



REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



Artigo original

Caracterização de marcadores inflamatórios associados a pacientes com lúpus eritematoso sistêmico em tratamento



Rodolfo Pessato Timóteo*, Douglas Cobo Micheli, Reginaldo Botelho Teodoro, Marlene Freire, Dernal Bertoncello, Eddie Fernando Candido Murta e Beatriz Martins Tavares-Murta

Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 13 de março de 2015

Aceito em 20 de dezembro de 2015

On-line em 17 de fevereiro de 2016

Palavras-chave:

Lúpus eritematoso sistêmico

Citocinas

Fagocitose

Integrina

CXCR2

R E S U M O

Objetivo: Caracterizar os perfis inflamatórios de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) que recebiam o tratamento padrão em comparação com controles saudáveis.

Pacientes e métodos: Coletou-se o sangue venoso periférico de pacientes com LES (n = 14) e controles (n = 18) no momento da entrada no estudo. As amostras de sangue foram usadas para quantificação, por citometria de fluxo, da expressão dos antígenos de superfície CD11b (integrina) e CXCR2 em neutrófilos e linfócitos, enquanto as citocinas foram avaliadas em amostras de soro. Avaliou-se a capacidade dos neutrófilos purificados de fagocitar zimosan opsonizado com plasma humano.

Resultados: Os pacientes apresentavam uma pontuação mediana (intervalo interquartil) no Sledai de 1 (0-2), característica de pacientes em remissão. As concentrações séricas de IL-6 e IL-10 foram significativamente maiores no grupo de pacientes em comparação com os controles; o índice de fagocitose de neutrófilos circulantes estava significativamente reduzido nos pacientes em comparação com os controles. Os níveis de IL-2, IL-5, IL-8 e TNF- α não diferiram significativamente entre pacientes e controles. A análise da citometria de fluxo revelou que os níveis de expressão de CD11b estavam reduzidos nos linfócitos (mas não nos neutrófilos) obtidos de pacientes com LES, enquanto a expressão do receptor de superfície CXCR2 foi semelhante em neutrófilos e linfócitos.

Conclusão: Os pacientes com LES que recebiam tratamento padrão apresentaram níveis sistêmicos elevados de IL-6 e IL-10, redução na capacidade fagocítica dos neutrófilos e redução da expressão de CD11b em linfócitos, mesmo quando os sintomas estavam em remissão. Essas alterações nos componentes da imunidade inata podem colocar esses indivíduos em maior risco de adquirir infecções.

© 2016 Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondência.

E-mail: rodolfo.pessa@hotmail.com (R.P. Timóteo).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2015.12.001>

0482-5004/© 2016 Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Characterization of inflammatory markers associated with systemic lupus erythematosus patients undergoing treatment

A B S T R A C T

Keywords:

Systemic lupus erythematosus
Cytokines
Phagocytosis
Integrin
CXCR2

Objective: To characterize the inflammatory profiles of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) receiving standard treatment compared to healthy controls.

Patients and methods: Peripheral venous blood was collected from SLE patients (n = 14) and controls (n = 18) at enrollment. Blood samples were used for quantification, by flow cytometry, of CD11b (integrin) and CXCR2 expression surface antigen in neutrophils and lymphocytes, while cytokines were assayed in serum samples. Purified neutrophils were assayed by their ability to phagocytize human plasma-opsonized zymosan.

Results: Patients had a median (interquartile range) SLEDAI score of 1.0 (0 - 2.0) characteristic of patients in remission. IL-6 and IL-10 serum concentrations were significantly higher in the patient group compared to controls and the phagocytic index of circulating neutrophils was significantly reduced in patients compared to controls. The levels of IL-2, IL-5, IL-8 and TNF- α did not significantly differ between patients and controls. Flow cytometric analysis revealed that the CD11b expression levels were reduced in lymphocytes (but not in neutrophils) obtained from SLE patients, while surface expression of the chemokine receptor CXCR2 was similar in both neutrophils and lymphocytes.

Conclusion: SLE patients receiving standard treatment presented with elevated systemic levels of IL-6 and IL-10, reduced neutrophil phagocytic capacity, and reduced lymphocyte expression of CD11b even when symptoms were in remission. These alterations to innate immune components may put these individuals at a greater risk for acquiring infections.

© 2016 Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune que envolve anormalidades nos linfócitos T e B caracterizada pela perda de tolerância a autoantígenos nucleares e pela produção de autoanticorpos que causam inflamação e danos a múltiplos sistemas de órgãos.¹ Uma crescente variedade de anormalidades nas citocinas tem sido implicada tanto na patogênese do LES quanto nos marcadores secundários que refletem a desregulação imune.^{2,3}

Uma das características da inflamação crônica é a desregulação da rede de quimiocinas, incluindo alterações nos perfis de expressão do CXCR2 e CXCR3. O CXCR2 é um receptor acoplado à proteína G pertencente à família de quimiocina CXC que atua como um receptor para a IL-8 (CXCL8) e CXCL1, medeia o recrutamento de neutrófilos, a proliferação celular e a angiogênese.^{4,5}

A integrina CD11b/CD18 (Mac-1, receptor de complemento 3) é um receptor de superfície expresso por monócitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e subconjuntos de linfócitos B que se liga a diversos ligantes, incluindo membros da família ICAM, e ao fator do complemento iC3b. Está envolvida em processos imunológicos essenciais, incluindo o extravasamento de leucócitos e a fagocitose. Um polimorfismo de único nucleotídeo no domínio extracelular da integrina que resulta em uma alteração de aminoácidos representa um dos mais fortes fatores de risco genético associado ao LES humano.^{6,7}

A forma variante está associada à adesão celular reduzida a ICAM-1, ICAM-2 e iC3b e à fagocitose prejudicada. Isso sugere que esse polimorfismo (que afeta a remoção

eficiente de células apoptóticas) está associado à patologia da doença. Alterações na eficácia da fagocitose não estão restritas aos macrófagos CD11b+/CD18+, mas também a outras células fagocíticas, como os monócitos e os neutrófilos.⁷ Além disso, esse polimorfismo está associado à regulação deficiente das redes de citocinas inflamatórias possivelmente associadas à progressão da doença no LES.^{6,8}

O prejuízo na função leucocitária (i.e., monócitos e neutrófilos) observado em pacientes com LES os coloca em maior risco de adquirir infecções bacterianas associadas a elevadas taxas de morbidade e mortalidade.⁹ Além da redução na fagocitose de patógenos microbianos, a remoção prejudicada de células apoptóticas impacta negativamente na homeostase tecidual, através da exposição do sistema imune a componentes intracelulares que são pró-inflamatórios e imunogênicos e contribui, assim, para o desenvolvimento de inflamação crônica e doenças autoimunes.¹⁰

O tratamento com prednisolona falhou em modificar a expressão de CD11b em neutrófilos do sangue periférico de pacientes com colite ulcerativa comparado com controles.¹¹ Entretanto, a dexametasona foi capaz de inibir a expressão de membrana, mas não intracelular, de CD11b em eosinófilos de camundongos, associada a uma redução na quimiotaxia dessas células.¹² Considerando o polimorfismo em CD11b em pacientes com LES e um possível prejuízo induzido pelos corticoides na atividade funcional dos leucócitos, pacientes com LES sob tratamento podem estar suscetíveis a uma deficiência funcional nas células imunes circulantes.

O presente estudo teve como objetivo caracterizar ainda mais a resposta inflamatória apresentada por pacientes com LES em tratamento e comparar os níveis sistêmicos de

citocinas, a capacidade fagocítica dos neutrófilos e os perfis de expressão de CD11b e CXCR2 em neutrófilos e linfócitos de pacientes e controles.

Material e métodos

Pacientes

Mulheres encaminhadas pelo sistema público de saúde ao Ambulatório do Serviço de Reumatologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) foram prospectivamente diagnosticadas com LES de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Colégio Americano de Reumatologia e incluídas no estudo. As pacientes tinham diferentes tempos de início do LES e eram tratadas com corticoides e/ou hidroxiquina e/ou azatioprina. Determinou-se a gravidade da doença com o sistema de pontuação Sledai. Voluntárias saudáveis constituíram o grupo controle. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM e foi obtido um consentimento informado por escrito de todos os pacientes e controles.

Coleta de sangue

Foram coletadas amostras de sangue venoso periférico de pacientes e controles no ato da entrada no estudo. Em cada coleta eram retiradas duas amostras (5 mL cada) (com e sem 100 UI/mL de heparina). Os soros foram obtidos por meio da centrifugação ($180 \times g$) do sangue durante 15 min. As respectivas amostras de soro foram então coletadas e armazenadas a -70°C até o uso. Os ensaios foram feitos no Laboratório da Disciplina de Farmacologia e no Instituto de Pesquisa em Oncologia (IPON)/Disciplina de Ginecologia e Obstetria.

Quantificação dos níveis de citocinas séricas

Os níveis séricos de TNF- α , IL-2, IL-5, IL-6, IL-8 e IL-10 foram determinados por Elisa. Resumidamente, placas de microtitulação de 96 poços de fundo plano foram revestidas com anticorpos (1 a $3 \mu\text{g/mL}$ em $50 \mu\text{L}$ /poços) específicos para cada citocina em tampão de ligação e incubados durante a noite (4°C). As placas foram então lavadas com solução salina tamponada com fosfato e Tween-20 (PBST) e ligações não específicas foram bloqueadas com a incubação dos poços com PBS que continham 1% de albumina de soro bovino (BSA) ($100 \mu\text{L}$ /poço) durante 120 min a 37°C . As amostras e os padrões foram adicionados aos respectivos poços ($50 \mu\text{L}$ /poços) e incubados durante a noite (4°C). As placas foram lavadas com PBST, seguida pela adição do anticorpo monoclonal biotilado anticitocina apropriado. Depois de 1 h, as placas foram lavadas e foi adicionada avidina peroxidase (diluída em 1:5.000) a cada poço. Após 30 min, as placas foram lavadas e foi adicionado substrato ($100 \mu\text{L}$ o-fenilendiamina [OPD, Sigma, St. Louis, MO]). As placas foram subsequentemente incubadas à temperatura ambiente durante 15 min antes de se adicionar H_2SO_4 ($50 \mu\text{L}$, 1 M) a cada poço para interromper a reação; mensurou-se a densidade óptica a 490 nm com um leitor de placas (Multiskan MCC340 MKII, Flow Laboratories). Os dados são expressos em picogramas de citocina/mL

de soro. As concentrações de citocinas nas amostras de soro foram determinadas a partir das curvas padrão geradas.

Expressão de CD11b e CXCR2 por neutrófilos e linfócitos

Os níveis de expressão de CD11b e CXCR2 foram quantificados com o citômetro de fluxo FACSCalibur e o software CellQuestTM (Becton Dickinson, San José, CA). Foram usados o anticorpo anti-CD11b conjugado com PE, o anticorpo anti-CXCR2 conjugado com PE/Cy5 (BD Pharmingen, San Diego, CA) e anticorpos controle (IgG2b conjugada com PE ou PECy-5; BD Pharmingen, San Diego, CA). Foi feita aquisição de 10.000 eventos em todos os experimentos. Os dados são expressos com o número absoluto ou a porcentagem de neutrófilos e linfócitos positivos para a expressão de CD11b e expressão de CXCR2.

Teste de fagocitose

O índice de fagocitose de neutrófilos ($2 \times 10^6/\text{mL}$) coletados de pacientes com LES ou controles saudáveis foi avaliado pela sua capacidade de fagocitar zimosan opsonizado com plasma humano (10 partículas/célula) durante 1 h a 37°C (CO_2 5%). O índice fagocítico é expresso como se segue: porcentagem de células fagocíticas \times número de partículas interiorizadas.

Análise estatística

Foi feita com o software SigmaStat 2.03. A distribuição foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e as diferenças entre os dois grupos não pareados (pacientes com LES versus controles) foram determinadas com o teste t de Student ou o teste U de Mann-Whitney, de acordo com a distribuição normal ou não normal dos dados, respectivamente. A significância estatística foi fixada em $p \leq 0,05$.

Resultados

População de estudo

Foram incluídas no estudo 14 mulheres diagnosticadas com LES (tempo médio de doença \pm DP de $7,1 \pm 4,3$ anos), média de idade (\pm DP) de $40,6 \pm 9,6$ anos (variação de 24 a 55 anos) e 18 mulheres saudáveis, média de idade (\pm DP) de $35,3 \pm 9,8$ anos (variação de 26 a 55 anos) (tabela 1). A idade não diferiu entre pacientes e controles ($p = 0,132$, teste t de Student). A mediana (e intervalo interquartil) do Sledai foi de 1 (0-2), o que indica que o LES estava em remissão clínica. Em oito pacientes (57,2%), o escore no Sledai foi zero, três pacientes (21,4%) tiveram uma pontuação de 2, duas pacientes (14,3%) tiveram uma pontuação de 4 (atividade moderada) e uma paciente (7,1%) teve uma pontuação de 9 (atividade moderada) (tabela 1).

O tratamento recebido pelas pacientes com LES no momento da entrada no estudo é descrito na tabela 1. Três pacientes (21,4%) foram tratadas apenas com corticosteroides (prednisona ou prednisolona), 2/14 (14,3%) receberam hidroxiquina, 6/14 (42,9%) receberam corticoides e

Tabela 1 – Características e parâmetros da doença de pacientes com LES

Número de pacientes	14
Média de idade ± DP, anos	40,6 ± 9,6
Intervalo de idade	24-55
Sexo (feminino/masculino), n	14/0
Duração da doença (média ± DP), anos	7,1 ± 4,3
Tempo de doença, anos	1-15
Sledai, mediana (25-75%)	1,0 (0-2,0)
Sledai n (%)	
Zero	8 (57,2%)
2	3 (21,4%)
4	2 (14,3%)
9	1 (7,1%)
Tratamento, n (%)	
Corticoides	3 (21,4%)
Hidroxiquina	2 (14,3%)
Corticoides mais hidroxiquina	6 (42,9%)
Corticoides ou hidroxiquina mais azatioprina	3 (21,4%)

Tabela 2 – Concentrações séricas de citocinas (pg/mL) de pacientes com LES e controles

Citocinas (pg/mL)	Controles (n = 18)	Pacientes (n = 14)
IL-2	9,6 (5,3-19,1)	7,3 (6,5-12,8)
IL-5	11,6 (4,5-25,1)	4,4 (2,8-7,7)
IL-6	3,9 (2,6-5,2)	6,8 (5,2-8,5) ^a
IL-8	13,2 (11,5-23,6)	21,3 (17,2-31,3) ^b
IL-10	0,0 (0,0-4,5)	13,5 (0-17,2) ^c
TNF-α	0,0 (0,0-3,5)	1,3 (0,2-3,1)

Os dados estão expressos como medianas (intervalo interquartil).

^a p < 0,01.

^b p = 0,115 em comparação com o grupo controle (teste U de Mann-Whitney).

^c p < 0,05.

hidroxiquina e 3/14 (21,4%) fizeram uso de azatioprina além de corticoides ou hidroxiquina.

Concentrações séricas de citocinas

Os níveis séricos de citocinas foram quantificados em pacientes e controles. Os níveis séricos em medianas de TNF-α, IL-2 e IL-5 não diferiram significativamente entre os dois grupos (tabela 2). Os níveis de IL-8 estavam aumentados em pacientes com LES em comparação com os controles, mas os valores não foram estatisticamente significativos (p = 0,115). Contudo, as concentrações séricas de IL-6 (p < 0,01) e IL-10 (p < 0,05) estavam significativamente mais elevadas em pacientes com LES na entrada no estudo em comparação com os controles (tabela 2).

Expressão de CD11b e CXCR2 por neutrófilos e linfócitos

A expressão de superfície do CD11b e CXCR2 pelos neutrófilos e linfócitos coletados de pacientes (n = 14) e controles (n = 16) foi avaliada pela citometria de fluxo. O número absoluto de linfócitos coletados de pacientes com LES que expressam CD11b foi inferior em comparação com os níveis de

expressão observados nos controles (fig. 1C). Não houve diferença na expressão de CD11b por neutrófilos (fig. 1A e B). O número de células positivas para CXCR2 não diferiu nos neutrófilos (fig. 2A e B) nem linfócitos (fig. 2C e D) coletados de pacientes e controles.

Ensaio de fagocitose

Avaliou-se a capacidade dos neutrófilos coletados de pacientes (n = 14) e controles (n = 18) de fagocitar zimozan opsonizado. Os neutrófilos de pacientes com LES apresentaram um valor de mediana (intervalo interquartil) significativamente mais baixo no índice de atividade fagocítica, 178 (49-304) em comparação com os neutrófilos dos controles, 577 (209-1.131) (p = 0,017, Mann Whitney).

Discussão

O presente estudo identificou o perfil de citocinas inflamatórias de pacientes com LES submetidas a tratamento. Como esperado, todos os pacientes incluídos eram mulheres, já que o LES é nove vezes mais comum em mulheres do que em homens.¹ Foram detectados níveis séricos aumentados de IL-6 e IL-10 em pacientes com LES em comparação com os controles, embora os níveis de TNF-α, IL-2, IL-5 e IL-8 não tenham diferido entre os grupos.

O nucleossoma é um dos principais autoantígenos que podem ser detectados como um complexo no soro de pacientes com LES, com o potencial de ativar diretamente os neutrófilos.¹³ Isso foi confirmado ao se incubarem neutrófilos de indivíduos saudáveis com plasma obtido de pacientes com LES, que reagiram produzindo níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α, IL-6 e IL-8.¹⁴

A IL-6 é susceptível de estar envolvida na produção de autoanticorpos em pacientes com LES.³ Os dados apresentados neste estudo demonstraram níveis séricos significativamente elevados de IL-6 em pacientes com LES em comparação com os controles, o que concorda com outros estudos.^{15,16} Foi relatado que os níveis de IL-6 se correlacionam com os níveis de IL-12 e IL-23 observados no momento do diagnóstico de LES e após o tratamento com prednisona ter sido iniciado.¹⁵

Os níveis séricos de IL-8 estavam elevados em pacientes com lúpus, mas não de modo estatisticamente significativo. Os pacientes com LES com doença ativa ou inativa apresentam níveis elevados de proteínas quimioatrativas, incluindo IL-8, em comparação com os controles, independentemente do regime de tratamento farmacológico usado e do grau de danos teciduais.¹⁷ Os autores sugerem que o tratamento em longo prazo do LES com fármacos imunomoduladores convencionais falham em normalizar os níveis das principais proteínas quimioatrativas relacionadas com a imunidade inata e que um estado pró-inflamatório de base persiste em pacientes com LES.¹⁷

Concentrações sistêmicas elevadas de quimiocinas, como a IL-8, têm o potencial de induzir à dessensibilização do receptor e de tornar os leucócitos não responsivos à exposição subsequente.¹⁸ Os dados do presente estudo não identificaram diferenças nos níveis de expressão de CXCR2 nos neutrófilos ou linfócitos circulantes, talvez, em parte, porque os níveis

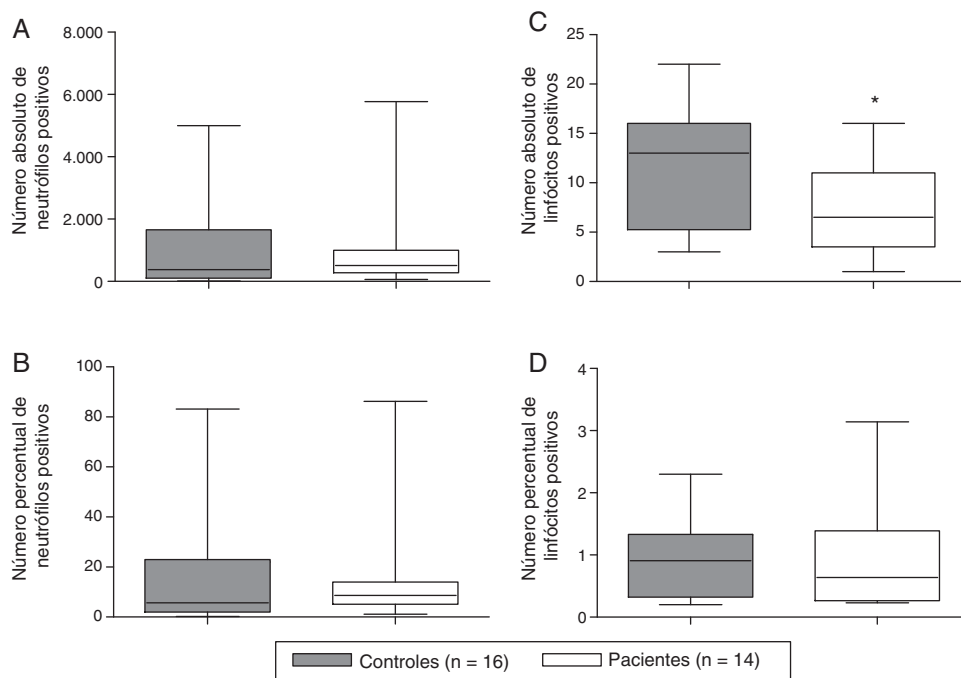


Figura 1 - Análise da expressão de CD11b. Os neutrófilos obtidos de controles (n = 16) e pacientes com LES (n = 14) sob tratamento foram analisados por citometria de fluxo. Mostram-se os números absolutos (painéis A e C) e as porcentagens (painéis B e D) de neutrófilos (painéis A e B) e linfócitos (painéis C e D) positivos para CD11b. Os percentis 25 e 75 são representados por uma barra centrada em torno da mediana. Os valores mínimo e máximo são representados por barras de erro.

* p < 0,05 em comparação com o respectivo controle (teste t de Student).

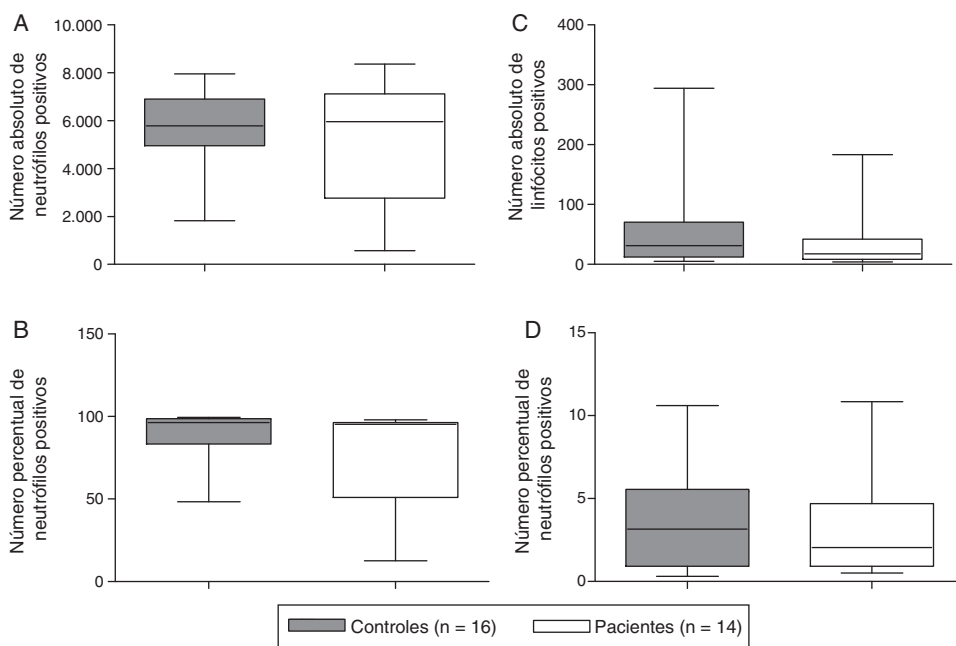


Figura 2 - Análise da expressão de CXCR2. Os neutrófilos obtidos de controles (n = 16) e pacientes com LES (n = 14) sob tratamento foram analisados por citometria de fluxo. Mostram-se os números absolutos (painéis A e C) e as porcentagens (painéis B e D) de neutrófilos (painéis A e B) e linfócitos (painéis C e D) positivos para CXCR2. Os percentis 25 e 75 são representados por uma barra centrada em torno da mediana. Os valores mínimo e máximo são representados por barras de erro.

séricos de IL-8 não alcançaram níveis significativos superiores nos pacientes em comparação com os controles. Contudo, outros estudos demonstraram que os neutrófilos de pacientes com LES tinham níveis de expressão do gene do CXCR2 diminuídos em comparação com os controles, o que leva à hiporresponsividade dos neutrófilos à IL-8 *in vitro*.⁵ Os níveis de expressão do CXCR2 nos linfócitos T estavam aumentados em pacientes com LES ativo em comparação com pacientes com doença inativa e controles saudáveis.⁴

O papel da IL-10 no LES é um tanto controverso. A IL-10 geralmente é considerada uma citocina anti-inflamatória e imunossupressora. No entanto, é superexpressada em pacientes com lúpus e, em alguns casos, relata-se que atua como uma molécula que promove o lúpus.² Diversos estudos demonstraram que os níveis de IL-10 no soro/plasma estavam significativamente aumentados em pacientes com LES em comparação com os controles,¹⁹ como encontrado no presente estudo.

Níveis aumentados de IL-10 têm sido correlacionados à atividade da doença ou à produção de autoanticorpos que podem contribuir para a patogênese do LES¹⁹ e/ou modular a diferenciação e a função das células dendríticas. As células dendríticas derivadas de monócitos ativadas por soro de pacientes com LES, ou após a exposição à IL-10 exógena, tinham níveis reduzidos de expressão de antígenos leucocitários humanos (HLA)-DR e apresentavam capacidade prejudicada de estimular a proliferação de linfócitos T alogênicos.²⁰

As células que expressam um polimorfismo em CD11b apresentam aumento na produção de IL-6 em comparação com as células sem polimorfismo; esse polimorfismo genético resultou em uma isoforma da integrina incapaz de mediar a adesão celular via interações com ICAMs ou iC3b.⁶ Os dados do presente estudo mostraram que o perfil de expressão do CD11b nos neutrófilos foi semelhante entre pacientes com LES e controles; no entanto, um menor número absoluto de linfócitos de pacientes com LES expressou CD11b. Essa deficiência pode levar ao mau funcionamento do sistema imunológico e contribuir para o desenvolvimento de LES.⁶

O presente estudo também detectou que o índice fagocítico dos neutrófilos estava reduzido em pacientes com LES em comparação com os controles; esse achado, associado à redução na expressão de CD11b, pode colocar esses indivíduos em um risco maior de desenvolver infecções. A exposição contínua a nucleossomos pode explicar, em parte, a redução observada na atividade funcional de PMNs isolados de pacientes com LES, bem como nas contagens de PMN reduzidas e no estado geral de inflamação observado nesses indivíduos.¹⁴ Foi relatado que os pacientes com lúpus que apresentavam neutrófilos circulantes de baixa densidade têm um potencial fagocítico alterado, apesar de seu fenótipo pró-inflamatório (definido por seu perfil de citocinas).²¹

Um estudo que comparou a função dos neutrófilos entre pacientes com LES de início pediátrico e indivíduos saudáveis mostrou que, independentemente do estado da infecção, medicação e gravidade da doença, os pacientes com LES tinham uma capacidade diminuída de fagocitar lipopolissacarídeos específicos da *Salmonella* em comparação com os controles.⁹ Além disso, macrófagos isolados de pacientes com LES não tratado fagocitaram neutrófilos apoptóticos de modo menos eficaz do que os neutrófilos coletados de doadores

saudáveis,¹⁰ o que pode contribuir para o desenvolvimento de inflamação crônica e autoimunidade.

É importante citar que os resultados do presente estudo mostram, em um mesmo momento no tempo, alterações associadas nos parâmetros da resposta imune inata, mesmo quando os pacientes com LES tinham majoritariamente doença inativa, o que aponta para um potencial mecanismo para a susceptibilidade a infecções. Mas uma limitação do presente estudo é o pequeno número de pacientes estudados. Além disso, embora a maioria dos pacientes tivesse doença em remissão, o desenho do estudo não avaliou o papel específico da atividade da doença no perfil inflamatório dos pacientes. Outras pesquisas, com uma amostra maior de pacientes e com grupos de pacientes com o mesmo grau de atividade da doença, possibilitariam uma comparação mais precisa dos resultados.

Em conclusão, os pacientes com LES que recebiam tratamento imunossupressor apresentaram níveis sistêmicos elevados de IL-6 e IL-10, redução na capacidade fagocítica dos neutrófilos e redução na expressão de CD11b pelos linfócitos. Esses achados associados estavam presentes mesmo quando os sintomas estavam majoritariamente em remissão, o que sugere que essas alterações nos componentes imunológicos inatos podem colocar esses indivíduos em um risco maior de desenvolver infecções.

Financiamento

Financiadora de Estudos e Projetos (Finep), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (Funepu).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Liu Z, Davidson A. Taming Lupus – a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. *Nat Med.* 2012;18:871–82.
2. Clark DN, Markham JL, Sloan CS, Poole BD. Cytokine inhibition as a strategy for treating systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2013;148:335–43.
3. Ding HJ, Gordon C. New biologic therapy for systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Pharmacol.* 2013;13:405–12.
4. Eriksson C, Eneslätt K, Ivanoff J, Rantapää-Dahlqvist S, Sundqvist KG. Abnormal expression of chemokine receptors on T-cells from patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2003;12:766–74.
5. Hsieh SC, Wu TH, Tsai CY, Li KJ, Lu MC, Wu CH, et al. Abnormal *in vitro* CXCR2 modulation and defective cationic ion transporter expression on polymorphonuclear neutrophils responsible for hyporesponsiveness to IL-8 stimulation in patients with active systemic lupus erythematosus. *Rheumatol.* 2008;47:150–7.
6. MacPherson M, Lek HS, Prescott A, Fagerholm SC. A systemic lupus erythematosus-associated R77H substitution in the

- CD11b chain of the Mac-1 integrin compromises leukocyte adhesion and phagocytosis. *J Biol Chem.* 2011;286:17303-10.
7. Fossati-Jimack L, Ling GS, Cortini A, Szajna M, Malik TH, McDonald JU, et al. Phagocytosis is the main CR3-mediated function affected by the lupus-associated variant of CD11b in human myeloid cells. *PLoS One.* 2013;8(2):e57082.
 8. Fagerholm SC, MacPherson M, James MJ, Sevier-Guy C, Lau CS. The CD11b-integrin (ITGAM) and systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2013;22:657-63.
 9. Wu SA, Yeh KW, Lee WI, Yao TC, Kuo ML, Huang B, et al. Impaired phagocytosis and susceptibility to infection in pediatric-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2013;22:279-88.
 10. Majai G, Kiss E, Tarr T, Zahuczky G, Hartman Z, Szegedi G, et al. Decreased apoptophagocytic gene expression in the macrophages of systemic lupus erythematosus patients. *Lupus.* 2014;23:133-45.
 11. Yoshiyama S, Miki C, Okita Y, Araki T, Uchida K, Kusunoki M. Neutrophil-related immunoinflammatory disturbance in steroid-overdosed ulcerative colitis patients. *J Gastroenterol.* 2008;43:789-97.
 12. Lim LH, Flower RJ, Perretti M, Das AM. Glucocorticoid receptor activation reduces CD11b and CD49d levels on murine eosinophils: characterization and functional relevance. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000;22:693-701.
 13. Rönnefarth VM, Erbacher AI, Lamkemeyer T, Madlung J, Nordheim A, Rammensee HG, et al. TLR-2/TLR-4-independent neutrophil activation and recruitment upon endocytosis of nucleosomes reveals a new pathway of innate immunity in systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2006;177:7740-9.
 14. Lindau D, Rönnefarth V, Erbacher A, Rammensee HG, Decker P. Nucleosome-induced neutrophil activation occurs independently of TLR-9 and endosomal acidification: Implications for systemic lupus erythematosus. *Eur J Immunol.* 2011;41:669-81.
 15. Qiu F, Song L, Yang N, Li X. Glucocorticoid downregulates expression of IL-12 family cytokines in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus.* 2013;22:1011-6.
 16. Rodríguez-Carrio J, Prado C, de Paz B, López P, Gómez J, Alperi-López M, et al. Circulating endothelial cells and their progenitors in systemic lupus erythematosus and early rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol.* 2012;51:1775-84.
 17. Vega L, Barbado J, Almansa R, González-Gallego R, Rico L, Jimeno A, et al. Prolonged standard treatment for systemic lupus erythematosus fails to normalize the secretion of innate immunity-related chemokines. *Eur Cytokine Netw.* 2010;21:71-6.
 18. Raghuvanshi SK, Su Y, Singh V, Haynes K, Richmond A, Richardson RM. The chemokine receptors CXCR1 and CXCR2 couple to distinct G protein-coupled receptor kinases to mediate and regulate leukocyte functions. *J Immunol.* 2012;189:2824-32.
 19. Peng H, Wang W, Zhou M, Li R, Pan HF, Ye DQ. Role of interleukin-10 and interleukin-10 receptor in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2013;32:1255-66.
 20. Sun Z, Zhang R, Wang H, Jiang P, Zhang J, Zhang M, et al. Serum IL-10 from systemic lupus erythematosus patients suppresses the differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *J Biomed Res.* 2012;26:456-66.
 21. Knight JS, Kaplan M. Lupus neutrophils: 'NET' gain in understanding lupus pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol.* 2012;24:441-50.