiológica é empregada em diferentes especialidades médicas, incluindo reumatologia, oncologia, hematologia, gastroenterologia, neurologia, nefrologia, entre outras.^{28,29}

Anticorpos monoclonais empregados geralmente são da classe IgG e recebem o sufixo “mab” derivado do termo *monoclonal antibody*. Esse sufixo sofre variações de acordo com a constituição da porção não variável do anticorpo monoclonal; se murina, o sufixo passa a ser denominado “omab” (ex: edrecolomabe); se quimérica, ou seja, com aproximadamente 30% da molécula de origem murina e 70% de origem humana,

o sufixo passa a ser “ximab” (ex: infliximabe); se humanizado, com menos de 10% do anticorpo monoclonal de origem murina, o sufixo é denominado “zumab” (ex: epratuzumabe); e se totalmente humano, o sufixo do anticorpo monoclonal passa a ser “umab” (ex: adalimumabe). Os receptores solúveis de citocinas são proteínas de fusão (recombinantes) compostas pelo receptor em questão associado à fração Fc da IgG1 e seu sufixo é denominado “cept” (ex: etanercepte).³⁰

Revisaremos a seguir a terapia imunobiológica aplicada a mediadores solúveis da resposta imune e aos linfócitos T e B, empregada principalmente em doenças autoimunes.

Terapia biológica e citocinas

Agentes biológicos podem ser empregados para inibir o efeito de citocinas, como ocorre com anticorpos monoclonais anti-citocinas ou com o uso de receptores solúveis que se ligam a citocina e bloqueiam seus efeitos em células-alvo. As citocinas são também empregadas em terapia biológica através de proteínas recombinantes análogas que mimetizam o efeito da citocina original.

Os principais alvos terapêuticos na terapia anticitocinas são as citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 (IL-1), $\text{TNF}\alpha$ e IL-6, enquanto que o uso de interferons tipo I é a principal aplicação para a terapia agonista de citocinas.

A anakinra é um análogo não glicosilado recombinante humano do antagonista do receptor da IL-1 (IL-1Ra). O IL-1Ra pode ser classificado como uma citocina contrarregulatória que é produzida em períodos de inflamação, em resposta à produção de IL-1 e compete com a IL-1 β pela ligação com os receptores da IL-1 do tipo I, inibindo seus efeitos biológicos.²⁹

Esse agente foi inicialmente estudado na artrite reumatoide (AR) em diversos ensaios clínicos e teve sua aprovação pelo FDA (*Food and Drug Administration*) em 2001 para casos refratários a um ou mais DMARDs (drogas modificadoras de atividade de doenças reumáticas). Contudo, o verdadeiro papel da anakinra na AR ainda está por ser estabelecido, principalmente após o advento de outros agentes biológicos.³¹ Todavia, novos estudos têm demonstrado bons resultados com seu uso em indivíduos com diabetes melítus, crise aguda de gota, doença de Still do adulto, na forma sistêmica da artrite idiopática juvenil e em síndromes autoinflamatórias como a febre familiar do Mediterrâneo, a síndrome TRAPS (*tumor necrosis factor receptor associated periodic syndrome*), a síndrome de Muckle-Wells e a síndrome de Schnitzler.^{32,33,34}

Dois novos agentes antagonistas da IL-1, o canakinumabe e o rilonacepte vêm sendo recentemente utilizados no tratamento de doenças raras. O canakinumabe é um anticorpo monoclonal

humano contra a IL-1 β , já liberado na Europa e nos Estados Unidos para o uso na forma sistêmica da artrite idiopática juvenil e nas criopirínopatas (síndromes autoinflamatórias associadas a defeitos nos genes da criopirina ou pirina). O rilonacepte, conhecido como IL-1Trap, é uma proteína de fusão composta pelo receptor tipo I da IL-1, pela proteína acessória do receptor da IL-1 e pela fração Fc da IgG1 humana. O rilonacepte se liga e neutraliza a IL-1 circulante, antes que ela se ligue a seus receptores na superfície celular. Ele já foi estudado em pacientes com síndromes autoinflamatórias e na crise aguda de gota com bons resultados.³⁵

Os agentes anti-TNF α são os principais medicamentos biológicos utilizados na reumatologia na atualidade. Seus principais representantes são o etanercepte, o infliximabe e o adalimumabe. O etanercepte é um dímero que inclui o receptor p75 do TNF ligado à fração Fc da IgG. O etanercepte atua ligando-se a moléculas de TNF α circulantes ou ligadas a células efectoras, inibindo a ligação a seu receptor e evitando os efeitos biológicos do TNF α e do TNF β (linfotóxina), mas não causa citotoxicidade de células que expressam o TNF α na superfície.³⁶

O infliximabe é um anticorpo monoclonal anti-TNF α quimérico, ou seja, com uma porção de IgG1k humana e uma região murina Fc, oriunda de anticorpos murinos neutralizadores de alta afinidade anti-TNF α humano. O infliximabe se liga tanto ao TNF α livre quanto ao TNF α ligado à superfície celular, induzindo à lise dessas células por citotoxicidade mediada por anticorpos. Diferente do etanercepte, o infliximabe não se liga ao TNF- β . O adalimumabe é um anticorpo monoclonal anti-TNF α IgG1 recombinante totalmente humano que tem meia vida prolongada e necessita de administração subcutânea a cada duas semanas.³⁶

Etanercepte, infliximabe e adalimumabe são agentes bastante estudados e aprovados no tratamento da AR, artrite idiopática juvenil, espondilite anquilosante (EA) e da artrite psoriática. No tratamento da doença de Crohn (DC), o infliximabe e o adalimumabe também se mostraram eficazes no controle da atividade da doença e na manutenção da remissão, enquanto o infliximabe parece ser o único agente eficaz no controle de fístulas associadas à DC. Uma segunda geração de agentes anti-TNF α está em avaliação em diferentes estudos. Esses agentes incluem o certolizumabe pegol e o golimumabe.^{37,38}

O certolizumabe pegol (CDP870) é o fragmento peguilado da porção Fab de um anticorpo monoclonal anti-TNF α humanizado, cuja eficácia foi demonstrada no tratamento da AR e da DC. Devido a sua meia vida longa, o certolizumabe pegol pode ser administrado mensalmente por via subcutânea.³⁹ O golimumabe é um anticorpo monoclonal humano anti-TNF α

que vem sendo avaliado em pacientes com AR, artrite psoriática e espondilite anquilosante (EA), com bons resultados.^{40,41,42}

O lenercepte e o CDP571 são agentes anti-TNF α que não demonstraram benefício clínico no tratamento de condições como a DC e AR, sendo seu desenvolvimento suspenso. O Pegsunercepte foi avaliado em pacientes com AR e se mostrou superior ao placebo apenas em um estudo fase II. O onercepte é o receptor solúvel p55 recombinante do TNF α que vem sendo estudado no tratamento da psoríase moderada a grave. Esse agente não se mostrou eficaz na terapia de indução da DC.²⁹

A IL-6 é uma citocina que atua em diferentes células, sendo encontrada em altos níveis em diversas doenças inflamatórias. A IL-6 estimula hepatócitos a produzirem proteínas de fase aguda, como proteína C reativa, fibrinogênio, proteína amiloide A, ao mesmo tempo que diminui a produção de albumina. Recentemente, se descreveu que IL-6 estimula a produção do peptídeo hepcedina que participa da patogenia de anemia associada a quadros inflamatórios. O tocilizumabe é um anticorpo monoclonal humanizado contra o receptor solúvel da IL-6 que inibe os efeitos pró-inflamatórios dessa citocina. Ensaio clínico têm demonstrado a eficácia desse agente biológico no tratamento da AR, da artrite idiopática juvenil e na doença de Castleman.⁴³

A IL-5 é uma citocina com perfil Th2 e que atua estimulando a produção, a ativação e a maturação de eosinófilos. O mepolizumabe é um anticorpo monoclonal anti-IL-5 que tem sido estudado em pacientes com asma brônquica, polipose nasal e síndromes hipereosinofílicas. Na síndrome de Churg-Strauss, o mepolizumabe vem sendo avaliado em ensaio clínico fase I/II.⁴⁴ A IL-9 é uma citocina produzida por células Th2 e Th9 que está associada a uma maior hiper-reatividade brônquica e tem papel patogênico na asma. Um anticorpo monoclonal humanizado anti-IL-9 (MEDI-528) vem sendo avaliado para o tratamento de pacientes asmáticos.⁴⁵

A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória produzida por células Th17 e tem papel importante na resposta imune a certos patógenos, como bactérias extracelulares e fungos, e na patogênese de doenças autoimunes, incluindo a AR. Um anticorpo monoclonal IgG4 anti-IL-17 (LY2439821) teve segurança demonstrada quando avaliado em estudo fase I que incluiu pacientes com AR.⁴⁶

A IL-15 é uma citocina que tem importante papel na ativação de LT, incluindo células de memória, e de células NK. Um anticorpo monoclonal IgG1 anti-IL-15 (HuMax-IL15) foi bem tolerado e apresentou eficácia em estudo fase I-II que incluiu pacientes com AR.⁴⁷

As citocinas pró-inflamatórias IL-12 e IL23 compartilham a mesma subunidade p40 e participam da ativação de células

NK e da diferenciação de LT CD4+ nos fenótipos Th1, em resposta a IL-12, e Th17 em resposta a IL-23, juntamente com as citocinas IL-1 β , TGF- β e IL-6. Dois agentes que atuam na subunidade p40 da IL-12 e IL-23 foram desenvolvidos (ustekinumabe e briakinumabe), e apresentam bons resultados no tratamento da psoríase.⁴⁸ O ustekinumabe também foi eficaz no tratamento da artrite psoriática.⁴⁹

O TGF β é uma citocina que possui três isoformas (TGF β 1, TGF β 2 e TGF β 3), mas diversas outras proteínas fazem parte da superfamília TGF β . Expressão aberrante do TGF β 1 e TGF β 2 é observada em pacientes com esclerose sistêmica e está implicada na patogênese da fibrose cutânea e pulmonar. Entretanto, em ensaio clínico recente, o uso de anticorpo monoclonal anti-TGF β 1 (CAT-192) não demonstrou eficácia em pacientes com esclerose sistêmica.⁵⁰ O lerdelimumabe (CAT-152) é um anticorpo monoclonal humano anti-TGF β 2 que foi estudado em pós-operatório de trabeculectomia para tratamento de glaucoma com o objetivo de evitar cicatrização excessiva e apresentou resultados controversos.⁵¹

Na família de interferons (INF) tipo I, proteínas recombinantes do INF α e o INF β são utilizadas na prática clínica principalmente para o tratamento de hepatites virais (vírus da hepatite B e C)^{52,53} e da esclerose múltipla, respectivamente. Nessa última, o mecanismo de ação proposto é o antagonismo que o INF β exerce contra o INF γ , que tem grande importância na fisiopatologia da esclerose múltipla.⁵⁴ O INF α também tem sido utilizado no tratamento de manifestações mucocutâneas, oculares e neurológicas da doença de Behçet⁵⁵ e na síndrome de Churg-Strauss.⁵⁶ O fontolizumabe é um agente humanizado anti-INF γ que vem sendo avaliado em pacientes com DC com bons resultados.⁵⁶

O RANKL (*Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand*) é uma citocina da superfamília do TNF α , produzida pelo linfócito T ativado e atua na diferenciação e maturação do osteoclasto, estimulando a reabsorção óssea. O RANKL tem importância na fisiopatologia da AR, da artrite psoriática e da osteoporose em doenças inflamatórias sistêmicas.⁵⁸ O denosumabe é um anticorpo monoclonal humano anti-RANKL que vem sendo estudado no tratamento da AR,⁵⁸ osteoporose,^{58,59} em tumores ósseos, mieloma múltiplo e metástases ósseas.⁶⁰

Terapia biológica e o sistema complemento

O eculizumabe é um anticorpo monoclonal humanizado anti-C5 que se liga à subunidade 2b da enzima C5 convertase e bloqueia a clivagem do C5 no componente pró-inflamatório C5a, bem como a formação do complexo de ataque de membrana C5b-C9, inibindo assim a lise celular.²⁸ O eculizumabe

é comprovadamente eficaz no tratamento da hemoglobinúria paroxística noturna.⁶¹

O pexelizumabe é um anticorpo monoclonal de alta afinidade ao componente C5, inibindo também a clivagem deste pela C5 convertase. Esse agente biológico vem sendo estudado em pacientes com infarto agudo do miocárdio, mas não demonstrou efeito sobre a redução da área do infarto em pacientes submetidos à angioplastia primária, e dados sobre seu efeito na redução da mortalidade no infarto agudo do miocárdio são controversos.⁶²

Terapia biológica antilinfócito T

A terapia com agentes biológicos direcionados para alvos terapêuticos em LT já foi bastante estudada. Os principais alvos são suas moléculas de superfície [CD3, CD4, CD5, CD7, CD40 ligante (CD40L) e CD25], contudo, também se pode atuar indiretamente sobre a ativação dos LT por meio da inibição de sua interação com células apresentadoras de antígenos e com LB.²⁸

O abatacepte é o principal agente biológico anti-LT atualmente em uso e atua inibindo a ativação de LT dependente da coestimulação a partir de células apresentadoras de antígeno. O abatacepte é uma proteína solúvel de fusão que consiste no domínio extracelular do CTLA-4 (*cytotoxic-T lymphocyte-associated-antigen 4*) ligada à porção Fc da IgG1 humana. O abatacepte inibe a ativação do LT se ligando às moléculas CD80 e CD86 de células apresentadoras de antígenos, bloqueando a interação com a molécula de CD28 dos LT. Como o CTLA-4 tem afinidade para CD80 e CD86 muito superior à do CD28, ele previne a ligação de CD80/86 a este último, impedindo assim a deflagração do segundo sinal, fundamental para a ativação do LT. O abatacepte foi amplamente estudado na AR e tem eficácia comprovada em diversos ensaios clínicos.^{43,63} Alguns estudos estão em andamento para avaliar a eficácia do abatacepte no LES, em vasculites associadas ao ANCA, arterite de células gigantes, arterite de Takayasu, na esclerose sistêmica e na EA.⁶⁴

O belatacepte é uma molécula semelhante ao abatacepte que apresenta afinidade dez vezes maior para a interação com as moléculas CD80 e CD86 em relação a este. Alguns estudos em pacientes submetidos a transplante renal têm demonstrado eficácia semelhante à da ciclosporina para evitar a rejeição aguda e superior a esta para evitar a nefropatia crônica pós-transplante.⁶⁵

Os agentes ipilimumabe e o tremelimumabe são anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 que têm o objetivo de aumentar a ativação de LT e de melhorar a imunidade contra o câncer.

Esses agentes já foram avaliados em pacientes com melanoma e em neoplasia de próstata, pulmão e de bexiga, além do carcinoma hepatocelular.⁶⁶

O alefacepte é outro agente biológico que inibe a interação entre células apresentadoras de antígeno e linfócitos T. Ele é uma proteína de fusão dimérica composta pela porção extracelular da LFA-3 (*leukocyte function antigen-3*) e a porção Fc da IgG1. O alefacepte se liga à molécula do CD2 presente na superfície do LT e inibe a interação da LFA-3 com essa molécula, bloqueando a ativação de LT. Esse agente tem sido utilizado com sucesso no tratamento da psoríase em pacientes com lesões crônicas e indicação de terapia sistêmica ou de fototerapia.⁶⁷

O efalizumabe é um anticorpo monoclonal contra a LFA-1 (*leukocyte functional antigen 1*) que é uma molécula de adesão presente no linfócito T e que se liga à ICAM-1, permitindo a migração do linfócito T ativado da corrente sanguínea para os tecidos. O efalizumabe é atualmente indicado no tratamento da psoríase, mas foi retirado do mercado americano devido ao risco aumentado de leucoencefalopatia multifocal progressiva.⁶⁷

Natalizumabe é um anticorpo monoclonal anti-integrina a4b1, molécula encontrada na superfície de leucócitos, exceto de neutrófilos. O natalizumabe bloqueia a integração entre a integrina a4b1 e a molécula de adesão VCAM-1. Esse agente biológico foi estudado no tratamento da esclerose múltipla⁶⁸ e na DC,⁶⁹ porém casos de leucoencefalopatia multifocal progressiva sinalizam cautela para sua introdução na prática clínica diária.⁶⁸

Anticorpos anti-CD40L foram desenvolvidos com o objetivo de se inibir a estimulação de linfócitos T pelas células apresentadoras de antígeno e de linfócitos B pelos linfócitos T. Dois anticorpos monoclonais anti-CD40L foram estudados em pacientes com LES. O anticorpo Hu5c9 foi estudado em pacientes com nefrite lúpica e apresentou bons resultados, mas o estudo foi suspenso devido à ocorrência de eventos tromboembólicos. O outro anticorpo anti-CD40L (IDEC 131) também foi estudado em pacientes com nefrite lúpica, mas não demonstrou benefícios.⁷⁰

A terapia anti-LT pode ser dividida em depleção e em modulação de sua função. Diferentes agentes biológicos foram desenvolvidos para depleção de linfócitos T. O primeiro foi o anticorpo monoclonal anti-CD7, mas a falta de eficácia clínica dos anticorpos murino e quimérico em pacientes com AR fez com que estudos subsequentes fossem abandonados. CD5 plus é um conjugado imune composto por um anticorpo monoclonal murino anti-CD5 e a cadeia A da toxina ricina. Embora estudos abertos tenham demonstrado resultados promissores, um ensaio clínico controlado e randomizado não demonstrou benefícios

na AR. Outro anticorpo monoclonal murino testado na AR foi o anti-CD4 (cM-T₄₁₂), mas estudos clínicos com este anticorpo não demonstraram benefícios.²⁸

Quatro anticorpos monoclonais anti-CD4 não depletors de linfócitos T, ou seja, moduladores de sua função foram desenvolvidos. Os compostos ₄₁₆₂W₉₄ e IDEC-CE_{9,1}/SB-₂₁₀₃₉₆ foram os primeiros a serem investigados, mas suas pesquisas foram suspensas devido aos eventos adversos. Pesquisas com os compostos não depletors de linfócitos T Humax-CD4/HM6G IgG1 anti-CD4 e o anti-CD4 Mab OKT4-cdr4a estão em andamento. Em modelos experimentais de transplante, o uso combinado de anticorpo não depletor anti-CD4 YTS177 e anti-CD8 YTS105 vem sendo estudado com bons resultados.²⁸

O visilizumabe é um anticorpo monoclonal anti-CD3 humanizado que induz a apoptose de LT ativados e diversos estudos demonstraram segurança e eficácia na prevenção da doença do enxerto *versus* hospedeiro (GVHD)⁷¹ e no tratamento da doença inflamatória intestinal.⁶⁹ O muronomabe (OKT3) é outro anticorpo anti-CD3 utilizado em pacientes transplantados para a prevenção de rejeição de transplante.⁷²

O receptor da interleucina-2 (IL-2) em linfócitos T ativados (CD25) também foi alvo terapêutico em alguns estudos. O IL2-DAB (IL-2 recombinante humana conjugada à cadeia alfa da toxina difitérica) apresentou bons resultados em estudo que avaliou pacientes com AR, mas houve alta frequência de elevação de enzimas hepáticas.¹ O basiliximabe e o daclizumabe são anticorpos monoclonais antireceptor da IL-2 em linfócitos T ativados que vêm sendo utilizados principalmente para evitar a rejeição em pacientes transplantados.^{73,74}

O alemtuzumabe é um anticorpo monoclonal anti-CD52, que é uma molécula de superfície presente em linfócitos maduros e monócitos. O alemtuzumabe vem sendo utilizado em leucemia linfocítica crônica e em linfoma cutâneo de células T.⁷⁴ Estudos recentes têm demonstrado algum benefício no tratamento da esclerose múltipla.⁷⁴

Terapia biológica antilinfócito B

Os LB têm importante papel na patogenia de diversas doenças autoimunes, o que tem estimulado a investigação de agentes biológicos que atuem em alvos terapêuticos nessas células, levando à depleção ou ao bloqueio de sua ação. Atualmente, os principais alvos terapêuticos em LB são suas moléculas de superfície (ex: CD20 e CD22), a citocina BlyS (*B lymphocyte stimulator*) e APRIL (*a proliferating inducing ligand*), além de seu receptor solúvel (TACI – *transmembrane activator and CAML interactor*).⁷⁷

O rituximabe é o principal medicamento desenvolvido e estudado como terapia anti-LB. Ele é um anticorpo monoclonal quimérico anti-CD20. A molécula CD20 é encontrada na superfície apenas de LB maduros e de células pré-B, não sendo encontrada em células tronco e nem em plasmócitos. O uso do rituximabe leva à depleção seletiva de LB (CD20+) por até 6 meses, havendo recuperação dos níveis normais em 9-12 meses.^{77,78} Três mecanismos principais são responsáveis pela depleção de LB induzida pelo rituximabe:⁷⁸

- **Citotoxicidade celular mediada por anticorpo:** células NK, macrófagos e monócitos se ligam ao complexo formado pelo rituximabe e pelo CD20 na superfície celular através de seus receptores Fc γ , produzindo a citólise do LB.
- **Citotoxicidade dependente do complemento:** o complexo rituximabe-CD20 se liga ao C1q e ativa a cascata do complemento pela via clássica, o que leva à lise do LB pelo complexo de ataque de membrana.
- **Indução da apoptose de LB CD20+**

Em 1997, o rituximabe foi aprovado para o tratamento do linfoma não Hodgkin de células B, folicular e de baixo grau, refratário e com recidivas. Após a aprovação para uso no linfoma, o rituximabe foi utilizado em outros tipos de linfoma, em doenças de linfócitos B (macroglbulinemia de Waldenström e mieloma múltiplo) e na doença de Castleman.⁷⁷ O rituximabe tem seu uso aprovado para o tratamento da artrite reumatoide em pacientes que falharam ao uso de anti-TNF α . No LES, o rituximabe foi estudado em diversas séries de casos e tem apresentado resultados variados no controle de diversas manifestações da doença, principalmente na nefrite e no envolvimento neurológico refratários. Curiosamente, os ensaios clínicos controlados não conseguiram evidenciar eficácia em pacientes com nefrite e em pacientes com outras manifestações do LES.⁷⁹ Na síndrome de Sjögren, o rituximabe foi avaliado em dois ensaios clínicos com resultados pouco significativos em relação à melhora da fadiga e da xerostomia/xerofalmlia.⁸⁰ Em vasculites sistêmicas, o rituximabe foi avaliado principalmente em pacientes com granulomatose de Wegener e poliangiíte microscópica em dois ensaios clínicos que demonstraram a não inferioridade dele em relação à ciclofosfamida no tratamento de indução.^{81,82} Outras doenças autoimunes como a púrpura trombocitopênica imunológica, a crioglobulinemia mista do tipo II e miopatias inflamatórias apresentam resultados promissores em séries de casos e são perspectivas futuras de benefício com o uso do rituximabe.⁷⁸

O ocrelizumabe é o anticorpo monoclonal anti-CD20 de segunda geração, humanizado e que tem a mesma especificidade do rituximabe.⁷⁷ Ensaios clínicos fase III estão em andamento para avaliar sua eficácia em pacientes com linfoma não Hodgkin, mas estudos que avaliaram esse agente na AR e no LES foram suspensos por falta de eficácia. Na esclerose múltipla, planeja-se realizar estudo fase II para casos que apresentam reativação e remissão.⁸³

O ofatumumabe e o veltuzumabe são anticorpos monoclonais anti-CD20 que atuam inibindo a ativação de linfócitos B.⁷⁷ Encontram-se em estudos fase III para leucemia linfocítica crônica e linfoma não Hodgkin. Na AR, o ofatumumabe vem sendo avaliado em pacientes com resposta inadequada ao metotrexate e ao anti-TNF α em estudos fase II.⁸⁴

O epratuzumabe é um anticorpo monoclonal humanizado anti-CD22. O CD22 é uma glicoproteína de superfície restrita ao linfócito B que regula sua ativação e a interação com os linfócitos T. O CD22 é encontrado no citoplasma de linfócitos pró e pré B, mas migra para a superfície do linfócito B maduro e desaparece quando este se diferencia em plasmócito.⁷⁷ O epratuzumabe vem sendo estudado no linfoma não Hodgkin em recidiva ou refratário ao tratamento convencional, incluindo rituximabe; também vem sendo estudado no LES, na síndrome de Sjögren e na AR.⁸⁵ Resultados preliminares tem demonstrado boa tolerabilidade e eficácia deste agente biológico.⁸⁶

O belimumabe (LymphoStat-B) é um anticorpo monoclonal totalmente humano que reconhece especificamente e inibe a atividade biológica do BLYS (também conhecido como BAFF), que é uma molécula da superfamília TNF e atua na sobrevida, maturação e na ativação do linfócito B. Diversas células (monócitos, macrófagos, células estromais da medula óssea, sinoviócitos e astrócitos) produzem o BLYS principalmente sob o estímulo do interferon γ . Apesar do uso do belimumabe se associar à diminuição do número de linfócitos B circulantes, ele age apenas sobre o BLYS solúvel e não induz citotoxicidade.^{77,87} Estudos fase II com o uso de belimumabe estão em andamento em pacientes com LES e AR.⁸⁸ No LES, o belimumabe foi bem tolerado, mas não foi observada diferença significativa quanto ao placebo em relação à atividade da doença ou ao número de reativações.⁸⁹

O ataccepte (TACI-Ig) é uma proteína de fusão recombinante que simula o receptor solúvel (TACI) e bloqueia a ação de BLYS e de APRIL. Esse medicamento foi avaliado em estudo fase I no LES e foi observada boa segurança em diferentes doses aplicadas.⁹⁰ Estudos fase II em pacientes com LES e AR estão em fase de recrutamento de pacientes. O ataccepte também vem sendo avaliado em estudo com pacientes com esclerose múltipla, leucemia linfocítica crônica, mieloma múltiplo e linfoma não Hodgkin.⁹¹

REFERÊNCIAS

REFERENCES

1. Horwitz MS and Sarvetnick N. Viruses, host responses, and autoimmunity. *Immunol Rev* 1999; 169:241-53.

2. Di Rosa F, Barnaba V. Persisting viruses and chronic inflammation: understanding their relation to autoimmunity. *Immunol Rev* 1998; 164:17-27.

3. Ercolini AM, Miller SD. The role of infections in autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2009; 155:1-15.

4. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*, 5th ed., Saunders, 2003.

5. Andersen G, Moore NC, Owen JJT, Jenkinson EJ. Cellular interactions in thymocyte development. *Annual Review of Immunology* 1996; 14: 73-99.

6. Liu YJ. A unified theory of central tolerance in the thymus. *Trends Immunol* 2006; 27:215-21.

7. Burns J, Rosenzweig A, Zweiman B, Lisak RP. Isolation of myelin basic protein-reactive T-cell lines from normal human blood. *Cell Immunol* 1983; 81:435-40.

8. Hogquist AK, Baldwin TA, Jameson SC. Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nature* 2005; 5:772-81.

9. Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell* 1994; 76:241-51.

10. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor β -chains (CD25): breakdown of a single mechanism of self tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155:1151-64.

11. Papiernik M, Leite-de-Moraes MC, Pontoux AM, Joret B, Rocha C. T cell deletion induced by chronic infection with mouse mammary tumor virus spares a CD25-positive, IL-10-producing T cell population with infectious capacity. *J Immunol* 1997; 158:4642.

12. Bach JF. Organ-specific autoimmunity. *Immunol Today* 1995; 16:353-5.

13. Miller RG. An immunological suppressor cell inactivating cytotoxic T-lymphocyte precursor cells recognizing it. *Nature* 1980; 287:544-6.

14. Apostolou I, Sarukhan A, Klein L, von Boehmer H. Origin of regulatory T cells with known specificity for antigen. *Nat Immunol* 2002; 3:756-63.

15. O'Shea JJ, Hunter CA, Germain RN. T cell heterogeneity: firmly fixed, predominantly plastic or merely malleable? *Nat. Immunol* 2008; 9:450-3.

16. Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, Helmby H, Westendorf A, Buer J *et al.* Transforming growth factor- β 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat. Immunol* 2008; 9:1341-6.

17. Faulkner H, Renaud JC, van Snick J, Grencis RK. Interleukin-9 enhances resistance to the intestinal nematode *Trichuris muris*. *Infect. Immun* 1998; 66:3832-40.

18. Dardalhon V, Korn T, Kuchroo VK, Anderson AC. Role of Th1 and Th17 cells in organ-specific autoimmunity. *J Autoimmun* 2008; 04.017:1-5.

19. Coutinho A. Will the idiotypic network help to solve natural tolerance? *Trends Immunol* 2003; 24:53-4.

20. Zhang J. T cell vaccination as an immunotherapy for autoimmune diseases. *Cell Mol Immunol* 2004; 1(5):321-7.

21. João C. Immunoglobulin is a highly diverse self-molecule that improves cellular diversity and function during immune reconstitution. *Med Hypotheses* 2007; 68:158-161.

22. Cohen I. Peptide therapy for Type I diabetes: the immunological homunculus and the rationale for vaccination. *Diabetologia* 2002; 45:1468-74.

23. Sprent J, Kishimoto H. The Thymus and negative selection. *Immunol Rev* 2002; 185:126-135
24. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2003; 21:685-711.
25. Granucci F, Zanoni I, Ricciardi-Castagnoli P. Central role of dendritic cells in the regulation and deregulation of immune responses. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65:1683-97.
26. Sallustro F, Lanzavecchia A. Mobilizing dendritic cells for tolerance, priming, and chronic inflammation. *J Exp. Med* 1999; 189:611-4.
27. Paluca AK, Blanck JP, Bennett L, Pascual V, Banchereau J. Cross-regulation of TNF and IFN- α in autoimmune disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:3372-7.
28. Choy EHS, Kingsley GH, Panayi GS. Immunotherapies: T cell, B cell and complement. *In: Rheumatology Third Edition*. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH. Mosby 2003; Philadelphia: pp. 449-454.
29. Cush JJ. Cytokine therapies. *In: Rheumatology Third Edition*. Marc C. Hochberg, Allan J. Silman, Josef S. Smolen, Michael E. Weinblatt, Michael H Weisman. Mosby 2003; Philadelphia: pp. 461-484.
30. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. WHO Technical Report Series. http://www.who.int/medicines/publications/pharmprep/OMS_TRS_948.pdf. Accessed on 01/04/2009.
31. Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Burmester GR, Bijlsma JW *et al*. Updated consensus statement on biological agents, specifically tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) blocking agents and interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) for the treatment of rheumatic diseases 2005. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(Suppl4):iv2-14.
32. Gartlehner G, Hansen RA, Jonas BL, Thieda P, Lohr KN. Biologics for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: a systematic review and critical analysis of the evidence. *Clin Rheumatol* 2008; 27:67-76.
33. Kalliolias GD, Liossis SN. The future of the IL-1 receptor antagonist anakinra: from rheumatoid arthritis to adult-onset Still's disease and systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Expert Opin Investig Drugs* 2008; 17:349-59.
34. Geyer M, Müller-Ladner U. Actual status of antiinterleukin-1 therapies in rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22:246-51.
35. Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacol Ther* 2008; 117:244-79.
36. Toussirot E, Wendling D. The use of TNF-alpha blocking agents in rheumatoid arthritis: an update. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8:2089-107.
37. Siddiqui MA. The efficacy and tolerability of newer biologics in rheumatoid arthritis: best current evidence. *Curr Opin Rheumatol* 2007; 19:308-13.
38. Furst DE. Certolizumab pegol - what role does this new TNF inhibitor have in the treatment of RA? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2009; 5:134-5.
39. Kay J, Matteson EL, Dasgupta B, Nash P, Durez P, Hall S *et al*. Golimumab in patients with active rheumatoid arthritis despite treatment with methotrexate: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study. *Arthritis Rheum* 2008; 58:964-75.
40. Inman RD, Davis JC Jr, Heijde D, Diekmann L, Sieper J, Kim SI *et al*. Efficacy and safety of golimumab in patients with ankylosing spondylitis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial. *Arthritis Rheum* 2008; 58:3402-12.
41. Plushner SL. Tocilizumab: an interleukin-6 receptor inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis. *Ann Pharmacother* 2008; 42:1660-8.
42. Kavanaugh A, McInnes I, Mease P, Krueger GG, Gladman D, Gomez-Reino J *et al*. Golimumab, a new human tumor necrosis factor alpha antibody, administered every four weeks as a subcutaneous injection in psoriatic arthritis: Twenty-four-week efficacy and safety results of a randomized, placebocontrolled study. *Arthritis Rheum* 2009; 60:976-86.
43. Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. New Therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet* 2007; 370:1861-74.
44. Simon HU, Cools J. Novel approaches to therapy of hypereosinophilic syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am* 2007; 27:519-27.
45. White B, Lenon F, White W, Robbie G. Two first-in-human, open label, phase I dose-escalation safety trials of MEDI-528, a monoclonal antibody against interleukin-9, in healthy adult volunteers. *Clin Ther* 2009; 31:728-40.
46. Genovese MC, Van den Bosch F, Roberson SA, Bojin S, Biagini IM, Ryan P *et al*. LY2439821, a humanized anti-interleukin-17 monoclonal antibody, in the treatment of patients with rheumatoid arthritis: A phase I randomized, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept study. *Arthritis Rheum* 2010; 62:929-39.
47. Baslund B, Tvede N, Danneskiold-Samsøe B, Larsson P, Panayi G, Petersen J *et al*. Targeting interleukin-15 in patients with rheumatoid arthritis: a proof-of-concept study. *Arthritis Rheum* 2005; 52:2686-92.
48. Kavanaugh A, Menter A, Mendelsohn A, Shen YK, Lee S, Gottlieb AB. Effect of ustekinumab on physical function and health-related quality of life in patients with psoriatic arthritis: a randomized, placebo-controlled, phase II trial. *Curr Med Res Opin* 2010; 26:2385-92.
49. Langley RG, Feldman SR, Han C, Schenkel B, Szapary P, Hsu MC *et al*. *J Am Acad Dermatol* 2010; 63:457-65.
50. Denton CP, Merkel PA, Furst DE, Khanna D, Emery P, Hsu VM *et al*. Recombinant human anti-transforming growth factor β 1 antibody therapy in systemic sclerosis: A multicenter, randomized, placebo-controlled phase I/II trial of CAT-192. *Arthritis Rheum* 2007; 56:323-33.
51. Freedman J. TGF-beta(2) in trabeculectomy. *Ophthalmology* 2009; 116:166.
52. Zeuzem S. Interferon-based therapy for chronic hepatitis C: current and future perspectives. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5:610-22.
53. Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2009; 373:582-92.
54. Rieckmann P. Clinical trials in multiple sclerosis: current and future requirements – potential pitfalls. *J Neurol* 2008; 255(Suppl6):66-8.
55. Pipitone M, Olivieri I, Cantini F, Triolo G, Salvarani C. New approaches in the treatment of Adamantides-Behçet's disease. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18:3-9.
56. Metzler C, Schnabel A, Gross WL, Hellmich B. A phase II study of interferon-alpha for the treatment of refractory Churg-Strauss syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26(3Suppl49):S35-40.

57. Hommes DW, Mikhajlova TL, Stoinov S, Stimac D, Vucelic B, Lonovics J *et al.* Fontolizumab, a humanized anti-interferon gamma antibody, demonstrates safety and clinical activity in patients with moderate to severe Crohn's disease. *Gut* 2006; 55:1131-7.
58. Schwarz EM, Ritchlin CT. Clinical development of anti-RANKL therapy. *Arthritis Res Ther* 2007; 9(Suppl1):S7.
59. Miller PD. Denosumab: anti-RANKL antibody. *Curr Osteoporos Rep* 2009; 7:18-22.
60. Lipton A, Jun S. RANKL inhibition in the treatment of bone metastases. *Curr Opin Support Palliat Care* 2008; 2:197-203.
61. Hillmen P, Young N, Schubert J, Brodsky R, Socié G, Muus P *et al.* The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006; 355:1233-43.
62. Testa L, Van Gaal WJ, Bhindi R, Biondi-Zocai GG, Abbate A, Agostoni P *et al.* Pexelizumab in ischemic heart disease: a systematic review and meta-analysis on 15,196 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 136:884-93.
63. Buch MH, Vital EM, Emery P. Abatacept in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2008; 10(Suppl1):S5.
64. US National Institute of Health. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=abatacept&pg=1>. Acessado em 05/04/2009.
65. Ghandi AM, Fazli U, Rodina V, Qazi YA. Costimulation targeting therapies in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2008; 13:622-66.
66. Tarhini AA, Iqbal F. CTLA-4 blockade: therapeutic potential in cancer treatments. *Onco Targets Ther* 2010; 3:15-25.
67. Schmitt J, Zhang Z, Wozel G, Meurer M, Kirch W. Efficacy and tolerability of biologic and nonbiologic systemic treatments for moderate-to-severe psoriasis: meta-analysis of randomized controlled trials. *Br J Dermatol* 2008; 159:513-526.
68. Goodin DS, Cohen BA, O'Connor P, Kappos L, Stevens JC; Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. Assessment: the use of natalizumab (Tysabri) for the treatment of multiple sclerosis (an evidence-based review): report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2008; 71:766-73.
69. D'Haens G, Daperno M. Advances in Biologic Therapy for Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2006; 6:506-12.
70. Sidiropoulos PI, Boumpas DT. Lessons learned from anti-CD40L treatment in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2004; 13:391-7.
71. Carpenter PA, Lowder J, Johnston L, Frangoul H, Khoury H, Parker P *et al.* A phase II multicenter study of visilizumab, humanized anti-CD3 antibody, to treat steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11:465-71.
72. Ten Berge IJ, Parlevliet KJ, Raasveld MH, Buysmann S, Bemelman FJ, Schellekens PT. Guidelines for the optimal use of muromonab CD3 in transplantation. *BioDrugs* 1999; 11:277-84.
73. Ramirez CB, Marino IR. The role of basiliximab induction therapy in organ transplantation. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7:137-48.
74. Mottershead M, Neuberger J. Daclizumab. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7:1583-96.
75. Elter T, Molnar I, Kuhlmann J, Hallek M, Wendtner C. Pharmacokinetics of alemtuzumab and the relevance in clinical practice. *Leuk Lymphoma* 2008; 49:2256-62.
76. Menge T, Weber MS, Hemmer B, Kieseier BC, von Büdingen HC, Warnke C *et al.* Disease-modifying agents for multiple sclerosis: recent advances and future prospects. *Drugs* 2008; 68:2445-68.
77. Arkfeld DG. The potential utility of B cell-directed biologic therapy in autoimmune diseases. *Rheumatol Int* 2008; 28:205-15.
78. Edwards JC, Cambridge G. B-cell targeting in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol* 2006; 6:394-403.
79. Conti F, Perricone C, Cecarrelli F, Valesini G. Rituximab treatment of systemic lupus erythematosus in controlled trials and in clinical practice: Two sides of the same coin. *Autoimmun Rev* 2010; 9:716-20.
80. Ramos-Casals M, Tzioufas AG, Stone JH, Sisó A, Bosch X. Treatment of primary Sjögren syndrome: a systematic review. *JAMA* 2010; 9:716-20.
81. Stone JH, Merkel PA, Spiera R, Seo P, Langford CA, Hoffman GS *et al.* Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363:221-32.
82. Jones RB, Tervaert JW, Hauser T, Luqmani R, Morgan MD, Peh CA *et al.* Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-Associated renal vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363:211-20.
83. US National Institute of Health. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=ocrelizumab>. Acessado em 06/04/2009.
84. US National Institute of Health. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=ofatumumab>. Acessado em 06/04/2009.
85. US National Institute of Health. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=epratuzumab>. Acessado em 06/04/2009.
86. Dohner T, Kaufmann J, Wegener WA, Teoh N, Goldenberg DM, Burmester GR. Initial clinical trial of epratuzumab (humanized anti-CD22 antibody) for immunotherapy of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2006; 8:R74-R85.
87. Ding C. Belimumab, an anti-BLyS human monoclonal antibody for potential treatment of human inflammatory disease. *Expert Opin Biol Ther* 2008; 8:1805-14.
88. US National Institute of Health. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=belimumab>. Acessado em 06/04/2009.
89. Wallace DJ, Stohl W, Furie R, Lisse JR, McKay JD, Merrill JT *et al.* A phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2009; 61:1168-78.
90. Gatto B. Atacicept, a homodimeric fusion protein for the potential treatment of diseases triggered by plasma cells. *Curr Opin Investig Drugs* 2008; 9:1216-27.
91. US National Institute of Health. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=atacicept>. Acessado em 06/04/2009.