

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Fc γ R e CR3 no lúpus eritematoso sistêmico: variantes polimórficas e sua
influência na fagocitose e desgranulação dos neutrófilos

Isabel Cristina Costa Vigato Ferreira

Ribeirão Preto
2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Fc γ R e CR3 no lúpus eritematoso sistêmico: variantes polimórficas e sua influência na fagocitose e desgranulação dos neutrófilos

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Biociências Aplicadas à Farmácia.

Orientada: Isabel Cristina Costa Vigato Ferreira.

Orientadora: Profa. Dra. Cleni Mara Marzocchi Machado

Ribeirão Preto
2012

RESUMO

VIGATO-FERREIRA, I.C.C. **Fc γ R e CR3 no lúpus eritematoso sistêmico: variantes polimórficas e sua influência na fagocitose e desgranulação dos neutrófilos.** 2012. 97f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune e a suscetibilidade às infecções está associada às suas anormalidades imunológicas e a sua terapia imunossupressora e citotóxica. Dentre as alterações que predispõem às infecções no LES estão anormalidades moleculares e funcionais dos neutrófilos: *clearance* e fagocitose ineficientes de imunocomplexos (IC) e bactérias, neutropenia, defeitos na quimiotaxia, redução do *burst* oxidativo e redução da expressão de receptores para IgG (Fc γ R) e para complemento (CR). Além disso, os polimorfismos genéticos dos Fc γ R têm sido associados com as disfunções imunes do LES. Os Fc γ R são importantes mediadores das funções efetoras do neutrófilo e atuam em sinergismo com os CR (CR1 e CR3). O polimorfismo dos genes Fc γ RIIA e Fc γ RIIB determina a expressão de variantes alélicas com diferenças funcionais, as quais podem influenciar as respostas biológicas e a suscetibilidade e o prognóstico das doenças infecciosas. Em particular, o alótipo Fc γ RIIa-R131, tem menor afinidade para a IgG2, o que resulta em prejuízo na fagocitose mediada por esta imunoglobulina. A IgG2 é essencial contra bactérias encapsuladas e os pneumococos são responsáveis por 6-18% das infecções bacterianas no LES. O objetivo deste estudo foi investigar a influência dos polimorfismos genéticos dos Fc γ R na fagocitose e desgranulação dos neutrófilos, associados ao polimorfismo do CR3, e à ocorrência de infecções bacterianas no LES. Os genótipos foram determinados por reações da polimerase em cadeia para os polimorfismos das variantes alélicas; a fagocitose e desgranulação foram estimuladas por IC contendo IgG (IC-IgG) e por IC-IgG e complemento (IC-IgG/SHN); a fagocitose de IC por neutrófilos e a expressão dos Fc γ R e CR3 foram avaliadas por citometria de fluxo; e a desgranulação dos neutrófilos estimulada por IC foi medida pela liberação de elastase e lisozima. Os resultados mostraram: maior frequência para o genótipo R-131 no LES; associação do genótipo HNA-4a negativo para o CR3 com a suscetibilidade para o LES e associação do HNA-4a positivo com proteção; fagocitose menor em neutrófilos de pacientes com LES com genótipo HR-131 comparados aos neutrófilos do grupo controle com genótipo R-131 (IC-IgG e IC-IgG/SHN); no polimorfismo do Fc γ RIIB, a fagocitose e a lisozima foram menores em neutrófilos de pacientes com LES com genótipo HNA-1b e maior para HNA-1a/1b comparados aos controles com os respectivos genótipos (IC-IgG/SHN); a ocorrência de infecções foi mais frequentemente associada à presença do alelo R-131 e HNA-1b; nenhuma diferença foi observada para o polimorfismo HNA-4a do CR3, bem como para a elastase. Este estudo contribui para o entendimento das anormalidades nas funções dos neutrófilos no LES e para a identificação de indivíduos, cujo polimorfismo dos Fc γ R e CR3 possa conferir suscetibilidade ou proteção às infecções.

Palavras-chaves: Lúpus eritematoso sistêmico; neutrófilos; fagocitose; desgranulação; receptores para IgG; receptor para complemento; polimorfismos.

Introdução

1. Introdução

1.1. Neutrófilos

O sistema imunológico inato é composto por uma série de células (neutrófilos, monócitos/macrófagos, mastócitos, células *natural killer* e células dendríticas) e uma variedade de mediadores solúveis, oriundos destas células e do sistema complemento, que formam, em sincronismo, um sistema de defesa efetivo contra qualquer ameaça à integridade do organismo humano (Naussef, 2007, Kumar, Sharma, 2010).

Os polimorfonucleares (PMN) neutrófilos constituem uma subpopulação de leucócitos inicialmente descrita por Paul Erlich, no final do século XIX (Erlich, 1880, Amulic et al., 2012), cujas funções foram elucidadas por seu contemporâneo Elie Metchnikoff, ao observar a resposta inflamatória gerada em consequência da inserção de espinhos de roseira em larva de estrela-do-mar (Metchnikoff, 1893, Segal, 2005; Kumar, Sharma, 2010). Desde então, os neutrófilos passaram a ser conhecidos como as principais células efetoras da imunidade inata por desempenhar um importante papel na primeira linha de defesa contra patógenos extracelulares e na inflamação aguda (Kumar, Sharma, 2010; Mantovani et al. 2011).

A produção de neutrófilos é, quantitativamente, a principal atividade da medula óssea, sendo que dois terços da hematopoiese são destinados a originar células mieloides (granulócitos e monócitos). Os neutrófilos são os leucócitos mais abundantes no sistema imunológico (~40-60%), com uma produção em estado estacionário de $1-2 \times 10^{11}$ células por dia em um adulto saudável, sendo que este número pode aumentar drasticamente durante infecções (Wright et al., 2010). Além disso, os neutrófilos estão entre as células do organismo com vida mais curta, permanecendo circulante pelo sangue por apenas 6 a 8 horas aproximadamente (Borregaard, 2010, Amulic et al., 2012).

A resposta inflamatória mediada por neutrófilos é considerada um processo desenvolvido em muitos passos. Inicialmente, os neutrófilos precisam atravessar a parede dos vasos sanguíneos e migrar até o sítio da inflamação ou infecção. Assim, em resposta a estímulos quimiotáticos, as células se ligam a moléculas do endotélio vascular denominadas selectinas e esta primeira interação permite o seu rolamento. Em seguida, ocorre a firme adesão dos neutrófilos circulantes ao endotélio vascular ativado, promovida pela ligação das integrinas e, finalmente, a migração transendotelial, caracterizada pelo extravasamento e migração das células para o foco inflamatório (Faurschou, Borregaard, 2003, Amulic et al., 2012).

Uma vez no local da inflamação/infecção, os neutrófilos irão eliminar os microrganismos estranhos efetivamente. Para sua eliminação, os patógenos são ingeridos

pelos neutrófilos por um processo conhecido como fagocitose e destruídos pela combinação de metabólitos reativos de oxigênio e substâncias citotóxicas (Kennedy, DeLeo, 2009). A maioria dos passos que este processo compreende é dependente da mobilização de grânulos citoplasmáticos e vesículas secretoras. Este processo é facilitado pela presença de inúmeros receptores presentes na superfície da célula (Faurschou, Borregaard, 2003).

1.2. Fagocitose e Desgranulação

O processo de fagocitose é o principal mecanismo de remoção de agentes patogênicos e restos celulares do organismo e caracteriza-se por ser um processo ativo, mediado por receptores, durante o qual uma partícula é internalizada pela membrana da célula em um vacúolo denominado fagossomo (Flannagan et al., 2011, Amulic et al., 2012).

Assim como para outros fagócitos, os detalhes do mecanismo de internalização desempenhado pelos neutrófilos dependem do tipo de interação entre a célula e o microrganismo, sendo que esta interação pode ser direta, através do reconhecimento de padrões moleculares associados ao patógeno (PAMP) por receptores de reconhecimento padrões (PRR) ou por intermédio de opsoninas. Este último compreende a fagocitose mediada por receptores para imunoglobulina G (IgG), conhecidos como Fc γ R, ou por receptores do complemento (Nordenfelt, Tapper, 2011, Amulic et al., 2012).

A internalização de partículas opsonizadas por IgG via Fc γ R é um modelo de fagocitose bastante conhecido e pode ser conceitualmente separado em três passos: a) ligação das partículas opsonizadas ao receptor; b) indução de uma cascata de sinalização intracelular; e c) formação de pseudópodos que englobam as partículas por um processo dependente da polimerização da actina (Flannagan et al., 2011).

Após o englobamento das partículas opsonizadas, forma-se o fagossomo. O fagossomo nascente adquire suas propriedades letais após um processo de maturação, que culmina com a fusão dos grânulos, momento em que se forma o fagolisossomo, e então, liberação do conteúdo antimicrobiano no lúmen deste fagolisossomo, processo conhecido como desgranulação. Simultaneamente, a montagem da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase na membrana fagossomal permite a produção de radicais de oxigênio em resposta a um aumento excessivo no consumo de oxigênio, processo denominado metabolismo oxidativo ou *burst* respiratório. Em conjunto, estes dois mecanismos criam um ambiente tóxico para a maioria dos agentes patogênicos (Nausef, 2007, Nordenfelt, Tapper, 2011, Amulic et al., 2012). A Figura 1 ilustra o mecanismo de fagocitose e atividade microbicida do neutrófilo.

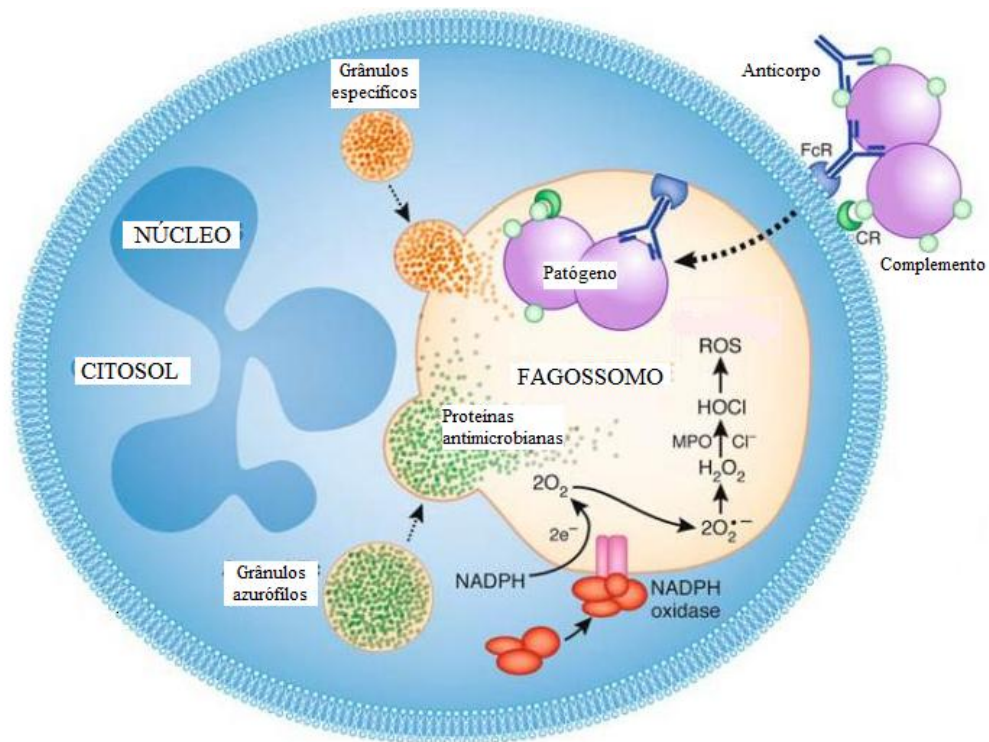


Figura 1. Fagocitose e atividade microbicida do neutrófilo. Após a fagocitose, os microrganismos são destruídos por espécies reativas de oxigênio (ERO) e proteínas antimicrobianas liberadas dos grânulos. FcR, receptor para Fc; CR, receptor para complemento; MPO, mieloperoxidase. Adaptado de Kennedy e DeLeo (2009).

Os grânulos dos neutrófilos são formados sequencialmente durante a diferenciação mieloide e sua formação (granulopoiese) inicia-se na fase de promielócitos pela fusão de vesículas transportadoras imaturas que brotam do complexo de Golgi (Faurichou, Borregaard, 2003).

Existem três tipos fundamentais de grânulos nos neutrófilos. Como visto na Figura 2, os grânulos azurófilos (também denominados primários ou peroxidase positivos) são os primeiros a ser formados durante a maturação do neutrófilo, são maiores que os demais, com diâmetro aproximado de $0,3 \mu\text{M}$ e caracterizam-se por possuir alto conteúdo de mieloperoxidase (MPO). A produção de MPO é cessada na transição de promielócito para mielócito. A segunda classe formada são os grânulos específicos (ou secundários) com $0,1 \mu\text{M}$ de diâmetro e também contêm uma ampla variedade de compostos antimicrobianos; estes grânulos são formados em fase de mielócitos e metamielócitos. O terceiro tipo formado são os grânulos terciários ou gelatinase, apresentam diâmetros menores que os específicos e, assim como estes, são MPO negativos. Além destes, um quarto conjunto de estruturas também é considerado como parte da família dos grânulos, são as vesículas secretoras. Tais vesículas

são formadas por endocitose nos estágios finais da maturação dos neutrófilos (Faurichou, Borregaard, 2003, Amulic et al., 2012).

Quanto à propensão à desgranulação, os grânulos azurófilos são os mais difíceis de mobilização, seguido pelos grânulos específicos, grânulos gelatinase e, finalmente, vesículas secretoras (Wright et al., 2010, Amulic et al., 2012).

O conteúdo das vesículas secretoras é importante nas fases iniciais da inflamação. Estas vesículas contêm vários receptores associados à membrana, incluindo aqueles que medeiam a interação da célula com o endotélio ativado, e outros, como receptores para complemento (CR1/CR3), FcR e receptores para N-Formilmetionina Leucil-Fenilalanina (fMLP), os quais estão envolvidos na interação hospedeiro-patógeno. Em seguida, os grânulos terciários são secretados durante o extravasamento dos neutrófilos para o tecido e chegam até o local da inflamação (Nordenfelt, Tapper, 2011).

No sítio inflamatório, ocorre a completa ativação dos neutrófilos, o que leva ao início do metabolismo oxidativo e mobilização dos grânulos azurófilos e específicos. A desgranulação dos grânulos primários e secundários contribui para a criação de um meio microbicida no local inflamatório e produz um ambiente hostil para patógenos invasores. Tais grânulos podem se fundir tanto com o fagossomo, contribuindo para as atividades antimicrobianas neste compartimento, quanto com a membrana plasmática, liberando seu conteúdo antimicrobiano para o tecido (Amulic et al., 2012).

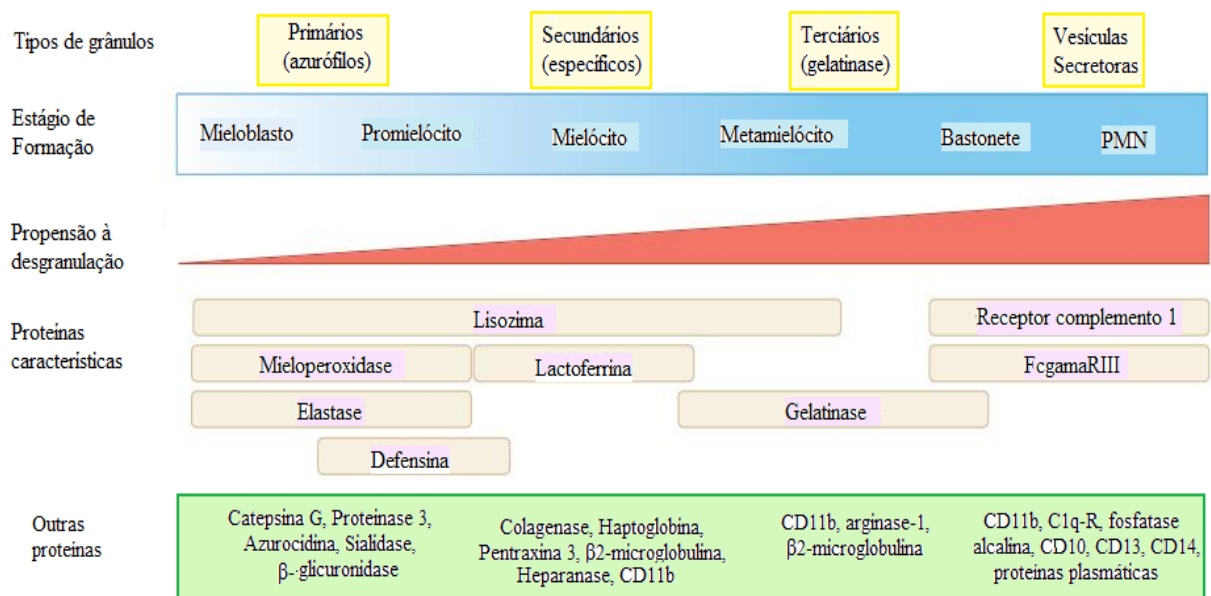


Figura 2. Conteúdo dos grânulos dos neutrófilos, estágio de formação e propensão à desgranulação. Adaptado de Amulic et al. (2012).

Os grânulos azurofílicos sofrem exocitose limitada em resposta a estímulos e, acredita-se que possam contribuir para a morte e degradação de microrganismos que se encontram no fagolisossomo (Faurichou, Borregaard, 2003). Entre as proteínas dos grânulos azurofílicos estão aquelas com atividade antimicrobiana direta (defensinas e azurocidina, por exemplo), serino proteases (proteínase-3, catepsina G e elastase) e uma peroxidase que é expressa apenas em neutrófilos e monócitos, a mieloperoxidase (Nausef, 2007).

A elastase, em particular, apresenta como mecanismo antimicrobiano a capacidade de clivar proteínas da membrana externa e fatores de virulência de enterobactérias com alta especificidade, sugerindo uma possível co-evolução de fatores de virulência e atividade antimicrobiana. Camundongos deficientes de elastase são altamente suscetíveis às infecções fúngicas e bacterianas (Amulic et al., 2012).

A lisozima é um peptídeo antimicrobiano catiônico, cuja biossíntese está presente em todos os subconjuntos de grânulos e apresenta concentrações máximas em grânulos específicos. Esta enzima degrada as paredes celulares bacterianas através da clivagem de polímeros de peptidoglicanos e exerce atividade bactericida contra algumas bactérias gram positivas não patogênicas. Além disso, há relatos na literatura de que a lisozima se liga a lipopolissacarídeos (LPS) e reduz a produção de citocinas e a mortalidade causada por LPS em um modelo murino de choque séptico (Faurichou, Borregaard, 2003, Amulic et al., 2012).

1.3. FcγR

A atividade biológica dos anticorpos depende da interação de suas porções Fc com sistemas efetores, como células e sistema complemento. Existem receptores para a porção Fc das diferentes classes de anticorpos. Tais receptores são expressos por diferentes tipos celulares e podem gerar diferentes sinais em uma única célula, dependendo do domínio citoplasmático que tal receptor possui (Bruhns 2009).

Os receptores para a porção do fragmento cristalizável das imunoglobulinas (FcR) foram inicialmente descritos como um grupo heterogêneo de glicoproteínas de superfície de células hematopoiéticas que facilitam a interação do imunocomplexo formado com células efetoras do sistema imunológico, e, posteriormente, formas solúveis destas moléculas foram identificadas em alguns fluídos biológicos (Galon et al., 1995; Daëron, 1997). Estes receptores regulam uma variedade de respostas imunológicas, humoral e celular, incluindo fagocitose, desgranulação, citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), *clearance* de imunocomplexos, dentre outras (Li et al., 2009).

Os Fc γ R atuam como um elo entre a imunidade humoral e ramos do sistema imunológico celular. Tais receptores conferem potentes funções efetoras aos leucócitos em consequência da sua ligação à IgG (van Sorge et al., 2003), apresentando importância no *clearance* de imunocomplexos e ligação a antígenos complexados (Daëron, 1997).

Em humanos, existem três famílias de Fc γ R que se diferenciam de acordo com a homologia estrutural, afinidade e especificidade às subclasses de IgG, expressão nas células e funções biológicas: Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32) e Fc γ RIII (CD16), além do receptor neonatal para IgG (FcRn) (Pradhan et al., 2008, Li et al., 2009).

Estes receptores podem ser classificados como receptores de ativação (Fc γ RI, Fc γ RIIa/c, Fc γ RIII) ou de inibição (Fc γ RIIb), quanto a sua capacidade de estimular ou inibir funções como fagocitose, citotoxicidade, desgranulação, apresentação de antígenos e produção de citocinas via motivos de ativação ou inibição de imunoreceptor baseados em tirosina, ITAM ou ITIM, respectivamente (Li et al., 2009).

A família de Fc γ R também pode ser dividida em receptores de alta afinidade para IgG (Fc γ RI) ou de baixa a média afinidade (Fc γ RII e Fc γ RIII). Quanto à sua estrutura, os Fc γ R podem apresentar dois ou três domínios extracelulares (EC) semelhantes a imunoglobulinas altamente conservados entre as diferentes classes destes receptores. Além dos domínios EC, os Fc γ R possuem domínios transmembranas (TM) e domínios citoplasmáticos (C), sendo este último de estrutura variável entre as classes de Fc γ R (Gessner et al., 1998). O Fc γ RI tem um terceiro domínio semelhante a Ig considerado importante para o aumento da afinidade para IgG. Os receptores de baixa afinidade apresentam uma interação fraca com a porção Fc e geralmente são incapazes de se ligar estavelmente à IgG monomérica (Niederer et al., 2010). A Figura 3 ilustra as estruturas dos receptores para IgG.

O sítio de ligação para a IgG encontra-se no domínio EC de uma cadeia de aminoácidos, denominada cadeia α , presente nos Fc γ R. Alguns dos Fc γ R são moléculas formadas apenas por esta cadeia α (receptores de cadeia única: Fc γ RIIb, Fc γ RIIa/c e Fc γ RIIIb), com a sequência transdutora de sinal no seu domínio C, enquanto outros são complexos de uma ou mais cadeias (γ , β , ou ζ) associadas à cadeia α (receptores de cadeias múltiplas: Fc γ RI, Fc γ RIIIa e FcRn), e a sequência transdutora de sinal encontra-se no domínio C das moléculas acessórias. Todavia, a cadeia α do Fc γ RIIIb não apresenta os domínios TM e C e, então, a expressão deste receptor na membrana dos neutrófilos é mediada por uma molécula âncora de glicosil fosfatidil inositol (GPI) (Daëron, 1997, Selvaraj et al., 1988, Marzocchi-Machado, Lucisano-Valim, 2005).

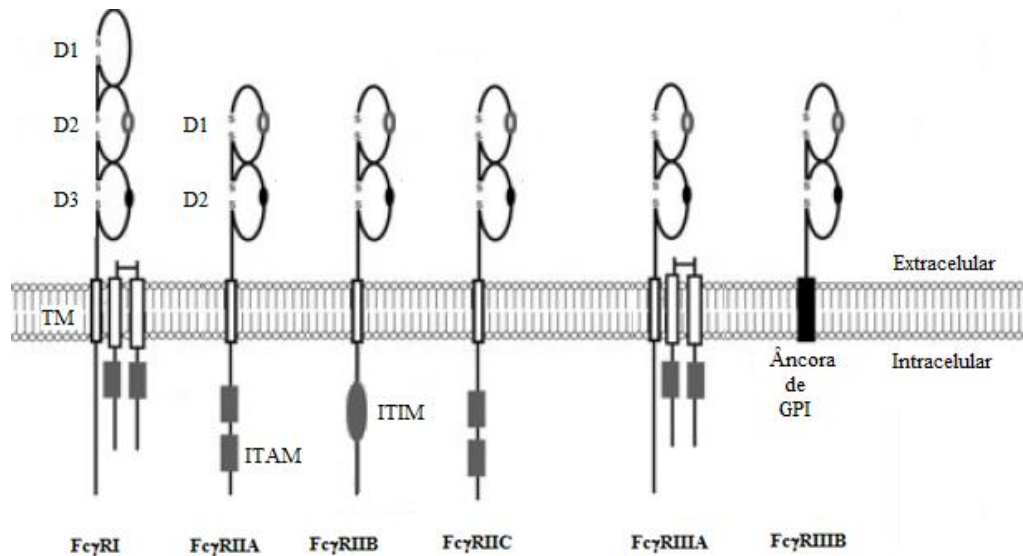


Figura 3. Estruturas dos receptores para IgG (Fc γ R). ITAM, motivo de ativação de imuno-receptor baseado em tirosina; ITIM, motivos de inibição de imuno-receptor baseados em tirosina; GPI, glicosil-fosfatidil-inositol; D1/2/3, domínios extracelular 1, 2 ou 3; TM, transmembrana. Adaptado de Niederer et al. (2010).

Os genes para Fc γ R (FCGR) humanos constituem uma família de oito genes localizados no braço longo do cromossomo 1 (1q21–23) (Salmon, Pricop, 2001; van Sorge et al., 2003). Na posição 1q23 deste cromossomo, se localizam genes agrupados que constituem o locus FCGR2-FCGR3, sendo eles FCGR2A, FCGR2B, FCGR2C, FCGR3A e FCGR3B. A existência desta diversidade de genes é vista como resultado da duplicação de genes e eventos de recombinação, seguidos por mutações durante a evolução (Pradhan et al., 2008).

A subclasse de receptores Fc γ RII envolve três genes (FCGR2A, FCGR2B e FCGR2C), cujos produtos de transcrição são as proteínas Fc γ RIIa, Fc γ RIIb e Fc γ RIIc. Os Fc γ RII (CD32) são os receptores de baixa afinidade para IgG mais amplamente distribuídos. Enquanto os Fc γ RIIa e Fc γ RIIc apresentam um motivo de ativação baseado em tirosina, o Fc γ RIIb é o único receptor que contém um motivo de inibição em seu domínio citoplasmático. Ainda quanto aos Fc γ RII, estes são expressos constitutivamente em neutrófilos e se ligam à IgG monomérica com baixa afinidade e apresentam afinidade maior para dímeros ou agregados de IgG (Li et al., 2009).

Quanto à família Fc γ RIII, dois genes (FCGR3A e FCGR3B) codificam os receptores Fc γ RIIIa e Fc γ RIIIb como produto de transcrição, respectivamente. A subclasse Fc γ RIII é considerada de baixa afinidade; entretanto, Fc γ RIIIa se liga à IgG monomérica com uma afinidade intermediária e tanto Fc γ RIIIa quanto Fc γ RIIIb se ligam a IgG multimérica e a imunocomplexos eficientemente. (Li et al., 2009)

O engajamento de imunocomplexos de IgG com Fc γ RIIa ou Fc γ RIIIb inicia respostas funcionais muito diferentes nos neutrófilos. A sinalização via Fc γ RIIa inicia a quimiotaxia, fagocitose e destruição do patógeno quando os neutrófilos são estimulados com bactérias opsonizadas com soro. Por outro lado, Fc γ RIIIb tem demonstrado um papel na secreção de espécies reativas de oxigênio (ERO) em resposta ao estímulo de imunocomplexos, mas pouco ou nenhum papel na fagocitose ou destruição de bactérias opsonizadas. Além disso, os neutrófilos de indivíduos que são deficientes geneticamente de Fc γ RIIIb não mostraram prejuízo na fagocitose e destruição do patógeno (Niederer et al., 2010).

Baseando-se em suas funções biológicas e localização cromossomal, os FCGR podem estar relacionados à suscetibilidade ao LES. Um grande número de polimorfismos tem sido descrito entre as sequências gênicas que codificam os receptores Fc γ RIIa, IIa, IIb e IIIb. Além disso, polimorfismos de um único nucleotídeo (*single nucleotide polymorphisms-SNP*) encontrados nestes quatro genes exibem funções biológicas diferentes entre os genótipos encontrados (Salmon, Pricop, 2001, Lee et al., 2009).

1.4. Fc γ RIIa (CD32a)

O polimorfismo do gene Fc γ RIIA é o mais estudado e aparentemente de maior interesse e implicações clínicas. O produto deste gene é o Fc γ RIIa, a subclasse de Fc γ R mais amplamente distribuída e expressa em neutrófilos, monócitos, macrófagos, células dendríticas e plaquetas (Daëron, 1997, van Sorge et al., 2003, Marzocchi-Machado, Lucisano-Valim, 2005). O gene FCGR2A tem dois alelos expressos codominantemente, H131 e R131, que se diferenciam pelo aminoácido da posição 131 no domínio extracelular, onde ocorre a substituição de uma histidina por uma arginina, respectivamente (Figura 4A). Tal mutação ocorre no domínio de ligação à IgG; assim, as variantes polimórficas apresentam diferenças na habilidade de se ligar à IgG2 humana, uma subclasse de IgG específica para as porções de carboidratos nas cápsulas bacterianas (Salmon, Pricop, 2001). A variante Fc γ RIIa-R131 tem menor afinidade para a IgG2, e esta característica, conseqüentemente, prejudica a fagocitose mediada por esta imunoglobulina (Warmerdan et al., 1990).

O alótipo Fc γ RIIa-H131 é o único capaz de ligar IgG2 eficientemente, o que lhe confere um importante papel na imunidade mediada pela opsonina IgG2 (Niederer et al., 2010). Esta subclasse de IgG é essencial para a defesa contra bactérias encapsuladas, tais como *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae* (Kimberly et al., 1995). Os neutrófilos de indivíduos homozigotos para Fc γ RIIa-H/H131 fagocitam bactérias opsonizadas por IgG2

mais eficientemente do que as células FcγRIIa-R/R131 (Sanders et al., 1995). Uma vez que a IgG2 é um ativador fraco do sistema complemento, o polimorfismo do FcγRIIa pode ser mais crítico para os mecanismos de defesa contra patógenos encapsulados, quando os níveis de IgG2 estão relativamente baixos, como por exemplo em crianças (Bredius et al., 1994), ou ainda, quando os níveis séricos de complemento estão reduzidos, como no LES. Esta importância do polimorfismo do FcγRIIa é reforçada pelos estudos epidemiológicos, que mostram uma baixa incidência de infecções por bactérias encapsuladas na população japonesa, onde o alótipo FcγRIIa-H/H131 é predominante (Ohto, Matsuo, 1989).

Clinicamente, o interesse para o estudo dos FcγR tem origem nos mecanismos de *clearance* de imunocomplexo (IC) (Schifferli, Taylor, 1989). O LES é um exemplo clássico de doença autoimune mediada por IC, onde a disfunção dos FcγR correlaciona-se com a atividade da doença, nefrite e com os níveis séricos de IC (Kimberly et al., 1983, Duits et al., 1995, Marzocchi-Machado et al., 2002, Bazílio et al., 2004). Algumas manifestações do LES, tais como anemia hemolítica autoimune e hipocomplementemia pronunciada (Rascu et al., 1997), foram mais frequentes em pacientes com homozigose para o alelo R131 do FcγRIIa.

Alguns estudos já relacionaram o polimorfismo do FCGR2A com a suscetibilidade ao LES (Dijstelbloem et al., 2000; Salmon et al., 1996) e a presença do alelo FcγRIIa-R-131 também tem sido associada às infecções pneumocócicas invasivas em pacientes com LES, mesmo na ausência de terapia imunossupressora, hipocomplementemia, baixos níveis de IgG2 e neutropenia (Yee et al., 1997). Além disso, a defesa efetiva contra o *Streptococcus pneumoniae* mostrou ser dependente da fagocitose da bactéria mediada pela IgG2, que é determinada pelo polimorfismo do FcγRIIa. A homozigose para os alótipos H131 e a heterozigose H/R131 foi protetora para a sepse pneumocócica, enquanto que o alótipo R131 foi associado ao maior risco desta infecção em crianças (Yuan et al., 2003).

Streptococcus pneumoniae e *Neisseria meningitidis* são os principais causadores de sepse e meningite (Brouwer et al., 2009). Os pacientes com LES, que foram esplenectomizados, têm um maior risco de doenças pneumocócicas e infecções por outros encapsulados. As manifestações da infecção pneumocócica, tais como sepse, pneumonia e meningite são bem documentadas no LES, sendo o pneumococo responsável por 6-18% de todas as infecções bacterianas nesta doença (Fessler, 2002).

Vários fatores de risco têm sido identificados para as doenças estreptocócicas e meningocócicas, mas a causa para as diferenças na suscetibilidade entre os indivíduos e as populações ainda é desconhecida. Alguns polimorfismos genéticos de um único nucleotídeo

são candidatas para explicar estas diferenças e um deles é o polimorfismo dos FcγR (Brouwer et al., 2009). Isso reforça o interesse no entendimento da associação entre o polimorfismo dos FcγR, o LES e as infecções bacterianas.

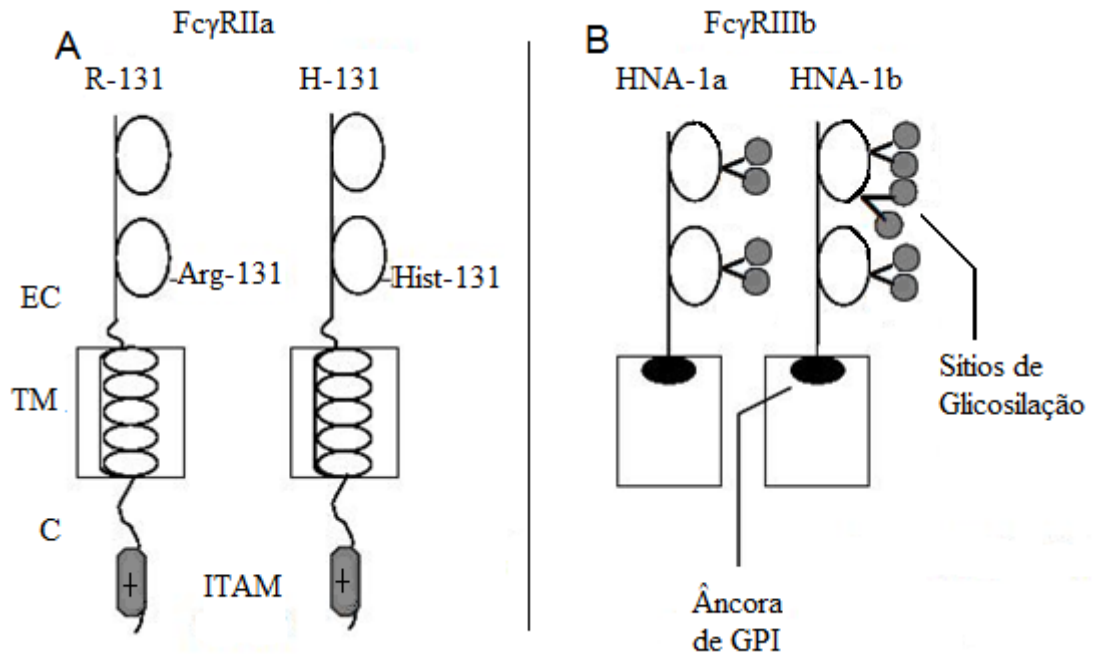


Figura 4. Representação esquemática das variantes polimórficas dos FcγR. **(A)** Polimorfismo do FcγRIIa: R-131, arginina na posição 131; H-131, histidina na posição 131; EC, extracelular; TM, transmembrana; C, citoplasmático. **(B)** Polimorfismo do FcγRIIIb: HNA, antígeno de neutrófilo humano (1a e 1b); ITAM: motivo de ativação de imunoreceptor baseado em tirosina; GPI: glicosil fosfatidil inositol. Adaptado de Marzocchi-Machado, Lucisano-Valim (2005).

1.5. FcγRIIIb (CD16b)

O gene FCGR3B é o único entre os FCGR que codifica um receptor ancorado na membrana por uma molécula de glicosil fosfatidil inositol (GPI), o receptor FcγRIIIb (Li et al., 2009), uma proteína composta por 184 aminoácidos (Muschter et al., 2011). Este receptor é restrito a humanos, expresso constitutivamente apenas em neutrófilos e uma pequena subpopulação de basófilos e se liga a imunocomplexos de IgG com baixa afinidade. Tal receptor é altamente abundante, atingindo um número de 100000 a 300000 receptores por célula (Niederer et al., 2010).

Quanto ao polimorfismo do FCGR3B, três variantes alotípicas foram identificadas através de estudos sorológicos: NA1, NA2 e SH, posteriormente renomeadas de aloantígeno de neutrófilo humano (HNA)-1a, -1b e -1c (Gittinger, Bux, 2001). A Tabela 1 apresenta a nomenclatura utilizada para identificar o polimorfismo do receptor FcγRIIIb.

Tabela 1. Nomenclatura utilizada para identificar os alelos do gene FCGR3B (receptor FcγRIIIb).

<i>Antígeno (fenótipo)</i>	<i>Alelo</i>	<i>Nomenclatura formal</i>
HNA-1a	FCGR3B*01	NA1
HNA-1b	FCGR3B*02	NA2
HNA-1c	FCGR3B*03	SH

Adaptado de Gittinger, Bux (2001)

Seis mutações pontuais (*single nucleotide polymorphism* – SNP) diferem as três variantes (NA1, NA2 e SH); destas, 5 são mutações não sinônimas, ou seja, codificam aminoácidos diferentes, e 1 sinônima. Os cinco aminoácidos trocados estão todos localizados no primeiro domínio extracelular da molécula (Li et al., 2009). Os alótipos FcγRIIIb-HNA-1a e FcγRIIIb-HNA-1b diferem entre si devido às substituições nos aminoácidos das posições 65 e 82, resultando em dois sítios extras de glicosilação no HNA-1b (Salmon et al., 1990), como ilustrado na Figura 4B. Em relação ao HNA-1c, este alótipo é resultante de uma mutação no gene FCGR3B-HNA-1b; a troca de uma citosina por uma adenina na posição 266 resulta na substituição de uma alanina por um ácido aspártico (Bux et al., 1997). Além disso, tem sido descrito que indivíduos que carregam o alótipo HNA-1c apresentam um aumento no número de cópias do gene FCGR3B, levando também a uma hiperexpressão do receptor FcγRIIIb (Muschter et al., 2011). A Tabela 2 mostra as três variantes alótípicas geradas pelo polimorfismo do FcγRIIIb.

Tabela 2. Mutações pontuais observadas entre as três variantes alélicas do FcγRIIIb

<i>Variante alélica</i>	<i>Posição do nucleotídeo</i>						<i>Posição do aminoácido</i>					
	141	147	227	266	277	349	36	38	65	78	82	106
<i>HNA-1a</i>	G	C	A	C	G	G	Arg	Leu	Asn	Ala	Asp	Val
<i>HNA-1b</i>	C	T	G	C	A	A	Ser	Leu	Ser	Ala	Asn	Ile
<i>HNA-1c</i>	C	T	G	A	A	A	Ser	Leu	Ser	Asp	Asn	Ile

Adaptado de Li et al. (2009)

Os neutrófilos de indivíduos com o alótipo FcγRIIIb-HNA-1b apresentam uma menor afinidade à IgG1 e IgG3, o que leva a uma menor eficiência para a fagocitose mediada por essas imunoglobulinas, quando comparados com os neutrófilos do alótipo FcγRIIIb-HNA-1a

(Muschter et al., 2011). No entanto, estes alótipos não apresentam diferenças quanto à fagocitose mediada por IgG2 (SALMON et al., 1990; BREDIUS et al., 1994).

Quanto à relevância clínica do polimorfismo do FcγRIIIb, há uma associação altamente significativa entre o fenótipo combinado das homozigoses para ambos FcγRIIa-R131 e FcγRIIIb-HNA-1b e infecções meningocócicas em pacientes com deficiência de componentes da via terminal do sistema complemento (Fijen et al., 1993).

Embora alguns estudos tenham mostrado uma associação do alelo FcγRIIIb-HNA-1b com linfocitopenia no LES (Jönsen et al., 2007) e maior frequência deste alótipo na doença (Hatta et al., 1999), não há diferenças entre os alótipos HNA-1a e HNA-1b quanto às afinidades de ligação às subclasses de IgG (Bruhns et al., 2008). Esta associação pode ser dependente do número de cópias do gene FcγRIIIB. Willcocks et al. (2008) observaram que a redução do número de cópias do gene FcγRIIIB correlaciona-se com a redução da sua expressão e da sua função nos neutrófilos em pacientes com LES, o que também foi relacionado com glomerulonefrite (Aitman et al., 2006).

Em neutrófilos, a função mediada pelo FcγRIIIb depende da cooperação com outros receptores. Os neutrófilos humanos expressam constitutivamente as isoformas FcγRIIa e FcγRIIIb. A expressão do FcγRIIIb é predominante no neutrófilo, com $1-3 \times 10^6$ moléculas/célula, comparada ao FcγRIIa com $1-2 \times 10^4$ moléculas/célula (Unkless et al., 1995). Embora o FcγRIIIb não possua sequência de sinalização no citoplasma, a sua interação com outros receptores na superfície celular é importante para uma resposta efetora completa, visto que a cooperação do FcγRIIIb com o FcγRIIa e o CR3 (CD11b, CD18; Mac-1) é necessária para a fagocitose, ADCC e desgranulação eficientes (Hundt, Schimdt, 1992). Além disso, é a coagregação dos FcγRIIIb nos neutrófilos que leva à ativação celular (Zhou, Brown, 1994).

1.6. Receptores para complemento (CR)

Os neutrófilos expressam receptores para os fragmentos dos componentes 3 (C3) e 4 (C4) do complemento, o CR1 (CR1; CD35; receptor C3b/C4b) e o CR3, e ambos estão envolvidos com a fagocitose (Medof et al., 1982, Huang, 2010).

O receptor para complemento do tipo 1 (CR1), também denominado CD35 ou receptor para C3b/C4b é uma glicoproteína intrínseca de membrana expressa em eritrócitos, na maioria dos leucócitos e células glomerulares (Fearon, 1980). Na circulação, o papel do CR1 é mediar a aderência imune dos IC, para facilitar o seu *clearance* e aumentar a concentração de IC na superfície celular para a, subsequente, ativação dos FcγR (Fearon, 1980; Schifferli et al.,

1986). Este receptor desempenha um importante papel relacionado à fagocitose de partículas opsonizadas por C3b e C4b (Medof et al., 1982).

O CR1 tem sido associado ao *clearance* ineficiente de IC no LES. Embora o CR1 apresente um polimorfismo numérico de expressão, este polimorfismo não está relacionado com o LES. A redução da expressão do CR1 parece ser uma característica adquirida com a atividade da doença (Iida et al., 1982; Wilson et al., 1986; Marzocchi-Machado et al., 2002, 2005).

Quanto ao receptor para complemento 3 (CR3), também conhecido com CD11b/CD18, Mac-1 ou $\alpha_M\beta_2$ -integrina, este é um heterodímero da família das β integrinas que têm um importante papel nos processos de adesão celular e fagocitose. Desta forma, CD11b/CD18 liga-se a um amplo número de ligantes, incluindo proteínas da matriz extracelular e proteínas da coagulação. Tal receptor é indicado como a principal molécula de adesão em interações entre leucócitos e células endoteliais ou plaquetas (Sachs et al., 2004).

A molécula do complemento C3b, um produto de clivagem do ligante C3, recobre microorganismos invasores e é clivada à forma C3bi, a qual é reconhecida pelo CR3. O CR3 se liga a este C3bi e tem função de mediar a fagocitose de partículas opsonizadas com esta proteínas do complemento. (Huang et al., 2011)

A subunidade CD11b do receptor é conhecida por ser polimórfica e imunogênica (Sachs et al., 2004). Em 1996, Simsek et al. descreveram um polimorfismo para a subunidade CD11b, onde uma mutação de uma guanina (G) para uma adenina (A) na posição 230 leva a alteração do aminoácido arginina por histidina na posição 61 e está associada com o aloantígeno HNA-4a (Bux, 2008). Este antígeno é denominado aloantígeno dos neutrófilos humanos 4a (HNA-4a) e indivíduos que carregam o alelo R61 (G230) são designados Mart-positivo enquanto os indivíduos homozigotos para H61 (A230) Mart-negativos (Sachs et al., 2004). A variante polimórfica HNA-4a-positivo é encontrada em mais de 90% da população brasileira (Cardone et al., 2006). Há relato de que aloanticorpos anti-HNA-4a estariam envolvidos na redução do *burst* oxidativo dos neutrófilos (Bux, 2008). No entanto, ainda não é sabido se a função do CR3 é influenciada pelo polimorfismo do HNA-4a.

Há evidência de que a sinalização através de CR3 possa influenciar a sinalização por Fc γ R. Estudos mais antigos já demonstravam que a presença da molécula C3 reduz drasticamente a quantidade de IgG necessária para induzir a ingestão de partículas mediada por Fc γ R (Schreiber et al., 1975, Ehlenberger, Nussenzweig, 1977). Ainda, outro estudo mostrou que o bloqueio do receptor CR3 com anticorpos anti-CR3 leva à redução da

fagocitose mediada por Fc γ R, sem o prejuízo da ligação entre IgG e este receptor (Brown et al., 1988).

1.7. Cooperação Fc γ R/CR

Como é sabido, o receptor Fc γ RIIIb se encontra ancorado na célula através de uma molécula de GPI por não possuir domínios transmembrana e citoplasmático; sendo assim, tal receptor não possui sequência de sinalização intracelular. Alternativamente, este receptor pode interagir com outros receptores de superfície celular, como a β 2 integrina (CD11b/CD18) e Fc γ RIIa (Marzocchi-Machado, Lucisano-Valim, 2005, Li et al., 2009, Niederer et al., 2010). Tais interações podem ser essenciais para a função do Fc γ RIIIb, pois, devido à ausência destes domínios, certas interações intermoleculares tornam-se cruciais para o desempenho da função do Fc γ RIIIb. Assim, a diferença no número de sítios de glicosilação de HNA-1a e HNA-1b pode ser responsável pelo desencadeamento de respostas divergentes em cada um dos fenótipos (Li et al., 2009).

O sinergismo entre os Fc γ R e CR é importante na defesa do hospedeiro para aumentar as funções efectoras dos fagócitos (Mantovani, 1975; Zhou, Brown, 1994). O CR3 liga-se aos IC opsonizados pelo complemento, mas também interage diretamente com o Fc γ RIIIb. A ativação simultânea do Fc γ RIIIb e CR3 leva ao *burst* oxidativo em neutrófilos, devido à fosforilação do domínio citoplasmático do Fc γ RIIa e ao *cross-linking* do CR3, que induz a associação do Fc γ RIIa com o citoesqueleto (Zhou, Brown, 1994). Assim, alguns estudos sugerem que, em neutrófilos, o Fc γ RIIIb, embora não possua domínios TM ou C, este receptor seria importante para o acúmulo de IC na membrana para ativar o Fc γ RIIa e para estimular o aumento do influxo de cálcio, enquanto que o Fc γ RIIa seria o responsável pelo potencial de membrana e geração de superóxido (Brunkhorst et al., 1992; Zhou et al., 1993).

Zhou e Brown (1994) sugeriram que a cooperação do CR3 com o Fc γ RIIIb resulta de uma interação física direta entre eles na superfície dos neutrófilos. Um mecanismo provável é a interação lectina-sacarídeo, uma vez que o CR3 possui atividade lectina (ROSS et al., 1985) e o Fc γ RIIIb possui os resíduos de carboidratos para interagir com o domínio com atividade lectina no CR3 (Zhou et al., 1993). Assim, uma vez que a cooperação entre CR3 e Fc γ RIIIb é resultante de uma interação lectina-sacarídeo, é importante investigar se o polimorfismo HNA-1a e HNA-1b, que difere pelo maior número de sítios de glicosilação no HNA-1b, poderia influenciar esta cooperação.

1.8. Lúpus Eritematoso Sistêmico

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica sistêmica, de etiologia multifatorial, que se caracteriza por acometer diversos órgãos e sistemas e apresentar importantes distúrbios imunológicos. A doença é um protótipo de doenças autoimune e caracteriza-se pela formação de autoanticorpos dirigidos contra antígenos nucleares e deposição de imunocomplexos, os quais participam de lesão tissular imunologicamente mediada (Li et al., 2009, Freire et al., 2011, Neméth, Mócsai 2012).

O LES é a doença autoimune mais diversificada clínica e sorologicamente, com mais de 100 autoanticorpos identificados em pacientes, e apresenta um amplo espectro de sintomas, os quais compreendem os sintomas mais sutis até risco de vida e falência múltipla de órgãos (Liu, Ahearn, 2009).

As infecções constituem a principal causa de morbidade e mortalidade em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES), representando 20-55% das mortes e sendo 80% delas causadas por bactérias (Cuchacovich, Gedalia, 2009).

As manifestações clínicas do LES são variadas, podendo envolver qualquer órgão ou sistema, isolada ou simultaneamente, em qualquer período da doença. O LES acomete principalmente as articulações, a pele, as células sanguíneas, os vasos sanguíneos, as membranas serosas, os rins e o cérebro. Por ser uma doença multissistêmica, muitas vezes de início insidioso e com apresentação clínica variável, o diagnóstico de LES pode ser difícil, principalmente na avaliação inicial (Freire et al., 2011).

Nenhuma alteração clínica ou laboratorial, isoladamente, pode ser responsável pelo diagnóstico do LES, apesar de algumas dessas alterações serem muito sugestivas de tal enfermidade. Em 1982, o *American College of Rheumatology* (ACR) propôs os critérios de classificação para LES (Tan et al., 1982), e tais critérios são frequentemente utilizados para diagnóstico de pacientes com LES. Quanto ao controle da atividade da doença, em 1985 foi desenvolvido e validado um índice da atividade da doença (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index - SLEDAI*) que tem sido utilizado com sucesso pelos clínicos da área (Gladman 2002).

Admite-se que fatores genéticos, ambientais e hormonais possam desencadear, em conjunto, o LES. A interação de múltiplos fatores ao atingir um limiar de efeitos de suscetibilidade leva à perda do controle imunorregulatório, ocasionando o desenvolvimento de autoanticorpos, deficiência na remoção de imunocomplexos, ativação do sistema de complemento e de outros processos inflamatórios que levam à lesão tissular (Rhodes, Vyse, 2008, Freire et al., 2011).

Entre os fatores etiológicos podem-se destacar os fatores genéticos, considerando-se que a doença é uma desordem poligênica e numerosos genes têm sido identificados; e fatores ambientais, especialmente raios ultravioleta, infecções virais, fatores emocionais, substâncias químicas e hormônios sexuais. Embora o desenvolvimento do LES ocorra em ambos os sexos e independe da faixa etária, tem maior incidência em mulheres (9:1) e o pico de incidência é em torno de 30 anos de idade (Pradhan et al., 2008, Liu, Ahearn, 2009, Freire et al., 2011).

Alguns genes têm merecido destaque em virtude das evidências de sua associação com as anormalidades observadas no LES. Dentre estes se encontram os FCGR, o FCGR1A e o FCGR1B (Kinder et al. 2007; Rhodes, Vyse, 2008).

No LES, os FcγR estão envolvidos na destruição de células normais opsonizadas com autoanticorpos ou no clearance ineficiente de IC. A ineficiência para remover IC solúveis descrita nesta doença leva à deposição destes complexos nos tecidos, estimulando inflamação e destruição tecidual, que é característica da reação de hipersensibilidade do tipo III (Davies et al., 1994; Jancar, Sánchez Crespo, 2005).

Uma vez que a interação dos neutrófilos com os IC é mediada por FcγR e CR, presentes nestas células, as anormalidades, genéticas ou adquiridas, nestas moléculas podem contribuir para os mecanismos de lesão tecidual, a fagocitose ineficiente e as infecções observadas no LES. É possível que todo este comprometimento da resposta imune no LES seja resultante de defeitos na expressão e função dos FcγR determinados pelo polimorfismo genético e por variantes do número de cópias destes genes (Li et al., 2009).

O polimorfismo genético do FCGR1A e do FCGR1B determina a expressão de variantes alélicas (alótipos), as quais apresentam diferenças funcionais quanto à capacidade de ligação à IgG e, conseqüentemente, influenciam as respostas celulares mediadas por estas moléculas (Kimberly et al., 1995; Daëron, 1997).

Os FcγR são importantes mediadores das funções efetoras do neutrófilo e atuam em sinergismo com os CR (CR1 e CR3) para assegurar a eficiência desta célula nos mecanismos de destruição de patógenos. Os FcγR estimulam respostas inflamatórias, citotóxicas, de hipersensibilidade, endocíticas e fagocíticas das células efetoras do sistema imune. A ativação e regulação destas funções mediadas pelos FcγR estão envolvidas na fisiopatologia da autoimunidade no LES e várias anormalidades envolvendo estes receptores têm sido descritas no LES (Iliopoulos, Tsokos, 1996; Cuchacovich, Gedalia, 2009).

.....
Conclusão
.....

2. Conclusão

- Nossos resultados mostraram que, para o polimorfismo do CR3, o alelo HNA-4a positivo contribui para a proteção e o alelo negativo para a suscetibilidade ao LES. Este é o primeiro trabalho a demonstrar que existe essa relação.
- Entre os pacientes com LES, as infecções foram mais frequentes quando os alelos R-131 de FCGR2A e HNA-1b de FCGR3B estavam presentes.
- Para os ensaios funcionais:
 - neutrófilos dos indivíduos controle com genótipo H-131 apresentaram fagocitose diminuída quando comparados aos neutrófilos com genótipos HR-131 e R-131 quando estimulados com IC-IgG. Quando estimulados com IC-IgG/SHN, os neutrófilos H-131 de indivíduos controle apresentaram fagocitose menor que neutrófilos R-131.
 - neutrófilos de pacientes com LES com genótipo HR-131 apresentaram uma fagocitose diminuída quando comparados aos neutrófilos do grupo controle com genótipo R-131 quando estimulados tanto com IC-IgG quanto com IC-IgG/SHN;
 - no polimorfismo do FcγRIIIb, a fagocitose e a lisozima foram menores em neutrófilos de pacientes com LES com genótipo HNA-1b e maior para HNA-1a/1b comparados aos controles com os respectivos genótipos (IC-IgG/SHN);
 - nenhuma diferença foi observada para o polimorfismo HNA-4a do CR3;
 - nenhuma diferença foi observada para os ensaios de elastase;
- Neutrófilos de pacientes com LES inativo com genótipo HNA-1a/1b apresentaram maior expressão de CD16 que neutrófilos com genótipo HNA-1b do mesmo grupo.
- Este estudo contribui para o entendimento das anormalidades nas funções dos neutrófilos no LES e para a identificação de indivíduos, cujo polimorfismo dos FcγR e CR3 possa conferir suscetibilidade ou proteção às infecções.

Referências Bibliográficas

3. Referências bibliográficas

Aitman TJ, Dong R, Vyse TJ, Norsworthy PJ, Johnson MD, Smith J, et al. Copy number polymorphism in FcγR3 predisposes to glomerulonephritis in rats and humans. *Nature*. 2006;439:851-5.

Alves CM, Marzocchi-Machado CM, Louzada-Junior P, Azzolini AE, Polizello AC, de Carvalho IF, Lucisano-Valim YM. Superoxide anion production by neutrophils is associated with prevalent clinical manifestations in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2008;27(6):701-8.

Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD, Zychlinsky A. Neutrophil Function: From Mechanisms to Disease. *Annu. Rev. Immunol*. 2012;30:459–89.

Baggiolini M, Schnyder J, Bretz U, Dewald B, Ruch W. Cellular mechanisms of proteinase release from inflammatory cells and the degradation of extracellular proteins. *Ciba Found Symp*. 1979; 105-121.

Bazílio AP, Viana VST, Toledo R et al. FcγRIIa polymorphism: a susceptibility factor for immune complex-mediated lupus nephritis in Brazilian patients. *Nephrol Dial Transpl*. 2004;19:1427-31.

Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB et al. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum*. 1992;35:630–40.

Borregaard N. Neutrophils, from Marrow to Microbes. *Immunity Review*. 2010;33:657-670.

Branscum AJ, Johnson WO, Thurmond MC. Bayesian beta regression: applications to household expenditure data and genetic distance between foot-and-mouth disease viruses. *Australian & New Zealand Journal of Statistics* 2007;49(3):287–301.

Bredius RG, de Vries CE, Troelstra A, van Alphen L, Weening RS, van de Winkel JG, et al. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* and *Haemophilus influenzae* type B opsonized with polyclonal human IgG1 and IgG2 antibodies. Functional hFcγ gamma RIIa polymorphism to IgG2. *J Immunol*. 1993;151:1463–1472.

Bredius RG, Derkx BH, Fijen C, Wit TPM, Haas M, Weening RS, van de Winkel JGJ, Out TA. Fcγ gamma receptor IIa (CD32) polymorphism in fulminant meningococcal septic shock in children. *J Infect Dis*. 1994;170:848-53.

Brouwer MC, de Gans J, Heckenberg SG et al. Host genetic susceptibility to pneumococcal and meningococcal disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2009;9:31-44.

Brown EJ, Bohnsack JF, Gresham HD. Mechanism of inhibition of immunoglobulin G-mediated phagocytosis by monoclonal antibodies that recognize the Mac-1 antigen. *J. Clin. Invest*. 1988;81:365–375.

Bruhns P, Iannascoli B, England P, Mancardi DA, Fernandez N, Jorieux S. Specificity and affinity of human Fcγ gamma receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. *Blood*. 2009;113:3716-25.

- Brunkhorst BA, Strohmeier G, Lazzari K, Weil G, Melnick D, Fleit HB, et al. Differential roles of Fc gamma RII and Fc gamma RIII in immune complex stimulation of human neutrophils. *J Biol Chem*. 1992;267:20659-66.
- Bux J, Stein E-L, Bierling P, Fromont P, Clay M, Stroncek D, Santoso S. Characterization of a new alloantigen (SH) on the human neutrophil Fc γ receptor III b. *Blood*. 1997;89:1027-34.
- Bux J, Stein EL, Santoso S, Mueller-Eckhardt C. NA gene frequencies in the German population, determined by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Transfusion*. 1995;35:54-7.
- Bux J. Human neutrophil alloantigens. *Vox Sang*. 2008; 94:277-85.
- Bylund J, Pellme S, Fu H, Mellqvist UH, Hellstrand K, Karlsson A, et al. Cytochalasin B triggers a novel pertussis toxin sensitive pathway in TNF-alpha primed neutrophils. *BMC Cell. Biol*. 2004;5-21.
- Cardone JD, Bordin JO, Chiba AK, Norcia AM, Vieira-Filho JP. Gene frequencies of the HNA-4a and -5a neutrophil antigens in Brazilian persons and a new polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method for HNA-5a genotyping. *Transfusion*. 2006;46:1515-20.
- Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, Aydintug AO, Jedryka-Góral A, de Ramón E, Fernández-Nebro A, Galeazzi M, Haga HJ, Mathieu A, Houssiau F, Ruiz-Irastorza G, Ingelmo M, Hughes GR. *Medicine (Baltimore)*. 1999;78(3):167-75.
- Chen JY, Wang CM, Tsao KC, Chow YH, Wu JM, Li CL, et al. Fc gamma receptor IIa, IIIa, and IIIb polymorphisms of systemic lupus erythematosus in Taiwan. *Ann Rheum Dis*. 2004;63:877-880.
- Clague HD, Fung YL, Minchinton RM. Human neutrophil antigen-4a gene frequencies in an Australian population, determined by a new polymerase chain reaction method using sequence-specific primers. *Transfus Med*. 2003;13:149-52.
- CNS, Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasil, <http://www.datasus.gov.br/conselho/resol96/RES19696.htm>.
- Coelho-Barros, EA, Simões PA, Achcar JÁ, Martinez EZ, Shimano AC. Methods of estimation in multiple linear regression: application to clinical data. *Revista Colombiana de Estadística*. 2008; 31(1):111-29.
- Covas DT, Kashima S, Guerreiro JF, dos Santos SEB, Zago MA. Variation in the Fc γ R3B gene among distinct Brazilian populations. *Tissue Antigens*. 2005;65:178-182.
- Crossley LJ. Neutrophil activation by fMLP regulates FOXO (forkhead) transcription factors by multiple pathways, one of which includes the binding of FOXO to the survival factor Mcl-1. *Journal of Leukocyte Biology*. 2003;74:583-592.
- Cuchacovich R, Gedalia A. Pathophysiology and clinical spectrum of infections in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am*. 2009;35:75-93.
- Daëron M. Structural bases of Fc γ R functions. *Int Rev Immunol* 1997;16:1-27.

Davies KA, Schifferli JA, Walport MJ. Complement deficiency and immune complex disease. *Springer Semin Immunopathol.* 1994;15:397–416.

de la Fuente, Richaud-Patin Y, Jakez-Ocampo J. Innate immune mechanisms in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE). 2001;77:175–180.

Dijstelbloem HM, Bijl M, Fijnheer R, Scheepers RH, Oost WW, Jansen MD, et al. Fcγ receptor polymorphisms in systemic lupus erythematosus: association with disease and in vivo clearance of immune complexes. *Arthritis Rheum* 2000;43:2793–2800.

Dijstelbloem, H.M. et al. Fcγ receptor polymorphisms in systemic lupus erythematosus: association with disease and in vivo clearance of immune complexes. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 2793–2800.

Duits AJ, Bootsma H, Derksen RH, Spronk PE, Kater L, Kallenberg CG, et al. Skewed distribution of IgG Fc receptor IIa (CD32) polymorphism is associated with renal disease in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum.* 1995;38:1832–1836.

Ehlenberger AG, Nussenzweig V. The role of membrane receptors for C3b and C3d in phagocytosis. *J Exp Med.* 1977;145(2):357-71.

Ehrlich P. [Methodological contributions to physiology and pathology of the various forms of Leukocyte]. *Z. Klin. Med.* 1880;1:553–60. German.

Enenkel B, Jung D, Frey J. Molecular basis of IgG Fc receptor III defect in a patient with systemic lupus erythematosus. *Eur J Immunol.*1991;21:659-663.

Faurschou M, Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microb Infect.* 2003;5:1317–27.

Fearon DT. Identification of the membrane glycoprotein that is the C3b receptor of the human erythrocyte, polymorphonuclear leukocyte, B lymphocyte, and monocyte. *J Exp Med.* 1980;152:20-30.

Ferrari S, Cribari-Neto F. Beta regression for modelling rates and proportions. *Journal of Applied Statistics.* 2004;31(7): 799-815.

Fessler BJ. Infectious diseases in systemic lupus erythematosus: risk factors, management and prophylaxis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2002; 16:281-91.

Figueredo CM, Areas A, Sztainbok FR, Miceli V, Miranda LA, Fischer RG, et al. Higher elastase activity associated with lower IL-18 in GCF from juvenile systemic lupus patients. *Oral Health Prev Dent.* 2008;6(1):75-81.

Fijen CA, Bredius RG, Kuijper EJ. Polymorphism of IgG Fc receptors in meningococcal disease. *Ann Intern Med.* 1993;119:636.

Flannagan RS, Jaumouillé V, Grinstein S. The cell biology of phagocytes. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2012;7:49-86.

- Flesch BK, Bauer F, Neppert J. Rapid typing of the human Fc gamma receptor IIA polymorphism by polymerase chain reaction amplification with allele-specific primers. *Transfusion*. 1998;38:174-6.
- Freire EAM, Souto LM, Ciconelli RM. Assessment measures in systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol*. 2011;51(1):70-80.
- Galon J, Bouchard C, Fridman WH, Sautès C. Ligands and biological activities of soluble Fc γ receptors. *Immunol Lett*. 1995; 44:175-81.
- Gessner JE, Heiken H, Tamm A et al. The IgG Fc receptor family. *Ann Hematol*. 1998;76:231-48.
- Gittinger FS, Bux J. Study of four families concerning the linkage and inheritance of the allele encoding the granulocyte-specific antigen HNA-1c (SH). *J. Transfusion*. 2001;41(6):847-8.
- Gladman DD, Hussain F, Ibanez D, et al. *Lupus* 2002;11:234–239.
- Gonzalez-Escribano, M.F. et al. FcgammaRIIA, FcgammaRIIIA and FcgammaRIIIB polymorphisms in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. *Eur. J. Immunogenet*. 2002; 29: 301–306.
- Groves W F, Davis Jr FC, Sells BH. Spectrophotometric determination of microgram quantities of protein without nucleic acid interference. *Anal. Biochem*. 1968;22:195-210.
- Hatta Y, Tsuchiya N, Ohashi J, Matsushita M, Fujiwara K, Hagiwara K, et al. Association of Fc gamma receptor IIIB, but not of Fc gamma receptor IIA and IIIA polymorphisms with systemic lupus erythematosus in Japanese. *Genes Immun*. 1999;1:53-60.
- Hong, C.H. et al. The association between fcgammaRIIIB polymorphisms and systemic lupus erythematosus in Korea. *Lupus*. 2005;14:346–350.
- Huang ZY, Hunter S, Chien P, Kim MK, Han-Kim TH, Indik ZK, Schreiber AD. Interaction of two phagocytic host defense systems: Fc γ receptors and complement receptor 3. *J Biol Chem*. 2011;286(1):160-8.
- Huizinga TW, Dolman KM, van der Linden NJ et al. Phosphatidylinositol-linked FcRIII mediates exocytosis of neutrophil granule proteins, but does not mediate initiation of the respiratory burst. *J Immunol*. 1990;144:1432-1437.
- Hundt M, Schmidt RE. The glycosylphosphatidylinositol-linked Fc gamma receptor III represents the dominant receptor structure for immune complex activation of neutrophils. *Eur J Immunol*. 1992; 22:811-6.
- Iida K, Mornaghi R, Nussenzweig V. Complement receptor (CR1) deficiency in erythrocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J Exp Med*. 1982;155:1427-38.
- Iliopoulos AG, Tsokos GC. Immunopathogenesis and spectrum of infections in systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum*. 1996; 25:318-36.

- Jancar S, Sánchez Crespo M. Immune complex-mediated tissue injury: a multistep paradigm. *Trends Immunol.* 2005;26:48–55.
- Janoff A, Scherer J. Mediators of inflammation in leukocyte lysosomes. IX. Elastinolytic activity in granules of human polymorphonuclear leukocytes. *J Exp Med.* 1968;128:1137-55.
- Johansson S, Göransson U, Luijendijk T, Backlund A, Claeson P, Bohlin L. A neutrophil multitarget functional bioassay to detect anti-inflammatory natural products. *J Nat Prod.* 2002;65:32–41.
- Jönsen A, Gunnarsson I, Gullstrand B, Svenungsson E, Bengtsson AA, Nived O, et al. Association between SLE nephritis and polymorphic variants of the CRP and FcγRIIIa genes. *Rheumatology.* 2007;46:1417-21.
- Kanashiro A, Kabeya LM, Polizello AC, Lopes NP, Lopes JL, Lucisano-Valim YM. Inhibitory activity of flavonoids from *Lychnophora* sp on generation of reactive oxygen species by neutrophils upon stimulation by immune complexes. *Phytother Res.* 2004;81:61–65.
- Kennedy AD, DeLeo FR. Neutrophil apoptosis and the resolution of infection. *Immunol Res.* 2009;43:25–61.
- Kimberly RP, Parris TM, Inman RD et al. Dynamics of mononuclear phagocyte system Fc receptor function in systemic lupus erythematosus. Relation to disease activity and circulating immune complexes. *Clin Exp Immunol.* 1983;51:261-8.
- Kimberly RP, Salmon JE, Edberg JC. Receptors for immunoglobulin G. Molecular diversity and implications for disease. *Arthritis Rheum.* 1995;38:306-14.
- Kinder BW, Freemer MM, King TE Jr, Lum RF, Nititham J, Taylor K, et al. Clinical and genetic risk factors for pneumonia in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2007;56:2679-86.
- Kissel K, Hofmann C, Gittinger FS, Daniels G, Bux J. HNA-1a, HNA-1b, and HNA-1c (NA1, NA2, SH) frequencies in African and American Blacks and in Chinese. *Tissue Antigens.* 2000;56:143–148.
- Koene HR, Kleijer M, Roos D, de Haas M, Von dem Borne AE. Fc gamma RIIIB gene duplication: evidence for presence and expression of three distinct Fc gamma RIIIB genes in NA(1+,2+)SH(+) individuals. *Blood.* 1998;91(2):673-9.
- Korkmaz B, Attucci S, Moreau T, Godat E, Juliano L, Gauthier F. Design and use of highly specific substrates of neutrophil elastase and proteinase 3. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003;30:801-80.
- Korkmaz B, Moreau T, Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: physicochemical properties, activity and physiopathological functions. *Biochimie.* 2008;90(2):227-42.
- Kumar V, Sharma A. Neutrophils: Cinderella of innate immune system. *Int Immunopharmacol.* 2010; 10(11):1325-34.

- Lee YH, Ji JD, Song GG. Fc γ receptor IIB and IIIB polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Lupus*. 2009; 18:727–734.
- Lehmann AK, Sørnes S, Halstensen A. Phagocytosis: measurement by flow cytometry. *J Immunol Methods*. 2000;243:229–42.
- Li X, Ptacek TS, Brown EE, Edberg JC. Fc γ receptors: structure, function and role as genetic risk factors in SLE. *Genes Immun* 2009;10(5):380–389.
- Liu CC, Ahearn JM. The search for lupus biomarkers. *Best Pract Res Cl Rh*. 2009; 23:507–523.
- Lucisano YM, Mantovani B. Lysosomal enzyme release from polymorphonuclear leukocytes induced by immune complexes of IgM and of IgG. *J Immunol*. 1984;132:2015–20.
- Mamtani M, Anaya JM, He W, Ahuja SK. Association of copy number variation in the FCGR3B gene with risk of autoimmune diseases. *Genes and Immunity*. 2010;11:55–160.
- Manger K, Repp R, Spriewald BM, Rascu A, Geiger A, Wassmuth R, et al. Fc γ receptor IIa polymorphism in Caucasian patients with systemic lupus erythematosus: association with clinical symptoms. *Arthritis Rheum*. 1998;41:1181–1189.
- Maniatis, T, Fritschi, EF, Sasmbroock, J. *Molecular cloning, a laboratory manual*. New York: Spring Harbor. 1989.
- Mantovani A, Cassatella MA, Costantini, Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Rev Immunol*. 2011;11:519:31.
- Mantovani B. Different roles of IgG and complement receptors in phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes. *J Immunol*. 1975;115:15-7.
- Marzocchi-Machado CM, Alves CM, Azzolini AE, Polizello AC, Carvalho IF, Lucisano-Valim YM. Fc γ and complement receptors: expression, role and co-operation in mediating the oxidative burst and degranulation of neutrophils of Brazilian systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2002;11:240-8.
- Marzocchi-Machado CM, Lucisano-Valim YM. Receptores para Imunoglobulina G (Fc γ R). *Medicina Ribeirão Preto*. 2005;38: 82-95.
- Marzocchi-Machado CM, Polizello AC, Azzolini AE, Lucisano-Valim YM. The influence of antibody functional affinity on the effector functions involved in the clearance of circulating immune complexes anti-BSA IgG/BSA. *Immunol Invest*. 1999;28:89-101.
- Medof ME, Iida K, Mold C, Nussenzweig V. Unique role of the complement receptor CR1 in the degradation of C3b associated with immune complexes. *J Exp Med* 1982;156:1739-54.
- Metchnikoff E. [Lesson on the comparative pathology of inflammation]. *Ann. Inst. Pasteur* 1893;7:348–57. French.
- Meyer-Hoffert U, Wiedow O. Neutrophil serine proteases: mediators of innate immune responses. *Curr Opin Hematol*. 2011;18:19-24.

Miller AS, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16:1215.

Morris DL, Roberts AL, Witherden AS, Tarzi R, Barros P, Whittaker JC, et al. Evidence for both copy number and allelic (NA1/NA2) risk at the FCGR3B locus in systemic lupus erythematosus. *European Journal of Human Genetics.* 2010;18:1027–1031.

Muschter S, Berthold T, Greinacher A. Developments in the definition and clinical impact of human neutrophil antigens. *Curr Opin Hematol.* 2011;18:452–460.

Nauseef WM. How human neutrophils kill and degrade microbes: an integrated view. *Immunol Rev.* 2007; 219:88-102.

Németh T, Mócsai A. The role of neutrophils in autoimmune diseases. *Immunology Letters.* 2012; 143:9-19.

Niederer HA, Clatworthy MR, Willcocks LC, Smith KG. FcγRIIB, FcγRIIIB, and systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1183:69-88.

Noel V, Lortholary O, Casassus P, et al. *Ann. Rheum. Dis.* 2001;60:1141–1144.

Nordenfelt P, Tapper H. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. *J Leukoc Biol* 2011;90(2):271-84.

Ohlsson S, Hellmark T, Pieters K, Sturfelt G, Wieslander J, Segelmark M. Increased monocyte transcription of the proteinase 3 gene in small vessel vasculitis. *Clinic Experim Immunol.* 2005.141;174-182.

Ohto H, Matsuo Y. Neutrophil-specific antigens and gene frequencies in Japanese. *Transfusion.* 1989;29:654.

Owen CA, Campbell EJ. The cell biology of leukocyte-mediated proteolysis, *J Leukoc Biol.* 1999;65:137-150.

Pradhan V, Patwardhan M, Ghosh K. Fc gamma receptor polymorphisms in systemic lupus erythematosus and their correlation with the clinical severity of the disease. *Indian J. Hum. Genet.* 2008;14(3):77-81.

Rascu A, Repp R, Westerdaal NAC et al. Clinical relevance of Fcγ receptor polymorphisms. *Ann N Y Acad Sci.* 1997;815:282-95.

Rhodes B, Vyse TJ. The genetics of SLE: an update in the light of genome-wide association studies. *Rheumatology.* 2008;47:1603-11.

Rivas-Fuentes S, García-García E, Nieto-Castañeda G, Rosales C. Fcγ receptors exhibit different phagocytosis potential in human neutrophils. *Cellular Immunology.* 2010;

Rodriguez ME, van der Pol WL, Sanders LA, van de Winkel JG. Crucial role of FcγRIIa (CD32) in assessment of functional anti-*Streptococcus pneumoniae* antibody activity in human sera. *J Infect Dis.* 1999;179(2):423-33.

- Sachs UJH, Chavakis T, Fung L, Lohrenz A, Bux J, Reil A, Ruf A, Santoso S. Human alloantibody anti-Mart interferes with Mac-1–dependent leukocyte adhesion. 2004;104:727-734.
- Salmon JE, Edberg JC, Kimberly RP. Fc gamma receptor III on human neutrophils. Allelic variants have functionally distinct capacities. *J Clin Invest* 1990;85:1287–1295.
- Salmon JE, Millard S, Schachter LA, Arnett FC, Ginzler EM, Gourley MF, Ramsey-Goldman R, Peterson MG, Kimberly RP. Fc gamma RIIA alleles are heritable risk factors for lupus nephritis in African Americans. *J. Clin. Invest* 1996;97:1348–1354.
- Salmon JE, Millard S, Schachter LA, Arnett FC, Ginzler EM, Gourley MF, et al. Fc gamma RIIA alleles are heritable risk factors for lupus nephritis in African Americans. *J Clin Invest*. 1996;97:1348–1354.
- Salmon JE, Pricop L. Human receptors for immunoglobulin G: elements in the pathogenesis of rheumatic disease. *Arthritis Rheum*. 2001;44:739–50.
- Salmon JE, Pricop L. Human Receptors for Immunoglobulin G: Key Elements in the Pathogenesis of Rheumatic Disease. *Arthritis Rheum*. 2001;44(4):739-750.
- Sanders LA, Feldman RG, Voorhorst-Ogink MM, Haas M, Rijkers GT, Capel PJA, Zegers BJM, Van De Winkel JGJ. Human immunoglobulin G (IgG) Fc receptor IIA (CD32) polymorphism and IgG2-mediated bacterial phagocytosis by neutrophils. *Infect Immun*. 1995;63:73-81.
- Santos EOL. Mecanismo de ação de flavonóides no metabolismo oxidativo e na fagocitose de neutrófilos humanos desencadeados por receptores Fc-gama e CR [dissertação]. Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto; 2010.
- Schifferli JA, Ng YC, Peters DK. The role of complement and its receptor in the elimination of immune complexes. *N Engl J Med*. 1986;315:488-95.
- Schifferli JA, Taylor RP. Physiological and pathological aspects of circulating immune complexes. *Kidney Int*. 1989;35:993-1003.
- Schreiber AD, Parsons J, McDermott P, Cooper RA. Effect of corticosteroids on the human monocyte IgG and complement receptors. *J Clin Invest*. 1975;56(5):1189-97.
- Segal AW. How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol*. 2005;23:197–223.
- Selvaraj P, Rosse WF, Silber R et al. The major Fc receptor in blood has a phosphatidylinositol anchor and is deficient in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nature*. 1988;333:565-7.
- Simsek S, van der Schoot CE, Daams M, Huiskes E, Clay M, McCullough J, van Dalen C, Stroncek D, von dem Borne AE. Molecular characterization of antigenic polymorphisms (Ond(a) and Mart(a)) of the beta 2 family recognized by human leukocyte alloantisera. *Blood*. 1996;88(4):1350-8.
- Smolelis AN, Hartsell SE. The determination of lysozyme. *J Bacteriol*. 1949;58:731-6.

- Song YW, Han CW, Kang SW, Baek HJ, Lee EB, Shin CH, et al. Abnormal distribution of Fc gamma receptor type IIa polymorphisms in Korean patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1998;41:421–426.
- Spiegelhalter DJ, Myles JP, Jones DR, Abrams KR. Bayesian methods in health technology assessment: a review. *Health Technol Assess.* 2000;4(38):1-130.
- Stoscheck, CM. Quantitation of protein. *Methods Enzymol.* 1990;182:50-68.
- Szucs G, Kawai M, Kiss E, Csipo I, Szegedi G. Correlation of IgG Fc receptors on granulocytes with serum immune complex level in systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol.* 1995;42:577-580.
- Taggart CC, Greene CM, Carroll TP, O'Neill SJ, McElvaney NG. Elastolytic proteases: inflammation resolution and dysregulation in chronic infective lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:1070-1076.
- Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1982;25(11):1271-7.
- Unkeless JC, Shen Z, Lin CW, DeBeus E. Function of human FcγRIIA and FcγRIIIB. *Semi Immunol.* 1995;7:37-44.
- van der Pol WL, van de Winkel JGJ. IgG receptor polymorphisms: risk factors for disease. *Immunogenetics.* 1998;48:222–32.
- van Sorge NM, van der Pol WL, van de Winkel JG: FcγRIIA polymorphisms: Implications for function, disease susceptibility and immunotherapy. *Tissue Antigens* 2003;61:189–202.
- Virca GD, Metz G, Schnebli HP. Similarities between human and rat leukocyte elastase and cathepsin G *Eur J Biochem* 1984;144:1-9.
- Warmerdan PAM, Van Der Winkel JGJ, Gosseelin EJ, Capel PJA. Molecular basis for a polymorphism of the human Fc receptor II (CD32). *J Exp Med.* 1990;172:19-25.
- Willcocks LC, Lyons PA, Clatworthy MR, Robinson JI, Yang W, Newland SA, et al. Copy number of FCGR3B, which is associated with systemic lupus erythematosus, correlates with protein expression and immune complex uptake. *J Exp Med.* 2008;205:1573-82.
- Wright HL, Moots RJ, Bucknall RC, Edwards SW. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases. *Rheumatology.* 2010;49:1618–1631.
- Yap SN, Phipps ME, Manivasagar M, Tan SY, Bosco JJ. Human Fc gamma receptor IIA (FcγRIIA) genotyping and association with systemic lupus erythematosus (SLE) in Chinese and Malays in Malaysia. *Lupus.* 1999;8:305–310.
- Yee AM, Ng SC, Sobel RE, Salmon JE. Fc gammaRIIA polymorphism as a risk factor for invasive pneumococcal infections in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1180-2.

Yuan FF, Wong M, Pererva N et al. FcγRIIA polymorphisms in *Streptococcus pneumoniae* infection. *Immunol Cell Biol.* 2003;81:192-5.

Zhang XR, Yan YH, Liang ZQ, Jiang M. Changes of neutrophil elastase and alpha 1-antitrypsin in systemic lupus erythematosus. *Proc Chin Acad Sci Peking Union Med Coll.* 1989; 4(1):26-9.

Zhou M, Todd RF 3rd, van de Winkel JG, Petty HR. Cocapping of the leukoadhesin molecules complement receptor type 3 and lymphocyte function-associated antigen-1 with Fc gamma receptor III on human neutrophils. Possible role of lectin-like interactions. *J Immunol.* 1993;150:3030-41.

Zhou MJ, Brown EJ. CR3 (Mac-1, alpha M beta 2, CD11b/CD18) and Fc gamma RIII cooperate in generation of a neutrophil respiratory burst: requirement for Fc gamma RIII and tyrosine phosphorylation. *J Cell Biol.* 1994;125:1407-16.