



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

LÚPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO CANINO: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA A PROPÓSITO  
DE UM CASO CLÍNICO

Rita Tatiana da Conceição Pascoal

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Manuel Morgado Tavares  
Doutor José Paulo Pacheco de Sales Luís  
Doutor José Henrique Duarte Correia

ORIENTADOR

Doutor José Paulo Pacheco de Sales Luís

2010

LISBOA

---

## **Agradecimentos**

Ao Professor Sales Luís, por ser um exemplo de humildade, profissionalismo, dedicação à profissão e paciência. Por me ter acompanhado ao longo deste ano, quer na transmissão de conhecimentos e valores, quer na redacção desta dissertação.

À Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Carvalho, por tão bem me ter recebido, por todos os conselhos e ensinamentos que me deu e pela paciência e vontade de nos tornar bons profissionais que sempre demonstrou.

À Anabela e à Olinda, por todo o carinho, pela simpatia e companhia.

À Dr.<sup>a</sup> Mafalda Lourenço Martins, ao Professor Luís Tavares e à Professora Conceição Peleteiro, pela disponibilidade e preciosa ajuda.

A todos os editores e autores a quem pedi artigos e permissões e que gentilmente mos cederam.

À Dr.<sup>a</sup> Joana Gonçalves da AZP, por tão pronta e simpaticamente me ter fornecido o historial clínico do Bono.

Ao Sr. Jorge Miguel, pela paciência e por ter sido uma ajuda fundamental na recolha de informações; ao Bono, por nunca se ter queixado, quer se tratasse do tratamento ou de uma sessão fotográfica.

Às várias versões da Mokiti Okada e da Roger Schütz por onde passei. Ao Bruno, à Samanta e à Andreia, com quem fiz, pensei e vivi. À Mizé, cujas palavras, mesmo noutra contexto, às vezes eram mesmo o que eu precisava de ouvir.

Ao Rui, pelo acesso à Biblioteca da FMUL, por partilharmos incertezas, planos e recordações, pelos almoços e pelas conversas que mataram e trouxeram saudades.

À VETuna, por ser do que melhor existe na FMV e a minha segunda casa em Lisboa.

À Sofia, por ter feito caminho a meu lado nestes anos e por tudo o que isso implicou, por dividir comigo frustrações, alegrias e parvoíces. Por ter estado lá sempre que pensei “Não me devia ter metido nisto!” e por ser também responsável por todos os “Nem acredito que correu bem!”.

À Natalina, companheira de estágio, de êxitos e decepções, por 6 meses muito, muito bem passados e pelas aventuras vividas nos 5 anos anteriores.

À Maria, à Mimi, à Jessica e à Tânia, pela companhia em todos os momentos.

Ao Jorge, por me deixar partilhar com ele dúvidas e pelos conselhos. Mas principalmente por ser o meu maninho mais novo e mesmo assim um exemplo.

Aos meus avós, que me recebem sempre como se tivesse passado um ano fora de casa. À minha tia Lena, que ficou tão ou mais entusiasmada que eu quando entrei na FMV. Aos meus tios Mido e São, que me acolheram durante dois anos.

Aos meus Pais, principais responsáveis em todos os aspectos por eu ter chegado até aqui.

## Resumo

### **Lúpus Eritematoso Sistémico canino: revisão bibliográfica a propósito de um caso clínico**

O lúpus eritematoso sistémico (LES) é considerado o protótipo das doenças autoimunes sistémicas e, devido à diversidade de sintomas que podem estar presentes, é conhecido como “o grande imitador”.

A etiologia da doença é desconhecida, mas actualmente é atribuído um papel importante às alterações do sistema imunitário, à componente genética e a diversos factores externos.

Apesar de na doença humana se verificar uma susceptibilidade relacionada com o sexo feminino, nos cães isto não parece acontecer, sendo afectados de modo idêntico ambos os sexos. O paciente típico tem cerca de 5 anos de idade e existem algumas raças com maior predisposição para a doença, como o Pastor Alemão, o Pastor de Shetland, o Galgo Afegão e o Beagle, entre outros.

O LES caracteriza-se principalmente por uma reacção de hipersensibilidade do tipo III, com formação de autoanticorpos, dirigidos principalmente a material nuclear, e complexos imunes. A deposição dos imunocomplexos nos diferentes órgãos é a principal responsável pela sintomatologia, sendo mais frequentemente afectados os rins, a pele e as articulações e existindo normalmente períodos de remissão e períodos em que a doença está mais activa.

Não existe um teste 100% específico para o LES canino e as alterações clínicas e laboratoriais não são exclusivas da doença. Como tal, deverão ser seguidos alguns critérios, adaptados da doença humana, a fim de se fazer o diagnóstico definitivo.

O tratamento do LES é baseado principalmente em medicação immunosupressiva, principalmente glucocorticóides. No entanto, na maior parte dos casos o manejo clínico é difícil e torna-se necessária a adição de outros fármacos. Na última década têm sido feitos progressos relacionados com a terapia molecular e celular, que podem trazer alguns benefícios, principalmente no que respeita aos efeitos secundários adversos do tratamento immunosupressivo a longo prazo.

O prognóstico da doença é sempre reservado, já que depende dos órgãos envolvidos e da resposta à terapêutica. Devido à natureza complexa da doença, é necessário um acompanhamento próximo e frequente do paciente.

**Palavras-chave:** lúpus eritematoso sistémico, canídeos, autoimunidade, anticorpos anti-nucleares, glucocorticóides



## **Abstract**

### **Canine Systemic Lupus Erythematosus: bibliographic review regarding one clinical case**

Systemic lupus erythematosus (SLE) is considered to be the prototype of the systemic autoimmune diseases and, due to the diversity of symptoms among patients, it has been called “the great imitator”.

Although the aetiology of the disease is unknown, a role is credited to immune system alterations, genetic factors and several external causes.

Despite an increased susceptibility related to gender – women being affected more frequently – in the human disease, this doesn't seem to be the case in dogs, as both genders are equally affected. The typical patient is around 5 years old and there are some predisposed breeds, namely German Shepherd, Shetland Sheepdog, Afghan Hound and Beagle, among others.

SLE is characterized essentially by a type III hypersensitivity reaction, with autoantibodies, directed largely to nuclear components, and antigen-antibody complexes formation. Symptoms are mainly caused by immune complex deposition in different organs, kidneys, skin and joints being the most affected ones, and usually there are periods of relapse and periods of remission.

As there is not a completely specific test for canine SLE and the clinical and laboratory aspects are not disease exclusive, when trying to achieve a definitive diagnosis there are some diagnostic criteria that should be followed, these being adapted from the human disease.

Treatment is based essentially on immunosuppressive drugs, mostly glucocorticoids. However, in most cases, clinical management of the disease is difficult and it becomes necessary to add more drugs. In the last decade progress has been made regarding cellular and molecular therapy. These may bring some benefits, especially concerning the adverse effects of long-term therapy with immunosuppressive medication.

The prognosis of SLE is always guarded, as it depends on the affected organs and response to therapy. Due to the complex nature of the disease, a close and frequent monitoring of the patient is necessary.

**Keywords:** systemic lupus erythematosus, dogs, autoimmunity, antinuclear antibodies, glucocorticoids



## Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo .....	iii
Abstract .....	v
Lista de Figuras .....	x
Lista de Gráficos.....	xi
Lista de Tabelas .....	xii
Lista de abreviaturas.....	xiii
Capítulo I – Introdução.....	1
Capítulo II – O estágio curricular no Instituto Veterinário do Parque .....	2
1 – O Instituto Veterinário do Parque .....	2
2 – Actividades desenvolvidas durante o estágio no IVP e casuística .....	2
Capítulo III – Lúpus Eritematoso Sistémico Canino .....	10
1 – Autoimunidade e Hipersensibilidade – perspectiva geral.....	10
2 – Etiopatogénese .....	13
2.1 – Alterações na imuno-regulação.....	13
2.1.1. – A activação dos linfócitos .....	13
2.1.2 – Anticorpos anti nucleares e outros autoanticorpos .....	19
2.1.3 - Apoptose.....	22
2.1.4 - Citocinas .....	23
2.1.4.1 – IL-2 .....	24
2.1.4.2 – IL-6 .....	25
2.1.4.3 – IL-10 .....	25
2.1.4.4 – IL-17/ IL-23 .....	26
2.1.4.5 – IFN- $\gamma$ .....	27
2.1.4.6 – Factor de Necrose Tumoral $\alpha$ .....	27
2.2 – Genética .....	28
2.3 – Factores externos .....	30
2.3.1 – Radiação ultravioleta .....	30
2.3.2 – Agentes infecciosos.....	31

2.3.3 - Vacinação .....	32
2.3.4 - Fármacos .....	32
3 – Prevalência.....	33
4 – Sinais clínicos e laboratoriais .....	34
5 – Diagnóstico.....	38
5.1 – Corpos LES e Células LE.....	39
5.2 - Teste de AAN .....	40
5.3 - Critérios de diagnóstico .....	43
5.4 – Biópsia cutânea, histopatologia e imunohistoquímica .....	45
6 – Terapêutica .....	46
6.1 – Imunoterapia .....	46
6.1.1 – Glucocorticóides .....	47
6.1.2 – Azatioprina .....	48
6.1.3 – Ciclofosfamida e Clorambucil .....	50
6.1.4 – Ciclosporina e Tacrolimus .....	51
6.1.5 – Levamisole .....	52
6.2 – Alternativas não médicas .....	53
6.2.1 – Plasmaferese .....	53
6.3 – Abordagens terapêuticas recentes.....	54
6.3.1 – Terapia molecular.....	55
6.3.1.2 – Dirigida aos linfócitos .....	55
6.3.1.3 – Dirigida a citocinas .....	56
6.3.2 – Terapia celular.....	56
6.3.2.1 – Transplante de células estaminais hematopoiéticas.....	57
6.3.2.2 – Transplante de células estaminais mesenquimatosas.....	58
6.4 – Terapia complementar .....	58
7 – Monitorização e seguimento .....	59
8 – Prognóstico .....	59
Capítulo IV – LES canino: discussão de um caso clínico .....	61
1 – Apresentação do caso “Bono” .....	61
1.1 – História pregressa e ambiente familiar .....	61
1.2. – Historial clínico .....	61
1.3 – Exames realizados.....	66

2 – Discussão.....	69
Capítulo V – Conclusões .....	75
Referências Bibliográficas .....	76
Anexos .....	90
Anexo I – Critérios revistos de 1982 para o diagnóstico de LES propostos pela AAR .....	90
Anexo II – Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) .....	91

## Lista de Figuras

Figura 1 - Reacção de hipersensibilidade de tipo III (adaptado de Prescott et al., 2005).....	12
Figura 2 - Dispersão de epitopos (adaptado de Shlomchik et al., 2001).....	17
Figura 3 - Ciclo de feedback positivo que poderá estar na origem do LES. Os linfócitos B são representados a vermelho e os linfócitos T a cor de laranja (adaptado de Shlomchik et al., 2001). .....	19
Figura 4 - Árvore genealógica da colónia criada por Monier e colaboradores. Os círculos representam as fêmeas e os quadrados os machos; o preenchimento a preto indica presença de sinais clínicos de LES e de AAN e o preenchimento a cinzento indica presença de AAN (adaptado de Monier et al., 1988). .....	29
Figura 5 - Poliartrite com tumefacção articular num cão com LES (Chabanne et al., 1995b, com autorização). .....	35
Figura 6 - Eritema e ulceração nas regiões inguinal e escrotal de um cão com LES (Chabanne et al., 1999a, com autorização).....	36
Figura 7 - Crostas na orelha e no focinho de um Pastor Alemão com LES (Chabanne et al., 1999a, com autorização).....	36
Figura 8 - Duas células LE (setas) de um cão com LES (Tizard, 2004, com autorização)....	39
Figura 9 - Teste IFI positivo em HEp-2 a mostrar a presença de AAN com padrão homogéneo num soro de um cão com LES (Gershwin, 2007, com autorização).....	41
Figura 10 – Teste IFI positivo em HEp-2 a mostrar a presença de AAN com padrão reticulado num cão com LES; ampliação x 40 (Chabanne et al., 1995b, com autorização)..	42
Figura 11 - Imunofluorescência que revela deposição de IgG na junção derme-epiderme (seta fina) e uma célula mononuclear na derme com IgG citoplasmática (seta espessa) numa biópsia cutânea de um cão com LES (Gershwin, 2007, com autorização). .....	46
Figura 12 - Representação esquemática do processo de plasmaferese-imunoadsorção. Redesenhado a partir de Matus et al., 1983.....	53
Figura 13 – Consulta no dia 23 de Novembro de 2009. Tumefacção na zona do carpo do membro direito (original). .....	63

Figura 14 – Consulta no dia 23 de Novembro de 2009. Lesão eritematosa na região inguinal - vista geral (A) e vista mais detalhada (B) (original).....	63
Figura 15 - Consulta a 27 de Abril de 2010. Zona inguinal do Bono, com melhorias evidentes em relação à consulta de 23 de Novembro (foto gentilmente cedida por Mariana Pereira)..	64
Figura 16 - Consulta no dia 27 de Abril de 2010. Verifica-se a descoloração no focinho do Bono e algum eritema (foto gentilmente cedida por Mariana Pereira).....	65
Figura 17 - Consulta a 27 de Abril de 2010. Aspecto geral do Bono (foto gentilmente cedida por Mariana Pereira).....	65
Figura 18 – Resultados da biópsia ao focinho do Bono. Nota-se a presença de uma pústula intracorneal com detritos no interior e de uma infiltração inflamatória intensa na junção derme-epiderme, bem como a hiperplasia paraqueratótica e a incontinência pigmentar. H&E, ampliação x 100 (foto gentilmente cedida pelo VetPat).....	67
Figura 19 – Resultados da biópsia ao focinho do Bono. Nota-se a presença de infiltrado inflamatório intenso na junção derme-epiderme. H&E, ampliação x 200 (foto gentilmente cedida pelo VetPat). .....	67

## **Lista de Gráficos**

Gráfico 1- Distribuição dos animais observados de acordo com a espécie (frequência relativa, n=979).....	3
Gráfico 2 - Distribuição dos felídeos observados de acordo com o género (frequência relativa, n=269).....	3
Gráfico 3 - Distribuição dos canídeos observados de acordo com o género (frequência relativa, n=710).....	3
Gráfico 4 - Distribuição dos canídeos de acordo com a idade (frequência absoluta, n=710)..	4
Gráfico 5 - Distribuição dos felídeos de acordo com a idade (frequência absoluta, n=269)....	4
Gráfico 6 - Consultas de seguimento e referência (frequência relativa, n=1434). .....	7

Gráfico 7 - Distribuição do tipo de consulta de acordo com a espécie (frequência absoluta, n=1434). .....	8
Gráfico 8 - Distribuição das consultas de especialidade de acordo com a espécie (frequência absoluta, n=1167). .....	8
Gráfico 9 - Distribuição do tipo de cirurgia de acordo com a espécie (frequência absoluta, n=173). .....	9

## **Lista de Tabelas**

Tabela 1 - Raças dos canídeos observados (frequência absoluta, n=710). .....	5
Tabela 2 - Raças dos felídeos observados (frequência absoluta, n=269). .....	7
Tabela 3 - Exames complementares realizados no IVP de acordo com a espécie. ....	7
Tabela 4 - Presença de AAN em canídeos de 3 grupos distintos (frequência relativa) (adaptado de Monier et al., 1992). .....	20
Tabela 5 - Tipos de AAN detectados em cães com LES (frequência relativa) (adaptado de Fournel et al., 1992 e Chabanne et al., 1995b). .....	20
Tabela 6 - Manifestações clínicas e laboratoriais de LES em canídeos (frequência relativa, n=75) (adaptado de Fournel et al., 1992). .....	34
Tabela 7 - Sinais maiores e menores utilizados no diagnóstico de LES canino. ....	44
Tabela 8 - Critérios para o diagnóstico de LES canino, adaptados dos critérios da AAR para a doença humana (adaptado de Chabanne et al., 1999b). .....	44
Tabela 9 - Resultados do hemograma realizado a 6 de Agosto de 2009. ....	66
Tabela 10 - Resultados das análises bioquímicas realizadas a 6 de Agosto de 2009. ....	66
Tabela 11 – Resultados do hemograma realizado a 17 de Agosto de 2009. ....	68

## Lista de abreviaturas

- AAN – anticorpos anti-nucleares  
AAR – Associação Americana de Reumatologia  
ADN – ácido desoxirribonucleico  
AINE – anti-inflamatórios não esteróides  
ALP – *alkaline phosphatase* (fosfatase alcalina)  
ALT – alanina aminotransferase  
ANE – antígenos nucleares extraíveis  
AZP – Associação Zoófila Portuguesa  
(°)C – (grau) centígrado  
CAA – célula apresentadora de antígenos  
CEM – células estaminais mesenquimatosas  
CMH – Complexo Maior de Histocompatibilidade  
dL - decilitro  
DLA – *dog leucocyte antigen*  
ECG – Electrocardiograma  
fl – fentolitro  
g – grama  
GC – glucocorticóides  
H&E – hematoxilina-eosina  
HEp-2 – *human epithelial 2*  
HMG – *high mobility group*  
hnRNP – *heterogeneous nuclear ribonucleoprotein* (ribonucleoproteína nuclear heterogénea)  
ICAM – *intercellular adhesion molecule*  
IFI – Imunofluorescência indirecta  
IFN – interferão  
Ig - imunoglobulina  
IL – Interleucina  
IPR – índice de produção de reticulócitos  
IVP – Instituto Veterinário do Parque  
kDa – quiloDalton  
kg – quilograma  
L - litro  
LES – Lúpus Eritematoso Sistémico  
LIF – lúpus induzido por fármacos  
*lpr* – linfoproliferação  
mg – miligrama

mm - milímetro  
MRL – *Murphy Roth Large*  
NZB – *New Zealand Black*  
NZW – *New Zealand White*  
pg – picrograma  
RNP - ribonucleoproteína  
RTL – Receptores *Toll-like*  
SLEDAI – *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*  
Sm – Smith  
SMF – Sistema Mononuclear Fagocitário  
snRNP – *small nuclear ribonucleoprotein* (ribonucleoproteína nuclear pequena)  
SRD – sem raça determinada  
SS – síndrome de Sjögren  
TCEH – transplante de células estaminais hematopoiéticas  
TDN – T duplamente negativas  
TGF – *tumor growth factor*  
Th – *T helper*  
TNF – *tumor necrosis factor* (factor de necrose tumoral)  
Treg – *T regulatory*  
TRAIL – *TNF-related apoptosis-inducing ligand*  
TWEAK – *TNF-like weak inducer of apoptosis*  
U - unidades  
UI – unidades internacionais  
UV – ultravioleta  
ZMB – zona da membrana basal  
 $\mu\text{g}$  – micrograma  
 $\mu\text{L}$  – microlitro

## Capítulo I – Introdução

Com o término do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária é apresentada ao aluno a oportunidade de aprofundar os seus conhecimentos teóricos e práticos dentro de uma área das Ciências Veterinárias, quer através do Estágio Curricular, quer através da posterior elaboração de uma dissertação, que deverá estar em sintonia com e ter como base a natureza do estágio.

Durante todo o percurso académico tive contacto com as diferentes áreas de intervenção do Médico Veterinário e fui adquirindo conhecimentos e competências em todas elas, o que me permitiu avaliar as minhas opções e definir uma área de interesse pessoal, onde desejasse aprofundar as capacidades que o curso me facultou. Assim nasceu o gosto pela Clínica de Pequenos Animais e, perante as diferentes ofertas de locais para realizar o estágio, a escolha recaiu naturalmente sobre o Instituto Veterinário do Parque (IVP), quer pelas opiniões positivas que obtive através de colegas mais velhos que também lá estagiaram, quer pela oportunidade de ser orientada pelo Professor Doutor José Paulo Sales Luís, profissional de renome e com grande capacidade de ensino. Para além disso, o IVP apresenta também uma casuística relevante na vertente de Patologia Cirúrgica, outra área de interesse pessoal.

A escolha do tema desta dissertação foi baseada não tanto na casuística observada ao longo do estágio nem no facto de esta ser uma doença com importância e prevalência muito significativas, mas principalmente na curiosidade em saber mais sobre o Lúpus Eritematoso Sistémico (LES) canino, precisamente por ser bastante invulgar e pelo facto de, a meu ver, a dissertação de Mestrado, para além de uma oportunidade de aprofundar conhecimentos num determinado tema, ser também uma possibilidade de aprender sobre um assunto ao qual não foi dado muito relevo durante os cinco anos de curso.

Como tal, o que se pretende com este trabalho é aprender mais sobre esta doença, principalmente em termos clínicos e laboratoriais, etiologia, tratamento e prognóstico.

Esta dissertação será assim composta por uma parte inicial, na qual são descritas as actividades desenvolvidas ao longo do estágio curricular no IVP e feita a análise estatística da casuística observada, seguida pelo desenvolvimento do tema através de uma revisão bibliográfica onde serão apresentados os aspectos relevantes do LES e pela apresentação e discussão do caso clínico que está na origem da escolha deste tema.

## **Capítulo II – O estágio curricular no Instituto Veterinário do Parque**

### **1 – O Instituto Veterinário do Parque**

O IVP é uma clínica médico-veterinária localizada na Rua Castilho, nº 61, na cidade de Lisboa e está aberta ao público de segunda-feira a sábado. Durante os dias da semana o atendimento é feito entre as 11 horas e as 13 horas e entre as 15 horas e as 20 horas. Aos sábados o horário de funcionamento está reduzido e são recebidos pacientes apenas na parte da manhã, entre as 10 horas e as 13 horas.

Para além do acompanhamento a pacientes habituais, o IVP fornece também um serviço de referência na área da Patologia Médica e da Patologia Cirúrgica, recebendo animais encaminhados de todo o território nacional. Assim se justifica o constante interesse dos alunos em estagiarem lá, visto ser de facto uma boa oportunidade para fazer o acompanhamento de casos muito interessantes e, por vezes, não tão comuns.

O corpo clínico do IVP é composto pelo Professor Doutor José Paulo Sales Luís e pela Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Carvalho, que são auxiliados por duas funcionárias, a D. Olinda e a D. Anabela. Normalmente a clínica recebe 4 estagiários por ano.

O IVP é composto por diversas divisões: duas salas de espera, uma sala de realização de Electrocardiograma (ECG), um consultório que funciona também como sala de Ecografia, uma sala de cirurgia, uma sala de recuperação cirúrgica e internamento, uma sala de tosquias e outras divisões de apoio. O IVP possui dois ecógrafos, um deles com Doppler a cores, e um electrocardiógrafo.

Para complementar os resultados obtidos com os meios de diagnóstico existentes na clínica, o IVP trabalha com o Laboratório de Análises Clínicas Dr. Reymão Pinto e com o departamento de Radiologia e o Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária.

O período de encerramento para o almoço permite que se crie um ambiente sem grandes perturbações, sendo por isso usado para a realização das intervenções cirúrgicas.

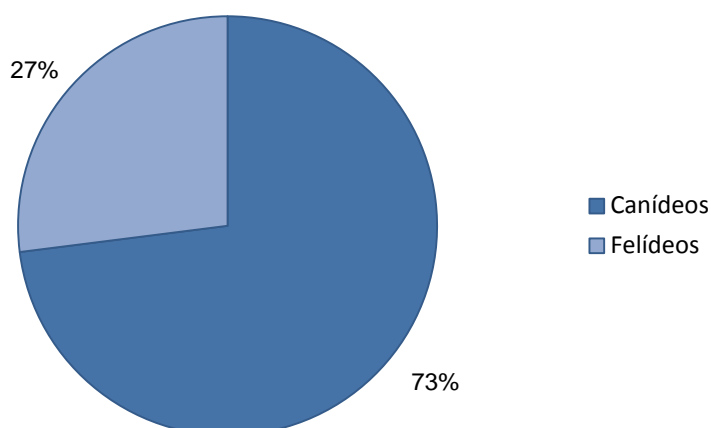
### **2 – Actividades desenvolvidas durante o estágio no IVP e casuística**

O estágio curricular no IVP teve uma duração de 24 semanas e decorreu entre os dias 7 de Setembro de 2009 e 27 de Fevereiro de 2010, tendo sido possível neste período assistir 981 animais.

O IVP está vocacionado para o acompanhamento de quaisquer animais de companhia mas recebe essencialmente canídeos e felídeos. Apesar de receber também animais exóticos, durante o período de estágio foram apresentados à consulta apenas um lagomorfo e um papagaio. Sendo a população de animais exóticos bastante diminuta, esta não será considerada para efeitos de estudo da casuística.

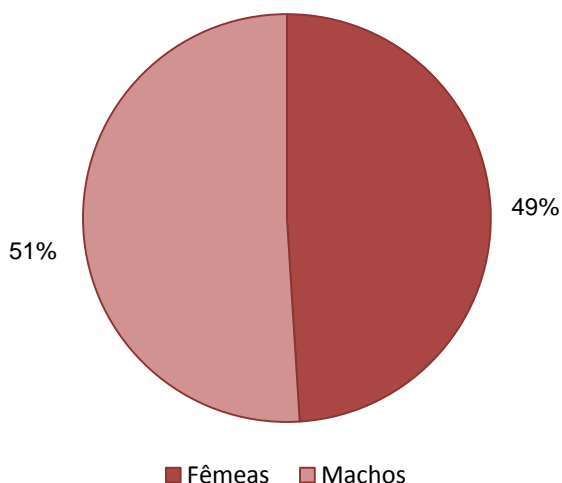
Foram atendidos 710 canídeos e 269 felídeos, que correspondem respectivamente a 73% e 27% da população observada (gráfico 1).

**Gráfico 1**- Distribuição dos animais observados de acordo com a espécie (frequência relativa, n=979).

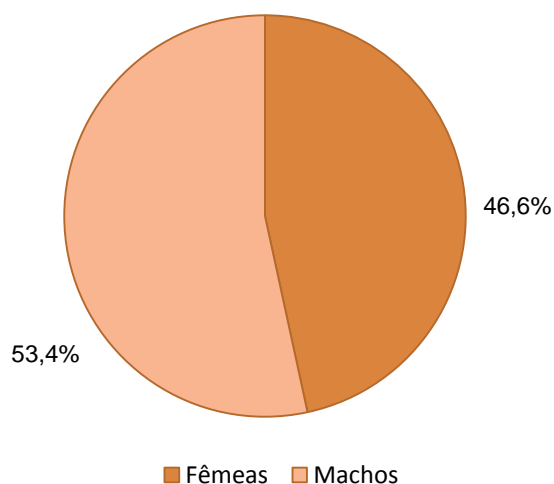


Em ambas as espécies foi observado um maior número de animais do sexo masculino, apesar de a diferença não ser significativa (gráficos 2 e 3).

**Gráfico 3** - Distribuição dos felídeos observados de acordo com o género (frequência relativa, n=269).

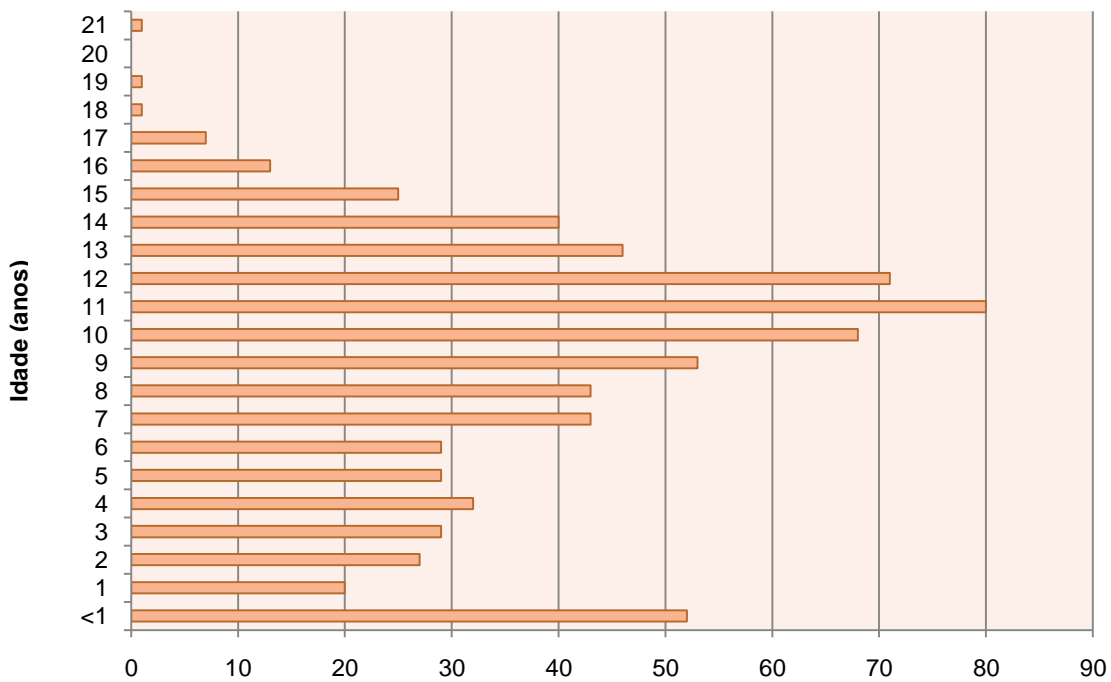


**Gráfico 2** - Distribuição dos canídeos observados de acordo com o género (frequência relativa, n=710).

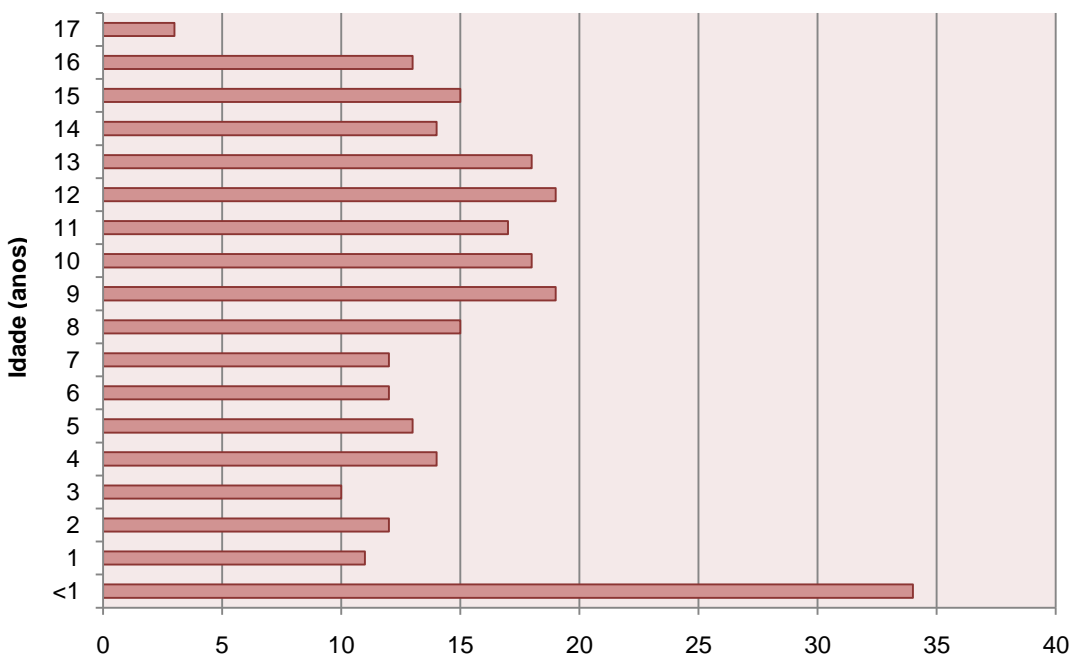


A idade dos pacientes variou entre 1 mês e 21 anos, sendo a idade média dos canídeos (8,5 anos) ligeiramente superior à dos felídeos (8 anos). É também de referir que grande parte dos canídeos que vieram à consulta tinha idades entre os 10 e os 12 anos, contrastando com o caso dos felídeos, em que grande parte dos animais não tinha ainda atingido o ano de idade (gráficos 4 e 5).

**Gráfico 4 -** Distribuição dos canídeos de acordo com a idade (frequência absoluta, n=710).



**Gráfico 5 -** Distribuição dos felídeos de acordo com a idade (frequência absoluta, n=269).



Da amostra populacional canina 34,6% (n = 246) não tinham raça determinada. Dentro dos animais de raça pura, as raças mais representadas foram o Caniche, o Cocker Spaniel, o Labrador Retriever, o Boxer e o Yorkshire Terrier (tabela 1).

**Tabela 1** - Raças dos canídeos observados (frequência absoluta, n=710).

<b>Raça</b>	<b>Número de animais</b>
Airedale Terrier	1
Basset Hound	3
Beagle	1
Bichon Maltês	9
Bobtail	1
Border Collie	1
Bouvier de Bernois	1
Boxer	48
Braco Alemão	3
Bouledog Francês	1
Bull Terrier	2
Bulldog Inglês	2
Caniche	56
Cão d' Água Português	7
Cão de Gado Transmontano	1
Cavalier King Charles	4
Chihuahua	4
Cocker Spaniel	53
Collie	1
Dálmata	8
Doberman	5
Dogue de Bordéus	2
Epagneul Breton	4
Flat Coated Golden Retriever	1
Fox Terrier	3
Galgo Afegão	1
Golden Retriever	22
Grand Danois	7
Griffon Cortal	1
Husky Siberiano	6
Jack Russel Terrier	3
Labrador Retriever	50
Leão da Rodésia	1
Lulu da Pomerânia	3
Malamute do Alaska	1
Montanha dos Pirenéus	2

**Tabela 1** (cont.) - Raças dos canídeos observados (frequência absoluta, n=710).

Pastor Alemão	12
Pastor Belga	1
Pastor de Berna	1
Pequinês	11
Perdigueiro Português	3
Pinscher	6
Pit Bull	4
Podengo Português	3
Pointer	2
Pug	3
Rafeiro Alentejano	1
Rottweiler	13
S. Bernardo	1
Samoyedo	3
Schnauzer	3
Schnauzer gigante	1
Serra da Estrela	5
Setter Irlandês	2
Shar Pei	4
Sharplaninec	1
Shi Tzu	3
Spitz	3
SRD	246
Teckel	8
Terranova	1
Weimaraner	3
Whippet	1
West Highland White Terrier	3
Yorkshire Terrier	43

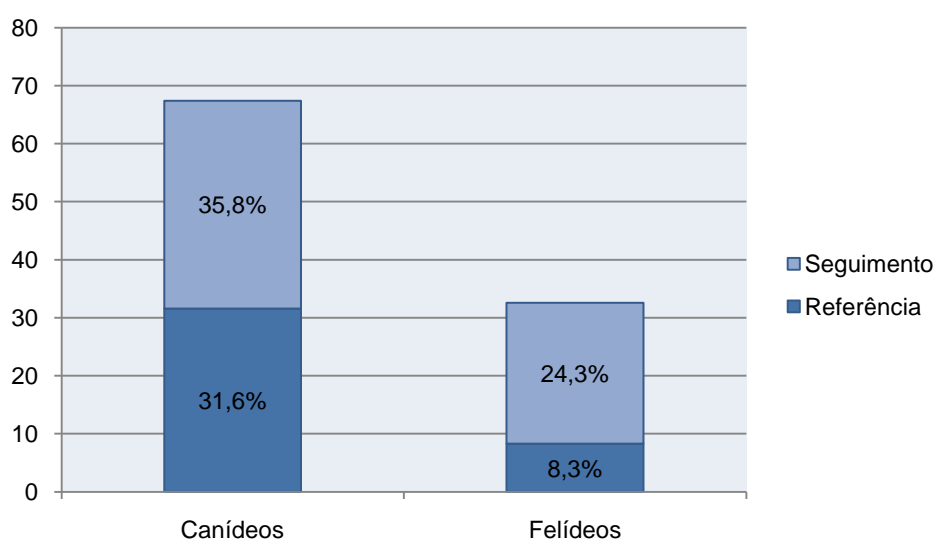
Em relação à população felina, a raça mais representada foi claramente o Europeu comum, com 78,4% (n = 211), seguido pelas raças Persa e Siamês, com 10% (n = 27) e 8,2% (n = 22), respectivamente (tabela 2).

**Tabela 2** - Raças dos felídeos observados (frequência absoluta, n=269).

Raça	Número de animais
Abissínio	1
Bosques da Noruega	5
Europeu comum	211
Maine Coon	2
Persa	27
Siamês	22
Sphynx	1

Cerca de 40% das consultas efectuadas no IVP no período de estágio foram referidas por outros profissionais (gráfico 6).

**Gráfico 6** - Consultas de seguimento e referência (frequência relativa, n=1434).



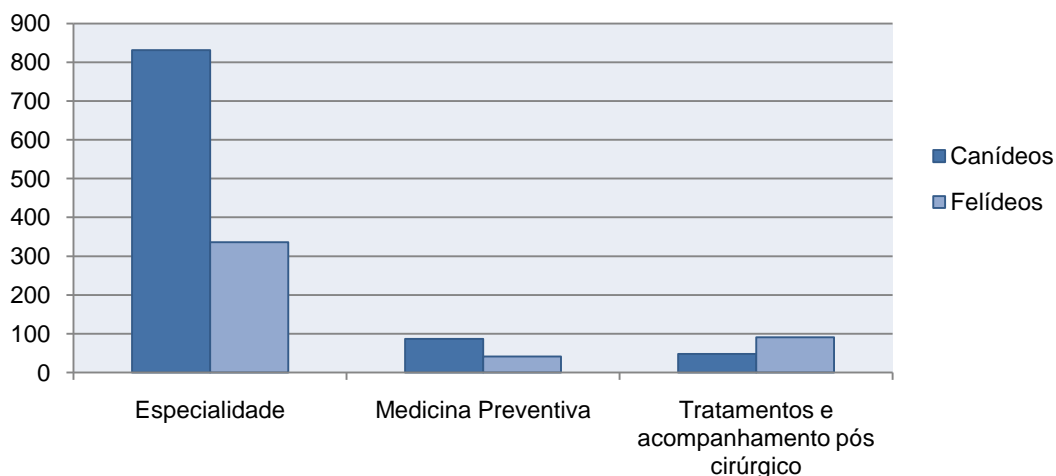
Grande parte da actividade do IVP passa pela realização de exames ultrassonográficos e consultas no âmbito da Cardiologia, factor que justifica o número apreciável de ecocardiografias, ecografias abdominais e ECGs efectuados (tabela 3).

**Tabela 3** - Exames complementares realizados no IVP de acordo com a espécie.

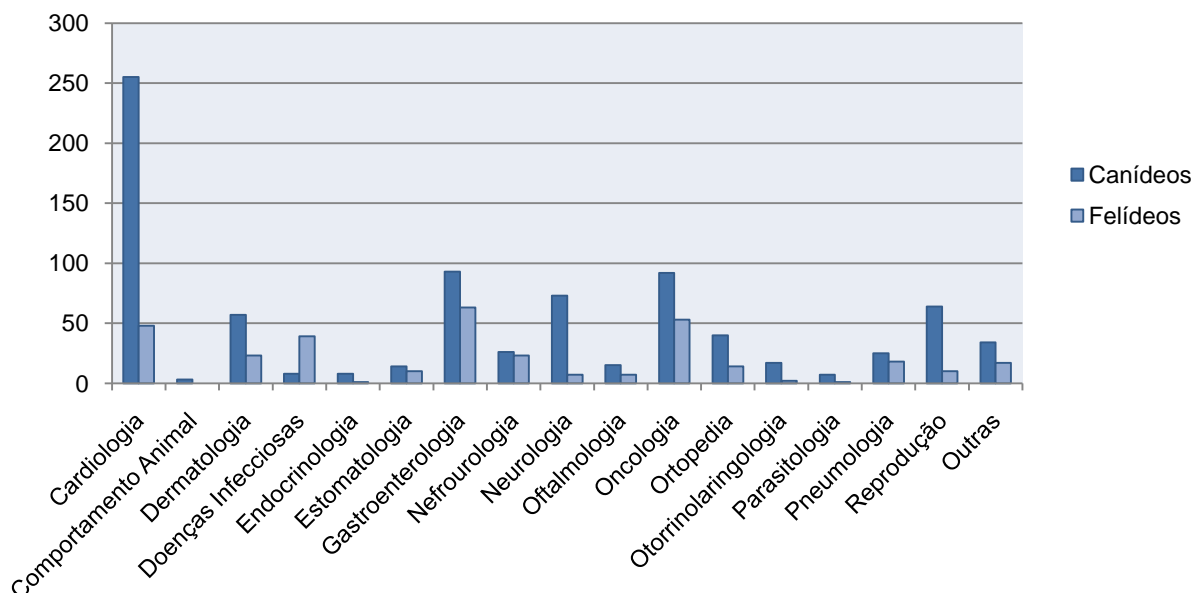
	Canídeos	Felídeos	Total
Ecocardiografia	272	44	316
Electrocardiografia	90	1	91
Ecografia abdominal	105	91	196
<b>Total</b>	<b>467</b>	<b>136</b>	<b>603</b>

Durante o período de estágio foi possível assistir a 1434 visitas ao IVP, divididas em consultas de Medicina Preventiva, de Especialidade e de Tratamentos ou acompanhamento pós cirúrgico. As consultas relativas a Especialidades Médico-Veterinárias foram as mais frequentes, correspondendo a cerca de 81% (n = 1167) e, dentro destas, Cardiologia, Gastroenterologia e Oncologia foram as que apresentaram um número mais significativo (gráficos 7 e 8). É de destacar o facto de as consultas de Cardiologia corresponderem a cerca de 26% (n = 303) das consultas de especialidade.

**Gráfico 7** - Distribuição do tipo de consulta de acordo com a espécie (frequência absoluta, n=1434).

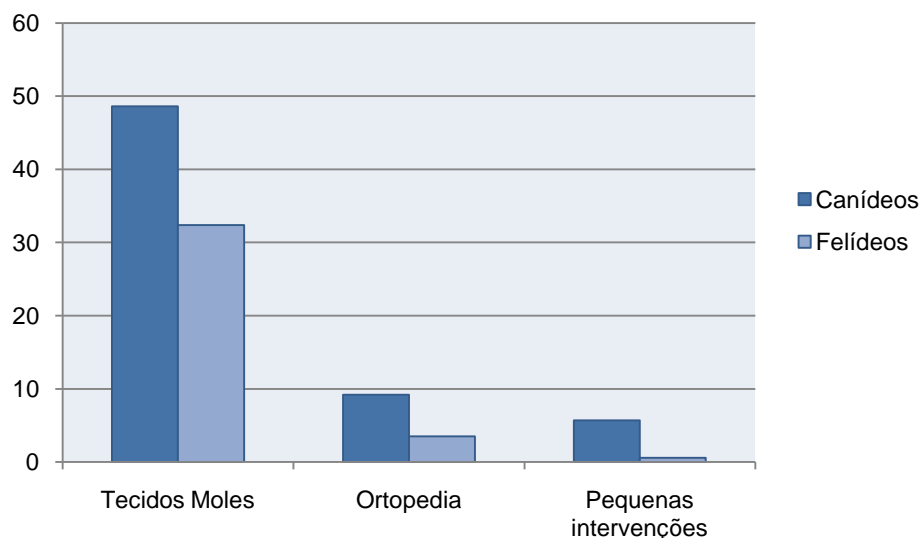


**Gráfico 8** - Distribuição das consultas de especialidade de acordo com a espécie (frequência absoluta, n=1167).



No campo da Patologia Cirúrgica houve a possibilidade de assistir a 173 intervenções cirúrgicas, tendo maior destaque as intervenções em tecidos moles (gráfico 9).

**Gráfico 9** - Distribuição do tipo de cirurgia de acordo com a espécie (frequência absoluta, n=173).



O papel do estagiário no IVP é bastante activo e permite ganhar experiência e prática em diversas situações da actividade clínica. O estagiário pode assistir e auxiliar nas consultas, nomeadamente na contenção dos animais, na preparação e administração de medicação e na realização de tratamentos, na aplicação de pensos e na colheita de sangue.

Também lhe é possível desenvolver capacidades relativas ao diagnóstico através dos meios complementares disponíveis na clínica, através da realização e interpretação de ECGs e exames ecográficos.

O estagiário participa ainda nas intervenções cirúrgicas fazendo a preparação prévia do paciente e assumindo um papel na equipa cirúrgica, como anestesista, circulante, auxiliar de cirurgião e, nas intervenções mais simples, cirurgião, ainda que sob a observação de um Médico Veterinário.

Todo o processo de aprendizagem é facilitado em muito pela excelente equipa do IVP, que está sempre disposta a fornecer explicações, motivação e apoio aos estagiários.

### **Capítulo III – Lúpus Eritematoso Sistémico Canino**

O LES é o protótipo das doenças autoimunes sistémicas (Day, 1999) e caracteriza-se por uma progressão clínica variável, pela ausência de anomalias biológicas patognomónicas e por se manifestar através de uma sintomatologia bastante variada (Chabanne, Fournel, Monier, Rigal & Monestier, 1999a). Neste sentido, poderão estar presentes, por exemplo, lesões nas articulações, na pele, nos rins, nos músculos, na pleura e no miocárdio (Day, 1999) e, devido a esta diversidade de apresentações clínicas, o LES também é conhecido como “o grande imitador” (Scott, Miller & Griffin, 2001). A característica chave desta doença é a produção de autoanticorpos, dirigidos principalmente a material nuclear, que vão levar à formação de complexos antigénio-anticorpo, sendo estes os principais responsáveis pelos diferentes sinais clínicos (Fournel et al., 1992; Jones, 1993; Cohen-Solal, Jeganathan, Grimaldi, Peeva & Diamond, 2006).

A primeira descrição de LES canino foi feita por Lewis, Schwartz e Henry Jr. (1965) e actualmente a condição está bem definida em termos clínicos e histopatológicos (Jones, 1993).

#### **1 – Autoimunidade e Hipersensibilidade – perspectiva geral**

O sistema imunitário evoluiu de maneira a combater os diferentes agentes patogénicos que podem penetrar no organismo e iniciar um processo patológico, respondendo quer através da imunidade celular, quer através da imunidade humoral ou de ambos os processos (Day, 1999).

As especificidades expressadas pelas populações de células B e T são aleatórias e assim se compreende que seja bastante provável que algumas delas sejam direccionadas a componentes *self*, sendo portanto necessário o estabelecimento de mecanismos de auto-tolerância, a fim de se evitar a autoreactividade (Roitt, 2006).

Porém, os mecanismos responsáveis pela resposta imunitária podem por vezes ter uma reacção inadequada e causar alterações patológicas, como no caso das infecções em que se verifica secundariamente deposição inadequada de imunocomplexos ou nas respostas a substâncias externas inócuas, levando ao aparecimento de alergias, ou na resposta a antigénios *self*, causando uma situação de autoimunidade (Day, 1999).

A presença de doença imunomediada primária é relativamente invulgar nos pequenos animais, ao contrário dos fenómenos secundários a outras doenças (Day, 1999; Pugliese, De Majo & Pugliese, 2007). É também de referir que existem diversos factores que se podem relacionar com a maioria das doenças imunomediadas nos canídeos (Pugliese et al., 2007). A susceptibilidade genética, o género (normalmente com maior susceptibilidade por parte dos indivíduos do sexo feminino), a presença de outras doenças imunológicas, de doenças infecciosas ou de neoplasias e factores externos, como o uso de fármacos ou a

exposição a poluentes ou antigénios microbianos são alguns dos mencionados (Pugliese et al., 2007).

Os vários mecanismos envolvidos nos diferentes tipos de resposta imunitária que se verificam nestes casos podem ser classificados como uma de quatro reacções de hipersensibilidade (Day, 1999).

A hipersensibilidade de tipo I é mediada pela imunoglobulina (Ig) E e caracteriza-se por uma reacção alérgica resultante de um segundo contacto com determinado antigénio, neste caso chamado alergénio (Prescott, Harley & Klein, 2005). Quando ocorre a exposição inicial ao alergénio, os linfócitos B diferenciam-se em plasmócitos e é produzida IgE, que se liga a receptores na superfície dos mastócitos e os sensibiliza. Aquando da segunda exposição, o alergénio liga-se à IgE e origina a desgranulação dos mastócitos e a consequente libertação de diversos mediadores inflamatórios, tornando o indivíduo clinicamente alérgico (Tizard, 2004; Prescott et al., 2005). Assim, a reacção de hipersensibilidade do tipo I pode ser descrita como uma forma de inflamação aguda que resulta da libertação repentina do conteúdo dos mastócitos (Tizard, 2004).

A hipersensibilidade de tipo II é considerada uma reacção citolítica ou citotóxica, já que resulta na destruição celular, ou através de lise, ou pela acção de mediadores tóxicos. Nesta reacção há produção de IgG e IgM, que são dirigidas a antigénios de superfície ou a antigénios associados a tecidos e estimulam o complemento e diversas células efectoras. Um dos exemplos típicos de uma reacção de hipersensibilidade de tipo II é a que ocorre quando se recebe uma transfusão sanguínea de um dador com um grupo sanguíneo diferente (Prescott et al., 2005).

A hipersensibilidade de tipo III envolve formação e deposição de imunocomplexos nos tecidos, com uma posterior fixação de complemento e inflamação local (Day, 1999).

As reacções de hipersensibilidade retardada ou hipersensibilidade de tipo IV resultam de interacções entre o antigénio, as células apresentadoras de antigénio (CAA) e células T (Tizard, 2004). Estas reacções ocorrem quando o antigénio é fagocitado por macrófagos e posteriormente apresentado a células T *helper* (Th) 1. O contacto entre o antigénio e as células Th1 leva à libertação de citocinas, que atraem linfócitos, macrófagos e basófilos para o local. A particularidade deste tipo de reacção é o tempo necessário (normalmente 24h ou mais) para que as células Th1 migrem e se acumulem perto do antigénio (Prescott et al., 2005).

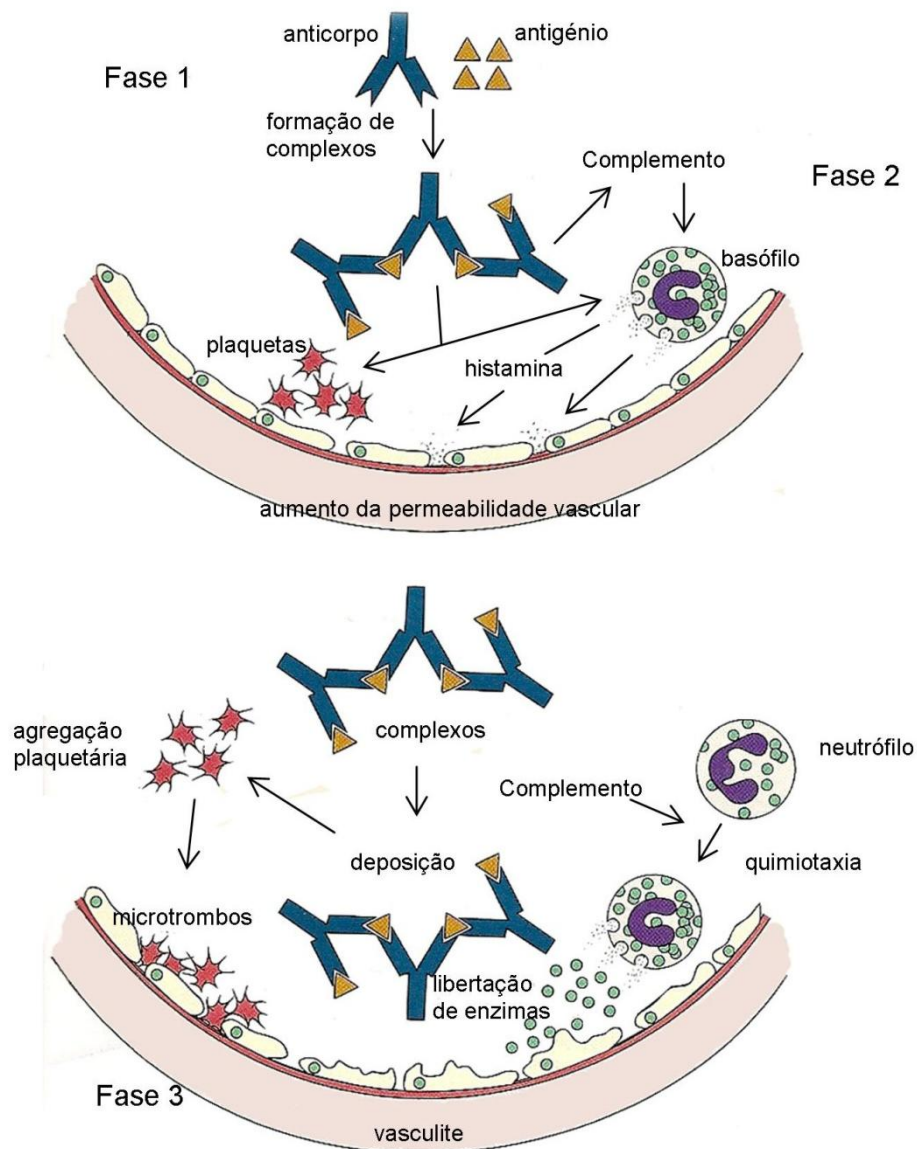
A reacção de hipersensibilidade de tipo III, sendo a mais importante no contexto do presente trabalho, será descrita mais detalhadamente.

Em situações de resposta imunitária normal verifica-se a formação de imunocomplexos; contudo, estes são geralmente removidos por células fagocitárias, após a activação do sistema complemento. Porém, quando existe um excesso de antigénio, como ocorre no LES, os imunocomplexos podem não ser correctamente removidos e a sua formação de

modo contínuo causa a reacção de hipersensibilidade, sendo os principais órgãos afectados os rins, as articulações, os olhos e a pele (Day, 1999).

A reacção de hipersensibilidade de tipo III pode ser brevemente descrita em três fases (Figura 1).

**Figura 1** - Reacção de hipersensibilidade de tipo III (adaptado de Prescott et al., 2005).



A reacção inicia-se quando o organismo desenvolve uma resposta humoral a um antígeno, levando à formação de complexos antigénio-anticorpo circulantes que não são removidos adequadamente pelos monócitos e macrófagos.

Na segunda fase ocorre a activação do sistema complemento e a produção de factores quimiotáxicos, principalmente C5a. Estes acontecimentos levam à mobilização para o local

de neutrófilos e macrófagos com receptores para as fracções Fc dos anticorpos e de basófilos. Os primeiros libertam anafilatoxinas e aminas vasoactivas e os segundos libertam histaminas e outros mediadores e estes compostos, por sua vez, aumentam a permeabilidade vascular, permitindo assim que os imunocomplexos se depositem na parede vascular, induzindo a formação de microtrombos ou, alternativamente, passem para os tecidos extravasculares. Está então estabelecida a terceira fase, na qual se cria uma reacção inflamatória aguda. As citocinas produzidas pelas células inflamatórias e os factores do complemento atraem mais neutrófilos e macrófagos para o local.

A reacção já presente é exacerbada pelas enzimas proteolíticas e pelos radicais tóxicos livres originários das células fagocíticas e pela libertação de aminas vasoactivas e compostos pró-inflamatórios por parte das plaquetas (Prescott et al., 2005; Snyder, 2007).

Apesar de a hipersensibilidade de tipo III ser a mais evidente no desenvolvimento do LES, podem ser atribuídos papéis menores à hipersensibilidades dos tipos II e IV (Marks & Henry, 2000).

## **2 – Etiopatogénese**

O LES tem uma etiologia desconhecida mas reconhece-se que é multifactorial, já que existem diversos factores que levam ao seu desenvolvimento, nomeadamente alterações a nível do sistema imunitário, predisposições genéticas e factores externos, como infecções virais e radiação UV (Hargis & Ginn, 2007). A influência das hormonas sexuais, bastante importante nos humanos (Cohen-Solal et al., 2006), não foi documentada nos cães (Snyder, 2007).

### **2.1 – Alterações na imuno-regulação**

A imunopatogénese exacta do LES continua por determinar; por enquanto sabe-se que são produzidos complexos antigénio-anticorpo, que se alojam posteriormente em capilares, na zona da membrana basal (ZMB) da pele e em vários órgãos. Têm também sido implicados defeitos das células T, hiperactividade das células B (Choi, Shin, Youn & Lee, 2004) e desregulação a nível das citocinas (Hargis & Ginn, 2007).

#### **2.1.1. – A activação dos linfócitos**

Já foi referido anteriormente que durante a maturação normal dos linfócitos B e T são gerados receptores de modo aleatório, o que leva a que uma percentagem bastante significativa das células apresente receptores dirigidos a antígenos *self* (Rottman, 2008).

A diversidade de receptores das células B e T desejada é conseguida através de dois processos – a recombinação V(D)J, que junta genes ligados aos receptores das células B e T a partir de três segmentos de genes distintos, e a hipermutação somática, que faz a

substituição de nucleótidos individualmente. O primeiro processo ocorre a nível central, na medula óssea e no timo, e o segundo a nível periférico, nomeadamente no baço, nos linfonodos e nas amígdalas (Goodnow, Sprent, Fazekas de St Groth & Vinuesa, 2005). Entre 20 e 50% dos receptores gerados por estes processos têm grande afinidade para um antigénio *self* e há quatro estratégias que podem ser usadas pelo organismo para combater a situação – deleção da célula, reprogramação do receptor, regulação intrínseca e regulação extrínseca (Goodnow et al., 2005; Rottman, 2008). Considerando que a percentagem de população que de facto apresenta uma doença autoimune é bastante baixa, reconhece-se a eficácia destes mecanismos.

A tolerância define-se como a situação em que o sistema imunitário não responde a determinado antigénio. Esta relaciona-se principalmente com antigénios *self* e desde cedo foi reconhecida a necessidade da autotolerância e sugerida a hipótese de a estabelecer em linfócitos imaturos através da exposição a antigénios durante a fase fetal (Tizard, 2009).

Reconhece-se actualmente que a autotolerância é de dois tipos: central e periférica; na central, os linfócitos imaturos autoreactivos são eliminados ou sofrem uma modificação a nível do receptor e na periférica os linfócitos maduros autoreactivos são inactivados ou suprimidos por mecanismos reguladores (Tizard, 2009).

Considerando que os linfócitos B não são capazes de produzir anticorpos se não existir colaboração por parte das células Th e que a tolerância estará estabelecida se não existirem linfócitos T funcionais com receptores que reconheçam autoantigénios (Tizard, 2009), poderemos afirmar que um factor muito importante no desenvolvimento de doenças autoimunes é a falha no estabelecimento de tolerância relativamente a estes.

O mecanismo de selecção central dos linfócitos T ocorre no timo, principalmente a partir de dois processos – selecção positiva e selecção negativa.

Inicialmente o que se pretende é que os receptores das células T sejam capazes de reconhecer as moléculas do Complexo Maior de Histocompatibilidade (CMH). Este objectivo é alcançado com um mecanismo de selecção positiva, através do qual serão escolhidos os receptores que apresentem uma capacidade de ligação moderada. Uma parte das células sofrerá uma edição do receptor, de modo a adquirirem características menos reactivas, mas a grande maioria dos linfócitos autoreactivos será eliminada.

À medida que os linfócitos positivamente seleccionados se movimentam, os seus receptores continuam a ser testados para a autoreactividade. Nesta fase, isto é feito através de um processo de selecção negativa, para o qual contribui a expressão na medula tímica de diversos autoantigénios, característicos de diferentes tecidos e tipos celulares. Os receptores que se liguem fortemente a associações de péptidos *self* promovem a apoptose da célula, através de selecção negativa. Deste modo, o timo garante que os linfócitos T autoreactivos sejam eliminados (Goodnow et al., 2005; Tizard, 2009).

Os esforços para determinar a origem das células auto-reactivas no LES levam, no entanto, a crer que há várias situações em que a selecção de linfócitos a nível central é bastante semelhante em ratinhos normais e em ratinhos que desenvolvem uma doença autoimune, o que levou Shlomchik, Craft e Mamula (2001) a apresentarem um modelo que enfatiza a perda de tolerância a nível da periferia. Apesar de os processos de tolerância central eliminarem os linfócitos com grande afinidade para o *self*, as células com afinidade baixa, incluindo as que são específicas para os autoantígenos lúpicos, desenvolvem-se e são passíveis de serem identificadas a nível periférico, mesmo se o indivíduo for normal (Shlomchik et al., 2001; Vratsanos, Jung, Park & Craft, 2001). Estas células ficam num estado anérgico ou quiescente que, à partida, não representa uma ameaça e podem permanecer inactivadas porque estão sujeitas a determinados mecanismos de regulação, porque não existem células Th apropriadas (Rifkin et al., 2000; Shlomchik et al., 2001) ou porque o autoantígeno está indisponível (Rifkin et al., 2000).

Porém, sob determinadas circunstâncias que ainda não foram completamente definidas, podem ser activadas e diferenciarem-se de modo a produzirem autoanticorpos (Rifkin et al., 2000).

Os trabalhos de Rifkin e colegas (2000) e outros que se seguiram permitiram que se concluísse que a forma do antígeno também tem influência na activação dos linfócitos. Foi demonstrado que em ratinhos com um receptor nas células B específico para a IgG2a *self* apenas se observa activação e proliferação linfocítica caso a IgG2a se apresente sob a forma de um imunocomplexo contendo ácido nucleico. Estudos posteriores demonstraram que o processo de activação destes linfócitos implica o envolvimento sinérgico do receptor para o antígeno e do receptor Toll-like (RTL) 9 (Leadbetter et al., 2002) e que, *in vivo*, a expressão de determinados RTLs é necessária para que ocorra a produção de autoanticorpos dirigidos aos ácidos nucleicos (Christensen et al., 2005; Christensen et al., 2006).

A interpretação que os linfócitos fazem dos autoantígenos pode ser modulada por diversos factores, nomeadamente a presença de inflamação, a libertação de citocinas e a consequente activação de CAA. Para além disso, defeitos genéticos podem resultar num aumento da quantidade de autoantígeno, levando a uma sensibilidade aumentada do linfócito e/ou a uma resposta imunitária prolongada ou aumentada (Shlomchik et al., 2001).

Relativamente aos linfócitos B, sabe-se que as células que iniciam o processo de resposta autoimunitária são à partida reactivas para o *self* (Shlomchik et al., 2001; Gershwin, 2010), podendo ser estimuladas directamente por antígeno *self*, por um epitopo com reactividade cruzada ou por um antígeno ambiental ou infeccioso e que a reacção é depois sustentada por antígenos *self* (Shlomchik et al., 2001).

Pelo contrário, o mesmo não se passa necessariamente com os linfócitos T, facto evidenciado num estudo realizado por Mamula, Fatenejad e Craft (1994) em ratinhos.

Utilizando um antígeno nuclear, a ribonucleoproteína nuclear pequena (snRNP), foi demonstrado que a tolerância dos linfócitos B conseguia ser quebrada através de reactividade cruzada, ao passo que a dos linfócitos T não. Porém, foi também demonstrado que os linfócitos B activados tinham a capacidade de levar os linfócitos T a ter uma resposta autoreactiva, através da função de CAA que possuem. Assim, quando uma célula B estimulada através de reactividade cruzada apresenta a snRNP, é imediatamente desenvolvida uma resposta autoreactiva por parte das células T.

Estas observações comprovam igualmente que, de facto, a resposta inicial pode ser causada por mimetismo molecular.

Ainda no estudo referido, foi também constatado que outras CAA, nomeadamente macrófagos, não são capazes de originar este tipo de resposta por parte dos linfócitos T, revelando que, para serem geradas células T autoreactivas, são necessárias CAA antigénio-específicas e levantando a possibilidade de os linfócitos B apresentarem as moléculas *self* de um modo distinto do das outras CAA.

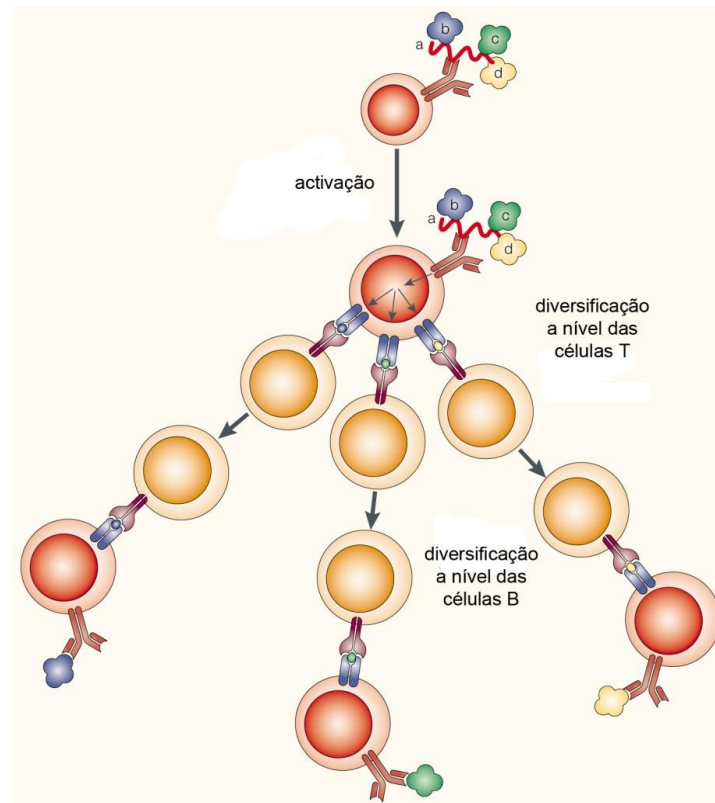
O papel dos linfócitos B na activação dos linfócitos T foi também comprovado nos trabalhos de Chan, Hannum, Haberman, Madaio e Shlomchik (1999), que criaram uma estirpe de ratinhos incapaz de produzir anticorpos a partir da estirpe MRL/*lpr*.

A estirpe MRL/*lpr* está geneticamente predisposta para o desenvolvimento de LES e manifesta sinais bastante semelhantes aos da doença humana, incluindo nefrite, vasculite e problemas dermatológicos. Trabalhos anteriores (Shlomchik, Madaio, Ni, Trounstein & Huszar, 1994) demonstraram que numa sub-estirpe da MRL/*lpr* (a sub-estirpe J<sub>H</sub>D) caracterizada pela ausência de linfócitos B não se verificam desenvolvimento de glomerulonefrite, presença de infiltrados celulares nos órgãos ou sinais dermatológicos, sendo também bloqueada a acumulação de células T de memória.

Pelo contrário, a estirpe desenvolvida por Chan e colaboradores caracteriza-se por possuir linfócitos B mas não anticorpos circulantes. Nesta estirpe foram observadas activação dos linfócitos T, infiltração celular (causando vasculite e nefrite intersticial) e mortalidade aumentada. Verificou-se também que a percentagem de células T de memória era superior à encontrada na sub-estirpe J<sub>H</sub>D, aproximando-se dos níveis normais. Foi assim possível comprovar que os linfócitos B, além de serem responsáveis pela produção de autoanticorpos, desempenham um papel independente destes, a nível da activação directa dos linfócitos T, e que estes últimos têm também um papel a nível da patogénese da doença através da lesão dos órgãos.

Considerando que as células B podem apresentar qualquer antígeno que faça parte de uma macromolécula, poderão também activar um largo espectro de células T, fenómeno conhecido como dispersão de epitopos (figura 2).

**Figura 2** - Dispersão de epitopos (adaptado de Shlomchik et al., 2001).



Um linfócito B específico para o epitopo “a” reconhece um antígeno complexo com diversos epitopos (“a”-“d”). Estes determinantes antigénicos são processados pela célula B e apresentados a células T no contexto da classe II do CMH. Assim, o linfócito B específico para “a” consegue activar diversos linfócitos T. Estes, por outro lado, podem auxiliar diversas células B, específicos para os restantes determinantes. Os linfócitos B são representados a vermelho e os linfócitos T a cor de laranja.

A dispersão de epitopos já foi demonstrada no LES humano e de ratinhos (Mok & Lau, 2003), mas continua algo controversa, havendo quem considere que a reactividade cruzada pode explicar estas observações (Shlomchik et al., 2001).

Apesar da controvérsia, existem outros factos que permitem afirmar que a activação dos linfócitos B nos pacientes com LES é anormal (Mok & Lau, 2003). Já se comprovou que este tipo de células é mais sensível a estímulos por parte de citocinas, nomeadamente a interleucina (IL) 6 (Linker-Israeli et al., 1991). Foi igualmente demonstrado que nos ratinhos das estirpes NZB e NZB x NZW (NZB/W), nas quais se desenvolve espontaneamente uma doença semelhante ao lúpus, se detectam linfócitos B hiper-responsivos a diversos estímulos derivados das células T (Jongstra-Bilen, Vukusic, Boras & Wither, 1997). Nestes animais considera-se que um defeito intrínseco nas células B, que leva a respostas exacerbadas a determinados estímulos por parte de células T com uma tolerância incompleta, tem um papel na patogenia da doença autoimune; este facto seria suficiente para assegurar a produção de anticorpos (Jongstra-Bilen et al., 1997).

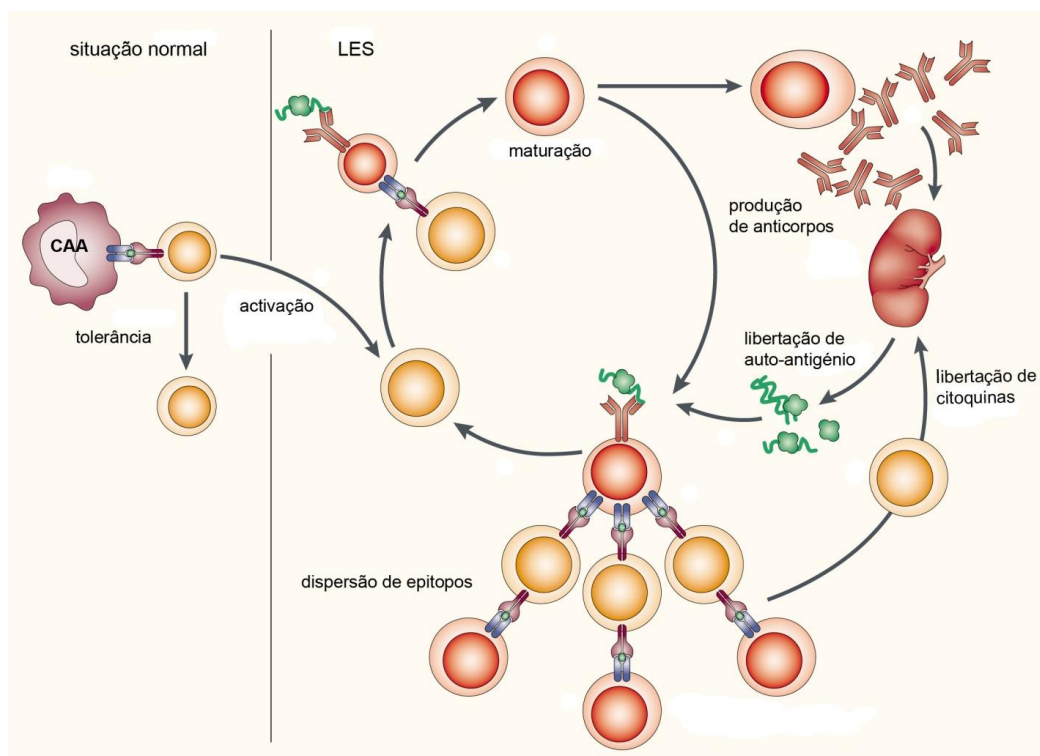
Jevnikar, Grusby e Glimcher (1994) e Koh et al. (1995) demonstraram que ratinhos com uma deficiência nas moléculas da classe II do CMH ou nas células T CD4+ desenvolvem linfadenopatia mas com ausência de ou diminuição de autoanticorpos, respectivamente. Verificou-se ainda que no caso de a deficiência ser a nível do CMH não se desenvolvia nefropatia, ao passo que a deficiência nas células T levava à inexistência de vasculite na pele. Estas observações levam a crer que os linfócitos T são essenciais para a produção de anticorpos e para a manifestação da doença, o que, considerando também as afirmações já feitas em relação às células B, atribui um papel essencial aos dois tipos de linfócitos.

A activação policlonal das células T CD4+ é característica do LES, o que sugere a existência de um defeito global a nível da manutenção da tolerância ao *self* por parte das células T; porém, os mecanismos de activação destas continuam por esclarecer (Vratsanos et al., 2001).

Sabe-se no entanto que as células T de ratinhos da estirpe MRL/*lpr*, quando colocadas em contacto com antigénios com uma afinidade baixa para os seus receptores, desenvolvem uma resposta aumentada em relação aos controlos, verificando-se que são activadas mais rapidamente e que se dividem mais e mais rapidamente (Vratsanos et al., 2001). Conclui-se assim que para nos casos de predisposição para o LES o limiar de activação das células T é mais baixo e/ou a resposta observada é mais vigorosa (Shlomchik et al., 2001; Vratsanos et al., 2001). Esta hipótese sugere que os péptidos *self* que são responsáveis por manter a tolerância e homeostasia das células T CD4+ nos casos normais emitem sinais que levam à sua activação (Vratsanos et al., 2001).

A partir do momento em que os dois tipos de linfócitos estão activos o processo terá que sofrer uma expansão, de modo a gerar uma doença crónica e autosustentável. As interacções entre os linfócitos vão criar um ciclo de *feedback* positivo que permite que a resposta autoimune se diversifique e amplifique, levando a que seja atingido um ponto em que a presença do eventual estímulo externo que a originou deixe de ser necessária. As diferenças no limiar de activação dos linfócitos e a extensão da resposta são amplificados ao longo do ciclo e este perpetua-se por si mesmo (Shlomchik et al., 2001) (figura 3).

**Figura 3** - Ciclo de *feedback* positivo que poderá estar na origem do LES. Os linfócitos B são representados a vermelho e os linfócitos T a cor de laranja (adaptado de Shlomchik et al., 2001).



### 2.1.2 – Anticorpos anti nucleares e outros autoanticorpos

Os anticorpos antinucleares (AAN) constituem uma população heterogénea de autoanticorpos (Shull, Miller & Chilina, 1983; White, Rosychuk & Schur, 1992; Hansson & Karlsson-Parra, 1999; Paul, Wilkerson, Shuman & Harkin, 2005), dirigidos às histonas, a ribonucleoproteínas (RNP), a antígenos Smith (Sm) ou outros antígenos (Brinet, Fournel, Faure, Venet & Monier, 1988; Monier et al., 1992) e são os responsáveis por grande parte da sintomatologia, através da formação de complexos antígeno-anticorpo (Chabanne, Fournel & Monier, 1995b).

A presença de AAN é esperada em 97 a 100% dos cães com LES, com títulos frequentemente superiores a 256 UI (Fournel et al., 1992; Monier et al., 1992).

Apesar de serem muito característicos do LES, estes anticorpos podem também ser encontrados, ainda que com uma frequência relativamente baixa, em cães que apresentem outras doenças ou mesmo em cães normais (Monier et al., 1992) (tabela 4).

Num trabalho recente (Ginel, Camacho & Lucena, 2008) sobre a leishmaniose em canídeos foram detectados anticorpos anti-histona em 39% dos animais infectados sem sinais de glomerulonefrite. Este número subia para 88% se os animais apresentassem glomerulonefrite.

Outro estudo mostrou a presença de AAN em 17% dos cães infectados com *Ehrlichia canis* e em 75% dos infectados com *Bartonella vinsonii (berkhoffii)* (Smith, Tompkins & Breitschwerdt, 2004).

**Tabela 4** - Presença de AAN em canídeos de 3 grupos distintos (frequência relativa) (adaptado de Monier et al., 1992).

<b>Grupo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>
Cães com LES (n = 100)	0	100
Cães com outras doenças (n = 56)	80,4	19,6
Cães controlo (n = 120)	84,2	15,8

Os títulos mais elevados de AAN verificam-se nos casos de LES clinicamente mais graves e é esperada uma diminuição progressiva com o tratamento (Thoren-Tolling & Ryden, 1991; Chabanne et al., 1999a; Prélaud, 2008).

A frequência dos diferentes AAN no LES canino é referida na tabela 5.

**Tabela 5** - Tipos de AAN detectados em cães com LES (frequência relativa) (adaptado de Fournel et al., 1992 e Chabanne et al., 1995b).

<b>Tipo de AAN</b>	<b>Casos positivos (%)</b>
AAN totais	100
Anti-ADN	<3
Anti-ANE	40
Sm	16
RNP	8
T1	20
T2	9
SS A	4
SS B	0
Anti-histonas	65
H1	8
H2A	22
H2B	20
H3	54
H4	54
Anti-HMG 1	6
Anti-HMG 2	18

Legenda: ADN - ácido desoxirribonucleico; ANE - antígenos nucleares extraíveis; T1/2 - tipo 1/2; SS A/B - síndrome de Sjögren tipo A/B; H - histona; HMG - *high mobility group*

Ao contrário do que acontece no Homem e nos ratinhos, onde são considerados os mais específicos e a característica chave da doença (Harley & Scofield, 1991), os anticorpos anti-ADN são, aparentemente, pouco frequentes nos canídeos. A sua presença é algo incerta, já que a maioria dos autores refere valores mínimos ou mesmo ausência de anticorpos anti-ADN (Monier et al., 1992, Monestier et al., 1995; Chabanne et al., 1999a) embora outros os tenham detectado (Shull et al., 1983).

Esta controvérsia pode ser em parte explicada pelo facto o ADN utilizado não estar suficientemente puro (Shull et al., 1983) e pela existência de uma proteína que se liga ao ADN em condições fisiológicas (Thoburn, Hurvitz & Kunkel, 1972), podendo assim bloquear a actividade dos anticorpos. Esta proteína foi detectada nos cães e noutros mamíferos, mas parece não existir nem no Homem nem nos ratinhos (Thoburn et al., 1972). Para além disso há também que considerar a possibilidade de existirem diferenças a nível das populações ou dos critérios utilizados nos estudos (Monestier et al., 1995).

No Homem, a característica mais notável dos anticorpos anti-ADN é a sua associação com a glomerulonefrite. Porém, esta correlação não é total, uma vez que alguns pacientes com nefrite não têm anticorpos anti-ADN e vice-versa (Mok & Lau, 2003).

A confirmar esta ideia está o facto de nos cães os sinais clínicos serem bastante semelhantes aos observados no Homem (Fournel et al., 1992) mas, como afirmado anteriormente, a presença de anticorpos anti-ADN não ser significativa. Assim, a nefrite no contexto do LES desenvolve-se mesmo na ausência de anticorpos anti-ADN e outros tipo de AAN podem estar envolvidos no processo (Monier et al., 1992; Monestier et al., 1995). Os estudos de Ginel et al. (2008), apesar de relacionados com a leishmaniose e não com o LES, mostraram uma correlação entre a presença de anticorpos anti-histona e glomerulonefrite.

Contrariamente ao que se verifica para os anticorpos anti-ADN, a frequência de anticorpos anti-histona é elevada (Brinet et al., 1988; Fournel et al., 1992; Monier et al., 1992; Monestier et al., 1995; Chabanne et al., 1999a). Apesar de a frequência ser semelhante à observada na doença humana (Brinet et al., 1988; Monier et al., 1992), o padrão é diferente, já que nos cães as fracções mais reconhecidas pelos anticorpos são a H3, a H4 e a H2A (Brinet et al., 1988; Fournel et al., 1992; Monier et al., 1992; Monestier et al., 1995) e no Homem são a H1, a H2B e a H3 (Brinet et al., 1988; Fournel et al., 1992). Alguns autores referem que a fracção H1 também surge frequentemente nos canídeos (Monestier et al., 1995; Chabanne et al., 1999a). Na pesquisa efectuada por Monestier e colaboradores (1995) verificou-se que os anticorpos responsivos são do tipo IgG.

No LES canino nota-se também a presença de anticorpos anti-ANE (Monier et al., 1992; Chabanne et al., 1999a). Dos ANE fazem parte os complexos de snRNP e os complexos de ribonucleoproteínas nucleares heterogéneas (hnRNP) (Chabanne et al., 1999a). No decorrer dos seus trabalhos, Henriksson, Hansson, Karlson-Parra e Pettersson (1998) verificaram

que nos cães era evidente uma reacção contra a proteína U1-70K, o mais importante dos antígenos RNP no Homem, dirigida à parte da proteína que também é reactiva nos humanos. Os anticorpos anti snRNP, como os anti SS A e SS B (Fournel et al., 1992; Monier et al., 1992; White et al., 1992), os anti HMG (Monier et al., 1992) e os anti-Sm já foram encontrados (Fournel et al., 1992; Monier et al., 1992; Henriksson et al., 1998), todos eles também presentes na doença humana.

Adicionalmente, já foi reconhecida uma reacção dirigida a um antígeno nuclear de aproximadamente 43 kDa (Soulard et al., 1991; Monier et al., 1992; Henriksson et al., 1998), que, posteriormente, se concluiu corresponder à hnRNP G (Soulard et al., 1993). O anticorpo direccionado a este antígeno é o anti-T1, que parece ser característico dos cães (Monier et al., 1992; Chabanne et al., 1995b; Chabanne et al., 1999a), o que também se verifica em relação ao anticorpo anti-T2 (Chabanne et al., 1995b; Chabanne et al., 1999a).

Dos diferentes tipos de AAN, os mais típicos do LES canino são os anti-histona, os anti-Sm e os anti-T1 (Monier et al., 1992); os anti-Sm e anti-T1 têm uma alta especificidade apesar da baixa sensibilidade (Chabanne et al., 1999a; Prélaud, 2008).

Apesar de se saber que os AAN podem estar dirigidos a diversas moléculas, ainda se sabe pouco no que respeita à correlação entre os diferentes autoanticorpos e as diversas manifestações clínicas (Paul et al., 2005).

Em relação a outros autoanticorpos, Fournel et al (1992) indicam uma frequência de 20% para o factor reumatóide e uma frequência de 17% para os anticorpos anti-glóbulos vermelhos. Olivry, Savary, Murphy, Dunston e Chen (1999) descreveram um caso de lúpus eritematoso sistémico bolhoso num canídeo, no qual foram detectados anticorpos anti-colagénio tipo VII circulantes.

### **2.1.3 - Apoptose**

Considera-se actualmente que uma apoptose anómala é também interveniente no desenvolvimento do LES (Mok & Lau, 2003; Liphaut & Kiss, 2010), pelo facto de estar acelerada e por se verificar, simultaneamente, uma irregularidade na eliminação do material apoptótico (Munoz et al., 2008; Liphaut & Kiss, 2010).

Modelos experimentais suportam esta teoria, já que foi possível comprovar que a interferência em determinados genes e factores envolvidos no processo leva à acumulação de células apoptóticas que originam formação de AAN e uma glomerulonefrite semelhante à do LES (Munoz et al., 2008).

As alterações nos factores de apoptose poderão ter influência na taxa do processo através da intensificação da exposição de antígenos escondidos ou através da inibição da remoção de células autoreactivas (Liphaut & Kiss, 2010).

Os linfócitos de pacientes humanos com LES sofrem apoptose a uma taxa significativamente maior que os controlos saudáveis (Chan, Ko & Lau, 1997, Ren et al.,

2003) e o mesmo se passa a nível dos monócitos e dos macrófagos (Shoshan et al., 2001; Kaplan et al., 2002). Tendo em conta que os linfócitos contêm grande quantidade de citocinas, a libertação destas em casos de apoptose aumentada poderá levar à activação das células imunitárias (Ferguson, Stuart, Herndon & Griffith, 2003).

A nível dos monócitos, sabe-se que o processo é mediado, pelo menos em parte, por um tipo de células T autoreactivas que têm uma maior expressão dos ligandos TRAIL, TWEAK e FasL, todos eles relacionados com a apoptose, e não com uma maior susceptibilidade dos monócitos. Este mecanismo parece ser característico do LES e é de facto específico para o *self*, já que as referidas células T não são capazes de eliminar monócitos quer de controlos saudáveis, quer de outros doentes com LES (Kaplan et al., 2002).

Durante a apoptose as proteínas celulares e os ácidos nucleicos sofrem algumas modificações e são agrupados em vesículas superficiais, prontamente removidas em casos normais; no LES, tendo em conta que a eliminação de resíduos não é adequada, este material antigénico vai ser exposto a CAA e reconhecido como não *self* (Munoz et al., 2008; Liphaut & Kiss, 2010), sobrepondo-se aos mecanismos de tolerância e causando uma resposta autoimune (Ferguson et al., 2003; Munoz et al., 2008). Das modificações referidas fazem parte uma metilação anormal do ADN (Huck, Deveaud, Namane & Zouali, 1999; Munoz et al., 2008) e um aumento no conteúdo em guanina-citosina (Huck et al., 1999), factores que aumentam o potencial do ADN para activar os linfócitos B de ratinhos e humanos (Huck et al., 1999).

Um atraso na eliminação de células em apoptose foi também demonstrado em pacientes humanos com LES (Liphaut & Kiss, 2010); este atraso não está associado a um defeito intrínseco dos macrófagos fagocitários (Bijl, Reefman, Horst, Limburg & Kallenberg, 2006) mas sim à deficiência de factores envolvidos na opsonização de células apoptóticas (Ren et al., 2003; Bijl et al., 2006), nomeadamente os factores do complemento C1q, C4 e, em menor grau, C3 (Bijl et al., 2006). Para além disso, considerando que os monócitos e os macrófagos têm responsabilidade na eliminação de material apoptótico, o facto de estarem sujeitos a uma apoptose mais acelerada leva à diminuição da sua eficácia (Shoshan et al., 2001; Kaplan et al., 2002; Ren et al., 2003).

#### **2.1.4 - Citocinas**

Para além da produção de autoanticorpos e da deposição de complexos imunes, cada vez há mais evidências que apontam para que as citocinas tenham um papel na imunopatogénese do LES (Yap & Lai, 2010). A corroborar esta afirmação está o facto de os pacientes com LES apresentarem alterações a nível da rede de citocinas (Mok & Lau, 2003). As citocinas têm um papel crítico na diferenciação, maturação e activação celular e também podem participar nos processos inflamatórios locais relacionados com os danos a nível tissular no LES (Yap & Lai, 2010).

Tem sido sugerido que o LES é uma doença relacionada com os efeitos Th2 devido à produção de autoanticorpos específicos para antígenos *self* (Mohan, Adams, Stanik & Datta, 1993) e existem trabalhos que mostram um aumento das concentrações séricas de citocinas Th2, como a IL-6 e a IL-10, e uma diminuição nos níveis das citocinas Th1, como a IL-2 e o interferão (IFN)  $\gamma$ , facto que poderia estar na origem da activação policlonal observada no LES (Wong, Ho, Li & Lam, 2000). Porém, outros ensaios experimentais (Davas et al., 1999; Tokano et al., 1999) comprovaram que também as citocinas características da resposta Th1 podem estar aumentadas nos pacientes com LES.

Em ratinhos já se registou um aumento da expressão de citocinas Th1 seguida por uma indução aumentada de citocinas Th2 (Segal et al., 1997).

Estas discrepâncias revelam que a resposta no LES a nível das citocinas é muito complexa e uma área que deve ser mais aprofundada (Wong et al., 2000), já que, aparentemente, as modificações que as citocinas podem exercer dependem de diversos factores, como a fase da doença ou o contexto genético (Theofilopoulos, Koundouris, Kono & Lawson, 2001).

#### **2.1.4.1 – IL-2**

Alguns estudos concluem que a produção de IL-2 não varia significativamente entre os pacientes e os controlos (Draeger, Swaak, van den Brink & Aarden, 1986; Viallard et al., 1999), mas a maior parte dos autores refere uma diminuição a nível da produção desta citocina (Mok & Lau, 2003; Kammer, 2005; Wrenshall, Smith, Stevens & Miller, 2007).

A IL-2 tem sido reconhecida como um factor de extrema importância no desenvolvimento das células T e é considerada uma citocina chave nas respostas imunitárias que dependem destes linfócitos (Malek & Bayer, 2004). Sabe-se também que tem um papel fulcral na regulação da tolerância dos linfócitos T, sendo necessária para o desenvolvimento, sobrevivência e expansão de células T *regulatory* (Treg), que fazem a supressão periférica das primeiras (Malek & Bayer, 2004; Kammer, 2005; Oppenheim, 2007). Na ausência de IL-2, a autoimunidade é causada por uma falha na produção de linfócitos Treg (Malek & Bayer, 2004). Outros dados que sustentam estas afirmações derivam das observações de Almeida, Legrand, Papiernik e Freitas (2002), que verificaram que a reintrodução de células produtoras de IL-2 em ratinhos com ausência desta citocina origina o restabelecimento de células Treg. Assim, uma diminuição nos níveis de IL-2 pode predispor os indivíduos a uma imunoregulação anormal e desenvolvimento de LES devido à anulação de mecanismos supressores de tolerância ao *self* (Kammer, 2005). Por outro lado, os estudos *in vivo* revelam que, apesar de não ser necessária para que se obtenha uma expansão clonal adequada, a IL-2 tem influência nas respostas das células T efectoras (Malek & Bayer, 2004).

A IL-2 parece ter também um papel a nível da activação das células B (Draeger et al., 1986; Wrenshall et al., 2007). Através de estudos em ratinhos, reconhece-se hoje em dia que, na

presença de uma deficiência em IL-2, há alteração dos mecanismos endógenos que controlam a produção de autoanticorpos, bem como da exclusão e eliminação de células B autoreactivas (Wrenshall et al., 2007).

Actualmente, a teoria aceite para a justificação da diminuição de IL-2 é a proposta por Solomou, Juang, Gourley, Kammer e Tsokos (2001), que refere uma alteração intrínseca das células T que leva a que exista uma falha ao nível da sinalização, sendo consequentemente prejudicada a transcrição do gene IL-2.

#### **2.1.4.2 – IL-6**

Em relação à IL-6, nos pacientes com LES verifica-se aumento dos seus níveis séricos (Tackey, Lipsky & Illei, 2004; Kammer, 2005; Lee, Sugino & Nishimoto, 2010; Yap & Lai, 2010). As suas principais funções são a indução da maturação dos linfócitos B, o aumento da secreção de imunoglobulinas e a diferenciação das células T em células efectoras (Tackey et al., 2004).

A administração de IL-6 recombinante humana acelera o aparecimento e evolução de glomerulonefrite em ratinhos NZB/W (Ryffel et al., 1994) e em pacientes humanos os níveis altos de IL-6 relacionam-se com a actividade da doença (Gröndal et al., 2000).

Para além disso, Pelton, Hylton e Denman (1992) determinaram que as células de pacientes com LES, quando estimuladas com radiação ultravioleta, produzem uma maior quantidade de IL-6, o que sugere que esta citocina possa estar envolvida no exacerbar da doença causado pela fotosensibilidade.

#### **2.1.4.3 – IL-10**

Nos pacientes com LES notam-se níveis elevados de IL-10 (Viallard et al., 1999; Mok & Lau, 2003; Lee et al., 2010).

O papel exacto da IL-10 continua desconhecido, mas existem estudos que referem que esta citocina é patogénica em humanos e ratinhos (Yin et al., 2002).

Para além da existência de investigações que demonstram que os níveis de IL-10 estão aumentados em pacientes com a doença activa (Hagiwara, Gourley, Lee & Klinman, 1996), também o efeito benéfico observado aquando da administração de anticorpos anti IL-10 a pacientes com LES (Llorente et al., 2000) sugere que esta citocina possa causar doença.

Apesar disso, Yin et al. (2002) verificaram que a IL-10 pode ter um papel supressivo, já que tem efeitos a nível da activação das células T e potencial para modular respostas Th1 potencialmente patogénicas. De facto, através do estudo que desenvolveram em ratinhos MRL/lpr, concluíram que os animais deficientes em IL-10, em comparação com a estirpe normal, apresentavam uma mortalidade superior, glomerulonefrite e linfadenopatia mais intensas e lesões cutâneas mais precoces. Estas observações resultam provavelmente da

supressão da produção de IFN- $\gamma$ , já que nos ratinhos com deficiência em IL-10 a produção de IFN- $\gamma$  se apresentou aumentada (Yin et al., 2002).

Considerando então que a IL-10 pode ter um papel na proliferação e diferenciação dos linfócitos B, na sua activação policlonal e na produção de anticorpos (Viallard et al., 1999; Mok & Lau, 2003; Spolski, Kim, Zhu, Levy & Leonard, 2009) e que inibe a produção de IFN- $\gamma$ , conclui-se que os seus efeitos no LES variam de acordo com a etapa em que a doença se encontra. Inicialmente a IL-10 suprime as respostas Th1 patogénicas, incluindo a inflamação renal causada pelo IFN- $\gamma$ ; numa fase posterior, quando o efeito do IFN- $\gamma$  não é tão importante, a quantidade excessiva de IL-10 pode aumentar a produção de autoanticorpos e consequente formação de complexos imunes (Yin et al., 2002).

#### **2.1.4.4 – IL-17/ IL-23**

A IL-17 também aparenta estar envolvida no desenvolvimento e progressão do LES e a sua produção está aumentada nos pacientes humanos (Crispín & Tsokos, 2010).

Esta citocina pró-inflamatória é a citocina típica de um conjunto de células T CD4+, as células Th17 (Korn, Bettelli, Oukka & Kuchroo, 2009; Zhang, Kytтарыs & Tsokos, 2009). Este tipo de células desenvolve-se quando as células T CD4+ *naïve* são estimuladas por determinadas citocinas como o *Tumor Growth Factor* (TGF)  $\beta$ , a IL-6 e a IL-21 (Crispín & Tsokos, 2010).

Nos pacientes humanos com LES, para além de um maior número de células T produtoras de IL-17 (Crispín et al., 2008; Wong et al., 2008) verifica-se igualmente um aumento de células T duplamente negativas (TDN) (CD4-CD8-), que estão na origem de uma parte significativa da IL-17 produzida no contexto desta doença (Crispín et al., 2008).

A população de células TDN aumentada nos ratinhos MRL/lpr produz maiores quantidades de IL-17 e esta contribui para o processo de nefrite. À medida que a doença progride, os linfócitos destes ratinhos expressam níveis cada vez mais elevados da citocina (Zhang et al., 2009).

Considera-se que a formação de células Th17 está favorecida nos casos de SLE, já que, teoricamente, o ambiente que se gera é ideal para que tal ocorra – a IL-2, citocina capaz de inibir o desenvolvimento das células Th17 e favorecer o das células Treg, está diminuída e a IL-6 e a IL-21, citocinas pró-inflamatórias, estão aumentadas (Crispín & Tsokos, 2010; Yap & Lai, 2010).

As concentrações altas de IL-17 provavelmente contribuem para a mobilização e activação de neutrófilos (Zhang et al., 2009) e células T e para a estimulação de células B (Crispín & Tsokos, 2010). Adicionalmente, esta citocina estimula a produção de diversos mediadores inflamatórios (Korn et al., 2009). Apesar de já se terem algumas noções, o papel da IL-17 na patogénese do LES ainda não foi totalmente determinado e torna-se necessário realizar estudos mais aprofundados (Crispín & Tsokos, 2010). De referir também que, havendo já

evidências nesse sentido, a presença de células Th17 ainda não está formalmente definida nos canídeos (Day, 2009).

Intimamente relacionada com a IL-17 surge a IL-23, de tal modo que se considera que ambas formam um eixo funcional que pode ter importância nas doenças autoimunes (Yap & Lai, 2010), incluindo no LES (Wong et al., 2008).

Em ratinhos, a manutenção e expansão da população de células Th17 depende em grande parte da IL-23 e verificou-se que esta aumenta a expressão da IL-17 nas células TDN e aumenta o seu número (Zhang et al., 2009). Assim, um eixo IL-23/IL-17 com uma actividade aberrante pode contribuir para o desenvolvimento de nefrite em ratinhos (Zhang et al., 2009; Yap & Lai, 2010).

A IL-23 não promove a diferenciação inicial em células Th17, mas parece ser essencial para a expansão destas (Wong et al., 2008; Korn et al., 2009) e pode servir para a difusão e estabilização das suas respostas (Korn et al., 2009). Outros possíveis efeitos continuam por determinar (Korn et al., 2009).

#### **2.1.4.5 – IFN- $\gamma$**

Os níveis de IFN- $\gamma$ , estão aumentados nos pacientes com glomerulonefrite grave (Akahoshi et al., 1999; Masutani et al., 2001). Nos ratinhos MRL/*lpr* esta citocina tem um papel dominante na patogénese da doença; a sua presença está relacionada com a gravidade da doença e a sua ausência com uma redução na glomerulonefrite (Peng, Moslehi & Craft, 1997; Balomenos, Rumold & Theofilopoulos, 1998; Schwarting et al., 1999). Em pacientes com LES também já foram detectadas mutações ao nível dos receptores para o IFN- $\gamma$  e há alguns génotipos que são considerados como factor de risco (Theofilopoulos et al., 2001).

O papel patogénico do IFN- $\gamma$  parece ter mais importância na fase inicial da doença (Peng, Moslehi & Craft, 1997; Balomenos, Rumold & Theofilopoulos, 1998; Schwarting et al., 1999), já que a administração de anticorpos anti IFN- $\gamma$  não provocou melhoras em ratinhos mais velhos e com a doença num estado mais avançado (Theofilopoulos et al., 2001); quando o protocolo foi aplicado em ratinhos jovens verificou-se que estes apresentavam maior longevidade e uma redução nos parâmetros serológicos e histológicos da doença (Theofilopoulos et al., 2001).

#### **2.1.4.6 – Factor de Necrose Tumoral $\alpha$**

Os níveis séricos de Factor de Necrose Tumoral (TNF)  $\alpha$  em pacientes humanos com LES estão aumentados (Aringer & Smolen, 2003), mas o seu significado na patogénese do LES continua rodeado de controvérsia, uma vez que já se verificaram quer efeitos protectores, quer efeitos prejudiciais em modelos de ratinhos (Yap & Lai, 2010).

Estudos mais antigos efectuados em ratinhos NZB/W mostram uma deficiência na produção desta citocina (Jacob & McDevitt, 1988<sup>1</sup>, citado por Aringer & Smolen, 2003), facto que pode iniciar um processo de autoimunidade semelhante ao do LES. Os animais nestas condições desenvolveram manifestações de doença graves, ao contrário dos animais com um nível de TNF- $\alpha$  adequado, que mostraram uma actividade da doença moderada (Kontoyiannis & Kollias, 2000). Para além disso, a administração terapêutica precoce de TNF nestes ratinhos retardou o desenvolvimento de autoanticorpos e o aparecimento de nefrite (Jacob & McDevitt, 1988, citado por Aringer & Smolen, 2003; Gordon, Ranges, Greenspan, & Wofsy, 1989).

Por outro lado, em ratinhos MRL/*lpr* observam-se níveis altos desta citocina, quer no soro quer a nível renal, que se relacionam com a gravidade da glomerulonefrite (Yokoyama, Kreft & Kelley, 1995).

O TNF- $\alpha$  exerce influência directa nos linfócitos B, ao servir como factor de crescimento, e pode também afectá-los através da capacidade que tem para induzir a produção de IL-6 (Berghe, 2000). A estimulação com TNF resulta num maior grau de activação e proliferação dos linfócitos T (Scheurich, Thoma, Ucer & Pfizenmaier, 1987; Zucali, Eifenbein, Barth & Dinarello, 1987; Yokota, Geppert & Lipsky, 1988) e num aumento da produção de IFN- $\gamma$  (Scheurich et al., 1987). O TNF é também capaz de induzir a apoptose de linfócitos de pacientes com LES *in vitro* (Aringer et al., 2002), o que pode estar relacionado com a taxa aumentada de morte celular característica desta doença. Porém, e considerando que esta citocina também é capaz de induzir a produção de moléculas anti-apoptóticas, o seu papel neste contexto ainda não está determinado *in vivo* (Aringer & Smolen, 2003).

## 2.2 – Genética

Os esforços que têm sido feitos para compreender a influência da genética no LES baseiam-se na noção de que a susceptibilidade a esta doença depende, em grande parte, da predisposição genética que os indivíduos apresentam, o que é comprovado através de diversos modelos de ratinhos (Kono & Theofilopoulos, 2006).

No Homem já foi descrita uma associação entre o LES e alguns determinantes do CMH, quer em termos de predisposição para a doença, quer em termos de protecção (Teichner et al., 1990). Como tal, o CMH pode ser descrito como um aglomerado de genes envolvidos na resposta imune a infecções, que está associado a diversas doenças autoimunes, por ter um papel essencial na apresentação de antigénios *self* e não *self* ao sistema imunitário. O CMH canino é chamado *dog leucocyte antigen* (DLA) e localiza-se no cromossoma 12 (Wagner et al., 2003) e sabe-se ainda que as moléculas da classe I correspondem ao *locus* DLA-A e as moléculas da classe II ao *locus* DLA-B (Krumbacher, 1986; Teichner et al, 1990).

---

<sup>1</sup> Jacob, C.O. & McDevitt, H.O. (1988). Tumour necrosis factor-alpha in murine autoimmune "lupus" nephritis. *Nature*, 331(6154), 356-358.

A selecção de animais com vista à obtenção de determinadas características fenotípicas originou uma diminuição na diversidade genética; esta, por seu lado, promoveu uma restrição a nível do polimorfismo do CMH, o que pode aumentar a susceptibilidade às doenças autoimunes (Tizard, 2004; Gershwin, 2007). O mesmo se aplica aos animais de raças puras, que têm um *pool* genético mais restrito (Wagner, 2003).

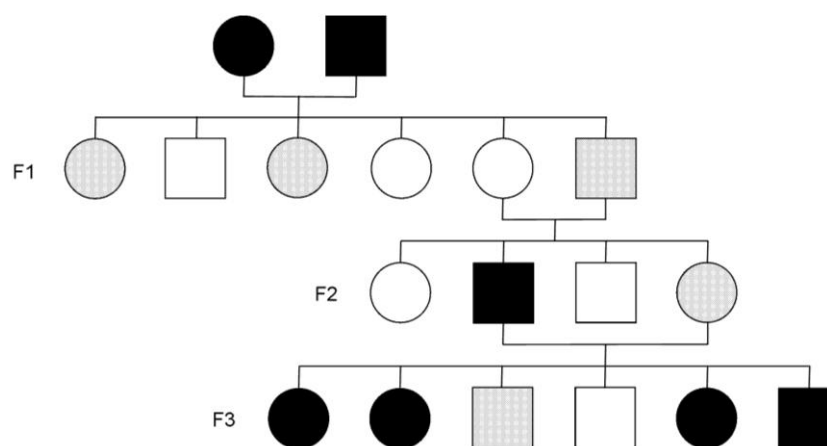
Nos canídeos não foram feitos estudos genéticos extensos no respeitante à origem da doença (Day, 1999; Snyder, 2007), mas a informação de que actualmente se dispõe teve origem em análises de colónias de cães com LES, feitas na última metade do século passado.

A primeira destas colónias foi estabelecida por Lewis e Schwartz (1971) em 1965 e baseou-se na criação de três linhagens consanguíneas, duas com um progenitor saudável e um doente e outra com os dois progenitores afectados.

Na descendência destas linhagens, contrariamente ao que se verificou em populações controlo, observaram-se várias anomalias serológicas, o que aponta para a existência de um mecanismo genético que regula a transmissão do LES; tendo em conta que a concordância entre os resultados esperados e os resultados obtidos não foi absoluta, não se pôs de parte a hipótese de a transmissão da doença envolver igualmente mecanismos não genéticos.

Entre 1970 e 1980, Monier e colaboradores (1988) criaram uma colónia a partir de dois progenitores doentes (figura 4).

**Figura 4** - Árvore genealógica da colónia criada por Monier e colaboradores. Os círculos representam as fêmeas e os quadrados os machos; o preenchimento a preto indica presença de sinais clínicos de LES e de AAN e o preenchimento a cinzento indica presença de AAN (adaptado de Monier et al., 1988).



Na geração F1 não se observaram sinais clínicos de doença, mas estes surgiram na geração F2 e, de um modo mais marcado, na geração F3. Dos 18 animais que compunham

a colónia, 12 eram positivos relativamente à presença de AAN; destes 12, 7 tinham manifestações clínicas de LES, de diversos tipos e diferente gravidade.

Estas observações permitiram concluir que, provavelmente, a transmissão genética da doença é complexa e envolve diversos genes, que terão que estar presentes simultaneamente para se observar sintomatologia grave.

Teichner et al (1990) realizaram um estudo que visou apenas Pastores Alemães e verificaram que nos grupos de animais doentes predominava o alelo DLA-A7 e que o alelo DLA-A1 estava, comparativamente com a população controlo, em menor proporção. Em relação à classe II, a única diferença entre os animais doentes e os controlos foi uma frequência reduzida do alelo DLA-B5 nos primeiros. Os riscos relativos obtidos para cada alelo foram, respectivamente, 11,93, 0,06 e 0,05.

Na mesma investigação, tentou-se determinar uma possível associação do LES com alelos silenciosos do componente C4 do complemento, situação verificada nos humanos (Briggs, Senaldo, Isenberg, Welsh & Vergani, 1991) mas esta não se comprovou.

Atentando aos ainda poucos conhecimentos no que respeita aos cães, há que ter em consideração que os modelos de ratinhos podem dar algumas direcções para melhor compreender o papel da genética na etiopatogénese do LES.

Estudos em diversas estirpes permitiram a identificação de mais de 100 *loci* que poderão estar associados com uma ou mais manifestações de LES. Adicionalmente, já se concluiu que a maior parte dos genes contribuem para uma parte mínima da susceptibilidade total e que, confirmando a ideia apresentada por Monier e a sua equipa, para a doença se manifestar na totalidade, é necessária a presença de diversos genes (Kono & Theofilopoulos, 2006).

Diversos procedimentos com ratinhos *knockout* permitiram perceber que a maioria dos genes identificados está relacionada com a regulação das células T e B, com a apoptose ou com a eliminação dos seus resíduos, o que é consistente com o modelo actualmente aceite para a explicação do LES (Kono & Theofilopoulos, 2006).

## **2.3 – Factores externos**

Apesar de, como referido anteriormente, os factores genéticos poderem criar uma predisposição para o LES, a influência dos factores externos não deve ser posta de parte (Mok & Lau, 2003).

### **2.3.1 – Radiação ultravioleta**

A influência da luz solar no desenvolvimento e exacerbação da doença é conhecida nos animais domésticos (Snyder, 2007). A radiação ultravioleta (UV) pode actuar de diversas formas, sendo uma delas a alteração das propriedades do ADN e de outros antigénios nucleares a nível dos queratinócitos, com aumento do poder imunogénico destas moléculas

(Mok & Lau, 2003). Já foi também demonstrado que os raios UV induzem a apoptose dos queratinócitos (Mok & Lau, 2003) e a exposição de antígenos nucleares à sua superfície (Scott et al., 2001; Hargis & Ginn, 2007). Consequentemente ocorrerá chamada de autoanticorpos ao local e ligação destes aos queratinócitos, com indução de citotoxicidade mediada por anticorpos e libertação de diversas citocinas, nomeadamente IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  (Scott et al., 2001). Outra das influências da luz UV passa pela indução da hiperexpressão da ICAM-1 (Scott et al., 2001), que tem influência no tráfego de linfócitos para o local (Hargis & Ginn, 2007).

### **2.3.2 – Agentes infecciosos**

A possibilidade da existência de um factor infeccioso na transmissão da doença, suspeita há muito levantada, também tem sido estudada. A corroborar esta hipótese está o facto de a injeção intraperitoneal de filtrados livres de células provenientes de animais com pais com LES em cachorros e ratinhos recém-nascidos ser capaz de originar a formação de AAN (Lewis et al., 1973). Em humanos já se verificou que os técnicos de laboratório que manipulam amostras sanguíneas de pacientes com LES têm maior frequência de autoanticorpos, o que também vai de encontro à ideia de um factor infeccioso (Zambinsky, Messner & Mandel, 1989<sup>2</sup>, citado por Powell & Jones, 1992).

Para melhor compreender esta hipótese, têm sido efectuados diversos trabalhos a nível da relação cão-Homem, já que, se de facto a existência de um agente ou de um factor ambiental comum for uma realidade, é de esperar que exista uma incidência maior de LES em cães de donos doentes. Porém, Kristensen et al. (1979) referem que não foram encontradas diferenças em termos clínicos ou laboratoriais entre animais de donos com LES e animais de donos saudáveis e Reinertsen et al. (1980) relatam que a exposição à doença canina não tem efeitos nos humanos. Por outro lado, já se verificaram resultados opostos. Chiou et al. (2004) encontraram uma correlação entre o contacto com pacientes humanos e uma maior incidência de AAN em cães, suportando os resultados obtidos anteriormente por Jones, Hopkinson e Powell (1992), que observaram uma maior quantidade de anticorpos anti-ADN em cães de donos doentes. O trabalho de Chiou et al. refere ainda que os títulos mais altos de AAN foram detectados nos animais que estavam com os donos há mais tempo. Ainda que para se tirarem conclusões definitivas seja necessária uma investigação mais intensiva neste campo, há dados que sugerem que o contacto de cães com donos com LES aumenta o risco de contrair a doença ou uma doença semelhante (Chiou et al., 2004). Nos cães já se correlacionou a presença de um retrovírus que apresenta reactividade cruzada para um antígeno linfocitário com o desenvolvimento da doença (Quimby et al., 1978) e nos humanos há uma correlação entre o LES e o vírus Epstein-Barr, também

---

<sup>2</sup> Zambinski, M., Messner, R. & Mandel, J. (1989). *Anti-DNA antibodies in technicians handling lupus blood I-S25*. Cincinnati, Ohio, USA: American College of Rheumatology.

causada por mimetismo molecular (Agmon-Levin, Blank, Paz & Shoenfeld, 2009). Ainda na doença humana, já foram igualmente implicados um parvovírus e alguns agentes bacterianos (Agmon-Levin et al., 2009).

### **2.3.3 - Vacinação**

O papel da vacinação na autoimunidade tem igualmente despertado curiosidade, já que é possível que possa desencadear processos autoimunes em indivíduos geneticamente susceptíveis de um modo semelhante ao das infecções (Toplak & Avcin, 2009).

Em cães já foi detectada uma relação entre a vacinação e o aparecimento de anemia hemolítica imuno-mediada (Duval & Giger, 1996) e existem referências a um caso de LES que terá surgido devido à administração de uma vacina viva modificada que continha antigénios dos vírus da esgana, da hepatite, da parainfluenza e da parvovirose (Scott et al., 2001). No entanto, em relação ao aparecimento de autoanticorpos não existem provas concretas e sabe-se apenas que existem vacinas capazes de originar a produção transiente destes em seres humanos (Toplak & Avcin, 2009). Ainda é bastante incerto o significado que este facto pode ter e, caso ocorra, o aparecimento de uma doença autoimune causada pela vacinação será, provavelmente, uma situação rara (Tizard, 2004).

### **2.3.4 - Fármacos**

Suspeita-se que a exposição a determinados fármacos tenha um papel no desenvolvimento da doença (Snyder, 2007).

Nos humanos esta situação está caracterizada com maior detalhe e reconhece-se a influência, por exemplo, da hidralazina, da procainamida e da penicilamina, substâncias capazes de provocar uma síndrome semelhante ao lúpus (Mok & Lau, 2003). O fumo do tabaco, por conter hidrazina (molécula também presente na hidralazina), pode igualmente ter um papel importante (Mok & Lau, 2003). Também os  $\beta$  bloqueadores, a sulfasalazina, a griseofulvina, a ciprofloxacina, a estreptomina, a penicilina e a tetraciclina, entre outros, poderão estar envolvidos no aparecimento do LES em humanos (Berent & Cerundolo, 2005). Os sinais clínicos e laboratoriais normalmente desaparecem quando o tratamento é descontinuado (Pedersen, 1999).

Já se verificou o aparecimento de LES em gatos cronicamente tratados com propiltiouracil, mas não existem descrições de lúpus induzido por fármacos (LIF) em cães (Pedersen, 1999).

### 3 – Prevalência

Um estudo realizado há cerca de três décadas (Scott, Walton, Manning, Smith & Lewis, 1983<sup>3</sup>, citado por Chiou et al., 2004) demonstrou que a prevalência de LES canino nos Estados Unidos da América era de 0,027% (27 casos em cada 100 000 canídeos) e desde então não têm sido realizados estudos no sentido de actualizar estes dados. Apesar de serem os únicos valores disponíveis há que considerar que, no período que decorreu entre a altura do referido estudo e os dias de hoje, se introduziram critérios de diagnóstico mais actualizados e sensíveis, o que levanta a possibilidade de os números reais serem mais elevados (Chiou et al., 2004).

O LES foi descrito em diversas espécies de mamíferos, incluindo humanos e outros primatas, ratinhos, que servem como modelos experimentais para estudos sobre a etiologia, desenvolvimento e tratamento da doença, cães (Lewis et al., 1965;), gatos (Lusson, Billiemaz & Chabanne, 1999), cavalos (Geor, Clark, Hines & Napier, 1990) e também em espécies poiquilotérmicas (Fredric & Frye, 1976).

Apesar de no Homem se notar uma predisposição por parte dos indivíduos do sexo feminino com um rácio de 9:1 em relação aos indivíduos do sexo masculino (Cohen-Solal et al., 2006), a maior parte dos investigadores concorda que nos cães o género não é um factor de risco (Jones, 1993; Chiou et al., 2004; Stull, Evason, Carr & Waldner, 2008). Contudo, os estudos realizados por Fournel e colaboradores (1992) apontam para que o LES seja mais frequente nos machos, tendo sido verificado que 68% dos animais afectados eram do sexo masculino, o que corresponde a um rácio de 7:3.

Dados relativos à predisposição de determinadas raças são algo escassos, uma vez que a relação entre a incidência rácica e as populações clínicas de base não tem sido sujeita a uma análise extensa (Chabanne et al., 1999a). Também não deve ser descurada a hipótese de determinadas raças mais populares estarem sobre-representadas, o que faz com que seja difícil afirmar que se trata de facto de raças predispostas (Jones, 1993).

Apesar destes factos, Fournel e colaboradores (1992) referem como raça mais afectada o Pastor Alemão (46,7% dos casos), opinião corroborada pelas investigações de Stull e equipa (2008), que relatam um valor de 24%. Entre as raças apontadas como mais atingidas encontram-se também o Pastor de Shetland, o Galgo Afegão, o Poodle, o Beagle, o Setter Irlandês, o Bobtail (Tizard, 2004; Snyder, 2007) e o Collie (Cannon, 2007; Gershwin, 2010). As raças miniatura e gigantes raramente são afectadas (Fournel et al., 1992).

Em termos de idade, o paciente típico é um animal com cerca de 5 anos de idade (6 meses a 13 anos) (Fournel et al., 1992), mas há que considerar que existirá certamente uma diferença temporal entre o início da doença e o momento em que o diagnóstico é feito (Chabanne et al., 1999a).

---

<sup>3</sup> Scott, D.W., Walton, D.K., Manning, T.O., Smith, C.A. & Lewis, R.M. (1983). Canine systemic lupus erythematosus. I. Systemic lupus erythematosus. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 19, 461-479.

#### 4 – Sinais clínicos e laboratoriais

De um modo idêntico à doença humana, o lúpus canino alterna períodos de remissão com períodos de recaída (Chabanne et al., 1999a; Chiou et al., 2004). Ocasionalmente pode surgir como uma doença subaguda (Fournel et al., 1992).

Em contraste com o que se observa a nível dos AAN, as manifestações clínicas de LES canino são muito semelhantes às observadas nos pacientes humanos (Monestier et al., 1995).

Aquando da sua descrição original, o LES canino foi caracterizado principalmente por alterações hematológicas, nomeadamente anemia hemolítica e trombocitopénia (Lewis et al., 1965) mas desde então o seu perfil já sofreu algumas alterações (Chabanne et al., 1999a). Actualmente sabe-se que as suas manifestações clínicas e laboratoriais são diversas e a frequência com que aparecem bastante variada (Chabanne et al., 1995b) (tabela 6).

**Tabela 6** - Manifestações clínicas e laboratoriais de LES em canídeos (frequência relativa, n=75) (adaptado de Fournel et al., 1992).

Sinal clínico	Animais afectados
Febre	100
Poliartrite não erosiva	91
Envolvimento renal	65
Lesões mucocutâneas	60
Úlceras bucais	11
Linfadenomegália e/ ou esplenomegália	50
Miosite	8
Pleuropericardite	8
Envolvimento do Sistema Nervoso Central	1,6
Polineurite	1,3
Pneumonia	3
Anemia hemolítica	13
Trombocitopénia	4
Leucocitose	31
Leucopénia	20
Linfopénia	11

Estes sintomas não surgem necessariamente de um modo concomitante, mas sim de uma forma sucessiva com o evoluir da doença (Chabanne et al., 1995b; Chabanne et al., 1999a).

De uma forma geral, considera-se que a presença simultânea de três ou mais sinais ocorre apenas em casos de doença avançada e com um mau prognóstico (Chabanne et al., 1999a). O estado geral dos animais altera-se à medida que a doença progride e verifica-se a instalação de uma astenia persistente e a presença de temperaturas elevadas, com picos de febre superiores a 40°C (Chabanne et al., 1995b).

A poliartrite (figura 5) é um sintoma muito frequente e geralmente o primeiro a aparecer (Fournel et al., 1992; Chabanne et al., 1995b) e os animais manifestam-na através de letargia, rigidez e dificuldades em se levantarem ou em manterem a estação (Stull et al., 2008).

Por vezes também é patente uma locomoção difícil ou uma troca constante de peso de um membro para o outro (Chabanne et al., 1999a).

**Figura 5** - Poliartrite com tumefacção articular num cão com LES (Chabanne et al., 1995b, com autorização).



Esta artrite caracteriza-se por ser não erosiva e, como tal, não se traduz por lesões radiológicas (Chabanne et al., 1995b). São afectadas principalmente as articulações intervertebrais, as cárpicas, as társicas e, numa fase mais avançada da doença, a articulação temporo-mandibular (Chabanne et al., 1995b; Chabanne et al., 1999a).

A análise do líquido sinovial mostra algumas alterações. Em situações normais, as células predominantes são linfócitos e macrófagos (Sellon, 2007) e os neutrófilos são responsáveis por apenas 5-6% da população celular (Matos, 2008). Em casos de artrite devida a causa imunomediada nota-se um aumento na percentagem de neutrófilos (Sellon, 2007; Matos, 2008), que pode variar entre os 15 e os 95%, mas ficando a morfologia preservada, ou seja, sem sinais de degenerescência (Matos, 2008). O volume de fluido aumenta e a aparência altera-se, deixando o fluido de ser transparente e passando a apresentar uma turvação leve a moderada (Matos, 2008).

Os sintomas dermatológicos são frequentes e podem ser os primeiros a surgir caso os animais vivam em regiões solarengas (Chabanne et al., 1995b). Normalmente caracterizam-se por fotossensibilidade em localizações específicas, que correspondem às áreas mais expostas à luz solar, como a região dorsal dos membros anteriores e a face, ou mais glabras, como as axilas, a região inguinal ou o abdômen (Chabanne et al., 1999a).

As lesões cutâneas são pleomórficas e podem incluir alopecia difusa ou localizada, com ou sem dermatite, lesões eritematosas, ulcerativas (figura 6) ou vesiculares, descamação, formação de crostas (figura 7), ocasionalmente hiperqueratose ou despigmentação (Fournel et al., 1992; Chabanne et al., 1995b; Olivry et al., 1999).

As úlceras bucais e faríngeas parecem ser menos frequentes em comparação com a doença humana e passam mais despercebidas. Quando se observam, por norma são extensas e bastante sugestivas de LES (Chabanne et al., 1995b). Por vezes é também detectado edema facial (Fournel et al., 1992).

**Figura 6** - Eritema e ulceração nas regiões inguinal e escrotal de um cão com LES (Chabanne et al., 1999a<sup>4</sup>, com autorização).



**Figura 7** - Crostas na orelha e no focinho de um Pastor Alemão com LES (Chabanne et al., 1999a<sup>4</sup>, com autorização).



<sup>4</sup>Copyright 1999 Veterinary Learning Systems, Yardley, Pennsylvania

A patologia renal é frequente e constante nos casos em que a doença está mais evoluída (Fournel et al., 1992; Chabanne et al., 1995b) e é importante para o prognóstico da doença, já que pode ser fatal (Fournel et al., 1992; Chabanne et al., 1999a; Hawke, Painter, Kirwan, van Driel & Baxter, 2003). Caracteriza-se por uma glomerulonefrite, que se traduz normalmente por proteinúria superior a 0,5g/L e, por vezes, microhematúria; a associação a síndrome nefrótica ocorre em casos raros (Chabanne et al., 1995b). Fournel et al. (1992) referem a presença de proteinúria com valores geralmente superiores a 1g/L.

As lesões renais envolvem o glomérulo, os capilares e a membrana basal dos túbulos renais e a glomerulonefrite tem uma gravidade variada, desde alterações mesangiais ligeiras a lesões proliferativas difusas (Chabanne et al., 1999a; Snyder, 2007).

A linfadenomegália e a esplenomegália são encontradas com muita frequência, principalmente a primeira, que tem tendência a acompanhar a poliartrite quando esta se generaliza (Chabanne et al., 1995b).

As inflamações das serosas, a pneumonia e as alterações do sistema nervoso central são pouco frequentes (Fournel et al., 1992).

Eventualmente poderão surgir lesões oculares, como uveíte ou corioretinite (Berent & Cerundolo, 2005).

Ocorrências esporádicas da presença simultânea de LES e outras doenças já foram igualmente registadas. Tal é o caso de um canídeo no qual se detectou lúpus e necrose da medula óssea (Felchle, McPhee, Kerr & Houston, 1996). Sendo ambas doenças bastante infrequentes, é de considerar que possa existir uma associação entre as duas (Felchle et al., 1996). Esta hipótese é apoiada pela atribuição de um papel, a nível experimental, aos complexos imunes no mecanismo que leva à falha da microcirculação medular (Weiss, Armstrong & Reimann, 1985). Seria, portanto, possível que os complexos imunes circulantes originassem vasculite a nível da medula óssea e consequente necrose; neste caso específico, o facto de a mielonecrose apresentar uma natureza transiente e melhoria quando sob a influência de terapia imunossupressora levanta a suspeita de uma etiologia imunomediada (Felchle et al., 1996).

Já foi detectado um caso de LES canino e bloqueio átrio-ventricular completo concomitante; a causa apontada para o bloqueio prende-se com a destruição imunomediada dos tecidos cardíacos (Malik, Zunino & Hunt, 2003).

Em relação às análises sanguíneas, pode encontrar-se uma anemia hemolítica, geralmente acompanhada por um teste de Coombs positivo (Chabanne et al., 1999a). Porém, nem todos os casos de LES têm este tipo de anemia; alguns apresentam uma anemia não regenerativa de doença crónica (Day, 1999).

Pode também estar presente uma trombocitopénia (Chabanne et al., 1999a), que se apresenta normalmente sob a forma de petéquias e equimoses da pele e das membranas mucosas (Pugliese et al., 2007).

Em cerca de 31% dos casos de LES, Fournel et al. (1992) observaram leucocitose e, mais raramente, leucopénia e linfopénia.

Para além da associação da presença de linfopénia com a fase aguda da doença, já foi demonstrada nos cães uma modificação a nível dos linfócitos T circulantes (Chabanne et al., 1995a). Nos animais com LES verificou-se que a população de células CD8+ está diminuída em números absolutos e percentualmente, facto que se relaciona directamente com a gravidade da doença. Já as células CD4+, apesar de terem um número absoluto inferior ao normal, estão presentes em maior percentagem (Chabanne et al., 1999a). Verifica-se então que há um desequilíbrio a nível do rácio CD4+:CD8+, sendo este maior nos cães com LES activo (Chabanne et al., 1999a) mas passível de ser corrigido com a instituição do tratamento (Chabanne et al., 1995a). A causa subjacente à diminuição dos linfócitos T pode corresponder ao aparecimento de anticorpos a eles dirigidos (Monier et al., 1988).

A nível das proteínas pode verificar-se hipoalbuminémia e hiperglobulinémia, a última devida a uma gamapatia policlonal (Berent & Cerundolo, 2005), o que pode resultar num aumento do valor das proteínas totais (Dunn, 1998).

## **5 – Diagnóstico**

Esta doença multissistémica, com as suas numerosas manifestações clínicas, curso variável e períodos de dormência, é um desafio em termos de diagnóstico (Chabanne, Fournel, Rigal & Monier, 1999b).

Considerando o tipo de sinais que foi acima referido, poderão ser feitos diversos exames complementares que podem ajudar a orientar o diagnóstico, apesar de não haver um teste completamente específico para a doença.

Os resultados hematológicos não são exclusivamente característicos de LES, mas em animais suspeitos que apresentem anemia e/ou trombocitopénia poderão ser feitos o teste de Coombs directo para avaliar a presença de anticorpos anti-hemácia e testes para determinar a existência de anticorpos anti-plaquetas (Dunn, 1998).

Se existirem sinais de doença renal poderão ser feitas uma urinálise ou, eventualmente, uma biópsia renal; em casos com evidências de poliartrite poderá ser feita uma análise do fluido sinovial ou uma radiografia (Dunn, 1998; Berent & Cerundolo, 2005). Ainda nos exames imagiológicos, uma ecografia abdominal poderá revelar a presença de esplenomegália ou linfadenopatia e eventuais efusões pericárdicas e sinais de pleurite poderão ser revelados por uma radiografia torácica (Berent & Cerundolo, 2005).

Existem, no entanto, determinados testes, exames e critérios de diagnóstico que poderão dar indicações mais precisas em casos suspeitos de lúpus; estes serão brevemente descritos de seguida.

## 5.1 – Corpos LES e Células LE

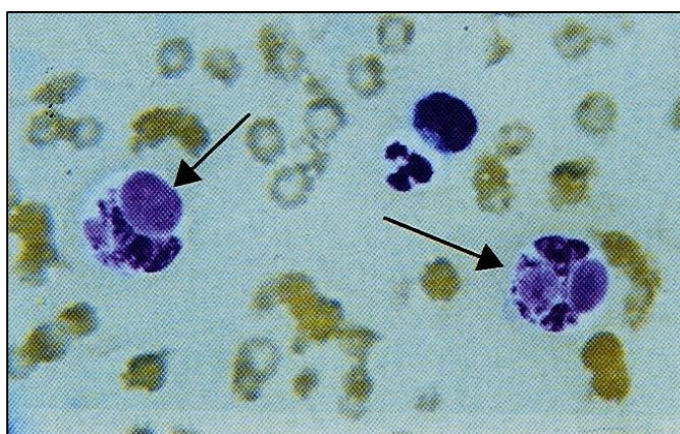
A observação de células LE por Hargraves em 1948 levou ao desenvolvimento do primeiro teste laboratorial para o diagnóstico de LES – o teste das células LE (Kavanaugh, Tomar, Reveille, Solomon & Hoburger, 2000; Keren, 2000).

A formação dos corpos LE ou corpos de hematoxilina ocorre quando os AAN se ligam a material nuclear proveniente de células degeneradas, produzindo-se estruturas arredondadas ou ovais (Tizard, 2004). Estas formações são frequentemente encontradas em diversos órgãos dos pacientes com LES, como é o caso da pele, dos linfonodos, dos rins ou do coração (Tizard, 2004; Snyder, 2007).

O material nuclear pode ser opsonizado e fagocitado por um macrófago ou um neutrófilo, levando à formação de uma célula LE (figura 8) (Snyder, 2007). Apesar de poder ocorrer na medula óssea (Tizard, 2004; Snyder, 2007) e no fluido sinovial (Sellon, 2007; Matos, 2008), o fenómeno não é muito frequente *in vivo* e, se o objectivo for usar a presença destas células como teste para o diagnóstico de LES, normalmente a sua produção tem que ser efectuada *in vitro* (Tizard, 2004).

Este teste consiste em colher uma amostra de sangue periférico, danificar as células (com, por exemplo, esferas de vidro) e de seguida incubar a amostra. Nas amostras em que estejam presentes AAN estes reagirão com os componentes nucleares, formando-se assim células LE (Keren, 2000).

**Figura 8** - Duas células LE (setas) de um cão com LES (Tizard, 2004<sup>5</sup>, com autorização)



Apesar de a sua utilidade ter sido declarada na altura em que surgiu, rapidamente se percebeu que o teste não era absolutamente sensível ou específico (Kavanaugh et al.,

<sup>5</sup> This figure was published in *Veterinary Immunology – an introduction*, Ian R. Tizard, “The systemic immunological diseases”, page no. 401, Copyright Elsevier (2004).

2000), obtendo-se um resultado positivo em apenas 50% dos pacientes humanos (Keren, 2000).

Depois de se ter reconhecido que o fenómeno das células LE ocorre porque existem anticorpos para antígenos nucleares foi possível desenvolver testes para os detectar através de imunofluorescência. Estas técnicas permitem um resultado mais fidedigno, já que se revelaram mais sensíveis (Kavanaugh et al., 2000).

O teste das células LE foi descrito como um método de diagnóstico definitivo de LES canino nas referências iniciais à doença (Lewis et al., 1965) mas actualmente, tal como acontece na Medicina humana, é considerado obsoleto e pouco fiável, por apresentar uma alta incidência de falsos negativos e positivos (Tizard, 2004). Hoje em dia, a importância deste teste é mais evidente a nível histórico, tendo já sido substituído pelos testes de imunofluorescência (Jones, 1993; Pedersen, 1999).

## 5.2 - Teste de AAN

Os AAN são considerados a base essencial do diagnóstico biológico de LES em todas as espécies (Chabanne et al., 1995b).

Na Medicina humana existem diversos tipos de teste de AAN, cada um com uma interpretação diferente. Na Medicina Veterinária, pelo contrário, o mais comum é usarem-se apenas testes não específicos (Cohn, 2005).

Actualmente a técnica mais vulgarmente empregue na detecção de AAN é a imunofluorescência indirecta (IFI) (Hansson & Karlsson-Parra, 1999; Paul et al., 2005; Prélud, 2008). O teste é feito utilizando um substrato nuclear como fonte de material antigénico e a ligação de AAN a este é revelada através da incubação com um anti-soro espécie-específico, conjugado com um componente fluorescente (Cohn, 2005). A amostra é inicialmente testada a uma diluição baixa e, se for positiva, são feitas diluições seriadas que permitirão estabelecer o título (Dunn, 1998).

A importância do substrato utilizado é bastante evidente (Hansson, Trowald-Wigh & Karlsson-Parra, 1996; Hansson & Karlsson-Parra, 1999). Inicialmente começaram por ser usadas secções de órgãos de roedor, principalmente fígado e rim, mas a mudança para a linha celular *human epithelial 2* (HEp-2) permitiu aumentar a sensibilidade e a especificidade do teste (Kavanaugh et al., 2000; Keren, 2000). Estas não são, porém, as únicas vantagens. Depois de sujeita ao teste, a amostra é analisada através de microscopia de fluorescência e é possível discernir diferentes padrões de fluorescência (Hansson-Hamlin, Lilliehöök & Trowald-Wigh 2006) – homogéneo ou difuso, periférico, reticulado ou nodular e nucleolar (Dunn, 1998). No Homem já se demonstrou que, apesar de as correlações não serem absolutas, diferentes padrões estão associados a diferentes reactividades por parte dos autoanticorpos (Bell, Hughes, Bennett & Bari, 1997) e diferentes reactividades estão associadas a diferentes manifestações clínicas (Jones, 1993) e a doenças autoimunes

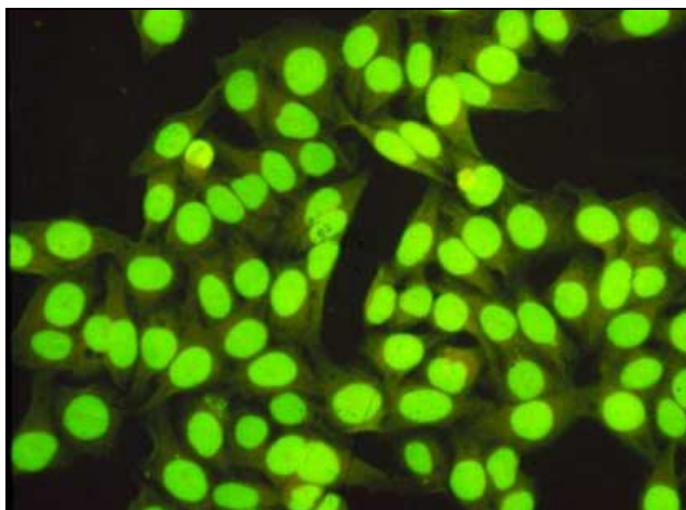
específicas (von Mühlen & Tan, 1995; Paul et al., 2005). Nos canídeos, à semelhança desta situação, o padrão obtido por IFI também pode ser um auxiliar no respeitante ao diagnóstico de diferentes doenças e à melhor compreensão do LES (Bell et al., 1997).

Hansson et al. (1996) realizaram um estudo que pretendia comparar fígado de roedor e a linha HEP-2 enquanto substratos para a detecção de AAN em soros caninos. Foi possível perceber que o fígado de roedor não permite que os padrões de imunofluorescência sejam claramente distinguidos, ao contrário da linha HEP-2, que não só possibilitou uma distinção fácil e consistente, como também permitiu separar os soros positivos em dois grupos, de acordo com a reactividade nas zonas cromossómicas.

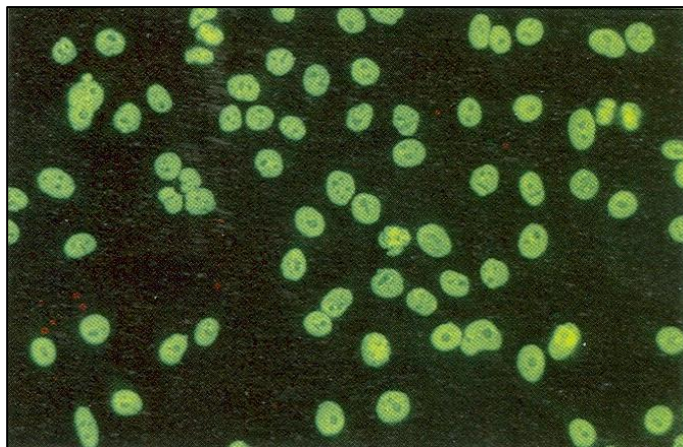
O fígado de roedor apresenta ainda uma especificidade menor, já que foi detectado um grande número de soros de animais saudáveis positivos a baixa diluição, situação que não ocorreu quando se utilizou a linha HEP-2; como tal, considera-se que, quando se usa fígado de roedor como substrato, para o resultado positivo ser considerado significativo é necessário que se verifique positividade a uma diluição mínima de 1/100 (Hansson et al., 1996).

Os padrões mais comumente detectados em soros caninos são o homogéneo (figura 9) e o reticulado (figura 10), sendo que alguns autores detectaram com maior frequência o primeiro (Chabanne et al., 1999a) e outros o segundo (Thoren-Tolling et al., 1991; Monier et al., 1992; Bell et al., 1997; Hansson-Hamlin et al., 2006).

**Figura 9** - Teste IFI positivo em HEP-2 a mostrar a presença de AAN com padrão homogéneo num soro de um cão com LES (Gershwin, 2007, com autorização).



**Figura 10** – Teste IFI positivo em HEp-2 a mostrar a presença de AAN com padrão reticulado num cão com LES; ampliação x 40 (Chabanne et al., 1995b, com autorização).



Nos canídeos, tal como nos humanos, à medida que novas especificidades de AAN vão sendo caracterizadas, foi surgindo a noção de que determinadas doenças autoimunes poderão estar associadas com certos perfis de autoanticorpos (Hansson & Karlsson-Parra, 1999). Porém, este assunto ainda não foi muito aprofundado e a informação em relação ao significado dos diferentes autoanticorpos e padrões nas doenças imunomediadas ainda é bastante escassa (Paul et al., 2005). Para além disso, já foi demonstrado que os padrões observados no soro canino podem variar com a diluição deste (Schubert, Keller & Leibold, 1992<sup>6</sup>, citado por Bell et al., 1997) e existem investigadores que acreditam que o padrão observado depende em grande parte do tratamento prévio dado às células (Tizard, 2004), o que origina mais dificuldades na sua interpretação.

Thoren-Tolling e Ryden (1991) desenvolveram um estudo em Pastores Alemães com sintomatologia semelhante à do lúpus e constataram que a presença de antigénios histónicos e de ANE (RNP e Sm) se relacionava com o padrão reticulado. No entanto, não foi possível descortinar uma relação entre a sintomatologia e a especificidade dos anticorpos. Fournel et al. (1992) verificaram que os anticorpos anti-T1 e anti-T2 correspondem a um padrão reticulonodular e que o padrão homogéneo normalmente condiz com anticorpos para complexos ADN-histona.

No seguimento do estudo realizado em 1996, Hansson e Karlsson-Parra (1999) notaram que a reactividade cromossómica estava presente apenas em soros que apresentassem um padrão homogéneo; já anteriormente tinha sido constatado que os soros com reactividade cromossómica geralmente contêm anticorpos anti-histona (Monestier et al., 1995). Verificou-se igualmente a ausência de quaisquer correlações entre determinados sinais clínicos e padrões de imunofluorescência específicos, mas foi colocada a hipótese de que, à semelhança do que acontece no Homem, as doenças autoimunes sistémicas dos canídeos

---

<sup>6</sup> Schubert, H.J., Koller, L. & Leibold, W. (1992). Different pattern of canine antinuclear antibodies on western blots. In *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Veterinary Symposium*, Budapest, Hungary.

estejam interligadas entre si, com diversas manifestações clínicas sobreponíveis, o que dificultaria a separação em grupos distintos (Hansson & Karlsson-Parra, 1999).

Mais recentemente (Hansson-Hamlin et al., 2006) mostrou-se que nos animais que apresentam um padrão de imunofluorescência homogêneo estão presentes sinais clínicos relacionados com diversos sistemas orgânicos – alterações músculo-esqueléticas, anemia, febre, poliúria e polidipsia, dermatopatia, convulsões, entre outros. Pelo contrário, nos animais com padrão reticulado, notam-se principalmente alterações músculo-esqueléticas, letargia e febre. Este estudo sugere que um padrão homogêneo leva a um diagnóstico provável de LES, quer pela variedade observada nos sinais clínicos, quer pelo facto de na doença humana se encontrarem frequentemente autoanticorpos com reactividade para os cromossomas (von Mühlen & Tan, 1995). O padrão reticulado, por outro lado, indicaria doenças autoimunes semelhantes aos LES, noção que ainda não está muito estabelecida em Medicina Veterinária (Hansson-Hamlin et al., 2006).

Desde cedo se percebeu que os AAN caninos têm uma especificidade antigénica heterogénea (Shull et al., 1983), o que origina frequentemente padrões combinados. Ainda não são evidentes relações claras entre reactividades, padrões e sintomatologia e são necessárias investigações adicionais que possam levar a um melhor entendimento desta área (Hansson et al., 1996)

Os testes para determinar a presença de AAN são sensíveis mas não são 100% específicos (Gershwin, 2010) e devem ser sempre interpretados no contexto clínico (Kavanaugh et al., 2000).

### **5.3 - Critérios de diagnóstico**

Como não existem testes laboratoriais completamente específicos, o diagnóstico definitivo de LES é baseado em critérios aceites e não em alterações patognomónicas (Snyder, 2007).

Existem diversos esquemas propostos, já que as apresentações clínicas são variadas e as opiniões sobre que sinais poderão ser usados como critérios fiáveis também. Um dos esquemas pressupõe que os sinais podem ser divididos em “maiores” e “menores”, de acordo com a frequência com que surgem (tabela 7). Como nenhum dos sinais referidos é específico de LES, uma combinação com testes serológicos positivos facilita o diagnóstico (Dunn, 1998).

Um dos modos de interpretação mais utilizados propõe que o diagnóstico definitivo seja feito quando se verifica a presença de AAN e dois sinais maiores ou um maior e dois menores, sendo o diagnóstico provável quando existem AAN e um sinal maior ou dois menores (Gorman & Werner, 1986<sup>7</sup>, citado por Dunn, 1998).

---

<sup>7</sup> Gorman, N.T. & Werner, L.L. (1986). Immune-mediated diseases of the dog and cat I: Basic concepts of the immune-mediated diseases. *British Veterinary Journal*, 142, 395-402.

**Tabela 7** - Sinais maiores e menores utilizados no diagnóstico de LES canino.

<b>Sinais maiores</b>	<b>Sinais menores</b>
Poliartrite	Polimiosite
Glomerulonefrite	Pericardite/ miocardite
Dermatopatia	Pleurite
Anomalias hematológicas	Linfadenopatia generalizada
(anemia, trombocitopenia, leucopenia)	Úlceras orais
	Sinais nervosos
	Sinais gastrointestinais

Hoje em dia o esquema mais usado é o proposto em 1982 pela Associação Americana de Reumatologia (AAR) (Anexo I), adaptado para o cão, que apresenta 11 critérios clínicos e imunológicos (Chabanne et al., 1995b, Chabanne et al., 1999b) (tabela 8).

As principais alterações efectuadas ao esquema da doença humana são ao nível do 10º critério. Os anticorpos anti-ADN, que, como já referido anteriormente, são raros na doença canina, devem ser substituídos por anticorpos anti-histona e devem também ser incluídos os anti-Sm e os anti-T1 (Chabanne et al., 1999b).

**Tabela 8** - Critérios para o diagnóstico de LES canino, adaptados dos critérios da AAR para a doença humana (adaptado de Chabanne et al., 1999b).

<b>Critério</b>	<b>Definição</b>
1. Eritema	Vermelhidão em áreas de pele fina ou glabra
2. Lúpus cutâneo	Despigmentação, eritema, erosões, úlceras, crostas e descamação, afectando principalmente a face
3. Fotossensibilidade	Agravamento das lesões por exposição à luz solar
4. Úlceras orais	Úlceras na boca ou faringe, normalmente indolores
5. Artrite	Artrite não erosiva, envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizada principalmente por dor durante os movimentos (flexão-extensão forçada progressiva); tumefacção e derrame normalmente pouco marcados
6. Serosite	Presença de um derrame cavitário inflamatório asséptico (pleurite ou pericardite)
7. Doença renal	a) Proteinúria persistente (> 0,5 g/L ou 3+) ou b) cilindrúria ou hematúria microscópica ou hemoglobinúria

**Tabela 8** (cont.) - Critérios para o diagnóstico de LES canino, adaptados dos critérios da AAR para a doença humana (adaptado de Chabanne et al., 1999b).

8. Alterações neurológicas	Na ausência de fármacos convulsionantes ou alterações metabólicas: a) convulsões ou b) psicose
9. Alterações hematológicas	a) anemia hemolítica com reticulocitose ou b) leucopénia (<3000/ mm <sup>3</sup> ou c) linfopénia (<1000/ mm <sup>3</sup> ) ou d) trombocitopénia (< 100000/ mm <sup>3</sup> )
10. Alterações imunológicas	a) Anticorpos anti-histona ou b) anticorpos anti-Sm ou c) anticorpos anti-T1 ou d) alterações nas populações de células T (< 200 CD8+/mm <sup>3</sup> ou CD4+:CD8+ > 4.0)
11. AAN	Título anormal de AAN na ausência de fármacos associados com a sua formação

Seguindo esta lista, um diagnóstico definitivo de LES estará estabelecido se um paciente apresentar quatro ou mais critérios, simultânea ou consecutivamente, durante um determinado período de observação (Chabanne et al., 1999b).

Apesar de a transposição de certos critérios para o cão ser difícil, particularmente no relativo aos sinais neurológicos, os conhecimentos que se têm actualmente apontam para que este seja de facto o modelo mais adequado para o diagnóstico da doença (Chabanne et al., 1995b).

#### 5.4 – Biópsia cutânea, histopatologia e imunohistoquímica

A biópsia de pele pode ser útil no diagnóstico de lúpus e a selecção do local a analisar deve ser cuidada, evitando as lesões e preferindo zonas de epiderme intacta (Gross, Ihrne, Walder & Affolter, 2005).

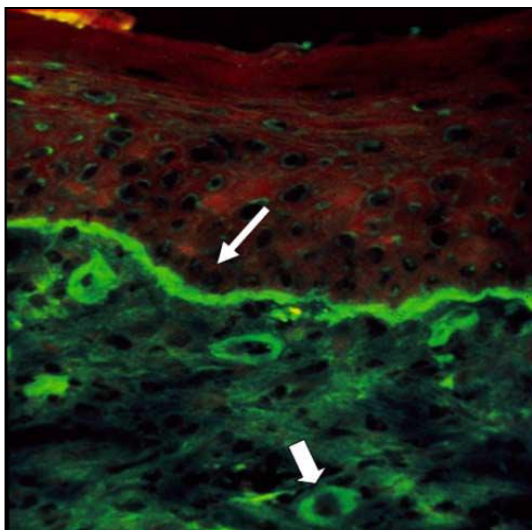
As observações histopatológicas são variáveis (Gross et al., 2005) mas a lesão clássica é a presença de dermatite de interface (Day, 1999; Berent & Cerundolo, 2005), isto é, a infiltração superficial de células inflamatórias mononucleares na junção derme-epiderme (Snyder, 2007).

Na epiderme nota-se vacuolização e apoptose das células basais (Berent & Cerundolo; Snyder, 2007), podendo originar uma separação entre a derme e a epiderme e ulceração (Gross et al., 2005). Pode ainda ocorrer hiperqueratose ortoqueratótica (Choi et al., 2004; Berent & Cerundolo, 2005), disqueratose ou hiperplasia epidérmica (Ginn, Mansell & Rakich, 2007) e os folículos pilosos podem apresentar atrofia (Choi et al., 2004) ou infiltrados inflamatórios (Berent & Cerundolo, 2005). A presença de incontinência pigmentar também é possível (Berent & Cerundolo, 2005; Hargis & Ginn, 2007)

As lesões em fase aguda caracterizam-se por edema, dilatação dos capilares com extravasamento de leucócitos e eritrócitos (Ginn et al., 2007) e infiltração linfoplasmocítica perivascular na derme superficial (Choi et al., 2004). Com a cronicidade surge o espessamento da ZMB, que reflecte a contínua acumulação de complexos imunes (Ginn et al., 2007).

As técnicas de imunohistoquímica são usadas para a detecção de autoanticorpos livre ou de imunocomplexos em amostras biopsiadas (Toman & Faldyna, 2006). No caso do LES é referida a presença de depósitos de IgG, IgM e/ou IgA na ZMB, com frequências entre os 75% (Fournel et al., 1992) e os 90% (Scott et al., 1983<sup>3</sup>, citado por Dunn, 1998), formando uma banda de fluorescência (teste *lupus-band* positivo) (figura 11).

**Figura 11** - Imunofluorescência que revela deposição de IgG na junção derme-epiderme (seta fina) e uma célula mononuclear na derme com IgG citoplasmática (seta espessa) numa biópsia cutânea de um cão com LES (Gershwin, 2007, com autorização).



A presença do componente C3 do complemento também ocorre (Choi et al., 2004). Esta banda é observada quer em pele lesada, quer em pele sã (Fournel et al., 1992; Choi et al., 2004), o que leva a crer que as lesões cutâneas observadas no LES sejam em parte devidas à acção citotóxica directa (Gross et al., 2005).

## 6 – Terapêutica

### 6.1 – Imunoterapia

Sendo a imunossupressão o factor chave no controlo das respostas imunitárias anómalas, torna-se óbvio que o tratamento do LES seja feito à base deste tipo de fármacos. Estes

medicamentos têm mecanismos de acção distintos mas comum a todos eles é o facto de aumentarem a predisposição para infecções, pela diminuição das defesas orgânicas.

### **6.1.1 – Glucocorticóides**

O tratamento do LES é baseado principalmente em doses altas de corticosteróides (Chabanne et al., 1999b).

Os glucocorticóides (GC) constituem a primeira linha de tratamento da maioria das doenças imunomediadas. As razões para tal incluem um rápido início de acção, o baixo risco de toxicidade e o baixo custo (Scott-Moncrieff, 2009).

Apesar do sucesso dos GC como imunomoduladores, ainda não se compreende completamente o mecanismo molecular que está na base dos seus efeitos; sabe-se, no entanto, que o seu modo de acção é multifactorial e que conseguem bloquear a imunidade mediada por células T (Almawi & Melemedjian, 2002).

O mecanismo de acção mais significativo baseia-se na capacidade que os GC têm de afectar a expressão de factores de transcrição envolvidos na activação de genes pró-inflamatórios (Bosscher, Berghe & Haegeman, 2000). Os GC inibem assim várias moléculas associadas com a inflamação: metabolitos do ácido araquidónico, moléculas de adesão (Ferguson & Hoenig, 2001) e diversas citocinas, entre as quais a IL-2, a IL-6, a IL-10, o IFN- $\gamma$  e o TNF- $\alpha$  (Ferguson & Hoenig, 2001; Almawi & Melemedjian, 2002), cuja importância no contexto do LES já foi referida anteriormente; pelo contrário, estimulam a expressão de TGF- $\beta$ , que bloqueia a activação das células T (Ferguson & Hoenig, 2001). A expressão dos mediadores anti-inflamatórios normalmente está aumentada devido à acção dos GC (Ferguson & Hoenig, 2001).

OS GC também têm efeito na movimentação das células do sistema imunitário, diminuindo a marginação de neutrófilos e monócitos e redistribuindo os linfócitos pela medula óssea; estas alterações da distribuição celular diminuem a inflamação pois diminuem o número de células disponíveis (Behrend & Kemppainen, 1997). Também se verifica uma menor mobilização e acumulação de linfócitos nos locais de inflamação e diminuição da função das células fagocíticas (Behrend & Kemppainen, 1997).

A produção de anticorpos geralmente não está afectada, sendo inibida apenas com um tratamento a longo prazo e com doses altas (Ferguson & Hoenig, 2001); os efeitos a nível dos linfócitos B verificam-se devido à supressão das células T necessárias para uma resposta humoral completa (Behrend & Kemppainen, 1997; Scott-Moncrieff, 2009).

Na maioria dos pacientes com doenças imunomediadas, o ideal é administrar a medicação por via oral; porém, em animais com alterações a nível gastrointestinal a administração parenteral pode ser necessária (Scott-Moncrieff, 2009).

No LES canino, a remissão é induzida com uma dose de prednisona ou prednisolona de 1-3 mg/Kg a cada 12 horas (Chabanne et al., 1999b). Este esquema terapêutico deverá ser

mantido durante 10-28 dias e far-se-á posteriormente uma diminuição, quer em relação à dose, quer em relação à frequência de tratamento (Behrend & Kempainen, 1997).

Para maximizar a probabilidade de sucesso deve começar-se o tratamento com doses altas e ir fazendo uma diminuição progressiva (Scott-Moncrieff, 2009). Um esquema que contemple a administração de medicação em dias alternados não é eficaz e, como tal, é inapropriado e deve ser usado apenas na fase de manutenção e nunca na indução da remissão (Behrend & Kempainen, 1997).

A progressão que é tipicamente feita em termos de frequência de administração é passar de duas administrações diárias para uma e de seguida para uma administração em dias alternados (Behrend & Kempainen, 1997). Uma indução mais longa ou com uma dose maior implica que o período entre reduções seja também maior (Behrend & Kempainen, 1997) e a diminuição não deve ser superior a 50% por mês (Scott-Moncrieff, 2009). A diminuição poderá ir até 0,25-0,5 mg/kg em dias alternados (Behrend & Kempainen, 1997). Se durante o período de desmame ocorrerem recaídas, a dose inicialmente usada deverá ser retomada imediatamente e mantida durante 2-4 semanas (Berent & Cerundolo, 2005).

Considerando que 50% dos animais com LES terão que fazer um tratamento vitalício e os restantes 50% só conseguirão descontinuar a terapia em 6-12 meses (Pedersen, 1999), torna-se necessário contrariar os efeitos adversos associados com a administração crónica de fármacos imunossupressores. Entre os efeitos adversos dos GC encontram-se a poliúria e polidipsia, o hiperadrenocorticismio iatrogénico, um maior risco de infecção, atrofia muscular (Behrend & Kempainen, 1997) e ulceração gastrointestinal (Scott-Moncrieff, 2009). Estas e outras consequências, para além de, por vezes, poderem ser intoleráveis para os proprietários, são também responsáveis por um agravamento da debilitação do animal e, como tal, devem ser tomadas medidas no sentido de as minimizar (Scott-Moncrieff, 2009). Assim, é preferível a utilização de GC de acção intermédia, na menor dose possível e, se possível, em dias alternados (Behrend & Kempainen, 1997).

A resposta aos GC deve ser avaliada antes da adição de outros medicamentos imunossupressores (Scott-Moncrieff, 2009), que deverão ser equacionados caso não se verifique uma resposta adequada à prednisona em 7-10 dias (Berent & Cerundolo, 2005).

Os canídeos que apresentem anemia hemolítica ou trombocitopenia imunomediadas ou glomerulonefrite têm maior probabilidade de serem refractários ao tratamento com prednisona isolada (Dunn, 1998).

### **6.1.2 – Azatioprina**

A adição de outros fármacos ao protocolo terapêutico é normalmente necessária para induzir ou manter a remissão da doença e, caso a resposta aos GC não seja considerada positiva, a azatioprina é o fármaco a acrescentar (Scott-Moncrieff, 2009). Esta terapêutica

combinada permite uma redução das doses de GC, mantendo a eficácia terapêutica ao mesmo tempo que diminui a toxicidade (Beale, 1988).

O mecanismo exacto para a acção immunosupressora da azatioprina não é totalmente conhecido mas considera-se que envolve diversas vertentes (Beale, 1988).

Este medicamento é um antimetabolito, análogo da adenina. Depois de ser absorvida, a azatioprina sofre metabolização hepática e origina diversos compostos que irão competir com as purinas na síntese dos ácidos nucleicos (Scott-Moncrieff, 2009). Daqui resulta a inibição das enzimas envolvidas na biossíntese das purinas e a formação de ácidos nucleicos não funcionais (Gregory, 2000).

A azatioprina tem um efeito mais evidente nas funções dos linfócitos T e a sua utilização leva à inibição da imunidade mediada por células e da síntese de anticorpos dependente de linfócitos T. O número de monócitos circulantes também diminui (Beale, 1988; Scott-Moncrieff, 2009).

A azatioprina é normalmente considerada um fármaco de 2ª linha (Scott-Moncrieff, 2009) e é utilizada numa dose de 2 mg/kg a cada 24h, administrada por via oral (Chabanne et al., 1999b; Berent & Cerundolo, 2005). Os efeitos da terapêutica com este fármaco podem levar até 6 semanas a manifestar-se (Plumb, 2005).

Os efeitos adversos da azatioprina, apesar de pouco frequentes, podem ocorrer e incluem supressão da medula óssea, alterações gastrointestinais, pancreatite, hepatotoxicidade e erupções cutâneas (Rosenkrantz, 1989; Scott-Moncrieff, 2009). A mielosupressão é a complicação mais comum (Gregory, 2000) e normalmente surge 1 a 4 meses após o início da terapia, mas consegue reverter-se em 7-14 dias com a sua interrupção (Scott-Moncrieff, 2009). A terapia deve ser retomada utilizando uma dose correspondente a 50-75% da dose inicialmente utilizada (Rosenkrantz, 1989).

Como os gatos são bastantes mais sensíveis à mielosupressão causada pela azatioprina, a dose a utilizar deverá ser 1,1 mg/kg em dias alternados, sendo também de considerar a não utilização deste composto (Plumb, 2005).

A fim de se prevenir o aparecimento dos efeitos secundários acima referidos, os animais tratados com azatioprina deverão ser monitorizados. Como tal, no primeiro mês de tratamento deverão ser feitas medições de enzimas hepáticas e hemogramas a cada 1-2 semanas, diminuindo posteriormente a frequência para uma análise a cada 1-3 meses (Scott-Moncrieff, 2009).

Se a resposta ao tratamento com prednisona e azatioprina for considerada positiva, a prednisona deve suspender-se, mantendo-se a dose e a administração diária de azatioprina. Se for possível retirar totalmente a prednisona, a dose de azatioprina pode ser diminuída gradualmente, passando a ser administrada em dias alternados e, posteriormente, a cada 3 dias e, por fim, retirada (Scott-Moncrieff, 2009).

Caso tenha que se manter a medicação, Dunn (1998) sugere que se tente a diminuição da dose de azatioprina para 1 mg/kg a cada 48h, alternando a sua administração com a de prednisona.

### **6.1.3 – Ciclofosfamida e Clorambucil**

A ciclofosfamida e o clorambucil são ambos considerados agentes alquilantes e interferem com a transcrição e replicação dos ácidos nucleicos, através da substituição de um átomo de hidrogénio por um grupo alquilo (Rosenkrantz, 1989; Plumb, 2005).

A ciclofosfamida tem actividade imunossupressora marcada e interfere com a produção de leucócitos e anticorpos, apesar de os mecanismos de acção exactos não estarem completamente esclarecidos (Plumb, 2005). O fármaco afecta a imunidade celular e a humoral, mas os efeitos na última são mais evidentes (Scott-Moncrieff, 2009).

A ciclofosfamida está recomendada quando ocorrem episódios agudos de anemia hemolítica e a dose a administrar é 1,5-2,5 mg/kg em dias alternados ou diariamente durante 4 dias consecutivos numa semana. Alternativamente, o tratamento poderá ser feito com a administração semanal de uma dose única de 7 mg/kg por via endovenosa (Chabanne et al., 1999b; Plumb, 2005).

Em comparação com a azatioprina, a ciclofosfamida é utilizada com menos frequência, sendo considerada um medicamento de terceira linha. O principal motivo para tal é o maior risco de ocorrência de efeitos adversos (Scott-Moncrieff, 2009). Entre os efeitos secundários mais frequentes encontram-se a mielosupressão, inflamação gastrointestinal, anorexia, alopecia, neoplasias vesicais e cistite hemorrágica. O desenvolvimento desta última é das principais preocupações inerentes à utilização da ciclofosfamida, sendo possível em até 30% dos cães tratados a longo prazo. A cistite hemorrágica é devida ao metabolito acroleína e crê-se que a sua incidência pode ser diminuída pelo aumento de produção de urina e pelo esvaziamento vesical frequente; neste sentido, a ciclofosfamida deverá ser administrada de manhã e os animais devem ser encorajados a beber água e a urinar ao longo do dia (Rosenkrantz, 1989; Plumb, 2005).

Como já referido, os gatos são, comparativamente aos canídeos, muito sensíveis à mielosupressão causada pela azatioprina e, como tal, alguns autores recomendam a substituição desta pelo clorambucil (White, 2000). A sua utilização passa também pelos casos intolerantes aos medicamentos utilizados com maior frequência (Scott-Moncrieff, 2009).

Este medicamento tem um mecanismo de acção semelhante ao da ciclofosfamida e a dose recomendada de clorambucil é 0,1-0,2 mg/kg por dia ou em dias alternados. A absorção oral deste medicamento é muito boa, mas a resposta clínica é evidente apenas 4-8 semanas após o início do tratamento (Rosenkrantz, 1989). Os efeitos adversos deste fármaco incluem

anorexia, vômitos, diarreia e mielosupressão, tendo também já sido reportados alopecia e um crescimento mais lento do pêlo (Plumb, 2005).

#### **6.1.4 – Ciclosporina e Tacrolimus**

Apesar de ser principalmente usada em casos de transplantes, nos humanos já foi demonstrado que a ciclosporina pode ser considerada um tratamento alternativo em casos refractários de LES (Manger, Kalder & Mager, 1996; Robson, 2003). Nos pacientes caninos tem sido usada principalmente para o controlo da dermatite atópica, mas também noutras doenças cutâneas inflamatórias ou imunomediadas (Verde, 2008).

A ciclosporina actua ligando-se às proteínas da família da ciclofilina, formando um complexo com grande afinidade para a calcineurina que, por sua vez, tem um papel essencial na activação dos linfócitos T. Ao bloquear a calcineurina, a ciclosporina está a impedir a codificação de genes responsáveis pela síntese de diversas citocinas e seus receptores, entre as quais a IL-2, que funciona como factor de crescimento das células T (Verde, 2008). Sem o estímulo proveniente da IL-2, a proliferação e a actividade daquele tipo de células fica inibida. Este efeito imunossupressor pode ser acentuado pela capacidade que a ciclosporina tem de estimular a secreção de TGF- $\beta$ , que, além de inibir a proliferação de células T, também contraria o desenvolvimento de linfócitos citotóxicos antigénio-específicos (Gregory, 2000).

A dose recomendada é 5 mg/kg diariamente e, já que existem variações individuais, é aconselhado medir o nível sérico com alguma frequência, de modo a personalizar o tratamento (Robson, 2003; Scott-Moncrieff, 2009). Como é um fármaco caro, alguns autores (Gregory, 2000; Robson, 2003) referem a possibilidade de se fazer uma combinação com o cetoconazol, principalmente em cães de porte médio a grande. Este interfere com o metabolismo hepático da ciclosporina e doses de cetoconazol na ordem dos 10-20 mg/kg permitem que a dose necessária de ciclosporina sofra uma redução de 60-90% (Robson, 2003).

Ao contrário do que acontece nos humanos, nos cães raramente se verificam casos de nefro ou hepatotoxicidade com um tratamento prolongado, excepto se forem mantidos níveis séricos muito altos. Os principais efeitos adversos da ciclosporina são do foro gastrointestinal e, a longo prazo, a administração em conjunto com doses imunossupressoras de prednisona pode promover o aparecimento de neoplasias. A ciclosporina não é nem citotóxica nem mielotóxica (Gregory, 2000).

O tacrolimus, apesar de ser estruturalmente diferente da ciclosporina, tem um mecanismo de acção bastante semelhante, já que também pode formar um complexo proteico capaz de inibir a calcineurina. Contudo, é 10 a 100 vezes mais potente (Griffies et al., 2004). Além de inibir as células T, o tacrolimus também inibe a proliferação das células B e a produção de anticorpos (Gregory, 2000).

Na Medicina humana já se mostrou que este fármaco pode ser útil em casos de LES refractários e não controláveis por métodos mais convencionais (Duddridge & Powell, 1997). Num estudo conduzido em 1993 por Entani et al. demonstrou-se que a administração subcutânea de tacrolimus atrasa a progressão da nefrite associada com a doença em ratinhos e, em 2004, Griffies et al. verificaram que a administração por via tópica é útil em casos de lúpus discóide canino. Em Medicina Veterinária, apesar de diversos dados sugerirem que o tacrolimus pode ser uma boa opção para lesões cutâneas localizadas, há que ter em consideração que são necessários mais ensaios que afirmam a possibilidade de toxicidade por absorção sistémica (Griffies et al., 2004).

### **6.1.5 – Levamisole**

Um protocolo terapêutico alternativo foi proposto por Fournel et al. em 1992. Este tratamento combina prednisona a uma dose de 1-2 mg/Kg, distribuídos em duas tomas diárias, com levamisole a 3-7 mg/Kg (com a dose máxima de 140 mg/dia) em dias alternados. A prednisona é progressivamente reduzida e, por fim, eliminada ao longo de 1-2 meses e o levamisole é administrado ao longo de 4 meses. Caso ocorram recidivas, repete-se a administração deste último, utilizando o mesmo esquema.

O levamisole é um anti-helmíntico mas já foi demonstrado que também tem propriedades imunomoduladoras, sendo capaz de ajustar os mecanismos de resposta imune (Rosenkrantz, 1989).

Este fármaco tem efeito imunomodulador a uma dose de 2-3 mg/ Kg, contrastando com a dose mais alta que normalmente é requerida para a sua utilização como anti-parasitário. Se administrado em doses mais elevadas pode ter uma função imunossupressora (Brunner & Muscoplat, 1980).

Os efeitos do levamisole no sistema imunitário, apesar de ainda não estarem completamente esclarecidos, são de natureza variada e verifica-se que é capaz de produzir uma alteração no metabolismo e na função dos linfócitos, monócitos e neutrófilos. A taxa de diferenciação das células T, a capacidade de resposta a antigénios e a actividade T citotóxica e supressora aumentam, observando-se também um aumento na velocidade de localização e eliminação de antigénios, bem como na estimulação da fagocitose e da quimiotaxia (Brunner & Muscoplat, 1980; Rosenkrantz, 1989; Plumb, 2005).

Esta molécula não parece afectar de modo directo os linfócitos B, exercendo acção nestes pelo efeito que tem nas células T (Brunner & Muscoplat, 1980).

Os benefícios deste fármaco verificam-se principalmente em pacientes imunocomprometidos, mas, no contexto do LES, pode ser útil sobretudo devido ao aumento da taxa de eliminação de antigénios e da função dos linfócitos supressores (Brunner & Muscoplat, 1980).

Os efeitos adversos da terapia com levamisole são raros mas podem incluir agranulocitose, trombocitopenia, neurotoxicidade ou sinais gastrointestinais (Brunner & Muscoplat, 1980; Plumb, 2005).

## 6.2 – Alternativas não médicas

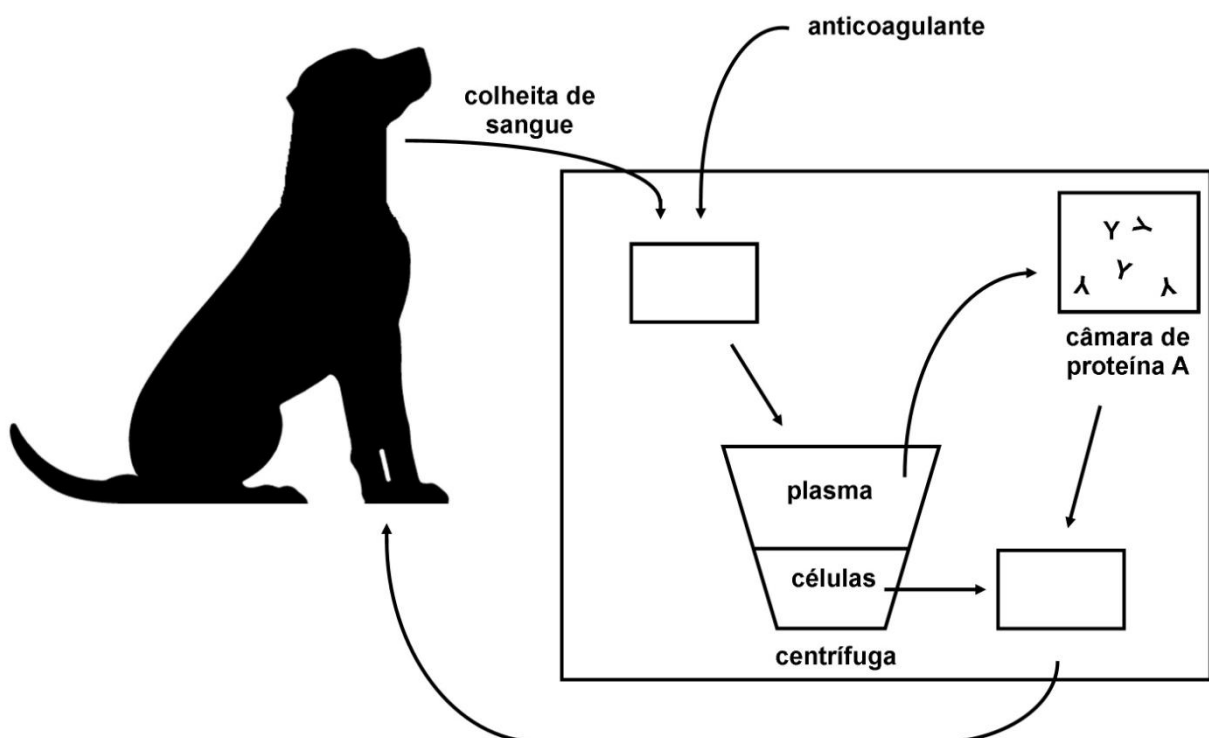
### 6.2.1 – Plasmaferese

Apesar de existirem autores que afirmam que a plasmaferese não é uma opção terapêutica eficaz (Schneider, 2000), na Medicina humana existem diversas referências a casos de LES refractários à medicação que responderam bem à plasmaferese combinada com terapia imunossupressora (Hussein, Mooij, Roujouleh & El Sayed, 1995; Papadaki et al., 2006).

Na Medicina Veterinária a técnica também já foi aplicada com sucesso em animais nas mesmas condições (Matus, Scott, Saal, Gordon & Hurvitz, 1983; Matus, Gordon, Leifer, Saal & Hurvitz, 1985).

Matus et al. (1983) reportaram o caso de um cão que não respondeu ao tratamento à base de prednisona nem à combinação desta com ciclofosfamida. Este animal foi posteriormente sujeito a diversas sessões de plasmaferese-imunoadsorção (figura 12) ao longo de um mês e meio.

**Figura 12** - Representação esquemática do processo de plasmaferese-imunoadsorção. Redesenhado a partir de Matus et al., 1983.



Este procedimento consiste em fazer a recolha de sangue do animal, ao qual se adiciona um anticoagulante, sendo depois sujeito a centrifugação. Faz-se então passar o plasma numa câmara que contém proteína A purificada. Esta proteína liga-se à IgG canina e aos complexos imunes circulantes que a contenham e reage parcialmente com a IgM e a IgA. De seguida o plasma já tratado e as células são devolvidos ao animal (Matus et al., 1983).

Como já foi referido, em situações normais os complexos imunes que eventualmente se formam são eliminados pelas células do sistema mononuclear fagocitário (SMF). Porém, no LES, a função destas células encontra-se alterada o, que, em conjunto com a hiperprodução de anticorpos, pode ser responsável pela acumulação de imunocomplexos com conseqüente lesão orgânica. Para além desta capacidade lesional, diversos estudos mostraram que os complexos imunes têm influência na regulação de algumas respostas celulares, podendo, entre outras acções, diminuir as funções das células do SMF ou induzir a activação dos linfócitos B (Tsokos, Balow, Huston, Wei & Deckera, 1982).

Considerando ainda que os complexos imunes circulantes, Igs, autoanticorpos, citocinas e moléculas de adesão estão contidos no plasma, compreende-se o benefício e o mecanismo regulador que a plasmaferese pode representar, já que permite a eliminação rápida destas moléculas pró-inflamatórias (Schneider, 2000; Papadaki et al., 2006).

Apesar disto, os resultados não são completamente consistentes e as observações registadas por Tsokos et al. (1982) revelam que a remoção destes factores pela plasmaferese, pelo menos por si só, não parece ter um efeito positivo nas funções dos linfócitos.

Aparentemente, a plasmaferese é eficaz apenas quando combinada com terapêutica imunossupressora e ocorrerão recidivas se esta não for incluída. Isto justifica-se pelo facto de os componentes celulares do sistema imunitário não serem directamente afectados pela plasmaferese, o que leva a que os autoanticorpos voltem a ser produzidos se não estiver presente o efeito imunossupressor dos fármacos (Schneider, 2000; Papadaki et al., 2006).

Tendo em conta que os efeitos adversos a longo prazo da terapia medicamentosa comumente instituída nos casos de LES podem contribuir para a morbilidade e a mortalidade dos cães com LES, a plasmaferese pode ter um papel importante na qualidade de vida dos animais (Matus et al., 1985). Contudo, esta é uma técnica cara e difícil e aconselha-se a que seja reservada apenas para os casos persistentes ou graves desde início (Chabanne et al., 1999b).

As complicações associadas à plasmaferese incluem maior predisposição para infecções e risco de trombose e oclusão vascular (Matus et al., 1985).

### **6.3 – Abordagens terapêuticas recentes**

O objectivo primordial da imunologia terapêutica é manipular o sistema imunitário, a fim de evitar ou reverter doenças que tenham uma componente imunológica. A imunossupressão

generalizada pode atenuar os processos patológicos, mas tem como custo a supressão do sistema como um todo e o risco de infecções oportunistas. O ideal seria um método que suprimisse ou voltasse a induzir tolerância nas células que estão na origem da doença, deixando o resto do sistema imunitário relativamente intacto (Cobbold, Qin, Leong, Martin & Waldmann, 1992).

A aplicação da imunoterapia às doenças autoimunes correlaciona-se directamente com o aumento do conhecimento sobre os mecanismos responsáveis pela produção de autoanticorpos e de outras anomalias a nível imunitário. Deste modo, é possível desenvolver novas estratégias que visem precisamente a imunossupressão selectiva (Chabanne et al., 1999b).

As terapias mais recentes baseiam-se sobretudo na especificidade para determinadas moléculas e nas propriedades das células estaminais. Tendo a conta a vastidão de moléculas e alternativas que estão actualmente em estudo, bem como o facto de a sua utilização estar, por enquanto, limitada ao âmbito da Medicina humana, optou-se por fazer referência a apenas alguns exemplos.

### **6.3.1 – Terapia molecular**

#### **6.3.1.2 – Dirigida aos linfócitos**

Na última década tem sido feita uma pesquisa intensa no âmbito do tratamento do LES, que deu origem a uma terapêutica mais direccionada, ainda sob avaliação. Grande parte dos novos fármacos é baseada em anticorpos monoclonais dirigidos aos linfócitos B (Monneaux & Muller, 2009).

O rituximab é um anticorpo monoclonal quimérico que se liga ao antigénio CD20, uma proteína de superfície específica dos linfócitos B. A razão pela qual poderá ser útil, apesar de o mecanismo exacto não estar determinado, é a inibição que causa na produção de autoanticorpos, através da promoção da lise de linfócitos B a nível periférico, com consequente depleção (Karim, Pisoni & Khamashta, 2009). Diversos estudos comprovam a sua eficácia quando adicionado à terapia padrão, observando-se melhoria clínica e diminuição da actividade da doença (Leandro, Edwards, Cambridge, Ehrenstein & Isenberg, 2002; Vigna-Perez et al., 2006).

Este composto é responsável por uma redução variável nos níveis de autoanticorpos, tendo alguns estudos verificado que a diminuição ocorria principalmente a nível dos anticorpos anti-ADN, mantendo-se os níveis de outros autoanticorpos e dos anticorpos anti-microbianos. É, portanto, possível que diferentes clones de linfócitos B tenham uma resposta diferente à depleção, sendo alguns mais susceptíveis que outros (Karim et al., 2009).

Da lista de compostos dirigidos aos linfócitos B fazem também parte o ocrelizumab, o epratuzumab e o belimumab, que visam, respectivamente, o CD20, o CD22 e uma proteína estimuladora dos linfócitos B (Karim et al., 2009).

De um modo semelhante, também os linfócitos T expressam moléculas que podem ser alvos terapêuticos interessantes.

Nas células T dos pacientes com LES verifica-se que existem moléculas sobre ou subexpressadas, como é o caso, respectivamente, do receptor CD44 e de uma componente do receptor CD3. Este facto provavelmente terá um papel na hipersensibilidade que estas células apresentam no contexto do lúpus, através de alterações nas vias de transmissão do sinal. Assim, teoricamente, a correcção dos níveis de expressão destas moléculas será uma alternativa terapêutica eficaz. Apesar de existirem dados experimentais que atestam a fiabilidade deste tipo de terapia, é ainda necessário realizar testes *in vivo*, a fim de perceber até que ponto as correcções efectuadas terão influência na melhoria em termos clínicos (Crispín & Tsokos, 2008).

### **6.3.1.3 – Dirigida a citocinas**

Outro alvo promissor é a rede de citocinas, cuja influência na patogenia do LES é reconhecida, como referido anteriormente. As citocinas mais frequentemente referidas no âmbito da terapêutica molecular são a IL-6, a IL-10 e o TNF (Diamanti, Rosado, Carsetti & Valesini, 2007; Tincani, Andreoli, Bazzani, Bosiso & Sozzani, 2007; Karim et al., 2009).

Em modelos de roedores nos quais se induziu nefrite já se conseguiu atrasar a progressão desta através do uso de anticorpos anti IL-6. Em humanos também já está aprovada uma molécula deste tipo, o tocilizumab, para uso em ensaios clínicos (Diamanti et al., 2007).

Em relação aos anticorpos anti IL-10, um estudo piloto revelou boas perspectivas, tendo-se verificado melhoria da sintomatologia e diminuição da actividade da doença com o seu uso (Diamanti et al., 2007; Karim et al., 2009).

Já no que diz respeito ao TNF, apesar de estar rodeado por controvérsia, sabe-se que os seus valores podem estar aumentados no lúpus e que pode haver deposição renal, causando glomerulonefrite. Há pouca informação relativa ao efeito da terapia anti-TNF no lúpus, mas há dados que mostram que, numa terapia conjunta com azatioprina, o composto infliximab – anticorpo monoclonal para o TNF – originou diminuição da actividade da doença, embora com um aumento simultâneo de alguns AAN (Karim et al., 2009).

### **6.3.2 – Terapia celular**

Apesar dos avanços e descobertas que vão sendo feitos diariamente no que respeita à terapia molecular, grande parte dos ensaios clínicos não consegue obter resultados tão bons quanto seria desejável. Considerando que o LES é uma condição à qual estão inerentes diversos factores, compreende-se que, utilizando uma abordagem que visa estes

factores de forma isolada e individualizada, seja difícil de alcançar uma remissão sustentada e prolongada no tempo (Tyndall, 2009).

O problema que se coloca em relação à terapia curativa em casos de doenças autoimunes inflamatórias crónicas como o LES continua, portanto, sem solução, já que requer um re-estabelecimento da tolerância imunitária. Para que tal aconteça seria necessário fazer a depleção do *pool* de células T e B autoreactivas, restaurar a integridade das redes reguladoras e, simultaneamente, preservar um conjunto de células memórias, a fim de manter a capacidade de responder a patogénios ambientais.

Neste sentido, a terapia celular tem sido testada e empregue com algum sucesso nas doenças autoimunes (Dazzi, van Laar, Cope & Tyndall, 2007).

### **6.3.2.1 – Transplante de células estaminais hematopoiéticas**

Uma das estratégias a considerar é a imunoblação seguida do transplante de células estaminais hematopoiéticas (TCEH) autólogas, que se tem vindo a tornar uma opção curativa experimental em pacientes humanos com prognóstico reservado e nos quais as terapias direccionadas têm pouco ou nenhum efeito (Dazzi et al., 2007; Alexander et al., 2009). A razão para isto é a possibilidade de eliminar as células que estão na origem da doença, através da utilização de agentes citotóxicos, e alcançar, através dos percursores hematopoiéticos, a regeneração do sistema imunitário, de modo a re-estabelecer a tolerância imunológica (Alexander et al., 2009; Tyndall, 2009). Assim, o TCEH difere das terapias direccionadas no sentido em que visa um vasto conjunto de células imunocompetentes e cria espaço para que surja um novo repertório imune (Dazzi et al., 2007).

Ainda não é claro se existe alguma fase do processo de transplante que seja crítica, mas crê-se que existem diversos factores que podem contribuir para a remissão clínica e/ ou para a cura. A terapia linfotóxica leva a uma linfopénia profunda e duradoura que diminui os níveis de autoanticorpos e o transplante origina o aumento do número de células Treg e a reactivação da função tímica, permitindo o re-estabelecimento do sistema imunitário (Hügler & Daikeler, 2010).

O TCEH já foi utilizado com sucesso em humanos, conseguindo obter-se uma remissão clínica e laboratorial a longo prazo, sem dependência de terapia imunossupressiva (Alexander et al., 2009). Apesar disso, existe a possibilidade de ocorrerem recorrências, por a ablação do sistema imunitário ter sido insuficiente, levando à persistência de células autoreactivas ou, em indivíduos com uma grande susceptibilidade genética, por serem apresentados autoantígenos que quebrem a tolerância (Alexander et al., 2009; Hügler & Daikeler, 2010).

Em estudo está também o transplante alogénico, isto é, a partir de um dador. Este tipo de transplante tem sido preterido em favor do autólogo devido ao risco de rejeição por

incompatibilidade, mas já foram obtidos resultados promissores em ratinhos NZB/W e em ensaios com pacientes humanos (Smith-Berdan, Gille, Weissman & Christensen, 2007).

Teoricamente, o transplante alogénico oferece a substituição de um sistema imunitário autoreactivo por um que não é, o que pode ser benéfico em pacientes com grande predisposição genética para a doença. Outras das vantagens passam pelo facto de a mobilização celular para os transplantes autólogos acarretar mais riscos em indivíduos com doença autoimune (Smith-Berdan et al., 2007; Tyndall, 2009).

### **6.3.2.2 – Transplante de células estaminais mesenquimatosas**

O facto de as células estaminais mesenquimatosas (CEM) apresentarem propriedades imunossupressivas e anti-inflamatórias tem gerado muito interesse, já que poderá traduzir algum potencial enquanto terapia celular para doenças autoimunes (Dazzi et al., 2007).

O mecanismo que está na origem do efeito imunossupressivo não é claro, mas as CEM têm características que permitem um transplante autólogo sem um condicionamento prévio à base de fármacos citotóxicos, bem como uma capacidade de sobrevivência que permite que sejam exercidos efeitos clínicos positivos. Contudo, os ensaios clínicos referentes ao uso das CEM em doenças autoimunes ainda são escassos, pelo que é necessária mais dedicação a esta área, e parece pouco provável que os efeitos benéficos que lhes são inerentes se mantenham a médio ou longo prazo (Tyndall, 2009).

## **6.4 – Terapia complementar**

No contexto do tratamento do LES canino também se torna importante o maneio clínico de eventuais insuficiências orgânicas (principalmente a nível renal) e infecções oportunistas. As infecções podem surgir secundariamente ao tratamento ou devido às deficiências imunológicas inerentes à doença. Caso surjam, devem ser identificadas e tratadas específica e agressivamente (Chabanne et al., 1999b).

Se a trombocitopenia for refractária ao tratamento poderá ser considerada a administração de vincristina por via endovenosa, com a dose de 0,01-0,025 mg/Kg semanalmente, consoante a necessidade (Berent & Cerundolo, 2005).

Em casos de anemia hemolítica e/ou trombocitopenia que resistam ao tratamento tradicional poderá ser necessária a transfusão sanguínea ou de plasma rico em plaquetas (Day, 1999) ou, em último caso, poder-se-á ponderar a realização de uma esplenectomia (Chabanne et al., 1999b).

Para o controlo da dor podem ser usados ácido acetilsalicílico, anti-inflamatórios não esteróides (AINE) ou opióides (Marks & Henry, 2000).

Considerando também que a radiação UV tem um papel importante no desenvolver do LES, deverá ser evitada a exposição ao sol (Scott et al., 2001; Berent & Cerundolo, 2005).

## **7 – Monitorização e seguimento**

Os animais com LES deverão ser acompanhados frequentemente, já que as recaídas são comuns e difíceis de controlar. Recomenda-se que, até que se verifique remissão, sejam efectuados um exame físico, um hemograma, análises bioquímicas e urinálise numa base semanal. A frequência poderá ser então reduzida para um controlo a cada 3 meses, passando para 6 meses quando o animal estiver em remissão há um ano.

Deverá ser prestada uma atenção particular aos parâmetros do hemograma se o animal estiver sujeito a terapia com potencial mielosupressivo.

Em relação Aos AAN, estes deverão ser avaliados mensalmente até ser obtido um resultado negativo, depois trimestralmente durante um ano e posteriormente semestralmente.

O ideal é que se obtenha a regressão dos títulos de AAN no espaço de 2-4 semanas, alcançando-se um resultado negativo com 2-3 meses de terapia (Berent & Cerundolo, 2005).

Também importante, tendo em conta a natureza do lúpus, é a educação do dono do animal. Este deverá ser informado acerca do curso progressivo e imprevisível da doença e da necessidade de medicação imunossupressiva a longo prazo e seus efeitos (Thompson, 2004).

## **8 – Prognóstico**

Na Medicina Veterinária, ao contrário do que acontece na Medicina humana (Anexo II), não há um método universalmente aceite para definir a actividade do LES, sendo por isso de considerar alguns factores aquando da determinação do prognóstico (Chabanne et al., 1999b).

Entre os critérios que apontam para um prognóstico mais favorável estão uma boa resposta à terapia com GC, o diagnóstico numa fase inicial da doença com instituição imediata de terapia, um título de AAN negativo, o desaparecimento dos sinais clínicos e a correcção do rácio CD4+:CD8+ (Chabanne et al., 1999b; Berent & Cerundolo, 2005). Pelo contrário, entre os critérios desfavoráveis encontram-se uma resposta fraca à terapia ou recaídas frequentes durante os desmames, a presença de insuficiência orgânica ou septicémia (Berent & Cerundolo, 2005).

Os animais com sintomatologia articular, cutânea ou muscular parecem responder melhor à medicação, conseguindo manter-se em remissão clínica durante longos períodos; por outro lado, os animais com alterações hematológicas apresentam frequentemente respostas menos satisfatórias e requerem uma terapia mais agressiva. Nos cães com glomerulonefrite o curso mais habitual, apesar da terapia, é a progressão para insuficiência renal, o que indica um mau prognóstico (Scott et al., 2001).

Scott et al. (2001) referem que mais de 40% dos cães com LES perece um ano após o diagnóstico, mas Fournel et al. (1992) obtiveram resultados diferentes. Em 45 casos

estudados, 34 animais apresentavam-se numa situação moderada mas sem sintomatologia renal grave. Foram utilizados dois protocolos terapêuticos diferentes – utilizando apenas corticoterapia registou-se melhoria clínica, não persistente quando a medicação era retirada. A terapia de manutenção foi necessária nestes casos, mas foi possível fazer um acompanhamento clínico destes animais durante pelo menos 2 anos. Ao adicionar levamisole a 3-7 mg/Kg à prednisona verificou-se que se alcançava uma remissão prolongada (até 9 anos) sem necessidade de repetir o tratamento em 55,6% dos animais. Contudo, considera-se que o prognóstico do LES canino é normalmente reservado a mau, dependendo dos órgãos afectados (Scott et al., 2001; Scott-Moncrieff, 2009). As causas de morte mais frequentes em casos de LES canino são a insuficiência renal, a septicémia e a broncopneumonia. A eutanásia também é realizada com muita frequência (Dunn, 1998; Marks & Henry, 2000).

## **Capítulo IV – LES canino: discussão de um caso clínico**

### **1 – Apresentação do caso “Bono”**

#### **1.1 – História pregressa e ambiente familiar**

O Bono, canídeo macho de raça indeterminada, com cerca de 15 kg, foi encontrado desorientado e a vagar na zona onde agora habita, presumivelmente depois de ter fugido ou ter sido abandonado pelo anterior dono. O actual proprietário crê que nesta altura o Bono não tinha ainda completado um ano de vida. Viveu na rua durante alguns meses, alimentado pela comunidade do local e, por fim, foi recolhido pelo agregado familiar do qual agora faz parte. A partir desta altura o Bono passou a dormir numa casota no quintal da família, com acesso ao interior da habitação. Nesta fase foram também feitas as primeiras vacinas, tendo o Bono entre 12 e 18 meses.

Actualmente o Bono, agora com 6-7 anos, vive dentro de casa 24h por dia e dá passeios curtos 3 ou 4 vezes por dia.

A família tem outro cão, uma fêmea de porte médio com 14 anos, que tem sido saudável. Não existe história de doença autoimune no agregado familiar.

#### **1.2. – Historial clínico**

A 3 de Março de 2008 o Bono, na altura com aproximadamente 4-5 anos, apresentou-se à consulta na Associação Zoófila Portuguesa (AZP). O dono refere que o animal sempre apresentou o focinho descolorado, por vezes descamado, mas aquando desta primeira consulta notava-se uma ferida, que estava a ser tratada com tintura de violeta de genciana. Os colegas da AZP recomendaram a realização de uma biópsia caso a ferida não cicatrizasse.

Em Agosto desse ano o Bono voltou à AZP, desta vez para vacinação, tendo também sido realizado o despiste de leishmaniose. O resultado foi positivo a uma titulação de 1/80, sendo o critério de valorização um título superior a 160 UI. Deste modo, o resultado foi considerado suspeito e iniciou-se o tratamento com alopurinol 30 mg/kg uma vez por dia, durante um mês. Passado este período de tempo repetiu-se o teste e o resultado foi idêntico, mas a ferida no focinho estava cicatrizada.

Em Janeiro do ano seguinte o Bono apresentou-se à consulta com história de tosse, estando nesta altura suspenso o tratamento com alopurinol. Foi medicado com alfa-amilase (Maxilase®, 1 comprimido de 12 em 12 horas) e melhorou.

No dia 5 de Agosto a ferida no focinho tinha voltado a surgir e foi realizada a biópsia anteriormente sugerida; no dia seguinte o Bono apresentava muita dor articular, dificuldade na locomoção e temperatura elevada (40,8°C). Neste mesmo dia começou a ser medicado com carprofeno (Rimadyl®, 60 mg por dia) e enrofloxacina (Baytril®, 75 mg por dia), tendo

feito também fluidoterapia durante alguns dias. Também neste dia foi feito um hemograma e a avaliação de parâmetros bioquímicos. À noite foram administrados 40 mg de succinato sódico de metilprednisolona (Solu-Medrol®) e a temperatura desceu para 38,6°C.

No dia 7 o Bono já conseguia andar e apresentava temperatura normal. Continuou internado até dia 17, dia em que fez novo hemograma, mantendo a medicação com os fármacos já referidos e com tramadol (Tramal®, 30 mg 1-2 vezes por dia), S-adenosilmetionina (Denosyl®, 225 mg por dia) e gluconato ferroso (Hemototal®, 150 mg por dia).

Durante este período foram recebidos os resultados da biópsia, tendo-se chegado a um diagnóstico de lúpus eritematoso discóide. A titulação de AAN foi feita a 12 de Agosto e o resultado foi positivo a uma titulação de 1/10, confirmando o diagnóstico de LES.

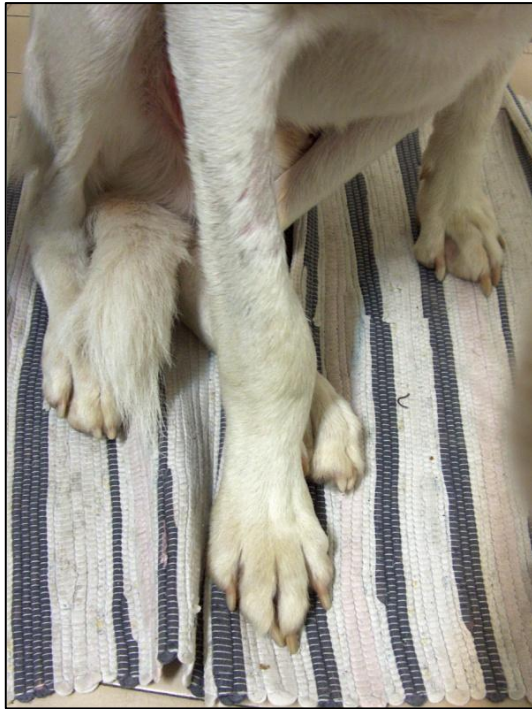
No dia 19 de Agosto o Bono apresentou-se pela primeira vez no IVP. Eram notórias as dores articulares intensas e vinha já medicado com prednisolona (Lepicortinolo®, 30 mg duas vezes por dia). Foi sugerido substituir a prednisolona por acetato de metilprednisolona (Depo-Medrol 40®), em conjunto com azatioprina (Imuran®) numa dose de 2 mg/kg.

Durante o resto do mês de Agosto o Bono foi observado mais três vezes. Nas três consultas apresentou-se febril, com temperaturas oscilando entre os 39,9°C e os 40,5°C. As dores articulares melhoraram mas continuava queixoso, principalmente do membro posterior esquerdo. Surgiu também um abscesso junto à escápula, cujo conteúdo purulento foi drenado em duas ocasiões. Manteve-se o tratamento com analgésicos – tramadol, metamizol magnésico (Nolotil®, 1,2 g por dia) e meloxicam (3 mg diariamente) – e antibiótico – cefixima (Tricef®, 400 mg por dia) e doxiciclina (Actidox®, 150 mg por dia).

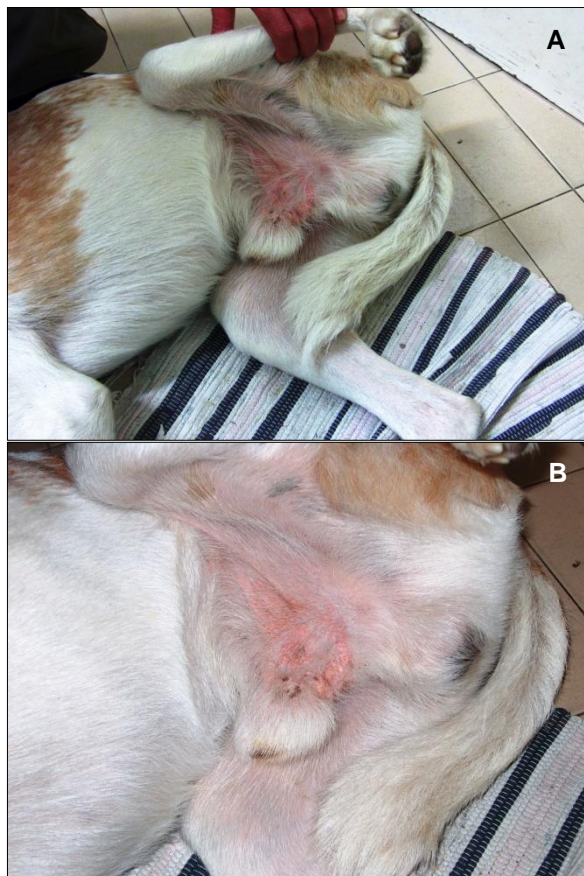
A 8 de Setembro a temperatura tinha diminuído mas ainda estava um pouco alta (39,6°C) e o Bono começou a tomar um suplemento alimentar multivitamínico (Anima-Strath®), mantendo os outros medicamentos. Nesta altura parou o tratamento com prednisolona e uma semana depois foram-lhe administrados 20 mg de acetato de metilprednisolona por via intramuscular. Ainda em Setembro o dono referiu que o Bono andava sem apetite e que teve um episódio de diarreia sanguinolenta, tratada com um normalizador da flora intestinal e fosfato de alumínio (Phosphalugel®, meia saqueta por dia). A 30 de Setembro voltou a ter febre (41°C) e sinais de dor e recebeu 40 mg de acetato de metilprednisolona. No início de Outubro teve novamente um episódio de diarreia e dores articulares mais intensas. Nesta altura foi apresentada ao proprietário a hipótese de eutanásia.

No início de Novembro o Bono voltou ao IVP. A diarreia tinha sido corrigida com sucesso mas o animal andava prostrado. Repetiu a administração de metilprednisolona (40 mg) e a dose de azatioprina foi diminuída para 25 mg. No fim do mês o Bono já tinha melhor aspecto geral, contudo a articulação do carpo do membro direito estava tumefacta (figura 13) e tinha surgido uma lesão eritematosa na zona inguinal (figura 14), bem como uma ferida de decúbito na região da articulação coxo-femoral direita. Foi recomendado tratamento local com pomadas contendo vitamina A e óxido de zinco (Halibut® ou Mitosyl®).

**Figura 13** – Consulta no dia 23 de Novembro de 2009. Tumefacção na zona do carpo do membro direito (original).



**Figura 14** – Consulta no dia 23 de Novembro de 2009. Lesão eritematosa na região inguinal - vista geral (A) e vista mais detalhada (B) (original).



O dono referiu ainda que as fezes e a urina do Bono tinham sangue vivo mas que a situação melhorava com a administração de metronidazol (Flagyl®, 200 mg duas vezes por dia).

A 18 de Dezembro a temperatura do Bono era de 39,2°C. Apresentava também uma ferida infectada na zona periocular e, de há dois ou três dias a esta parte, anorexia e sinais de dor. Foi novamente prescrita cefixima e, como nesta altura a hematúria era muito intensa, iniciou-se a administração de ácido aminocapróico (Epsicaprom®, 200-300 mg por dia). Foi proposto parar o tratamento com azatioprina durante algumas semanas, mas mantendo a hipótese de retomar a terapia caso o animal não se mantivesse relativamente estabilizado, e repetiu-se a administração de 40 mg de acetato de metilprednisolona.

No dia 29 de Janeiro de 2010 o Bono foi novamente visto em consulta. O dono referiu que a cicatrização das feridas estava a progredir e que a administração de azatioprina não andava a ser necessária. Apesar disso, a urina do Bono continuava com sangue e mantinha-se o tratamento com ácido aminocapróico. Voltaram a surgir sinais de dores articular, combatidos com meloxicam. Voltou a fazer tratamento com acetato de metilprednisolona (40 mg).

Passado cerca de um mês o Bono continuava estável sem azatioprina mas mantinha a administração de meloxicam quando necessário e tinha surgido uma nova ferida. Repetiu-se o tratamento injectável.

A 22 de Março o Bono andava estável e tinha tido um episódio de dor uns dias antes, tratado com prednisolona, notando-se dificuldades relativas à marcha dos membros posteriores. Em consulta foi feito o tratamento injectável. Surgiu novamente sangue nas fezes e repetiu-se a terapêutica aconselhada em episódios anteriores semelhantes.

Passado um mês o Bono voltou ao IVP, com dores muito intensas. Tinha sido medicado no dia anterior e na manhã do dia da consulta com prednisolona e já se notavam algumas melhorias. Foram administrados 40 mg de acetato de metilprednisolona e estabeleceu-se que em casa se tentaria manter o efeito desta administração, com prednisolona. Nesta fase os sinais cutâneos da doença estavam relativamente controlados (figuras 15 e 16).

**Figura 15** - Consulta a 27 de Abril de 2010. Zona inguinal do Bono, com melhorias evidentes em relação à consulta de 23 de Novembro (foto gentilmente cedida por Mariana Pereira).



**Figura 16** - Consulta no dia 27 de Abril de 2010. Verifica-se a descoloração no focinho do Bono e algum eritema (foto gentilmente cedida por Mariana Pereira).



No dia 30 de Junho foi necessário fazer novamente o tratamento injectável com acetato de metilprednisolona (40 mg).

Durante o período em que o Bono foi acompanhado pelo IVP foi sendo notória uma diminuição progressiva da condição corporal, com emagrecimento, alguma atrofia muscular, principalmente a nível dos membros posteriores, e sinais evidentes de desconforto quando o animal se encontra em estação (figura 17).

**Figura 17** - Consulta a 27 de Abril de 2010. Aspecto geral do Bono (foto gentilmente cedida por Mariana Pereira).



### 1.3 – Exames realizados

Como referido, para além de dois despistes de leishmaniose e, posteriormente, uma titulação de AAN, o Bono realizou um primeiro hemograma e análises bioquímicas no dia 6 de Agosto de 2009, depois de ter sido feita a biópsia ao focinho. Os resultados das análises sanguíneas apresentam-se de seguida (tabelas 9 e 10).

**Tabela 9** - Resultados do hemograma realizado a 6 de Agosto de 2009.

Parâmetro	Resultado	Valor de referência	Unidades
Leucócitos	1,40	6 - 17	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Eritrócitos	4,05	5,5 - 8,5	$\times 10^6/\mu\text{L}$
Plaquetas	97	200 - 500	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Hemoglobina	10,5	12 - 18	g/dL
Hematócrito	26,1	37 - 55	%
VCM	64,4	60 - 77	fl
HCM	25,9	19,5 - 24,5	pg
CHCM	40,2	32 - 36	g/dL

**Observações:** confirma-se a leucopénia grave. Devido à leucopénia não foi possível efectuar a fórmula leucocitária. Sem agregação plaquetária. Normocitose e normocromia eritrocitárias.

**Tabela 10** - Resultados das análises bioquímicas realizadas a 6 de Agosto de 2009.

Parâmetro	Resultado	Valor de referência	Unidades
ALP	193	10 - 85	U/L
ALT	281	13 - 92	U/L
Creatinina	1,1	0,4 - 1,2	mg/dL
Ureia	31	20 - 50	mg/dL

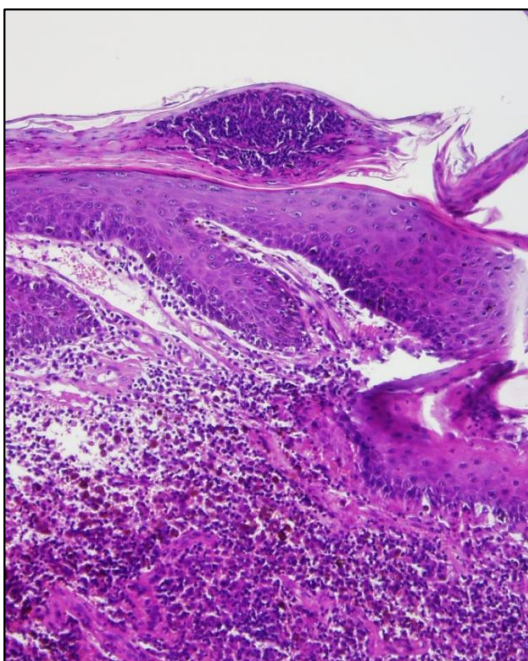
**Observações:** soro hemolisado.

Verifica-se assim que o Bono apresentava nesta altura uma leucopénia bastante grave e trombocitopénia. Em relação às análises bioquímicas nota-se que tanto a ALP como a ALT estão aumentadas, facto que não foi muito valorizado.

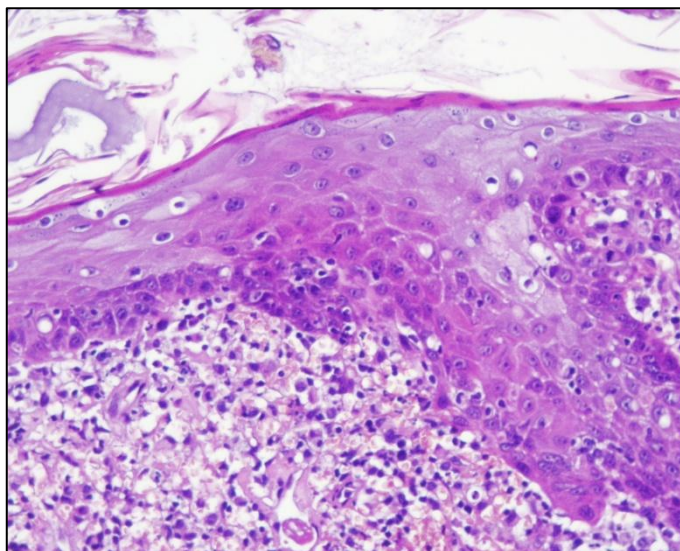
Alguns dias depois foi recebido o resultado da biópsia ao focinho (figuras 18 e 19). Este exame revelou hiperplasia da epiderme com hiperqueratose paraqueratótica e a presença

de duas pústulas intracorneais contendo detritos nucleares. Verificou-se igualmente infiltração inflamatória da derme, com a presença predominante de linfócitos, que infiltravam também a epiderme. Era visível incontinência pigmentar e não foram identificados agentes microbianos ou células neoplásicas. Face a estas observações foi feito o diagnóstico de lúpus eritematoso discóide.

**Figura 18** – Resultados da biópsia ao focinho do Bono. Nota-se a presença de uma pústula intracorneal com detritos celulares no interior e de infiltração inflamatória intensa na junção derme-epiderme, bem como a hiperqueratose paraqueratótica e a incontinência pigmentar. H&E, ampliação x 100 (foto gentilmente cedida pelo VetPat).



**Figura 19** – Resultados da biópsia ao focinho do Bono. Nota-se a presença de infiltrado inflamatório intenso, composto principalmente por linfócitos, na junção derme-epiderme. H&E, ampliação x 200 (foto gentilmente cedida pelo VetPat).



Alguns dias depois o Bono realizou novo hemograma, cujos resultados são apresentados na tabela 11.

**Tabela 11** – Resultados do hemograma realizado a 17 de Agosto de 2009.

Parâmetro	Resultado	Valor de referência	Unidades
Leucócitos	9,70	6 - 17	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Eritrócitos	3,22	5,5 - 8,5	$\times 10^6/\mu\text{L}$
Plaquetas	73	200 - 500	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Hemoglobina	7,6	12 - 18	g/dL
Hematócrito	21,7	37 - 55	%
VCM	67,5	60 - 77	fl
HCM	23,6	19,5 - 24,5	pg
CHCM	35,0	32 - 36	g/dL

**Observações:** com agregação plaquetária. A contagem de plaquetas feita pelo contador celular não foi confirmada pela observação do esfregaço sanguíneo, onde as plaquetas se encontravam em número considerado adequado. A “pseudo-trombocitopenia” deve-se provavelmente à agregação plaquetária. Anisocitose e policromasia eritrocitárias (+). Com agregação leucocitária.

Parâmetro	%	Valores absolutos	%	Valores absolutos
Neutrófilos não segmentados	3	291	0 - 3	0 - 300/ $\mu\text{L}$
Neutrófilos segmentados	86	8342	60 - 77	3000 - 11500/ $\mu\text{L}$
Linfócitos	7	679	12 - 30	1000 - 4800/ $\mu\text{L}$
Monócitos	3	291	3 - 10	150 - 1350/ $\mu\text{L}$
Eosinófilos	1	97	2 - 10	100 - 1250/ $\mu\text{L}$
Basófilos	0	0	raros	raros

**Reticulócitos:** índice de produção de reticulócitos (IPR) < 1 – anemia não regenerativa ou pré-regenerativa.

Este hemograma mostrou a normalização da contagem de leucócitos, mesmo com agregação leucocitária, mas manteve-se a anemia, sendo os valores do hematócrito e da hemoglobina um pouco inferiores aos obtidos anteriormente. O IPR obtido foi inferior a 1, revelando que a anemia presente seria não regenerativa ou pré regenerativa.

## 2 – Discussão

O acompanhamento do Bono no IVP permite estabelecer um paralelismo entre as informações referidas na revisão bibliográfica e um caso clínico de LES.

Em relação à prevalência, dados de 1983 referem um valor de cerca de 0,03%. No entanto, para efeitos de comparação com os dados obtidos na prática não se poderão tirar grandes conclusões, já que foi apenas observado um animal com LES numa população de 710; estes números corresponderiam a uma prevalência de 0,14% mas considerando que a amostra é muito limitada, este número não deverá ser valorizado. Apesar disto, é importante mencionar que o Bono apresenta algumas características que vão de encontro ao que é referido na bibliografia.

A maioria dos autores considera que não existe uma predisposição etária para a doença, mas que esta é diagnosticada quando o animal tem, em média 5 anos (Fournel et al., 1992), sendo esta a idade que o Bono apresentava aquado do diagnóstico. Também há alguma concordância entre os vários autores no aspecto da predisposição rática e sabe-se que os animais de raças miniatura ou gigantes são menos afectados que os restantes (Fournel et al., 1992). Apesar de o Bono ser um animal sem raça determinada, poderá ter algum valor o facto de ser um cão de porte médio.

A etiologia do LES é desconhecida mas actualmente considera-se que será multifactorial, sendo diversos os factores que poderão influenciar o seu aparecimento e patogénese.

Através de estudos em ratinhos e no Homem, sabe-se que a doença tem uma componente genética bastante evidente. Nos humanos a taxa de concordância entre gémeos idênticos varia entre 25 e 50% (Mok & Lau, 2003) e já foram identificados diversos genes que contribuem para uma maior predisposição para a doença ou, pelo contrário, conferem algum grau de protecção e resistência. Infelizmente no cão as informações ainda são escassas e os poucos estudos que se debruçaram sobre este assunto permitiram concluir apenas que a transmissão da doença, espelhando o que acontece no Homem e no ratinho, é complexa e provavelmente envolve vários genes. Em termos de informação mais específica, já foi demonstrado que em Pastores Alemães o alelo DLA-A7 está relacionado com a susceptibilidade à doença e os alelos DLA-A1 e DLA-B5 com a protecção. No entanto, não será descabido assumir que algo semelhante se passará com outras raças. Em relação ao Bono será difícil tecer considerações relativas a este aspecto, já que se trata de um animal recolhido da rua e que não se têm quaisquer informações sobre os seus antecedentes familiares.

Não obstante a influência da genética, também alguns factores externos terão um papel a desempenhar.

Existem diversas referências à importância da radiação UV no desenvolvimento da doença, através de mecanismos variados, entre os quais aumento do poder imunogénico dos queratinócitos e a expressão de antigénios à sua superfície. De facto, o caso do Bono

comprova estes dados, já que, segundo o proprietário, enquanto o Bono viveu no quintal era visível que as lesões do focinho se agravavam pela exposição à luz solar. Também a recidiva destas lesões que acabou por levar ao diagnóstico ocorreu nos meses de Verão. Ainda não foi completamente posta de parte a possibilidade de existir um factor infeccioso na transmissão do LES, perspectiva que poderá ser abordada por dois lados. Alguns dos estudos que se têm realizado fazem-no comparando a presença da doença em cães com donos saudáveis e em donos com LES. A bibliografia relata resultados discordantes, já que alguns autores encontraram correlações (Chiou et al., 2004) e outros não (Kristensen et al., 1979), mas o caso do Bono aponta mais para a segunda hipótese, já que nem a família nem o outro canídeo que faz parte da família apresentam história de doença autoimune. Por outro lado, as doenças imunomediadas caninas estão relacionadas com diversos factores, entre os quais a presença de doenças infecciosas. No Homem considera-se mesmo que estas são um dos gatilhos ambientais mais importantes para a autoimunidade em indivíduos geneticamente susceptíveis. O Bono está com os donos há cerca de cinco anos e durante este período não apresentou quaisquer sinais de doença infecciosa, excepto os que levaram à suspeita de leishmaniose, cujo teste, nas duas vezes em que foi feito, se veio a revelar suspeito. Porém, tendo em conta que a história clínica do Bono é conhecida apenas a partir dos 12 meses, poder-se-á considerar a possibilidade de no primeiro ano de vida ele ter tido uma doença infecciosa, como parvovirose, esgana ou febre da carraça. Poderia assim haver uma desregulação imunitária, que mais tarde se veio a traduzir no aparecimento de LES. Também o facto de o Bono ter vivido na rua durante alguns meses e depois no quintal poderá ter alguma influência neste aspecto, já que a exposição a possíveis factores ambientais importantes seria maior.

A importância das vacinas também começa a ser discutida, apesar de não haver dados concretos neste sentido. O Bono começou a ser vacinado a partir dos 12-18 meses e poder-se-á afirmar que este facto, eventualmente, poderá ter tido alguma importância no desenrolar da doença.

De um modo semelhante, não existem descrições de casos de lúpus canino devido a fármacos e poderemos mesmo considerar que a importância que este factor terá no caso do Bono é bastante limitada, já que não existe história de administração de medicamentos prévia ao diagnóstico, com excepção da alfa-amilase. Apesar de ter sido após a indução anestésica necessária à realização da biópsia que a doença se revelou, à luz dos conhecimentos actuais a hipótese de que terá sido este o factor desencadeador da sintomatologia não fará muito sentido. Os sintomas de LIF normalmente surgem apenas com a administração crónica de alguns fármacos e os sintomas tendem a desaparecer quando se pára a terapêutica e, no caso do Bono, o primeiro sinal já estava presente. Porém, e apesar de, caso ocorra, não ser uma situação habitual, também se coloca a possibilidade de a metabolização dos fármacos poder levar à formação de compostos que

sejam capazes de estimular excessivamente o sistema imunitário, desencadeando a manifestação de uma condição lúpica pré-existente. Entre as moléculas que se sabe levarem ao aparecimento de LIF não se encontram anestésicos mas, apesar de muito improvável e não existirem quaisquer dados que o sugiram, poderá ser colocada a hipótese de nos cães este tipo de composto poder ter algum tipo de influência no aparecimento da doença.

A bibliografia refere que o primeiro sinal a aparecer é geralmente a poliartrite mas em animais que vivem em zonas com sol podem surgir primeiro as lesões de pele. (Chabanne et al., 1995). No caso do Bono foi isto que aconteceu, já que a doença surgiu inicialmente como uma lesão cutânea.

Alternativamente, poderia ser considerada a hipótese de a lesão inicial do Bono ser um sinal de lúpus discóide, já que esta doença surge como uma descoloração, descamação e eritema do focinho, passando depois a erosões ou ulcerações, preferencialmente no focinho, na transição do plano nasal para a zona pilosa (Scott et al., 2001). Esta descrição corresponde exactamente à lesão que o Bono tinha e lúpus discóide é o diagnóstico sugerido pelos resultados da biópsia. Porém, apesar de na Medicina humana já ter sido verificada, a progressão de lúpus discóide para lúpus sistémico ocorre em apenas 5-10% dos casos, e, segundo a bibliografia, não há referências a casos semelhantes em Medicina Veterinária. Para além disso, as duas formas de lúpus podem ser indistinguíveis em termos histopatológicos, sendo necessária uma diferenciação em termos clínicos, que no caso do Bono aponta para a forma sistémica.

De acordo com os dados apresentados por Fournel et al. (1992) os sinais clínicos mais frequentes de LES são febre, poliartrite não erosiva, envolvimento renal e lesões mucocutâneas. É também referido que os sintomas não surgem todos simultaneamente, mas sim de um modo sucessivo e progressivo ao longo do desenvolver da doença. De facto, o caso do Bono espelha bem estas informações, já que começou por ter lesões cutâneas, depois surgiram as lesões articulares e a febre e, algum tempo depois, os sinais de envolvimento renal, nomeadamente hematúria.

Também a descrição deste tipo de sinais está de acordo com o que se observa no Bono, já que se verifica a presença de despigmentação e de lesões eritematosas e descamativas, que surgem principalmente no focinho e na zona inguinal. As características da poliartrite também se enquadram no que é descrito por diversos autores, já que esta é mais significativa nas articulações periféricas, sendo por vezes bastante evidente nas articulações do carpo, que são das mais afectadas em casos de LES.

Outro sinal bastante frequente é a presença de linfadenomegália e/ ou esplenomegália. Ao exame físico o Bono não aparenta nenhuma das duas, mas não houve confirmação através de ecografia abdominal.

Durante o acompanhamento do animal também foram registados dois episódios de diarreia. Os sintomas gastrointestinais no contexto do LES canino são muito raros, ao ponto de apenas um dos autores consultados lhes fazer referência. Outros dados que indicam que provavelmente a diarreia teve outra causa são os sintomas que normalmente surgem associados à diarreia, quando esta é causada por lúpus – dor abdominal, náusea e vómitos. Assim, provavelmente estes episódios terão origem ou na medicação ou em alguma alteração na alimentação.

A nível laboratorial, o primeiro hemograma que o Bono realizou revelou uma leucopénia grave, resultado que, segundo a bibliografia, surge em 20% dos casos. No contexto do LES, esta situação surge habitualmente associada à presença de anticorpos anti-linfócito; porém, para se obter um valor tão baixo como  $1,40 \times 10^3/\mu\text{L}$  seria de supor que a linha dos neutrófilos também estaria afectada. Como não foi possível realizar a fórmula leucocitária torna-se difícil tirar ilações sobre este aspecto, mas poderá ser assumida a hipótese de o Bono ter também anticorpos anti-neutrófilo, situação incomum mas que duas das fontes bibliográficas referem como possível diagnóstico diferencial para neutropénia no contexto do lúpus (Kerr, 2002; Willard & Tvedten, 2004). Foi também detectada trombocitopénia, que, segundo Fournel et al. (1992) surge em 4% dos casos de LES canino, e anemia. A leucopénia estava corrigida aquando do segundo hemograma, realizado cerca de 10 dias depois, bem como a trombocitopénia, mas a anemia mantinha-se, com valores ligeiramente mais baixos que os iniciais. A anemia hemolítica surge em cerca de 13% dos casos de LES canino, mas também é possível que ocorra anemia não regenerativa.

No caso do Bono o laboratório verificou que a amostra destinada às análises bioquímicas estava hemolisada, o que poderia servir de indicação para considerar uma anemia hemolítica. No entanto, esta hemólise poderia também resultar de mau manuseamento da amostra. Do mesmo modo, também a presença de anisocitose e policromasia no segundo hemograma poderiam ser indicativos de uma anemia regenerativa. Porém, a presença deste tipo de características é medida numa escala que varia entre + e +++++, o que nos leva a concluir que estas alterações não terão muita importância, já que foram quantificadas como +. Para mais, como o IPR obtido neste segundo hemograma foi inferior a 1, o mais provável é que no caso do Bono se trate de uma anemia não regenerativa, o que também está de acordo com a normocitose e normocromia observadas nos eritrócitos anteriormente.

As últimas análises do Bono datam de Agosto de 2009, e, como tal, em termos de hemograma será difícil avaliar se a situação se mantém ou se, pelo contrário, melhorou ou piorou. Nunca foi realizada urinálise para avaliar a função renal, mas será seguro afirmar que, face aos sintomas que o Bono apresenta, nomeadamente os episódios de hematúria, já há compromisso renal.

Em relação ao diagnóstico, se for analisada a tabela 8 verificamos que o Bono cumpre os critérios necessários para ser classificado como caso de LES, já que, ao longo do curso da

doença, já apresentou eritema, lúpus cutâneo, fotossensibilidade, artrite, doença renal, leucopénia e um título anormal de AAN. A trombocitopénia não será de valorizar neste contexto uma vez que o critério 9 especifica que a trombocitopénia deverá ser inferior a 100 células/ mm<sup>3</sup> e o Bono tinha 97. No entanto, o facto de não ser valorizável no contexto do diagnóstico não invalida a sua importância clínica no contexto da doença.

Em comparação com os altos títulos referidos pela bibliografia, que são frequentemente superiores a 256 UI, o título do Bono – 10 UI – é bastante baixo. Este facto poderá justificar-se pelo facto de o título de anticorpos se correlacionar positivamente com a gravidade da doença, sendo que, à altura da realização do teste, o Bono apresentava apenas a ferida no focinho e tinha começado a manifestar dores articulares uns dias antes.

Em termos de tratamento, o Bono começou por seguir o tratamento preconizado para casos de LES, ou seja, prednisolona, que ajudou a melhorar os valores dos parâmetros laboratoriais. Cerca de uma semana depois de ter sido feito o diagnóstico o Bono apresentou-se no IVP e nessa altura iniciou a terapêutica com azatioprina, já que a prednisolona por si só não estava a ter o efeito pretendido. Aproximadamente um mês depois os sintomas mantinham-se e a abordagem terapêutica foi novamente modificada, desta vez com a substituição de prednisolona oral por acetato de metilprednisolona, um GC com uma potência maior, por via intramuscular.

O acetato de metilprednisolona está indicado principalmente para aplicação intralesional e intra-articular, podendo ser também administrado por via subcutânea ou intramuscular. A sua absorção está limitada por uma taxa lenta de dissolução no local de injeção, daí não ser aconselhado quando a condição a tratar exige concentrações plasmáticas altas rapidamente. Assim, a sua administração fornece uma terapia a longo prazo, durante alguns dias a semanas.

Para uso crónico, como o necessário para controlo do LES, são preferíveis as formas orais de duração de acção mais curta, como a prednisolona, que permitem a adequação da dose ao necessário e um melhor controlo dos efeitos secundários. No entanto, no caso do Bono, que não estava a responder tão bem como o desejado a esse tipo de terapia, e apesar de o seu uso não estar recomendado para doenças autoimunes, optou-se por tentar o tratamento com acetato de metilprednisolona.

Nos humanos a suspensão utilizada (Depo-Medrol 40 ®) pode ser utilizada como terapêutica de manutenção em casos seleccionados de lúpus e foi esse o protocolo que se resolveu aplicar ao Bono. Esta foi uma opção pessoal do Médico-Veterinário que acompanha o animal e justifica-se pelo facto de ter sido dada primazia ao controlo da sintomatologia clínica, ao invés dos possíveis efeitos a médio e longo prazo que este tipo de terapia pode acarretar. Desde então o Bono tem-se mantido razoavelmente controlado durante o período de tempo em que o acetato de metilprednisolona mantém o seu efeito, sendo normalmente necessário repetir a injeção numa base mensal. Quando necessário, o

dono faz a administração de prednisolona por via oral, numa tentativa de prolongar o efeito do tratamento injectável.

Para além desta terapia base são administrados outros fármacos como terapia complementar, de acordo com os sintomas que o Bono vai apresentando. As dores articulares são normalmente combatidas com AINE e quando há perda de sangue pela urina é administrado um composto ferroso ou um anti-hemorrágico. Nas feridas cutâneas são normalmente aplicados compostos com vitamina A e óxido de zinco.

Considerando que o Bono não respondeu bem à terapia com corticosteróides e os sintomas, mesmo com a administração de metilprednisolona, continuam a ser evidentes, e que, mesmo sem existirem resultados laboratoriais que o comprovem, poder-se-á considerar que existe já envolvimento renal, será complicado afirmar que o prognóstico deste caso é favorável. No entanto, é um facto que o diagnóstico de LES já foi feito há mais de um ano e o Bono, desde que os sintomas da doença começaram a surgir com mais intensidade, tem conseguido manter-se relativamente estável, com fases mais críticas, como é característico da doença.

Este caso ilustra bem a natureza complexa da doença e a necessidade de acompanhar o animal com bastante frequência, de modo a ir tentando corrigir os sintomas à medida que se vão tornando mais evidentes e eventuais efeitos secundários da medicação.

## Capítulo V – Conclusões

Esta Dissertação de Mestrado, apesar de abordar uma doença pouco comum em Medicina Veterinária, permitiu certamente consolidar conhecimentos na área das doenças autoimunes, principalmente no que respeita ao LES.

Tendo em conta a população de reduzida dimensão e o facto de apenas se ter acompanhado um caso de lúpus, as conclusões em termos de epidemiologia e prevalência são bastante limitadas, mas verificou-se que o paciente é um canídeo de 4-5 anos e de porte médio, características que, segundo a bibliografia, são bastante típicas.

O caso acompanhado foi no entanto bastante elucidativo no que respeita à componente clínica da doença, já que o Bono cumpriu diversos critérios utilizados para o diagnóstico de LES canino e verificou-se que apresentava os sinais que são referidos com maior frequência.

Foi também possível confirmar que esta é uma condição que exige muita dedicação por parte do clínico e dos proprietários, já que implica deslocações frequentes ao consultório Médico-Veterinário e tem um curso clínico muito imprevisível e difícil de controlar. O facto de o tratamento ser necessariamente crónico ou mesmo vitalício traz dificuldades acrescidas, já que se torna necessário pesar constantemente os benefícios e os efeitos adversos dos fármacos. No entanto, os novos avanços em termos terapêuticos, apesar de estarem ainda em fase inicial e compreendendo que não serão aplicáveis aos animais de companhia nos próximos anos, são bastante promissores, já que permitem assumir que é possível um controlo da doença mais direccionado e, em princípio, sem tantos efeitos secundários indesejáveis.

Concluiu-se também que existem muito poucos trabalhos relativos à prevalência da doença e à importância de factores genéticos e que os que existem já são bastante desactualizados ou debruçam-se apenas sobre determinada raça. Mesmo os trabalhos que visam a patogénese não são feitos com muita frequência em canídeos. No entanto, considerando a relativa raridade da doença nos canídeos e o facto de grande parte dos estudos ter como objectivo a aplicabilidade à doença humana, compreende-se que a procura de conhecimentos específicos para a melhor compreensão da doença canina seja um pouco posta de parte.

## Referências Bibliográficas

- Agmon-Levin, N., Blank, M., Paz, Z. & Shoenfeld, Y. (2009). Molecular mimicry in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 18(13), 1181-1185.
- Akahoshi, M., Nakashina, H., Tanaka, Y., Kohsaka, T., Nagano, S., Ohgami, E., Arinobu, Y., Yamaoka, K., Niino, H., Shinozaki, M., Hirakata, H., Horiuchi, T., Otsuka, T. & Niho, Y. (1999). Th1/Th2 balance of peripheral T helper cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 42(8), 1644-1648.
- Alexander, T., Thiel, A., Rosen, O., Massenkeil, G., Sattler, A. Kohler, S. Mei, H., Radtke, H. Gromnica-Ihle, E., Burmester, G.-R., Arnold, R., Radbruch, A. & Hiepe, F. (2009). Depletion of autoreactive immunologic memory followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory SLE induces long-term remission through de novo generation of a juvenile and tolerant immune system. *Blood*, 113(1), 214-223.
- Almawi, W.Y. & Melemedjian, O.K. (2002). Molecular mechanisms of glucocorticoid antiproliferative effects: antagonism of transcription factor activity by glucocorticoid receptor. *Journal of Leucocyte Biology*, 71(1), 9-15.
- Almeida, A.R.M., Legrand, N., Papiernik, M. & Freitas, A.A. (2002). Homeostasis of peripheral CD4+ T cells: IL-2R $\alpha$  and IL-2 shape a population of regulatory cells that control CD4+ T cell numbers. *Journal of Immunology*, 169(9), 4850-4860.
- Aringer, M., Feierl, E., Steiner, G., Stummvoll, G.H., Höfler, E., Steiner, C.W., Radda, I., Smolen, J.S. & Graninger, W.B. (2002). Increased bioactive TNF in human systemic lupus erythematosus: associations with cell death. *Lupus*, 11(2), 102-108.
- Aringer, M. & Smolen, J.S. (2003). Complex cytokine effects in a complex autoimmune disease: tumor necrosis factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy*, 5(4), 172-177.
- Balomenos, D., Rumold, R. & Theofilopoulos, A.N. (1998). Interferon- $\gamma$  is required for lupus-like disease and lymphoaccumulation in MRL/lpr mice. *Journal of Clinical Investigation*, 101(2), 364-371.
- Beale, K.M. (1988). Azathioprine for treatment of immune-mediated diseases of dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192(9), 1316-1318.
- Behrend, E.N. & Kemppainen, R.J. (1997). Glucocorticoid therapy – pharmacology, indications and complications. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 37(2), 187-213.
- Bell, S.C., Hughes, D.E., Bennett, D. & Bari, A.S.M. (1997). Analysis and significance of anti-nuclear antibodies in dogs. *Research in Veterinary Science*, 62(1), 83-84.
- Berent, A. & Cerundolo, R. (2005). Systemic lupus erythematosus. *Standards of Care: Emergency and Critical Care Medicine*, 7(11), 7-12.
- Berghe, W.V., Vermeulen, L., De Wilde, G., De Bosscher, K., Boone, E. & Haegeman, G. (2000). Signal transduction by tumor necrosis factor and gene regulation of the inflammatory cytokine interleukin-6. *Biochemical Pharmacology*, 60(8), 1185-1195.
- Bijl, M., Reefman, E., Horst, G., Limburg, P.C. & Kallenberg, C.G.M. (2006) Reduced uptake of apoptotic cells by macrophages in systemic lupus erythematosus: correlates with

- decreased serum levels of complement. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 65(1), 473-486.
- Bosscher, K.D., Berghe, W.V. & Haegeman, G. (2000). Mechanisms of anti-inflammatory action and of immunosuppression by glucocorticoids: negative interference of activated glucocorticoid receptor with transcription factors. *Journal of Neuroimmunology*, 109(1), 16–22.
- Briggs, D.C., Senaldi, G., Isenberg, D.A. Welsh, K.I. & Vergani, D. (1991). Influence of C4 null alleles on C4 activation in systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 50(4), 251-254.
- Brinet, A., Fournel, C., Faure, J.R., Venet, C. & Monier, J.C. (1988). Anti-histone antibodies (ELISA and immunoblot) in canine lupus erythematosus. *Clinical & Experimental Immunology*, 74(1), 105-109.
- Brunne, C.J. & Muscoplat, C.C. (1980). Immunomodulatory effects of levamisole. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 176(10), 1159-1162.
- Cannon, A.G. (2007) Atopic dermatitis. In *Proceedings of the European Veterinary Conference – Voorjaarsdagen*, (pp 76-78). Amsterdam: WVA. Acedido a Jan. 23, 2010, disponível em <http://www.ivis.org/proceedings/voorjaarsdagen/2007/toc.asp>
- Chabanne, L., Fournel, C., Caux, J., Bernaud, C., Bonnefond, J., Monier, C. & Rigal, D. (1995a). Abnormalities of lymphocyte subsets in canine systemic lupus erythematosus [abstract]. *Autoimmunity*, 22(1), 1-8. Acedido a Jun 15, 2010, disponível em [http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all~content=a784037808~frm=abslin\\_k](http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all~content=a784037808~frm=abslin_k)
- Chabanne, L., Fournel, C. & Monier, J.-C. (1995b). Diagnostic de lupus érythémateux systémique canin. *Pratique Médicale & Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 30(2), 115-129.
- Chabanne, L., Fournel, C., Monier, J.-C., Rigal, D. & Monestier, M. (1999a). Canine systemic lupus erythematosus. Part I. Clinical and biologic aspects. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 21(2), 135-141.
- Chabanne, L. Fournel, C., Rigal, D. & Monier, J.-C. (1999b). Canine systemic lupus erythematosus. Part II. Diagnosis and treatment. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 21(5), 402-411.
- Chan, E.Y., Ko, S.C. & Lau, C.S. (1997). Increased rate of apoptosis and decreased expression of bcl-2 protein in peripheral blood lymphocytes from patients with active systemic lupus erythematosus [abstract]. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 15(1), 3-7. Acedido em Maio 12, 2010, disponível em [http://www.unboundmedicine.com/medline/ebm/record/9251841/abstract/Increased\\_rate\\_of\\_apoptosis\\_and\\_decreased\\_expression\\_of\\_bcl\\_2\\_protein\\_in\\_peripheral\\_blood\\_lymphocytes\\_from\\_patients\\_with\\_active\\_systemic\\_lupus\\_erythematosus](http://www.unboundmedicine.com/medline/ebm/record/9251841/abstract/Increased_rate_of_apoptosis_and_decreased_expression_of_bcl_2_protein_in_peripheral_blood_lymphocytes_from_patients_with_active_systemic_lupus_erythematosus)
- Chan, O.T.M., Hannum, L.G., Haberman, A.M, Madaio, M.P. & Shlomchik, M.J. (1999) A novel mouse with B cells but lacking serum antibody reveals an antibody-independent role for B cells in murine lupus. *Journal of Experimental Medicine*, 189(10), 1639-1647.

- Chiou, S-H., Lan, J-L., Lin, S-L., Chen, D-Y., Tsai, N-Y., Kuan, C-Y., Lin, T-Y., Lin, F-J., Lee, W-M. & Chang, T-J. (2004). Pet dogs owned by lupus patients are at a higher risk of developing lupus. *Lupus*, 13(6), 442-449.
- Choi, E., Shin, I., Youn, H. & Lee, C. (2004). Development of canine systemic lupus erythematosus model. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 51(7-8), 375-383.
- Christensen, S.R., Kashgarian, M., Alexopoulou, L. Flavell, R.A., Akira, S. & Shlomchik, M.J. (2005). Toll-like receptor 9 controls anti-DNA autoantibody production in murine lupus. *Journal of Experimental Medicine*, 202(2), 321-331.
- Christensen, S.R., Shupe, J., Nickerson, K., Kashgarian, M., Flavell, R.A. & Shlomchik, M.J. (2006). Toll-like receptor 7 and TLR9 dictate autoantibody specificity and have opposing inflammatory and regulatory roles in a murine model of lupus. *Immunity*, 25(3), 417-428.
- Cobbold, S.P., Qin, S., Leong, L.Y.W., Martin, G. & Waldmann, H. (1992). Reprogramming the immune system for peripheral tolerance with CD4 and CD8 monoclonal antibodies. *Immunological Reviews*, 129(1),165-201.
- Cohen-Solal, J.F.G., Jeganathan, V., Grimaldi, C.M., Peeva, E. & Diamond, B. (2006). Sex hormones and SLE: influencing the fate of autoreactive B cells. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 305, 67-88.
- Cohn, L.A. (2005). Immunologic methods of disease diagnosis. In *Proceedings of the North American Veterinary Conference*, (pp 453-456), Orlando, Florida: NAVC. Acedido a Abr. 15, 2010, disponível em <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/SAE/186.pdf?LA=1>
- Crispín, J.C., Oukka, M., Bayliss, G., Cohen, R.A., van Beek, C.A., Stillman, I.E., Kyttaris, V.C., Juang, Y.-T. & Tsokos, G.C. (2008). Expanded double negative T cells, in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. *Journal of Immunology*, 181(12), 8761-8766.
- Crispín, J.C. & Tsokos, G.C. (2008). Novel molecular targets in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Reviews*, 7(3), 256-261.
- Crispín, J.C. & Tsokos, G.C. (2010). IL-17 in systemic lupus erythematosus. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, Article ID 943254, 4 pages, doi:10.1155/2010/943254.
- Davas, E.M., Tsirogianni, A., Kappu, I., Karamitsos, D., Economidou, I. & Dantis, P.C. (1999). Serum I-6, TNF $\alpha$ , p55srTNF $\alpha$ , sr IL-2 $\alpha$  levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clinical Rheumatology*, 18(1), 17-22.
- Day, M.J. (1999). Immunopathological mechanisms. In: M.J. Day (Ed.) *Clinical Immunology of the Dog and Cat*, (pp. 47-58). Barcelona, Spain: Manson Publishing.
- Day, M.J. (2009). Canine sino-nasal aspergillosis: parallels with human disease. *Medical Mycology*, 47(suppl.1), 315-323.
- Dazzi, F., van Laar, J.M., Cope, A. & Tyndal, A. (2007). Cell therapy for autoimmune diseases. *Arthritis Research & Therapy*, 9(2), doi: 10.1186/ar2128
- Diamanti, A.P., Rosado, M.M., Carsetti, R. & Valesini, G. (2007). B cells in SLE: different biological drugs for different pathogenic mechanisms. *Autoimmunity Reviews*, 7(2),143-148.

- Draeger, A.M., Swaak, A.J.G., van den Brink, H.G. & Aarden, L.A. (1986). T cell function in systemic lupus erythematosus: normal production and responsiveness to interleukin-2. *Clinical & Experimental Immunology*, 64(1), 80-87.
- Duddridge, M. & Powell, R.J. (1997). Treatment of severe and difficult cases of systemic lupus erythematosus with tacrolimus. A report of three cases. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 56(1), 690-692.
- Dunn, J.K. (1998). Systemic lupus erythematosus. In: N. T. Gorman (Ed.), *Canine Medicine and Therapeutics*, (4<sup>th</sup> ed.). United Kingdom: Blackwell Science.
- Duval, D. & Giger, U. (1996). Vaccine-associated immune-mediated hemolytic anemia in the dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10(5), 290-295.
- Entani, C., Izumino, K., Iida, H., Fujita, M., Asaka, M., Takata, M. & Sasayama, S. (1993). Effect of a novel immunosuppressant, FK506, on spontaneous lupus nephritis in MRL/MpJ-lpr/lpr mice [abstract]. *Nephron*, 64(3), 471-475. Acedido a Ago 12, 2010, disponible en <http://content.karger.com/ProdukteDB/produkte.asp?Aktion=ShowAbstract&ArtikelNr=187375&Ausgabe=241483&ProduktNr=223854>
- Felchle, L.M., McPhee, L.A., Kerr, M.E. & Houston, D.M. (1996). Systemic lupus erythematosus and bone marrow necrosis in a dog. *Canadian Veterinary Journal*, 37(12), 742-744.
- Ferguson, D.C. & Hoenig, M. (2001). Glucocorticoids. In H.R. Adams (Ed.). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. (8<sup>th</sup> ed.). USA: Blackwell Publishing.
- Ferguson, T.A., Stuart, P.M., Herndon, J.M. & Griffith, T.S. (2003). Apoptosis, tolerance, and regulatory T cells – old wine, new wineskins. *Immunological Reviews*, 193, 11-123.
- Fournel, C., Chabanne, L., Caux, C., Faure, J.-R., Rigal, D., Magnol, J.P. & Monier, J.C. (1992). Canine systemic lupus erythematosus. I: a study of 75 cases. *Lupus*, 1(3), 133-139.
- Geor, R.J., Clark, E.G., Haines, D.M., Napier, P.G. (1990) Systemic lupus erythematosus in a filly. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1990, 197(11), 1489-92.
- Gershwin, L.J. (2007). Veterinary autoimmunity – autoimmune diseases in domestic animals. *The Annals of the New York Academy of Sciences*, 1109, 109-116.
- Gershwin, L.J. (2010). Autoimmune diseases in small animals. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40(3), 439-457.
- Ginel P.J., Camacho, S. & Lucena, R. (2008). Anti-histone antibodies in dogs with leishmaniasis and glomerulonephritis. *Research in Veterinary Science*, 85(3), 510-514.
- Ginn, P.E., Mansell, J.E.K.L. & Rakich, P.M. (2007). Skin and appendages. In: M.G. Maxie (Ed.) *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals – Volume 1*, (5<sup>th</sup> ed.). EUA: Saunders Elsevier.
- Goodnow, C.C., Sprent, J., Fazekas de St Groth, B. & Vinuesa, C.G. (2005). Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature*, 435(7042), 590-597.

- Gordon, C., Ranges, G.E., Greenspan, J.S. & Wofsy, D. (1989). Chronic therapy with recombinant tumor necrosis factor- $\alpha$  in autoimmune NZB/NZW F<sub>1</sub> mice [abstract]. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 52(3), 421-434. Acedido em Maio 24, 2010, disponível em [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WCK-4BMD5K7-190&\\_user=9068742&\\_coverDate=09%2F30%2F1989&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_acct=C000057388&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=9068742&\\_md5=0b8203689daa3efd9c0d6afb640db7b8](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WCK-4BMD5K7-190&_user=9068742&_coverDate=09%2F30%2F1989&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_acct=C000057388&_version=1&_urlVersion=0&_userid=9068742&_md5=0b8203689daa3efd9c0d6afb640db7b8)
- Gregory, C.R. (2000). Immunosuppressive agents. In J.D. Bonagura (Ed.), *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII*, (509-513), USA: W.B. Saunders Company.
- Griffies, J.D., Mendelsohn, C.L., Rosenkrantz, W.S., Muse, R., Boord, M.J. & Griffin, C.E. (2004). Topical 0,1% tacrolimus for the treatment of discoid lupus erythematosus and pemphigus erythematosus in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40(1), 29-41.
- Gröndal, G., Gunnarsson, I., Rönnelid, J., Rogberg, S., Klareskig, L. & Lundberg, I. (2000). Cytokine production, serum levels in disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 18(5), 565-570.
- Gross, T.L., Ihrke, P.J., Walder, E.J. & Affolter, V.K. (2005). *Skin diseases of the dog and cat – clinical and histopathological diagnosis*, (2<sup>nd</sup> ed.). Oxford, USA: Blackwell Science.
- Hagiwara, E., Gourley, M.F., Lee, S. & Klinman, D.M. (1996). Disease severity in patients with systemic lupus erythematosus correlates with an increased ratio of interleukin-10:interferon- $\gamma$  secreting cells in peripheral blood. *Arthritis & Rheumatism*, 39(3), 379-385.
- Hansson, H. & Karlsson-Parra, A. (1999). Canine antinuclear antibodies: comparison of immunofluorescence staining patterns and precipitin reactivity. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 40(3), 205-212.
- Hansson, H., Trowald-Wigh, G. & Karlsson-Parra, A. (1996). Detection of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence in dog sera: comparison of rat liver tissue and human epithelial – 2 cells as antigenic substrate. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10(4), 199-203.
- Hansson-Hamlin, H., Lilliehöök, I. & Trowald-Wigh, G. (2006). Subgroups of canine antinuclear antibodies in relation to laboratory and clinical findings in immune-mediated disease. *Veterinary Clinical Pathology*, 35(4), 397-404.
- Hargis, A.M. & Ginn, P.E. (2007). The Integument. In: M.D. McGavin & J.F. Zachary (Eds) *Pathological Basis of Veterinary Disease*, (4<sup>th</sup> ed). Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- Harley, J.B. & Scofiels, R.H. (1991). Systemic lupus erythematosus: RNA-protein autoantigens, models of disease heterogeneity, and theories of etiology. *Journal of Clinical Immunology*, 11(6), 297-316.
- Hawke, C.G., Painter, D.M., Kirwan, P.D., van Driel, R.R. & Baxter, A.G. (2003). Myxobacteria, as environmental enhancer of lupus nephritis in a mouse model of systemic lupus erythematosus. *Immunology*, 108(1), 70-78.
- Henriksson, E.W., Hansson, H., Karlsson-Parra, A. & Petterson, I. (1998). Autoantibody profiles in canine ANA-positive sera investigated by immunoblot and ELISA. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 61(2-4), 157-170.

- Huck, S., Deveaud, E., Namane, A. & Zouali, M. (1999). Abnormal DNA methylation and deoxycytosine-deoxyguanine content in nucleosomes from lymphocytes undergoing apoptosis. *FASEB Journal*, 13(11), 1415-1422.
- Hügler, T. & Daikeler, T. (2010). Stem cell transplantation for autoimmune diseases. *Haematologica*, 95(2), 185-188.
- Hussein, M., Mooij, J., Roujouleh, H.El Sayed, H. (1995). The role of plasmapheresis in the treatment of severe lupus nephritis: a case report. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 6(4), 412-416.
- Jevnikar, A.M., Grusby, M.J. & Glimcher, L.H. (1994). Prevention of nephritis in major histocompatibility complex class II-deficient MRL-lpr mice. *Journal of Experimental Medicine*, 179(4), 1137-1143.
- Jones, D.R.E. (1993). Canine systemic lupus erythematosus: new insights and their implications. *Journal of Comparative Pathology*, 108(3), 215-228.
- Jones, D.R.E., Hopkinson, N.D. & Powell, R.J. (1992). Autoantibodies in pet dogs owned by patients with systemic lupus erythematosus. *Lancet*, 339(8806), 1378-1380.
- Jongstra-Bilen, J., Vukusic, B., Boras, K. & Wither, J.E. (1997). Resting B cells from autoimmune lupus-prone New Zealand Black and (New Zealand Black x New Zealand White) F<sub>1</sub> mice are hyper-responsive to T cell-derived stimuli. *Journal of Immunology*, 159(12), 5810-5820.
- Kammer, G.M. (2005). Altered regulation of IL-2 production in systemic lupus erythematosus: an evolving paradigm. *Journal of Clinical Investigation*, 115(4), 836-840.
- Kaplan, M.J., Lewis, E.E., Shelden, E.A., Somers, E., Pavlic, R., McCune, W.J. & Richardson, B.C. (2002). The apoptotic ligands TRAIL, TWEAK and Fas ligand mediate monocyte death induced by autologous lupus T cells. *Journal of Immunology*, 169(10), 6020-6029.
- Karim, M.Y., Pisoni, C.N. & Khamashta, M.A. (2009). Update on immunotherapy for systemic lupus erythematosus – what's hot and what's not. *Rheumatology*, 48(4), 332-341.
- Kavanaugh, A., Tomar, R., Reveille, J., Solomon, D.H. & Homburger, H.A. (2000). Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 124(1), 71-81.
- Keren, D.F. (2000). Guidelines for the clinical use of ANA and related specific autoantibody testing. *Ward Report Article Archives*, 11(2). Acedido a Jun 25, 2010, disponível em <http://www.wardelab.com/11-2.html>
- Kerr, M.G. (2002). *Veterinary Laboratory Medicine – Clinical Biochemistry and Haematology*. (2<sup>nd</sup> ed.). USA: Blackwell Science.
- Koh, D.-R., Ho, A., Rahemtulla, A., Fung-Leung, W.-P., Griesser, H. & Mak, T.-W. (1995). Murine lupus in MRL/lpr mice lacking CD4 or CD8 T cells [abstract]. *European Journal of Immunology*, 25(9), 2558-2562. Acedido em Maio 11, 2010, disponível em <http://www3.interscience.wiley.com/journal/112158661/abstract>
- Kono, D.H. & Teofilopoulos, A.N. (2006). Genetics of SLE in mice. *Springer Seminars in Immunopathology* 28(2), 83-96.

- Kontoviannis, D. & Kollias, G. (2000). Accelerated autoimmunity and lupus nephritis in NZB mice with an engineered heterozygous deficiency in tumor necrosis factor. *European Journal of Immunology*, 30(7), 2038-2047.
- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M. & Kuchroo, V.K. (2009). IL-17 and Th17 cells. *Annual Review of Immunology*, 27, 485-517.
- Kristensen, S., Flagstad, A., Jansen, H., Bendixen, G., Manthorpe, R., Oxholm, P. & Wiik, A. (1979). The absence of evidence suggesting that systemic lupus erythematosus is a zoonosis of dogs. *Veterinary Record*, 105(18), 422-423.
- Krumbacher, K., van der Feltz, M.J.M., Happel, M., Gerlach, C., Lösslein, L.K. & Grosse-Wilde, H. (1986). Revised classification of the DLA loci by serological studies [abstract]. *Tissue Antigens*, 27(5), 262-268. Acedido em Jun 3, 2010, disponível em <http://www3.interscience.wiley.com/journal/119485212/abstract>
- Leadbetter, E.A., Rifkin, I.R., Hohlbaum, A.M., Beaudette, B.C., Shlomchik, M.J. & Marshak-Rothstein, A. (2002). Chromatin-IgG complexes activate B cells by dual engagement of IgM and Toll-like receptors. *Nature*, 416(6881), 603-607.
- Leandro, M.J., Edwards, J.C., Cambridge, G., Ehrenstein, M.R. & Isenberg, D.A. (2002). An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 46(10), 2673-2677.
- Lee, H.-M., Sugino, H. & Nishimoto, N. (2010). Cytokine networks in systemic lupus erythematosus. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, Article ID 676284, 5 pages, doi:10.1155/2010/676284.
- Lewis, R.M., André-Schwartz, J., Harris, G.S., Hirsch, M.S., Black, P.H. & Schwartz, R.S. (1973). Canine systemic lupus erythematosus: transmission of serologic abnormalities by cell-free filtrates. *Journal of Clinical Investigation*, 52(8), 1893-1907.
- Lewis, R.M. & Schwartz, R.S. (1971). Canine systemic lupus erythematosus: genetic analysis of an established breeding colony. *Journal of Experimental Medicine*, 134(2), 417-438.
- Lewis, R.M., Schwartz, R. & Henry Jr, W.B. (1965). Canine systemic lupus erythematosus. *Blood*, 25(2), 143-160.
- Linker-Israeli, M., Deans, R.J., Wallace, D.J., Prehn, J., Ozeri-Chen, T. & Klinenberg, J.R. (1991). Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus. A putative role in pathogenesis. *Journal of Immunology*, 147(1), 117-123.
- Liphaus, B.L. & Kiss, M.H.B. (2010). The role of apoptosis and complement components in the etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Clinics*, 65(3), 327-333.
- Llorente, L., Richaud-Patin, Y., García-Padilla, C., Claret, E., Jakez-Ocampo, J., Cardiel, M.H., Alcocer-Varela, J., Grangeot-Keros, L., Alarcón-Segovia, D., Wijdenes, J., Galanaud, P. & Emilie, D. (2000). Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 43(8), 1790-1800.
- Lusson, D., Billiemaz, B. & Chabanne, J.L. (1999). Circulating lupus anticoagulant and probable systemic lupus erythematosus in a cat [abstract]. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 1(3), 193-196, acedido em Abr 30, 2010, disponível em [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WJC-4C0MS7G-9&\\_user=9068742&\\_coverDate=09%2F30%2F1999&\\_alid=1316993092&\\_rdoc=1&\\_f](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WJC-4C0MS7G-9&_user=9068742&_coverDate=09%2F30%2F1999&_alid=1316993092&_rdoc=1&_f)

- Malek, T.R. & Bayer, A.L. (2004). Tolerance, not immunity, crucially depends on IL-2. *Nature Reviews: Immunology*, 4(9), 665-674.
- Malik, R., Zunino, P. & Hunt, G.B. (2003). Complete heart block associated with lupus in a dog [abstract]. *Australian Veterinary Journal*, 81(7), 398-401. Acedido a Jun 16, 2010, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15084050>
- Mamula, M.J., Fatenejad, S. & Craft, J. (1994). B cells present and process lupus autoantigens that initiate autoimmune T cell responses. *Journal of Immunology*, 152(3), 1453-1461.
- Manger, K., Kalden, J.R. & Manger, B. (1996). Cyclosporin A in the treatment of systemic lupus erythematosus: results of an open clinical study. *British Journal of Rheumatology*, 35(7), 669-675.
- Marks, S.L. & Henry, C.J. (2000). CVT update: diagnosis and treatment of systemic lupus erythematosus. In J.D. Bonagura (Ed.), *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII*, (514-516). USA: W.B. Saunders Company
- Masutani, K., Akahoshi, M., Tsuruya, K., Tokumoto, M., Ninomiya, T., Kohsaka, T., Fukuda, K., Kanai, H., Nakashima, H, Otsuka, T. & Hirakata, H. (2001). Predominance of Th1 immune response in diffuse proliferative lupus nephritis. *Arthritis & Rheumatism*, 44(9), 2097-2106.
- Matos, A. (2008). Colheita e Análise de líquido sinovial. In *Comunicações das XXXII Jornadas Médico-Veterinárias da AEFMV – Métodos e Técnicas de Diagnóstico em Medicina Veterinária*. Lisboa, Portugal: AEFMV.
- Matus, R.E., Scott, R.C., Saal, S., Gordon, B.R. & Hurvitz, A.I. (1983). Plasmapheresis-immunoabsorption for treatment of systemic lupus erythematosus in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 182(5), 499-502.
- Matus, R.E., Gordon, B.R., Leifer, C.E., Saal, S. & Hurvitz, A.I. (1985). Plasmapheresis in five dogs with systemic immune-mediated disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 187(6), 595-599.
- Mohan, C., Adams, S., Stanik, V. & Datta, S.K. (1993). Nucleosome: a major immunogen for pathogenic autoantibody-inducing T cells of lupus. *Journal of Experimental Medicine*, 177(5), 1367-1381.
- Mok, C.C. & Lau, C.S. (2003). Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Journal of Clinical Pathology*, 56 (7), 481-490.
- Monestier, M., Novick, K.E., Karam, E.T., Chabanne, L., Monier, J.-C. & Rigal, D. (1995). Autoantibodies to histone, DNA and nucleosome antigens in canine systemic lupus erythematosus. *Clinical & Experimental Immunology*, 99(1), 37-41.
- Monier, J. C., Fournel, C., Lapras, M., Dardenne, M., Randle, T. & Fontaine, C.M. (1988). Systemic lupus erythematosus in a colony of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 49(1), 46-51.

- Monier, J.C., Ritter, J., Caux, C., Chabanne, L., Fournel, C., Venet, C. & Rigali, D. (1992). Canine systemic lupus erythematosus. II: antinuclear antibodies. *Lupus*, 1(5), 287-293.
- Monneaux, F. & Muller, S. (2009). Molecular therapies for systemic lupus erythematosus: clinical trials and future prospects. *Arthritis Research & Therapy*, 11(3), doi:10.1186/ar2711.
- Munoz, L.E., van Bavel, C., Franz, S., Berden, J., Herrmann, M & van der Vlag, J. (2008). Apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 17(4), 371-375.
- Olivry, T., Savary, K.C.M., Murphy, K.M., Dunston, S.M. & Chen, M. (1999). Bullous systemic lupus erythematosus (type I) in a dog. *Veterinary Record*, 145(6), 165-169
- Oppenheim, J.J. (2007). IL-2: more than a T cell growth factor. *Journal of Immunology*, 179(3), 1413-1414.
- Papadaki, T.G., Zacharopoulos, I.P., Papaliadis, G., Iaccheri, B., Fiore, T. & Foster, C.S. (2006). Plasmapheresis for lupus retinal vasculitis. *Archives of Ophthalmology*, 124(11), 1654-1656.
- Paul, S., Wilkerson, M.J., Shuman, W. & Harkin, K.R. (2005). Development and evaluation of a flow cytometry microsphere assay to detect anti-histone antibody in dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 107(3-4), 315-325
- Pedersen, N.C. (1999). A review of immunologic diseases of the dog. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 69(2-4), 251-342.
- Pelton, B.K., Hylton, W. & Denman, A.M. (1992). Activation of IL-6 production by UV irradiation of blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus. *Clinical and Experimental Immunology*, 89(2), 251-254.
- Peng, S.L., Moslehi, J. & Craft, J. (1997). Roles of interferon- $\gamma$  and interleukin-4 in murine lupus. *Journal of Clinical Investigation*, 99(8), 1936-1946.
- Plumb, D.C. (2005). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*, (5<sup>th</sup> ed). USA: Blackwell Publishing.
- Powell, R.J. & Jones, D.R.E. (1992). Can man's best friend provide clues to the aetiology of systemic lupus erythematosus?. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 51(7), 833-834.
- Prélaud, P. (2008). Use of serology in canine and feline dermatology. *Veterinary Focus*, 18(1), 24-31.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. & Klein, D. A. (2005). Medical immunology. In: L.M. Prescott, J.P. Harley & D.A. Klein, *Microbiology*, (6<sup>th</sup> ed). NY, USA: McGraw-Hill.
- Pugliese, A., De Majo M. & Pugliese, M. (2007). Immunological profile in clinical practice. *Veterinary Research Communications*, 31 (Suppl. 1), 121-124.
- Quimby, F.W., Gebert, R., Datta, S., André-Schwartz, J., Tannenber, W.J., Lewis, R.M., Weinstein, I.B. & Schwartz, R.S. (1978). Characterization of a retrovirus that cross-reacts serologically with canine and human systemic lupus erythematosus (SLE) [abstract]. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 9(2), 194-201. Acedido a Jun 7, 2010, disponível em [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WCK-4BJW1H0-GC&\\_user=9068742&\\_coverDate=02/28/1978&\\_rdoc=6&\\_fmt=high&\\_orig=browse&](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WCK-4BJW1H0-GC&_user=9068742&_coverDate=02/28/1978&_rdoc=6&_fmt=high&_orig=browse&)

[srch=doc-info\(%23toc%236741%231978%23999909997%23477200%23FLP%23display%23Volume\)& cdi=6741& sort=d& docanchor=& ct=16& acct=C000050221& version=1& urlVersion=0& userid=9068742&md5=3e5949249f3d19d222f08633f3df141d](http://www3.interscience.wiley.com/journal/112208682/abstract)

- Reinertsen, J.L., Kaslow, R.A., Klippel, J.H., Hurvitz, A.I., Lewis, R.M., Rothfield, N.F., Zvaifler, N.J., Steinber, A.D. & Decker, J.L. (1980). An epidemiologic study of households exposed to canine systemic lupus erythematosus [abstract]. *Arthritis & Rheumatism*, 23(5), 564-568. Acedido a Jun 5, 2010, disponível em <http://www3.interscience.wiley.com/journal/112208682/abstract>
- Ren, Y., Tang, J., Mok, M.Y., Chan, A.W.K., Wu, A. & Lau, C.S. (2003). Increased apoptotic neutrophils and macrophages and impaired macrophage phagocytic clearance of apoptotic neutrophils in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 48(10), 2888-2997.
- Rifkin, I.R., Leadbetter, E.A., Beaudette, B.C., Kiani, C., Monestier, M., Shlomchik, M.J. & Marshak-Rothstein, A. (2000). Immune complexes present in the sera of autoimmune mice activate rheumatoid factor in B cells. *Journal of Immunology*, 165(3), 1626-1633.
- Robson, D. (2003). Review of the pharmacokinetics, interactions and adverse reactions of cyclosporine in people, dogs and cats. *Veterinary Record*, 152(24), 739-748.
- Roitt, I. (2006) Autoimmunity and autoimmune diseases. In: D. Male, J. Brostoff, D. B. Roth & I. Roitt (Eds), *Immunology*, (7<sup>th</sup> ed.). Canada: Mosby Elsevier.
- Rosenkrantz, W. (1989). Immunomodulating drugs in dermatology. In R.W. Kirk & J.D. Bonagura (Eds), *Current Veterinary Therapy X*, (pp. 570-577). USA: W.B. Saunders Company
- Rottman, J.B. (2008). B cells gone wild: SLE models reveal a complex pathogenesis and promising new therapies. In *Proceedings of the ACVP/ASVCP Concurrent Annual Meetings*, Texas, USA: ACVP/ASVCP. Acedido a Abr. 15, 2010, disponível em <http://www.ivis.org/proceedings/acvp/2008/rottman.pdf?LA=1>
- Ryffel, B., Car, B.D., Gunn, H., Roman, D., Hiestand, P. & Mihatsch, M.J. (1994). Interleukin-6 exacerbates glomerulonephritis in (NZBxNZW) F1 mice. *American Journal of Pathology*, 144(5), 927-937.
- Scheurich, P., Thoma, B., Ucer, U. & Pfizenmaier, K. (1987). Immunoregulatory activity of recombinant human tumor necrosis factor (TNF)-alpha: induction of TNF receptors on human T cells and TNF-alpha-mediated enhancement of T cell responses. *Journal of Immunology*, 138(6), 1786-1790.
- Schneider, M. (2000). Plasmapheresis: indications and techniques. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*. 11(3), 315-324.
- Schwartz, A., Tesch, G., Kinoshita, K., Maron, R., Weiner, H.L. & Rubin Kelley, V. (1999). IL-12 drives IFN- $\gamma$  autoimmune kidney disease in MRL-*Fas*<sup>lpr</sup> mice. *Journal of Immunology*, 163(12), 6884-6891.
- Scott, D.W., Miller, W.H. & Griffin, C.E. (2001). Immune-mediated disorders. In D.W. Scott, W.H. Miller & C.E. Griffin, *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*, (6<sup>th</sup> ed.). China: Saunders.
- Scott-Moncrieff, J.C. (2009). Immune-mediated disorders. In R.W. Nelson & C.G. Couto (Eds.). *Small Animal Internal Medicine*, (4<sup>th</sup> ed.). USA: Mosby Elsevier.

- Segal, R., Bermas, B.L., Dayan, M., Kalush, F., Shearer, G.M. & Mozes, E. (1997). Kinetics of cytokine production in experimental systemic lupus erythematosus: involvement of T helper cell 1/ T helper cell2-type cytokine in disease. *Journal of Immunology*, 158(6), 3009-3016.
- Sellon, R.K. (2007). Immune-mediated polyarthritis: does it lurk in your patients? In *Proceedings of the WSAVA Congress*, Sydney, Australia: World Small Animal Veterinary Association. Acedido a Mar 12, 2010, disponível em [http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/65\\_20070403001044\\_abs.pdf](http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/65_20070403001044_abs.pdf)
- Shlomchik, M.J., Craft, J.E. & Mamula, M.J. (2001). From T to B and back again: positive feedback in systemic autoimmune disease. *Nature Reviews: Immunology*, 1(2), 147-153.
- Shlomchik, M.J., Madaio, M.P., Ni, D., Trounstein, M. & Huszar, D. (1994). The role of B cells in lpr/lpr-induced autoimmunity. *Journal of Experimental Medicine*, 180(4), 1295-1306.
- Shoshan, Y., Shapira, I., Toubi, E., Frolkis, I, Yaron, M. & Mevorach, D. (2001). Accelerated Fas-mediated apoptosis of monocytes and maturing macrophages from patients with systemic lupus erythematosus: relevance to in vitro impairment of interaction with iC3b-opsionized apoptotic cells. *Journal of Immunology*, 167(10), 5963-5969.
- Shull, R.M., Miller, H.A. & Chilina, A.R. (1983). Investigation of the nature and specificity of antinuclear antibody in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 44(11), 2004-2008.
- Silva, C., Canhão, C., Barcelos, A., Miranda, L. Pinto, P. & Santos, M.S. (2008). Protocolo de avaliação e monitorização do lúpus eritematoso sistémico (PAMLES). *Acta Reumatológica Portuguesa*, 33(2), 210-218.
- Smith, B.E., Tompkins, M.B. & Breitschwerdt (2004). Antinuclear antibodies can be detected in dog sera reactive to *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *Ehrlichia canis*, or *Leishmania infantum* antigens. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(1), 47-51.
- Smith-Berdan, S., Gille, D., Weissman, I.L. & Christensen, J.L. (2007). Reversal of sutoimmune disease in lupus-prone New Zealand black/ New Zealand white mice by nonmyeloablative transplantation of purified allogenic hematopoietic stem cells. *Blood*, 110(4), 1370-1378.
- Snyder, P.W. (2007). Diseases of immunity. In: M.D. McGavin & J.F. Zachary (Eds), *Pathological Basis of Veterinary Disease*, (4<sup>th</sup> ed.). Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- Solomou, E.E., Juang, Y.-T., Gourley, M.F., Kammer, G.M. & Tsokos, G.C. (2001). Molecular basis of deficient IL-2 production in T cells from patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Immunology*, 166(6), 4216-4222.
- Soulard, M., Barque, J.-P., Della Valle, V., Hernandez-Verdun, D., Massin, C., Danon, F., Larsen, C.J. (1991). A novel 43-kDa glycoprotein is detected in the nucleus of mammalian cells by antibodies from dogs with autoimmune disorders [abstract]. *Experimental Cell Research*, 193(1), 59-71. Acedido em Maio 31, 2010, disponível em [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WFC-4DYM8TJ-NN&\\_user=2459650&\\_coverDate=03/31/1991&\\_rdoc=10&\\_fmt=high&\\_orig=browse&\\_srch=doc-info\(%23toc%236791%231991%23998069998%23535585%23FLP%23display%23Volume\)&\\_cdi=6791&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_ct=35&\\_acct=C000057388&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=2459650&\\_md5=111b5242a52cca85921d8f338c894703](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WFC-4DYM8TJ-NN&_user=2459650&_coverDate=03/31/1991&_rdoc=10&_fmt=high&_orig=browse&_srch=doc-info(%23toc%236791%231991%23998069998%23535585%23FLP%23display%23Volume)&_cdi=6791&_sort=d&_docanchor=&_ct=35&_acct=C000057388&_version=1&_urlVersion=0&_userid=2459650&_md5=111b5242a52cca85921d8f338c894703)

- Soulard, M., Della Valle, V., Siomi, M.C., Pihol-Roma, S., Codogno, P., Bauvy, C., Bellini, M., Lacroix, J.-C., Monod, G., Dreyfuss, G. & Larsen, C.-J. (1993). hnRNP G: sequence and characterization of a glycosylated RNA-binding protein. *Nucleic Acids Research*, 21(18), 4210-4217.
- Spolski, R., Kim, H.-P., Zhu, W., Levy, D.E. & Leonard, W.J. (2009). IL-21 mediates suppressive effects via its induction of IL-10. *Journal of Immunology*, 182(5), 2859-2867.
- Stull, J.W., Evason, M., Carr, A.P., Waldner, C. (2008). Canine immune-mediated polyarthritis: clinical and laboratory findings in 83 cases in western Canada (1991-2001). *Canadian Veterinary Journal*, 49(12), 1195-1203.
- Tackey, E., Lipsky, P.E. & Illei, G.G. (2004). Rationale for interleukin-6 blockade in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 13(5), 339-343.
- Teichner, M., Krumbacher, K., Doxiadis, I, Doxiadis, G., Fournel, C., Rigal, D., Monier, J.C. & Gross-Wilde, H. (1990). Systemic lupus erythematosus in dogs: association to the major histocompatibility complex class I antigen DLA-A7. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 55(2), 255-262.
- Theofilopoulos, A.N., Koundouris, S., Kono, D.H. & Lawson, B.R. (2001). The role of IFN- $\gamma$  in systemic lupus erythematosus: a challenge to the Th1/Th2 paradigm in autoimmunity. *Arthritis Research*, 3(3), 136-141.
- Thoburn, R., Hurvitz, A.I. & Kunkel, H.G. (1972). A DNA-binding protein in the serum of certain mammalian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 69(11), 3327-3230.
- Thompson, M.F. (2004). Lupus erythematosus, systemic (SLE). In: L.P. Tilley & F.W.K. Smith Jr. (Eds.) *The 5-minute Veterinary Consultant Canine and Feline*. (pp. 774-775). USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Thoren-Tolling, K. & Ryden, L. (1991). Serum auto antibodies and clinical/pathological features in german shepherd dogs with a lupuslike syndrome. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 32(1), 15-26.
- Tincani, A., Andreoli, L., Bazzani, C. Bosiso, D. & Sozzani, S. (2007). Inflammatory molecules: a target for treatment of systemic autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*, 7(1), 1-7.
- Tizard, I.R. (2004). *Veterinary Immunology – An Introduction*. (7<sup>th</sup> ed). EUA: Saunders.
- Tizard, I.R. (2009). *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. (8<sup>a</sup> edición). España: Elsevier.
- Tokano, Y., Morimoto, S., Kaneko, H., Amano, H., Nozawa, K., Takasaki, Y. & hashimoto, H. (1999). Levels of IL-12 in the serú of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) – relation to Th1 and Th2 derived cytokines. *Clinical and Experimental Immunology*, 116(1), 169-173.
- Toman, M. & Faldyna, M. (2006). Update of laboratory diagnosis methods in clinical immunology. In *Proceedings of the WSAVA Congress* (pp 452-455), Prague, Czech Republic: World Small Animal Veterinary Association. Acedido a 21 Mar, 2010, disponível em <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture15/Toman1.pdf?LA=1>

- Toplak, N. & Avcin, T. (2009). Vaccination of healthy subjects and autoantibodies: from mice through dogs to human. *Lupus*, 18(13), 1186-1191.
- Tsokos, G.C., Balow, J.E., Huston, D.P., Wei, N. & Decker, J.L. (1982). Effect of plasmapheresis on T and B lymphocyte functions in patients with systemic lupus erythematosus: a double blind study. *Clinical & Experimental Immunology*, 48(3), 449-457.
- Tyndall, A. (2009). Cellular therapy of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 18(5), 387-393.
- Verde, M. (2008). The use of cyclosporine A in skin diseases of dogs. In *Proceedings of the SEVC*, Barcelona. Spain: Southern European Veterinary Conference. Acedido a 17 Abr, 2010, disponível em <http://www.ivis.org/proceedings/sevc/2008/verde1.pdf>
- Viallard, J.F., Pellegrin, J.L., Ranchin, V., Schaeverbekes, T., Dehais, J., Longy-Boursier, M., Ragnaud, J.M., Leng, B. & Moreau, J.F. (1999). Th1 (IL-2, interferon-gamma (IFN- $\gamma$ )) and Th2 (IL-10, IL-4) cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clinical & Experimental Immunology*, 115(1), 189-195.
- Vigna-Perez, M., Hernández-Castro, B., Paredes-Saharopulos, O., Portales-Pérez, D. Baranda, L., Abud-Mendoza, C. & González-Amaro, R. (2006). Clinical and immunological effects of rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: a pilot study. *Arthritis Research & Therapy*, 8(3), doi:10.1186/ar1954
- von Mühlen, C.A. & Tan, E.M. (1995). Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 24(5), 323-358.
- Vratsanos, G.S., Jung, S., Park, Y.-M. & Craft, J. (2001). CD4+ T cells from lupus-prone mice are hyperresponsive to T cell receptor engagement with low and high affinity peptide antigens: a model to explain spontaneous T cell activation in lupus. *Journal of Experimental Medicine*, 193(3), 329-337.
- Wagner, J.L. (2003). Molecular organization of the canine major histocompatibility complex. *Journal of Heredity*, 94(1), 23-26.
- Weiss, D.J., Armstrong, P.J. & Reimann, K. (1985). Bone marrow necrosis in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 187(1), 54-59.
- Willard, M.D. & Tvedten, H. (2004). *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. (4<sup>th</sup> ed.). USA: Saunders.
- White, S.D. (2000). Nonsteroidal immunosuppressive therapy. In J.D. Bonagura (Ed.), *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII*, (536-538), USA: W.B. Saunders Company.
- White, S.D., Rosychuk, R.A.W. & Schur, P.H. (1992). Investigation of antibodies to extractable nuclear antigens in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 53(6), 1019-1021.
- Wong, C.K., Ho, C.Y., Li, E.K. & Lam, C.W.K. (2000). Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 9(8), 589-593.
- Wong, C.K., Lit, L.C.W., Tam, L.S., Li, E.K.M., Wong, P.T.Y. & Lam, C.W.K. (2008). Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clinical Immunology*, 127(3), 385-393.

- Wrenshall, L.E., Smith, D.R., Stevens, E.T. & Miller, J.D. (2007). Influence of interleukin-2 deficiency on the generation of autoimmune B cells. *Journal of Autoimmunity*, 29(2-3), 125-133.
- Yap, D.Y.H. & Lai, K.N. (2010). Cytokines and their role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus: from basics to recent advances. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, Article ID 365083, 10 pages, doi:10.1155/2010/365083.
- Yin, Z., Bahtiyar, G., Zhang, N., Liu, L., Zhu, P., Robert, M.E., McNiff, J., Madaio, M.P. & Craft, J. (2002). IL-10 regulates murine lupus. *Journal of Immunology*, 169(4), 2148-2155.
- Yokota, S., Geppert, T.D. & Lipsky, P.E (1988). Enhancement of antigen- and mitogen-induced human T lymphocyte proliferation by tumor necrosis factor-alpha. *Journal of Immunology*, 140(2), 531-536
- Yokoyama, H., Kreft, B. & Kelley, V.C. (1995). Biphasic increase in circulating and renal TNF- $\alpha$  in MRL-*lpr* mice with differing regulatory mechanisms. *Kidney International*, 47(1), 122-30.
- Zhang, Z., Kyttaris, V.C. & Tsokos, G.C. (2009). The role of IL-23/IL-17 axis in lupus nephritis. *Journal of Immunology*, 183(5), 3160-3169.
- Zucali, J.R., Elfenbein, G.J., Barth, K.C. & Dinarello, C.A. (1987). Effects of human interleukin 1 and human tumor necrosis factor on human T lymphocyte colony formation. *Journal of Clinical Investigation*, 80(3), 772-777.

## Anexos

### Anexo I – Critérios revistos de 1982 para o diagnóstico de LES propostos pela AAR

Adaptado de <http://www.rheumatology.org/practice/clinical/classification/SLE/sle.asp>

<b>Critério</b>	<b>Definição</b>
1. Eritema malar	Eritema nas regiões malares e dorso do nariz
2. Lesões cutâneas discóides	Placas eritematosas com descamação aderente e comprometimento folicular, podendo ocorrer cicatrização nas lesões mais antigas
3. Fotosensibilidade	Erupção cutânea como resultado da exposição à luz solar
4. Úlceras orais	Úlceras orais ou nasofaríngeas, geralmente indolores
5. Artrite	Artrite não erosiva comprometendo pelo menos duas articulações periféricas, caracterizada por dor, tumefacção ou derrame
6. Serosite	Evidências de pleurite ou pericardite
7. Alterações renais	a) proteinúria persistente (> 0,5g/ dia ou > +++ ) ou b) cilindrúria
8. Alterações neurológicas	Convulsões ou psicose na ausência de causas farmacológicas ou metabólicas
9. Alterações hematológicas	a) anemia hemolítica com reticulocitose ou b) leucopénia <4000 células/mm <sup>3</sup> em pelo menos duas ocasiões ou c) linfopénia <1500 células/mm <sup>3</sup> em pelo menos duas ocasiões ou d) trombocitopénia <100000 células/mm <sup>3</sup> na ausência de causas farmacológicas
10. Alterações imunológicas	a) teste LES positivo ou b) anticorpos anti-ADN ou c) anticorpos anti-Sm ou d) teste falso positivo para a sífilis durante pelo menos 6 meses
11. AAN	Um título anormal de AAN na ausência de causas farmacológicas

## Anexo II – Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI)

Adaptado de Silva et al., 2008

Existem diversos sistemas na Medicina humana que podem ser usados para medir a actividade da doença, sendo o SLEDAI um dos mais utilizados.

O SLEDAI mede a actividade da doença considerando a importância dos diferentes sistemas orgânicos envolvidos. Apesar de ter alguns limites (por exemplo, não avalia se um sintoma piorou e, do mesmo modo, não detecta se houve melhoria de determinado sinal) tem sido sistematicamente demonstrado que é um método sensível e fiável.

Pontuação/Descrição		Definição
8	Convulsões	De início recente e excluindo outras causas
8	Psicose	Perturbação grave da percepção da realidade, excluindo outras causas
8	Síndrome cerebral	Alterações da função mental de início súbito e carácter flutuante, excluindo outras causas
8	Alterações retinianas	Alterações oculares, incluindo, entre outras, hemorragias na retina, na coróide ou nevríte óptica, excluindo outras causas
8	Alterações dos nervos cranianos	Neuropatia sensitiva ou motora envolvendo os nervos cranianos
8	Cefaleia lúpica	Cefaleia grave e persistente que pode apresentar características de enxaqueca e não responde a narcóticos
8	Acidente Vascular Cerebral	Excluindo aterosclerose
8	Vasculite	Ulceração, gangrena, nódulos digitais dolorosos, enfartes periungueais, hemorragias sub-ungueais ou vasculite confirmada por biopsia ou angiografia
4	Artrite	Dor e sinais de inflamação em pelo menos duas articulações
4	Miosite	Dor ou fraqueza muscular associadas a elevações enzimáticas, alterações electromiográficas ou biopsia compatível com miosite
4	Cilindrúria	Hemáticos, granulados ou eritrocitários
4	Hematúria	> 5 eritrócitos/campo, excluindo outras causas
4	Proteinúria	> 0,5 g/dia
4	Piúria	> 5 leucócitos/campo na ausência de infecção
2	Eritema malar	Eritema inflamatório
2	Alopécia	Queda de cabelo excessiva, difusa ou localizada

2	Mucosas	Úlceras orais ou nasais
2	Pleurisia	Dor pleurítica com atrito, derrame ou espessamento pleural
2	Pericardite	Dor pericárdica com um dos seguintes: atrito, derrame, confirmação por ECG ou ecocardiograma
2	Hipocomplementémia	C3, C4 ou CH50 abaixo dos valores de referência
2	Anti-ADN elevado	Acima dos valores de referência
1	Febre	Temperatura axilar > 38° C na ausência de infecção
1	Trombocitopénia	Plaquetas em número < 100000/mm <sup>3</sup> , excluindo causas farmacológicas
1	Leucopénia	Leucócitos em número < 3000/mm <sup>3</sup> , excluindo causas farmacológicas

---

A pontuação final é obtida através da soma das pontuações dos sintomas que estiverem presentes aquando da avaliação ou que tenham estado presentes nos 10 dias anteriores a esta.