

ARTRITIS REUMATOIDE: ALGUNOS ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

Librado Ortiz-Ortiz^{1,2}, María A. Arévalo-Rosales², Disney M. Rosales-Borjas²

¹Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, México, y ²Facultad de Medicina, Extensión Portuguesa-ULA, Guanare, Portuguesa, Venezuela

Recibido Agosto 15, 2010. Aceptado Noviembre 13, 2010

RHEUMATOID ARTHRITIS: SOME IMMUNOLOGICAL ASPECTS

Resumen

En esta revisión se discute acerca de los aspectos inmunológicos que participan en la etiopatogenia de la artritis reumatoide (AR), con particular énfasis en el papel que las células T y B, así como sus productos, juegan en la patogenia de la enfermedad. En el último aspecto, se examina la participación de las citocinas y quimiocinas, moléculas cruciales durante la respuesta inflamatoria que caracteriza a la AR. En este sentido, se analiza su potencial como dianas de la inmunoterapia.

PALABRAS CLAVE: artritis reumatoide, células T, células B, citocinas, quimiocinas, diagnóstico

Abstract

In this review we discuss some of the immunological aspects that participate in the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis (RA), with particular emphasis in the role that T and B cell as well as their products play in the pathogenesis of the disease. In regard to the latter, we argue about the participation of cytokines and chemokines, crucial molecules during the inflammatory response that characterize RA. In this sense, we examine their potential as targets for immunotherapy.

KEY WORDS: rheumatoid arthritis, T cells, B cells, cytokines, chemokines, diagnosis

Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad multisistémica crónica que involucra primariamente las articulaciones. Se caracteriza por una sinovitis inflamatoria, destrucción de las articulaciones, atrofia muscular y devastación ósea. Otras áreas del cuerpo que pueden ser afectadas, incluyen los pulmones, ojos, vasos sanguíneos, y piel, por lo que se le clasifica generalmente como una enfermedad autoinmune inespecífica, de un órgano en particular. La prevalencia de la AR es de aproximadamente uno por ciento de la población general, con una preponderancia tres veces mayor en la mujer. Aunque puede presentarse a cualquier edad, la aparición de la AR es típica entre los 25 y 50 años de edad (1, 2).

Patofisiología

Se desconoce la etiología del padecimiento. No obstante, se han identificado factores endocrinos,

ambientales y genéticos involucrados en el desarrollo de la misma, los cuales varían de una población a otra (3). En 1928 Gibson (4), en un artículo clásico, describió dos grupos principales de teorías sobre las causas de la AR, específicamente: los de carácter infeccioso y los no infecciosos.

Teorías infecciosas

Estas teorías asumen que microorganismos que llegan a una articulación inician una serie de cambios que resultan en la producción de la enfermedad. La capacidad de agentes infecciosos, particularmente bacterias, para inducir respuestas autoinmunes se ha demostrado en modelos animales, y el mimetismo molecular ha sido un mecanismo implicado en varias enfermedades autoinmunes. La hipótesis del mimetismo molecular establece que los microbios contienen

péptidos que comparten en cierto grado una similitud con proteínas propias del humano, ocasionando así a una respuesta inmunitaria (RI) promiscua de tipo humoral y celular, que una vez desarrollada es capaz de reconocer tanto los epítomos microbianos como los del humano. Esta reactividad cruzada no es de sorprender dada las secuencias conservadas de enzimas mitocondriales a través de todas las especies, desde eubacterias hasta mamíferos (5).

En este contexto, patógenos virales y bacterianos han sido investigados, entre ellos parvovirus, Epstein Barr (EBV), citomegalovirus, retrovirus, micoplasma, y micobacterias (6). En pacientes con AR se han encontrado niveles elevados de células B infectadas y títulos elevados de anticuerpos anti-EBV, cuando se comparan con la población general. Además, el EBV presenta una capacidad para activar a las células B y producir factor reumatoide (FR), lo cual ha generado interés en este virus como un potencial iniciador del padecimiento (7). No obstante, las investigaciones no han podido identificar de manera definitiva un microorganismo en el tejido sinovial de pacientes con AR.

Teorías no infecciosas

Factores ambientales

El papel de factores ambientales sobre la incidencia de AR es difícil de demostrar debido a la dificultad en la obtención de un buen número de pacientes, los controles adecuados y la definición de exposición. Los factores ambientales que han sido implicados en la AR son: (i) clima, en particular los cambios barométricos que producen más rigidez y dolor; (ii) estilo de vida, donde el fumar ha sido asociado con el desarrollo de AR más severa, y la ingestión de cafeína con la iniciación de AR, y (iii) estrés y trauma que pueden incidir sobre la AR (8-12).

Es de hacer notar que, numerosos factores ambientales que participan en la aparición de autoinmunidad conllevan a la apoptosis, y durante este proceso muchos autoantígenos son modificados, provocando en las proteínas la exposición de epítomos ocultos o bien formando epítomos nuevos que rompen la tolerancia inmune del organismo, provocando una respuesta autoinmune en individuos susceptibles. Una de estas modificaciones que crea nuevos epítomos puede ser la citrulinación de un autoantígeno no definido y hasta ahora no identificado y que es específico en la AR. La

citrulinación, ya sea por medio de la apoptosis o por algún otro mecanismo, es un fenómeno natural; estos neoantígenos deben ocurrir en individuos con el fondo genético multifactorial apropiado, que modulan la apoptosis, rompen la tolerancia inmune, inducen la RI específica e influyen sobre la expresión del padecimiento (13, 14).

Factores genéticos

En relación a los factores genéticos, en los individuos afectados existe una predisposición genética y los alelos de los antígenos leucocitarios humanos (HLA)-DR1 y -DR4, localizados en el cromosoma 6, son los que se asocian con mayor frecuencia en la patogénesis de la enfermedad (15). La forma en que se hereda la AR ha sido objeto de intensas investigaciones en la última década. Una de ellas, propone la hipótesis del epítomo compartido, donde los fragmentos procesados del antígeno son presentados a la célula T sobre la superficie de la célula presentadora del antígeno (CPA) en asociación con una molécula Ia. Casi todos los alelos asociados con AR tienen una secuencia que las distingue, compuesta por 5 aminoácidos, QKRAA (Gln-Lis-Arg-Ala-Ala), cerca de la región de la cadena DR β que enlaza al péptido; esta es la secuencia que se conoce como epítomo compartido. La posesión de dos copias de este epítomo, una heredada de cada progenitor, se asocia con un riesgo alto de enfermedad severa. Esta estructura puede interactuar con el receptor de la célula T (TCR) y resultar en la activación de esta célula. Esta hipótesis está basada en la premisa de que las diferencias estructurales entre diferentes alelos Ia pueden influir en estas interacciones moleculares y así regular la RI a determinados antígenos (16).

Otros genes involucrados en la AR son: (i) el PTPN22 que codifica a la proteína intracelular tirosin fosfatasa, presente en el cromosoma 1p13, fuera de la región HLA (17). Esta asociación entre AR y un polimorfismo funcional localizado en dicha región, se llevó a cabo en estudios realizados en varios ciudadanos Canadienses (18) y de Nueva Zelandia (19), que además aportó la información, en la población Canadiense, de que los individuos homocigotos para la variante estudiada duplican el riesgo de padecer la enfermedad (20); (ii) el locus TRAF1/C5 (TRAF1, factor de necrosis tumoral-receptor asociado al factor 1; C5, componente del complemento 5) en el cromosoma 9 (21), y (iii) el gen TP53 localizado en el cromosoma 17p13. La mutación del gen TP53 puede perpetuar la AR. Este defecto no se hereda pero puede ocurrir con el tiempo, a medida que el

padecimiento progresa. En condiciones normales el TP53 es conocido como un gen supresor de tumores y que causa apoptosis. Sin embargo, cuando el gen TP53 es defectuoso, las células no mueren pero continúan reproduciéndose (22). Las acciones del gen TP53 defectuoso podrían ayudar a explicar varios procesos asociados con la AR, como el pannus (crecimiento compuesto de tejido sinovial engrosado), la destrucción progresiva del cartílago y hueso, que ocurre aún después de que la inflamación ha sido tratada (23). Sin embargo, los mecanismos moleculares implicados en la mutación de TP53 en AR se desconocen. En un reporte reciente se indica que en tejidos inflamados, las células no linfoides expresan ectópicamente el gen de la citidin deaminasa inductora de la activación (AID) que induce hipermutación somática en las regiones que codifican el TP53. La transcripción de la AID en AR y en la hiperplasia de sinoviocitos de tipo fibroblastos (FLS) es aumentada por el factor de necrosis tumoral (TNF)- α . Además, la AR-FLS AID positiva presenta una mayor frecuencia de mutación somática en TP53. Los estudios citológicos e inmunoquímicos demostraron claramente la expresión ectópica de AID en los FLS en la sinovia de la AR, ocasionando la adquisición de propiedades de tipo tumoral (24).

Factores inmunológicos

Las evidencias principales implican a los mecanismos humorales en la patofisiología de la enfermedad. Las lesiones primarias ocurren en la sinovia y se caracterizan por estimulación inmunológica e inflamación crónica. Las células B y las células plasmáticas excitadas secretan anticuerpos, entre ellos FR y anticólagena. Estos anticuerpos dan lugar a la formación de complejos inmunitarios y la activación de la cascada inflamatoria. Existen demostraciones de que las células B secretoras de FR actúan como CPAs de los complejos inmunitarios a las células T, ocasionando la perpetuación de la respuesta inflamatoria (25).

Autoantígenos involucrados

A pesar de las investigaciones realizadas en las últimas décadas, las dianas autoantigénicas y las bases moleculares de la AR no son del todo conocidas. Se ha reportado que los sueros de pacientes con AR reaccionan con filagrina de la epidermis humana, así como con la isoforma neutra/acídica de esta proteína (26). La

filagrina es una proteína epidérmica que agrega los filamentos intermedios de la queratina y promueve la formación de puentes disulfuro entre los filamentos, durante las fases terminales de diferenciación de las células epiteliales de los mamíferos, y es sintetizada como un precursor proteico, la profilagrina, que contiene entre 10 y 12 moléculas de filagrina (27). La filagrina sufre un cambio postransduccional (CPT), con formación de residuos de citrulina por desiminación de la arginina. Estudios posteriores demostraron que la formación de anticuerpos contra la filagrina es totalmente dependiente de la citrulinación de la proteína. Otras investigaciones han revelado que en la AR los antígenos citrulinados, como vimentina y fibrina, son también dianas candidatos en la AR. Estos CPT son llevados a cabo por la enzima peptidilarginina-deiminasa (PAD) en presencia de calcio (Fig. 1), lo cual parece ser controlada hormonalmente (28). El efecto principal de este proceso es que la arginina, que es una molécula cargada positivamente, es neutralizada, aunque conserva su polaridad, lo cual puede ocasionar en la molécula una desestabilización o aún pérdida de interacciones inter o intramoleculares. En la vimentina, la citrulinación puede inducir una casi completa despolimerización, alterando la red del citoesqueleto (29, 30), lo que favorece que la proteína pueda desdoblarse y volverse más susceptible a la degradación proteolítica por otras enzimas. Además, pueden tener lugar otras interacciones intermoleculares (31).

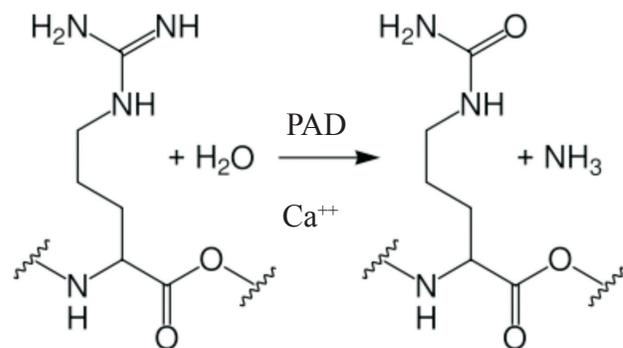


Figura 1. Cambio postransduccional de una proteína por conversión enzimática de arginina (izquierda) a citrulina (derecha) por medio de PAD, en presencia de calcio.

En el humano se han identificado cinco isoformas de la PAD, cuyo perfil de expresión es tejido específico (32). La actividad de PAD parece ser influenciada marcadamente por una variedad de compuestos estrogénicos (33). Es

de hacer notar que durante la apoptosis algunas proteínas celulares son citrulinadas, en particular la citrulinación apoptótica de vimentina (34).

PAD-2 y PAD-4 son los únicos isotipos que se expresan en el tejido sinovial de pacientes con AR y otras artritis. Las células inflamatorias son la fuente principal, aunque la PAD-4 también se presenta en los sinoviocitos hiperplásicos (35). En la membrana sinovial PAD-2 y PAD-4 actúan sobre las proteínas de la membrana sinovial, como la fibrina y la vimentina, que al citrulinarse se convierten en inmunógeno, generando una respuesta autoinmune mediada por linfocitos B, la cual puede amplificarse en individuos susceptibles, o en presencia de factores ambientales, o neuroendocrinos. Asimismo, existe la posibilidad de una respuesta de linfocitos T contra péptidos citrulinados, insinuando que la membrana sinovial constituye un órgano blanco de la respuesta autoinmune. Lo anterior sugiere que la citrulinación de proteínas genera alteraciones cuali o cuantitativas que participan en la pérdida de la tolerancia inmunológica y en el desarrollo de enfermedad autoinmune (36).

No es difícil aceptar que el proceso de citrulinación juegue un papel importante en la autoinmunidad. En apoyo de esta hipótesis podemos señalar que otras modificaciones postraduccionales han sido implicadas en otras enfermedades autoinmunes: la descarboxilasa del ácido glutámico ha sido asociada con la diabetes mellitus de tipo I (37); la mieloperoxidasa en la vasculitis (38); la gliadina de trigo modificada en la enfermedad celíaca (39), y la piruvato deshidrogenasa en la cirrosis biliar primaria (40).

La vimentina, un candidato interesante como autoantígeno en la AR, es una proteína fibrosa que forma los filamentos intermedios del citoesqueleto intracelular, en particular de células embrionarias, células endoteliales, y células sanguíneas, que se expresa ampliamente, y que puede estar involucrada principalmente en procesos estructurales, como la cicatrización de heridas. Los macrófagos activados secretan vimentina en el espacio extracelular. La citocina proinflamatoria TNF- α puede disparar la secreción de vimentina (41).

Otra proteína involucrada en la etiología de la AR es la proteína primaria del cartílago: el colágeno de tipo II (CII), que es crucial en la salud y funcionamiento de la articulación. La participación de CII en el proceso de inflamación de la articulación ha sido difícil de demostrar. Se han realizado investigaciones con CII pura y con CII modificada, que incluye formas oxidantes

que se encuentran presentes en la articulación, específicamente, radicales hidroxilo, ácido hipocloroso, peroxinitrito y ribosa. Los sueros de pacientes con AR no reaccionan en su mayoría con la forma natural de CII, indicando que esta es un espectador inocente en el proceso autoinmune. No obstante, casi la mitad de las muestras estudiadas reaccionaron con la CII modificada, donde la tratada con ácido hipocloroso mostró la máxima reactividad. Estos hallazgos apoyan la posibilidad de que modificaciones químicas de autoantígenos, particularmente en AR y en general en procesos inflamatorios, son la causa de la formación de nuevos epítomos (42). En este contexto, en un modelo experimental en ratas, se ha demostrado que la CII citrulinada induce artritis con mayor incidencia y aparición más temprana que la proteína nativa; a medida que la enfermedad progresa a una forma más severa y crónica, los productos de la citrulinación aparecen específicamente en las articulaciones. Este estudio pone de manifiesto el potencial de la citrulinación en la ruptura de la tolerancia inmunitaria contra los antígenos propios (43).

Otras proteínas de cartílago involucradas en la AR son la que presentan actividad inhibitoria del melanoma (MIA) y la glicoproteína gp-39 del cartílago humano. En la articulación inflamada estas proteínas son presentadas activamente por el HLA-DR de una manera restringida, aunque se desconoce si esto ocasiona la activación de células T autorreactivas que puedan tener un papel relevante en la inmunopatología o inmunomodulación de la AR (44).

Autoanticuerpos implicados

En la mayoría de los pacientes se presentan en el suero y las articulaciones autoanticuerpos dirigidos contra el fragmento Fc de las IgG (factores reumatoides, FRs). Las manifestaciones extraarticulares se asocian frecuentemente con signos histológicos y vasculitis, niveles elevados de FRs, complejos inmunitarios circulantes y signos de activación del complemento sérico (45).

En el suero de pacientes con AR se han encontrado anticuerpos de una naturaleza más específica, descritos por primera vez por Nienhuis y Mandema (46) y que reaccionan con el factor perinuclear, un componente de numerosos gránulos denominados queratohialinos que rodean al núcleo y que por inmunofluorescencia se detectan utilizando células de la mucosa bucal. Los anticuerpos, que se conocen como anticuerpos antifactor perinuclear (APF), se forman en el 49-91%

de los pacientes con AR con una especificidad entre el 75 y 99% (47).

Otra clase de anticuerpos que se presentan de manera específica en pacientes con AR, son los anticuerpos antiqueratina (AKA) (48), los cuales reaccionan con células del estrato corneo del epitelio del esófago de la rata. Los AKA muestran una sensibilidad del 36-59%, con una especificidad entre 88 y 99%. Se ha demostrado que APF y un anticuerpo monoclonal específico para la (pro)filagrina humana producen un patrón de tinción idéntico por inmunofluorescencia (49). Además, los autoanticuerpos AKA y APF reconocen el mismo antígeno, es decir a la profilagrina, la cual se expresa en diferentes sustratos (50). Actualmente, estos anticuerpos se denominan anticuerpos antifilagrina o antiprofilagrina (51).

En pacientes con AR también se encuentran anticuerpos anti-Sa (52), cuyo antígeno Sa se piensa es idéntico a la vimentina citrulinada, donde la vimentina es el acarreador y la citrulina el hapteno (13, 53), y anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP) de gran sensibilidad (80%) y especificidad (98%), los cuales se forman en etapas tempranas de la enfermedad (54).

Respuesta autoinmune

Papel de la célula B

La célula plasmática madura que secreta FR es otro componente celular prominente de la sinovia reumatoide. El estímulo para la maduración de la célula B a célula plasmática productora de inmunoglobulina se ha adscrito clásicamente a las células T CD4+, no obstante, como ya se mencionó, las células T CD4+ no están activas en la fase crónica de la AR. Sin embargo, la interleucina (IL)-6 es un estimulador potente para la maduración de la célula B a célula plasmática. En este contexto, los fibroblastos sinoviales seguramente proporcionan el estímulo, independiente de células T, para activar continuamente a la célula plasmática y producir FR. La IL-6 a su vez suprime la síntesis de albúmina por el hígado y estimula la elaboración de proteínas de fase aguda, contribuyendo a la elevación significativa de la velocidad de sedimentación globular (55).

Las células B CD5 son linfocitos que coexpresan una glicoproteína de superficie de 67 kDa designada CD5, que también se expresa en linfocitos T y antígenos de superficie restringidos a la línea de linfocitos B (56). La población de

células B CD5+ es prominente en la vida temprana y produce anticuerpos de baja avidéz y por tanto polirreactivos. Estos linfocitos son receptivos a citocinas, y la IL-10 parece influir en la regulación de estas células B CD5+ (57).

Los linfocitos B CD5 producen autoanticuerpos IgM en individuos con enfermedades autoinmunes, y en pacientes con AR se presentan niveles elevados de estas células B CD5 o células B CD5 activadas (56). En un estudio realizado en pacientes con AR, los autores detectan una IgM de bajo peso molecular (monómero, 2×10^5 Da), y en los pacientes seropositivos los niveles son significativamente más elevados (58). Una reducción de esta subpoblación de células B se ha asociado con una mejoría clínica; esta característica sugiere una relación entre las células B CD5+ y la actividad de la enfermedad autoinmune (59, 60).

En los pacientes con AR las células B se encuentran extremadamente activadas. En este contexto, se ha reportado que las células B CD5+CD22- están aumentadas de manera significativa, sugiriendo que CD22 juega un papel importante como regulador de la respuesta de las células B. La disminución de células B CD22+ y el aumento en células B CD5+CD22- juegan un papel crítico en la patogénesis de la AR mediada por la activación de células B (61).

Papel de las células T

Se han propuesto dos teorías acerca de la patogénesis de la AR. La primera sostiene que las células T, a través de la interacción con un antígeno hasta ahora no identificado, es la célula responsable de iniciar la enfermedad, así como de dirigir los procesos de la inflamación crónica involucrados. Esta teoría se apoya en la asociación conocida de la AR con los antígenos de clase II del sistema principal de histocompatibilidad (MHC), el gran número de células T CD4+ y el uso del gen del receptor de la célula T en la sinovia de la AR. La segunda establece que mientras las células T pueden ser importantes en iniciar el padecimiento, la inflamación crónica es perpetuada asimismo por macrófagos y fibroblastos de una manera independiente de la célula T (62).

Teoría de la interacción de la célula T con antígeno

En el hospedero inmunogenéticamente susceptible, la activación de las células T por antígenos hasta ahora desconocidos, es el evento que probablemente inicia el proceso reumatoide.

Esta activación conlleva a múltiples efectos, entre ellos la activación y proliferación de células que cubren la sinovia y endotelio, reclutamiento y activación de células proinflamatorias adicionales de la médula ósea y circulación, secreción de citocinas y proteasas por macrófagos y células sinoviales de tipo fibroblastos, y producción de autoanticuerpos (63).

El argumento en favor de la participación de las células T en la AR es la fuerte asociación de la enfermedad con los haplotipos del HLA de clase II, que ha sido plasmada en la hipótesis del epítipo compartido, y el hecho de que, en modelos animales de experimentación, como la artritis por adyuvante, la enfermedad puede ser transferida con líneas de células T (16, 63). Aunque la activación de las células T en el sitio de la inflamación no es excesiva, existen evidencias tangibles de la síntesis focal de IL-2 e interferón (IFN)- γ en la membrana sinovial de la AR, considerando que una activación limitada, pero específica, puede ser suficiente para inducir o perpetuar el proceso inmune. A menos que se cuente con el antígeno apropiado que permita clonar las células T relevantes, es difícil probar de manera directa la naturaleza dependiente de la célula T en la AR (64).

La inmunogenética de la AR sugiere un papel fundamental para vías aberrantes de activación de las células T en la iniciación o perpetuación de la AR. En el proceso de activación, las células T CD4⁺ son comprometidas por fragmentos peptídicos antigénicos formando un complejo con moléculas de clase II del HLA, además de la intervención de moléculas coestimuladoras, como CD80/CD86 expresadas sobre la superficie de las CPAs profesionales (65). La evidencia más fuerte que apoya el papel de las células T CD4⁺ en la patogénesis de la enfermedad, es la asociación entre AR y HLA-DRB1; aunque el papel funcional de esta asociación tiene aún que ser definido. Asimismo, existen evidencias que apoyan la participación de células T de ayuda (Th), Th17, y células T reguladoras (Treg) CD4⁺CD25^(hi) en la patogénesis de la AR. En este aspecto, en ensayos clínicos, la modulación terapéutica de la función de T se ha asociado con un mejor manejo de la enfermedad (62). En este tenor, se ha desarrollado una proteína de fusión denominada abatacept, que será descrita posteriormente, que modula la señal coestimuladora de la célula T, que es mediada a través de la vía CD28-CD80/86, y que regula disminuyendo la RI, controlando los síntomas en pacientes con AR activa (66, 67). Además, abatacept mejora la calidad de vida del paciente, aliviando tanto la carga física como emocional

que impone la AR, mejorando la actividad día a día y reduciendo los problemas de sueño y fatiga, particularmente en aquellos pacientes que no responden a las drogas antirreumáticas y a los antagonistas del TNF (68).

Es necesario hacer énfasis en que, aunque las células T CD4⁺ persisten en la sinovia a través del curso de la enfermedad, ellas parecen estar inactivas en la fase crónica de la misma. En apoyo de lo anterior, se observa que la expresión de antígenos de superficie, como los receptores de IL-2 y transferrina, y la secreción de citocinas como IL-2, IL-4 e IFN- γ , que se asocian con células T en estado activo, son muy bajas (69).

Teoría de los macrófagos y fibroblastos

Los macrófagos sinoviales y fibroblastos pueden liberar citocinas como consecuencia de traumas menores, infecciones, respuestas alérgicas, vacunación o deposición de complejos inmunitarios localizados (70). En el tejido conectivo los macrófagos y fibroblastos producen citocinas (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-8 y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos [GM-CSF]), que se expresan en gran cantidad en la sinovia y el fluido sinovial de pacientes con AR. Estas dos células parecen ser principalmente responsables para crear un estado de inflamación crónica perpetua, en donde la participación de la célula T puede no ser crítica (71). Además, estas citocinas pueden iniciar la diferenciación de células dendríticas residentes a CPA potentes, las cuales pueden presentar selectivamente antígenos propios para la inducción de respuestas de células T específicas. Asimismo, la presencia de epítopos compartidos puede disminuir el umbral para la transformación de una sinovitis reactiva suave a una reacción sinovial rápida y destructiva, al aumentar la presentación de autoantígenos por las células dendríticas. La siguiente fase se caracteriza por la migración de células inflamatorias e inmunes de la sangre hacia los espacios sinoviales y tejidos, donde los macrófagos estimulados por medio de la IL-1 y el TNF- α , además de la IL-8 y el GM-CSF, favorecen la expresión de moléculas de adhesión sobre las células endoteliales en las vénulas postcapilares sinoviales (72). Las células nucleadas de la sangre se atan a estas células endoteliales activadas y, bajo la influencia de quimiocinas, particularmente de la IL-8, migran hacia la sinovia (73). En la sinovia reumatoide, las quimiocinas atraen neutrófilos, monocitos y células T, donde son estimuladas por otras citocinas. En estas condiciones, los macrófagos

activados secretan continuamente IL-1 y TNF- α que mantienen al fibroblasto sinovial en un estado activo. Este último, a su vez, secreta grandes cantidades de IL-6, IL-8, GM-CSF, prostaglandinas, y proteasas. La GM-CSF retroalimenta promoviendo la maduración de monocitos, reclutados recientemente, a macrófagos. Las IL-8 e IL-6 contribuyen al reclutamiento y/o activación de otras poblaciones celulares, mientras que las prostaglandinas y las proteasas actúan directamente para erosionar y destruir el tejido conectivo cercano, como el hueso y cartílago. Además la IL-1 y el TNF- α tienen efectos sistémicos notables. Las diversas citocinas producidas actúan a nivel celular promoviendo la regulación de moléculas de adhesión, coestimulando a las células T, induciendo la síntesis de prostanooides y de citocinas como IL-6, IL-8, y GM-CSF. Asimismo, a nivel sistémico pueden causar fiebre, disminución del apetito, y desgaste muscular (74, 75).

Citocinas

Las citocinas son proteínas pequeñas, solubles, involucradas, durante la RI, en la comunicación entre células que afectan división celular, diferenciación y quimiotaxia. Sus acciones por tanto regulan respuestas proinflamatorias y antiinflamatorias. Los estudios en tejido sinovial han llevado a la identificación de células que producen estas moléculas. Cuando se estudiaron las citocinas en las articulaciones de pacientes con AR, uno de los hallazgos más relevantes fue encontrar que los niveles producidos por las células T eran sorprendentemente bajos, ya que se pensaba que las células T eran las responsables del padecimiento (76). En efecto, las citocinas derivadas de los linfocitos T (IL-2, IL-4, IL-17, e IFN- γ) son difíciles de demostrar; sin embargo, citocinas secretadas por macrófagos activados y fibroblastos de tipo A son abundantes. Algunas de ellas, como el TNF, o la IL-1 están aumentadas, lo que llevo al concepto de que una red de citocinas participaba en la AR (77, 78).

No obstante, considerando que las células T constituyen un componente consistente de los infiltrados tisulares, se han usado técnicas más sensibles para determinar concentraciones reducidas de citocinas en tejidos de pacientes con AR. Los resultados obtenidos en la sinovia reumatoide crónica indican que, en la AR considerada como una enfermedad con predominio de células Th1, se encuentran tres diferentes patrones de citocinas que se correlacionan con diferentes cuadros histológicos, específicamente:

la sinovitis difusa presenta un patrón de citocinas Th0 (IFN- γ , IL-4, IL-1 β , y TNF- α); la sinovitis folicular muestra características de Th1 (IFN- γ , IL-10, pero no exhibe IL-4), y la sinovitis granulomatosa muestra un modelo mixto de Th1/Th2 (IFN- γ , IL-4, IL-1 β y TNF- α). Esta heterogeneidad debilita el paradigma de Th1 como predominio maligno, y el de Th2, como benéfico (79).

Aunque los factores incitadores tienen aún que ser identificados, la presencia y actividad de un número de citocinas, entre ellas las quimiotácticas, conocidas como quimiocinas con propiedades proinflamatorias, han establecido un papel importante en la patogénesis de la enfermedad. La activación e infiltración de células T y macrófagos en la sinovia resulta en la producción de IL-1, -6, -8, -10, -17, TNF- α , factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento tipo insulina (IGF), y factor de crecimiento transformante (TGF)- β (80-82).

En la sinovia inflamada, las quimiocinas juegan un papel relevante en la infiltración, localización, retención de leucocitos que se han infiltrado, y generación de centros germinales ectópicos. Recientemente se han mostrado resultados que sugieren la identificación de inhibidores dirigidos directamente a quimiocinas o sus receptores, que pueden proporcionar una estrategia terapéutica novedosa en la AR (83).

Los fibroblastos y los monocitos/macrófagos activados de la sinovia son los principales productores de quimiocinas, específicamente: IL-8 (CXCL8), proteína 78 activadora epitelial-neutrófilo (ENA-78 o CXCL5), proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1 o CCL2), proteína regulada por activación, expresada y secretada, quimiotáctica para células T normales, (RANTES o CCCL5), proteína 1 α inflamatoria de macrófago (MIP-1 α o CCL3); estas quimiocinas se encuentran elevadas en el tejido sinovial y en el fluido sinovial de individuos con AR (84). Asimismo, la expresión de receptores para estas quimiocinas, específicamente, CXCR3, CXCR6 y CCR5 se encuentra incrementada sobre las células T CD4⁺ de memoria, que representan el infiltrado predominante en la sinovia inflamada (85, 86). Estos receptores de quimiocinas inflamatorias se expresan prominentemente sobre linfocitos T efectoros (Th1) que participan en la inflamación mediada por Th1, como sucede en la AR. Actualmente se realizan investigaciones tendientes a abolir el efecto de estas quimiocinas angiogénicas que puedan ser de utilidad en la terapia de la AR (87).

Pruebas de laboratorio

Las pruebas de laboratorio para monitorear al paciente con AR incluyen la biometría hemática con velocidad de sedimentación globular, proteína C reactiva, la determinación del FR y anticuerpos antinucleares (ANA). Hasta hace algunos años, la determinación del FR era la única prueba utilizada para el estudio de esta patología, y su presencia todavía se considera como un criterio de clasificación de la enfermedad (1). Sin embargo, el FR no es altamente sensible (66%) ni específico (87%), y puede encontrarse en otras enfermedades autoinmunes, neoplásicas, infecciones crónicas y aún en personas sanas, particularmente en aquellas de edad avanzada (88, 89). La presencia de ANA indica un sistema inmunitario (SI) inusualmente activo; cerca del 40% de individuos con AR presenta una prueba positiva de ANA, aunque al inicio del padecimiento generalmente es negativa, y en algunos de ellos se mantiene en esta forma (90).

En estudios clínicos de artritis temprana, se han encontrado anticuerpos contra péptidos citrulinados, de gran especificidad, por lo que pueden constituir un criterio para el diagnóstico de la AR (45). Estos anticuerpos son producidos localmente por las células plasmáticas en la sinovia, y es posible que hubieran sido disparados por el sustrato citrulinado que se encuentra en la sinovia de la AR. Es interesante mencionar que las cadenas alfa y beta de la fibrina son proteínas citrulinadas relevantes en el tejido sinovial inflamado, elevando su importancia en la etiología de este padecimiento (91, 92).

Entre los autoanticuerpos dirigidos frente a proteínas citrulinadas encontramos: APF (45), AKA (47), anticuerpos antifilagrina (26), previamente mencionados, los cuales reconocen epítomos que contienen el aminoácido no esencial citrulina. Además de su especificidad, los anti-CCP pueden ser detectados en los estadios tempranos del padecimiento y predecir el resultado de la enfermedad clínica (93, 94). En el líquido sinovial de pacientes con AR se han encontrado anticuerpos y células plasmáticas formadoras de anti-CCP (91, 92, 95).

Especificidad y sensibilidad de los anticuerpos frente a antígenos citrulinados

Los autoanticuerpos antiproteína citrulinada muestran una sensibilidad razonable y una especificidad diagnóstica elevada. Estos autoanticuerpos pueden estar presentes al inicio del padecimiento y predicen la artritis

erosiva. En consecuencia la incorporación de anticuerpos antiproteína citrulinada como un criterio adicional puede mejorar la certeza de los criterios de la *American College of Rheumatology*, generalmente usada para la clasificación del padecimiento. El ensayo recientemente desarrollado para determinar anticuerpos frente a la vimentina citrulinada mutada (anti-MCV) tiene un comportamiento diagnóstico similar que el de anti-CCP2 (segunda generación), y además puede mejorar el diagnóstico de laboratorio de la AR (96).

Cuando se compara la eficiencia diagnóstica de la determinación de anti-CCP y anti-MCV en pacientes con AR se encontró que eran similares. Sin embargo, un grupo de pacientes con AR que eran negativos para el FR y los anticuerpos anti-CCP, dieron resultados positivos para anti-MCV (97). Considerando que los anticuerpos anti-citrulina (anti-CCP y anti-MCV) son muy específicos para AR, podemos especular que estos pueden aportar información acerca de la etiología de este padecimiento, particularmente respecto a la citrulinación de proteínas y de las enzimas que participan en la conversión de la peptidilarginina a peptidilcitrulina.

Se ha reportado la identificación de dianas epiteliales por varios autoanticuerpos asociados específicamente con la AR, como variantes de la (pro) filagrina. Estos dianas corresponden a proteínas desiminadas ("citrulinadas"), de las cuales sus residuos arginil han sido transformados postraduccionalmente en residuos citrulina por una PAD. Estos residuos citrulinil son reconocidos por los autoanticuerpos de manera específica. Los autoanticuerpos frente a las proteínas citrulinadas (ACPA) son secretados por células plasmáticas del tejido sinovial y su diana principal corresponde a formas citrulinadas de las cadenas alfa y beta de la fibrina abundantes en el tejido. La síntesis de estos ACPA en el tejido sinovial reumatoide y la existencia en ese sitio de la diana antigénica específica constituye un fuerte argumento para la implicación de este conflicto inmunológico específico en la patofisiología de la AR (98, 99).

Tratamiento inmunobiológico

Se han reportado diversas estrategias terapéuticas para controlar los estadios preliminares del padecimiento, entre ellos: (i) evitar la presentación del antígeno por DR4 por medio de anticuerpos dirigidos hacia la región que enlaza el péptido y/o el motivo compartido del DR4 presente en el 90% de los pacientes. Estos anticuerpos posiblemente

bloquean, por impedimento estérico, la presentación del antígeno a las células T del hospedero (100, 101), y (ii) bloquear la activación de la célula T, por medio de péptidos basados en la cadena beta del TCR humano de las células T encontradas en los infiltrados de tejido sinovial de pacientes con AR. Otro procedimiento terapéutico usa un anticuerpo monoclonal dirigido contra CD4, que reduce el número de células T CD4+ circulantes, pero que no induce una respuesta clínica significativa en pacientes con AR (102-104).

Otros métodos se han dirigido hacia los estadios de propagación de la enfermedad, específicamente: inhibición de la expresión de moléculas de adhesión por la administración de anticuerpos frente a: moléculas de adhesión intercelular (ICAM), moléculas de adhesión de leucocitos endoteliales (ELAM), moléculas de adhesión de células vasculares (VCAM), e integrinas (VLA), con el propósito de limitar la infiltración de la sinovia y cavidad sinovial por células inflamatorias; inhibición de la angiogénesis para limitar la hiperplasia sinovial (105, 106); inhibición de la proliferación celular utilizando anticuerpos frente al PDGF (107) o anti-factor de crecimiento de fibroblastos (anti-FGF) (108), o agentes que promueven la apoptosis (109), como el placlitax, e inhibición de TNF- α y/o IL-1, por medio de anticuerpo monoclonal, antagonistas, o receptores solubles, para reducir en la articulación reumatoide la producción de proteasas, prostanoides, citocinas como IL-6, IL-8 y GM-CSF, y la inflamación. La respuesta clínica más relevante se ha logrado usando inhibidores del TNF, como el receptor soluble y anticuerpos monoclonales humanizados frente a TNF (110-113).

El advenimiento de la terapia génica ha venido a revolucionar el tratamiento de la AR. Por este procedimiento, a nivel local se puede proporcionar alivio sintomático en la AR. La artritis es un buen blanco para la terapia génica ya que la articulación constituye un espacio cerrado en el cual uno puede inyectar genes.

La administración de antagonistas, como el del receptor de la IL-1 (IL-1Ra), requiere de su administración repetida, y con regularidad. En consecuencia, es deseable desarrollar terapia génica que proporcione una entrega estable y efectiva por períodos prolongados. El trasplante de células genéticamente modificadas en la articulación inflamada ha sido una forma de abordar la terapia de la AR (114).

Terapia con anticuerpos

La disponibilidad reciente de agentes biológicos que depletan in vivo a las células B o que bloquean su función, ha sido posible usarlos con fines terapéuticos. De esta manera, el uso de un anticuerpo monoclonal quimérico disponible (rituximab) que elimina a las células B al unirse con el antígeno CD20 presente en su superficie, resulta eficaz en el tratamiento de la AR y otros síndromes autoinmunes (115, 116). De igual manera, se ha iniciado el uso de un anticuerpo monoclonal humanizado y específico para CD19 que actúa sobre células pre-B o B inmaduras para el tratamiento de enfermedades autoinmunes (117). A continuación se describen los tratamientos de la AR con productos biológicos novedosos que han mostrado eficacia.

Infliximab: anticuerpo monoclonal IgG1 contra el TNF- α , constituido por 75% de origen humano y un 25% de origen murino, obtenido por tecnología de ADN recombinante. Une la región Fc humana con la región variable murina de la IgG1. Produce un antagonismo del TNF tanto de la forma soluble como de la transmembrana (118). Este anticuerpo ha mostrado ser eficaz cuando se combina con el metotrexato en pacientes con AR activa que no responden al fármaco (119).

Etanercept: constituido por dos moléculas de la proteína recombinante humana p75 del receptor soluble del TNF (TNF-R); cada molécula se une a la región Fc de la IgG1 humana para aumentar su vida media. Su acción la ejerce al unirse al TNF- α como al - β libre, impidiendo su unión al receptor celular del TNF; asimismo, se enlaza al TNF transmembrana. El tratamiento disminuye los niveles sérico de IL-6, VCAM-1 e IL-10. En pacientes con AR activa temprana, el etanercept por vía subcutánea actúa más rápidamente, disminuyendo los síntomas y el daño a las articulaciones (120, 121).

Adalimumab: anticuerpo monoclonal IgG1 totalmente humanizado frente al TNF- α , que impide su unión a los receptores p55 y p75 en la superficie celular. Se obtiene por tecnología del ADN recombinante. Su acción modula la respuesta inflamatoria a través de las moléculas de adhesión que favorecen la migración leucocitaria, específicamente: VCAM-1, ELAM-1, e ICAM-1. Este anticuerpo se usa para disminuir el dolor, tumefacción y demorar la evolución de la AR; su efecto es potenciado cuando se administra en combinación con metotrexato. Adalimumab controla los signos y síntomas de la AR y tiene un efecto positivo sobre el padecimiento (122, 123).

Anakinra: se trata de un antagonista del receptor humano tipo I para la IL-1 α y la IL-1 β producida por células de *Escherichia coli* por tecnología del ADN recombinante. El anakinra ha mostrado ser inocuo y bien tolerado después de 3 años de tratamiento en pacientes con AR (124). Se usa en combinación con el metotrexato, particularmente en los pacientes que no responden al último. La IL-1 aumenta el estrés nitrooxidativo, y la anakinra inhibe los efectos de esta citocina, mejorando la función vascular y del ventrículo izquierdo; esta acción se asocia con una reducción del estrés nitrooxidativo y de endotelina-1 (125).

Rituximab: es un anticuerpo quimérico que se produce por ingeniería genética, formado por una región constante de la IgG1 y la región kappa humana, con una región variable mística contra la proteína de la membrana celular del linfocito B CD20 (126). Este anticuerpo antagoniza la fosfoproteína de superficie transmembrana no glicosilada CD20 de linfocitos B maduros, ocasionando una depleción de estas células (127). El tratamiento de pacientes con rituximab induce una casi completa eliminación de todas las células B periféricas sanguíneas, que usualmente se mantiene por 6 a 9 meses. La repoblación ocurre principalmente por células B inocuas, mientras que las células B de memoria pueden permanecer deprimidas por más de dos años (128). No obstante, esta reducción de células B de memoria no previene el regreso de la formación de autoanticuerpos (129).

Abatacept: consiste de una proteína de fusión recombinante soluble formada por un dominio intracelular del antígeno 4 del linfocito T citotóxico (CTLA-4) unido a un fragmento Fc modificado de la IgG1 humana. Se obtiene por tecnología del ADN recombinante (130). El ligando de este antígeno es CD80/86 al que se une hasta 100 veces más fuerte que su receptor CD28, consecuentemente, bloquea la señal coestimuladora mediada por la vía CD28-CD80/86, que se requiere para la activación de la célula T, ocasionando la supresión de la respuesta celular y humoral (131).

Terapia génica

La terapia génica en modelos animales ha demostrado que es eficaz en el tratamiento de diversas patologías autoinmunes. Los productos génicos pueden ser liberados localmente en el área afectada, mediante inyección intraarticular y transfección de células sinoviales, disminuyendo los efectos adversos, aumentando la selectividad, como consecuencia del transporte órgano-

específico. Los procedimientos pueden llevarse a cabo ex vivo e in vivo. El primero implica la separación de células del receptor potencial, modificación genética en el laboratorio y posterior inoculación en el receptor. El segundo involucra la transducción directa del gen en las células del receptor. Los sistemas biológicos utilizan vectores virales, como el retrovirus. Las células diana de ataques autoinmunes, como los sinoviocitos, pueden ser modificadas genéticamente para que expresen citocinas inmunoreguladoras que las protejan de la autodestrucción masiva. En la AR la IL-1 estimula los sinoviocitos para producir enzimas degradantes del cartílago, como colagenasa y estromelina, igualmente citocinas quimiotácticas como la IL-8 y otros mediadores inflamatorios como el óxido nítrico; asimismo, en los condrocitos provoca la liberación de enzimas degradantes del cartílago. En consecuencia, su bloqueo puede reducir tanto la degradación de cartílago como la inflamación. Otro factor proinflamatorio es el TNF- α (132, 133).

La terapia génica se ha utilizado con cierto éxito en pacientes con AR grave, a los cuales se les extirpó tejido de las articulaciones de los nudillos, y se les inyectó un virus benigno, que se usó como vector para transportar hasta la articulación el gen que inhibe la acción de la IL-1. Las células obtenidas después del cultivo por algunas semanas, se inyectaron en las articulaciones dañadas. Los dos pacientes inoculados mejoraron respecto al dolor el cual se redujo en más de un 70% (134).

En un estudio clínico de fase I de terapia génica para tratar AR, se encontró que los genes terapéuticos pueden ser transferidos y ser expresados en las articulaciones reumatoides, sin contratiempos (135). En un estudio similar, dos sujetos con AR que recibieron ex vivo, una entrega intraarticular de un ADN complementario del antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1Ra) humana, experimentaron un alivio sintomático, con disminución tanto del dolor como la hinchazón después de la transferencia génica, sin mostrar efectos adversos; los transgenes persistieron en la articulación por al menos un mes. Para llevarlo a cabo, se obtuvieron de la sinovia, fibroblastos de cada uno de los pacientes, los cuales fueron transducidos con un retrovirus que portaba como transgen al IL-1Ra. Las articulaciones metacarpofalangeas se inyectaron con las células transducidas, y las articulaciones se evaluaron clínicamente con base a dolor e hinchazón. Los dos pacientes tratados experimentaron alivio sintomático después del tratamiento (136). En un estudio reciente de Fase I/II con un número importante de pacientes, se inocularon por vía

intraarticular con un vector recombinante adenoasociado que contenía el gen del receptor del TNF acoplado al receptor Fc de la IgG1 (TNFR:Fc). El estudio mostró una eficacia importante del tratamiento (137).

La terapia génica en la AR se encuentra apenas en desarrollo. Los estudios en animales de experimentación indican que es eficaz e inocua, y los realizados en un escaso número de pacientes es prometedor. Sin embargo, es necesario obtener datos sobre la seguridad de los vectores virales a utilizar en los pacientes con AR.

Conclusiones

La AR es una condición dolorosa en la cual el SI daña las articulaciones y tejidos conectivos. Es decir, en la AR el SI produce células especializadas y moléculas que son liberadas en la circulación y empiezan a dañar los tejidos del cuerpo. Esta RI anormal causa la inflamación y engrosamiento de la sinovia, membrana que cubre las articulaciones, que caracteriza a la artritis inflamatoria. Los mecanismos responsables de la AR se desconocen. Un gran número de factores ambientales, infecciosos y hormonales han sido propuestos como contribuyentes a la susceptibilidad en la AR. Dentro de los posibles autoantígenos, se ha mencionado la importancia de los cambios postraduccionales que sufren ciertas moléculas, entre los que destaca la citrulinación de proteínas. En apoyo de este hallazgo, el diagnóstico de la enfermedad ha mejorado notablemente, gracias a la identificación de antígenos citrulinados que presentan una mayor sensibilidad y especificidad. Actualmente no existe curación para este padecimiento, no obstante, las opciones de tratamiento se han expandido en la última década, gracias en parte, a los avances que han ocurrido en las áreas de inmunología, biología molecular e ingeniería genética. Las citocinas juegan un papel dominante en la patofisiología de la inflamación articular y destrucción en la AR, y los resultados de estudios recientes sugieren que la interferencia del funcionamiento de las citocinas, particularmente del TNF- α y la IL-1, ha mostrado ser efectivo como terapia en la AR, tanto en modelos animales como en el humano. En este sentido, el uso de anticuerpos monoclonales ha sido importante, ya que ha permitido definir el papel de varios mediadores de la inflamación y moléculas enlazadas a células en la patogénesis de la AR. Su uso en la clínica como una terapia rutinaria para la AR permitirá evaluar su utilidad. El tratamiento ideal debe ser inocuo, económico, con un efecto de remisión sostenido, y que

detenga el daño radiológico. No hay que pasar por alto el hecho de que estos anticuerpos inhiben de manera prolongada a los linfocitos y las citocinas, dando lugar a inmunosupresión y favoreciendo la incidencia de tumores, particularmente de leucemias y linfomas. En consecuencia, el tratamiento ideal con estos agentes biológicos será aquel que muestre efectividad a dosis mínimas, lo cual parece lograrse cuando se administran conjuntamente con drogas antirreumáticas que modifican el padecimiento. La terapia génica en la AR se encuentra apenas en desarrollo. Los estudios en animales de experimentación y los preliminares en pacientes indican que es eficaz e inocua. Sin embargo, es necesario obtener datos sobre la bioseguridad de los vectores virales a utilizar en los individuos con AR.

Correspondencia: Dr. Librado Ortiz-Ortiz, correo electrónico: orlizfl@hotmail.com

Referencias

1. Arnett, F.C. Edworthy, S.M., Bloch, D.A., et al. 1988. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 31:315-324.
2. Williams, R.O. 2007. Pathogenesis and therapy of rheumatoid arthritis. *En, Tissue-Specific Estrogen Action.* K.S. Korach, T. Wintermantel, editores. Springer. pp. 107-130.
3. Anaya, J.M. 1999. Genes y artritis reumatoidea. *Rev. Colomb. Reumatol.* 6:240-250.
4. Gibson, A. 1928. The etiology of rheumatoid arthritis. *J. Bone Joint Surg. Am.* 19:747-756.
5. Prakken, B.J., Carson, D.A., Albani, S. 2001. T cell repertoire formation and molecular mimicry in rheumatoid arthritis. *En, Rheumatoid Arthritis.* J.J. Goronzy, C.M. Weyand, editores. Karger, Basel, pp 51-63.
6. Morales-Zambrano, R.A. 2007. Enfermedades de la colágena. *En, Inmunología Básica y Clínica.* S.A. Zambrano-Villa, editor. Mc Graw Hill, México. pp. 280-295.
7. Depper, J.M., Zvaifler, N.J. 1981. Epstein-Barr virus. Its relationship to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 24:755-761.
8. Miller, F.W., Hess, E.V., Clauw, D.J., et al. 2000. Approaches for identifying and defining environmentally associated rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 43:243-248.
9. Kaufman, L.D., Varga, J., (editores.) 1999. *Rheumatic Diseases and the Environment.* Arnold Publishers, London.
10. Mikuls, T.R., Cerhan, J.R., Criswell, L.A., et al. 2002. Coffee, tea, and caffeine consumption and risk of rheumatoid arthritis: results from the Iowa women's health study. *Arthritis Rheum.* 46:83-91.
11. Hazes, J.M., Dijkmans, B.A., Vandenbroucke, J.P.,

- et al. 1990. Lifestyle and the risk of rheumatoid arthritis: cigarette smoking and alcohol consumption. *Ann. Rheum. Dis.* 49:980-982.
12. Pedersen, M., Jacobsen, S., Klarlund, M., et al. 2006. Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Res. Ther.* 8:R133.
13. Ménard, H.A., Lapointe, E., Rochdi, M.D., Zhou, Z.J. 2000. Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system. *Arthritis Res. Ther.* 2:429-432.
14. Asaga, H., Yamada, M., Senshu, T. 1998. Selective deimination of vimentin in calcium ionophore-induced apoptosis of mouse peritoneal macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243:641-646.
15. Raychaudhuri, S. 2010. Recent advances in the genetics of rheumatoid arthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 22:109-118.
16. Gregersen, P.K., Silver, J., Winchester, R.J. 1987. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 30: 1205-1213.
17. Begovich, A.B., Carlton, V.E., Honigberg, L.A., et al. 2004. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am. J. Hum. Genet.* 75:330-337.
18. Van Oene, M., Wintle, R.F., Liu, X., et al. 2005. Association of the lymphoid tyrosine phosphatase R620W variant with rheumatoid arthritis, but not Crohn's disease, in Canadian population. *Arthritis Rheum.* 52:1993-1998.
19. Simkins, H.M., Merriman, M.E., Highton, J., et al. 2005. Association of the PTPN22 locus with rheumatoid arthritis in a New Zealand Caucasian cohort. *Arthritis Rheum.* 52:2222-2225.
20. Gregersen, P.K., Batliwalla. 2005. PTPN22 and rheumatoid arthritis: Gratifying replication. *Arthritis Rheum.* 52:1952-1955.
21. Plengue, R.M., Seielstad, M., Padyukov, L., et al. 2007. TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis - a genome wide study. *N. Engl. J. Med.* 357:1199-1209.
22. Müller-Ladner, U., Nishioka, K. 2000. P53 in rheumatoid arthritis: friend or foe? *Arthritis Res.* 2:175-178.
23. Atkinson, K., Reginato, A.M. The Synovium. 2003. *En, The Adult Knee.* J.J. Callaghan, A.G. Rosenberg, H.E. Rubash, P.T. Simonian, T.L. Wickiewicz, editores. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. pp. 203-212.
24. Igarashi, H., Hashimoto, J., Tomita, T., et al. 2010. TP53 mutations coincide with the ectopic expression of activation-induced cytidine deiminase in the fibroblast-like synoviocytes derived from a fraction of patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 161:71-80.
25. de Clerck, L.S. 1995. B lymphocytes and humoral immune response in rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 14, Supl. 2:14-18.
26. Simon, M., Girbal, E., Sebbag, M., et al. 1993. The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called "antikeratin antibodies", autoantibodies specific for rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.* 92:1387-1393.
27. Girbal, E., Sebbag, M., Gomesdaudrix, V., et al. 1993. Characterization of the rat esophagus epithelium antigens defined by the so called antikeratin antibodies, specific in recent-onset arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 52:749-757.
28. van Venrooij, J., Pruijn, G.J.M. 2000. Citrullination: a small change for a protein with great consequences for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2:249-251.
29. Inagaki, M., Takahara, H., Nishi, Y., et al. 1989. Ca²⁺ dependent deimination-induced disassembly of intermediate filaments involves specific modifications of the amino-terminal head domain. *J. Biol. Chem.* 254:18119-18127.
30. Tarcsa, E., Marekov, L.N., Mei, G., et al. 1996. Protein unfolding by peptidylarginine deiminase. *J. Biol. Chem.* 271:30709-30716.
31. Hueber, W., Kidd, B.A., Tomooka, B.H., et al. 2005. Antigenic microarray profiling of autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 52:2645-2655.
32. Vossenaar, E.R., Zendman, A.J., van Venrooij, W.J., Pruijn, G.J. 2003. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays* 25:1106-1118.
33. Takahara, H., Kusubata, M., Tsuchida, M., et al. 1992. Expression of peptidylarginine deiminase in the epithelial cells of mouse uterine is dependent on estrogen. *J. Biol. Chem.* 267:520-525.
34. Asaga, H., Yamada, M., Senshu, T. 1998. Selective deimination of vimentin in calcium ionophore-induced apoptosis of mouse peritoneal macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243:641-646.
35. Foulquier, C., Sebbag, M., Clavel, C., et al. 2007. Peptidyl arginine deiminase type 2 (PAD-2) and PAD-4 but not PAD-1, PAD-3, and PAD-6 are expressed in rheumatoid arthritis synovium in close association with tissue inflammation. *Arthritis Rheum.* 56:3541-3553.
36. Vossenaar, E.R., Zendman, A.J., Van Venrooij, W.J. 2004. Citrullination, a possible functional link between susceptibility genes and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 6:1-5.
37. Serrano Ríos, M. 2009. Etiopatogenia de la diabetes mellitus tipo I. *En, La Diabetes Mellitus en la Práctica Clínica,* F.J. Tébar Massó, F. Escobar Jiménez, editores. Médica Panamericana, Madrid. pp. 31-44.
38. Hamano, Y., Tsukamoto, K., Abe, M., et al. 2006. Genetic dissection of vasculitis, myeloperoxidase-specific antineutrophil cytoplasm autoantibody production, and related traits in spontaneous crescentic glomerulonephritis-forming/Kinjoh mice. *J. Immunol.* 176:3662-3673.
39. Toscano, V., F.G. Conti, Anastasi, E., et al. 2004. Importance of gluten in the induction of endocrine autoantibodies and organ dysfunction in adolescent celiac patients. *Amer. J. Gastroenterol.* 95:1742-1748.
40. Selmi, C., Mackay, I.R., Gershwin, O. D. 2011. The autoimmunity of primary biliary cirrhosis and the clonal

- selection theory. *Immunol. Cell Biol.* 89:70-80.
41. Mor-Vaknin, N., Punturieri, A., Sitwala, K., Markovitz, D.M. 2003. Vimentin is secreted by activated macrophages. *Nat. Cell Biol.* 5:59-63.
 42. Nissim, A., Winyard, P.G., Corrigan, V., et al. 2005. Generation of neoantigenic epitopes after posttranslational modification of type II collagen by factors present within the inflamed joint. *Arthritis Rheum.* 52:3829-3838.
 43. Lundberg, K., Nijenhuis, S., Vossenaar, E.R., et al. 2005. Citrullinated proteins have increased immunogenicity and arthritogenicity and their presence in arthritic joints correlated with disease severity. *Arthritis Res. Ther.* 7:R458-R467.
 44. van Lierop, M.J., den Hoed, L., Houbiers, J., et al. 2007. Endogenous HLA-DR-restricted presentation of the cartilage antigens human cartilage gp-39 and melanoma inhibitory activity in the inflamed rheumatoid joint. *Arthritis Rheum.* 56:2150-2159.
 45. Firestein, G. S. 2003. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 423:356-361.
 46. Nienhaus, R.L.F., Mandema, E., Smids, C. 1964. New serum factor in patients with rheumatoid arthritis: the antiperinuclear factor. *Ann. Rheum. Dis.* 23:302-305.
 47. Hoet, R.M., Van Venrooij, W.J. 1992. The antiperinuclear factor and antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. *En, Rheumatoid Arthritis.* J. Smolen, J. Kalden, R.N. Maini, editores. Springer-Verlag, Berlin. pp. 299-318.
 48. Young, B.J.J., Mallya, R.K., Leslie, R.D.G., et al. 1979. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Brit. Med. J.* 2:97-99.
 49. Hoet, R.M., Boerbooms, A.M.Th., Arends, D.J., et al. 1991. Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalization of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann. Rheum. Dis.* 50:611-618.
 50. Sebbag, M., Simon, M., Vincent, C., et al. 1995. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J. Clin. Invest.* 95:2672-2679.
 51. Vincent, C., de Keyser, F., Masson-Bessiere, C., et al. 1999. Anti-perinuclear factor compared with the so-called antikeratin antibodies and antibodies to human epidermis filaggrin, in the diagnosis of arthritides. *Ann. Rheum. Dis.* 58:42-48.
 52. Despres, N., Boire, G., López-Longo, F.J., Menard, H.-A. 1994. The Sa system: a novel antigen-antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 21:1027-1033.
 53. Vossenaar, E.R., Despres, N., Lapointe, E., et al. 2004. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res. Ther.* 6:R142-R150.
 54. Schellekens, G.A., de Jong, B.A.W., van den Hoogen, F.H.J., et al. 1998. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J. Clin. Invest.* 101:273-281.
 55. Kishimoto T. 2005. Interlukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology. *Annu. Rev. Immunol.* 23:1-21.
 56. Xu, H.J., Roberts-Thompson, P.J., Ahern, M.J., Zola, H. 1992. Comparative evaluation of CD5 B cells in patients with rheumatoid arthritis and essential mixed cryoimmunoglobulinemia using FACS analyzer and FACSCAN flow cytometer. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 651:594-598.
 57. Pers, J.O., Jamin, C., Predine-Hug, F., et al. 1999. The role of CD5-expressing B cells in health and disease. *Int. J. Mol. Med.* 3:239-245.
 58. Xu, H. Geddes, R., Robert-Thomson, P.J. 1994. Low molecular weight IgM and CD5B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 53:383-390.
 59. Smith, H.R., Olson, R.R. 1990. CD5+ B lymphocytes in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 17:833-835.
 60. Becker, H., Weber, C., Storch, S., Federlin, K. 1990. Relationship between CD5+ B lymphocytes and the activity of systemic autoimmunity. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 56:219-225.
 61. Nakiri, Y., Minowa, K., Suzuki, J., et al. 2007. Expression of CD22 on peripheral B cells in patients with rheumatoid arthritis: relation to CD5-positive B cells. *Clin. Rheumatol.* 26: 1721-1723.
 62. Cope, A.P., Schulze-Koops, H., Aringer, M. 2007. The central role of T cells in rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 25:S4-11.
 63. Fox, D. A. 1997. The role of T cells in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis - a new perspective. *Arthritis Rheum.* 40:598-609.
 64. De Keyser, F., Elewaut, D., Vermeersch, J., et al. 1995. The role of T cells in rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 14, suppl. 2:5-9.
 65. Liu, M.F., Kohsaka, H., Sakurai, H., et al. 1996. The presence of costimulatory molecules CD86 and CD28 in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Rheum.* 39:110-114.
 66. Nogid, A., Pham, D.Q. 2006. Role of abatacept in the management of rheumatoid arthritis. *Clin. Ther.* 28:1764-1778.
 67. Massarotti, E.M. 2008. Clinical and patient-reported outcomes in clinical trials of abatacept in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin. Ther.* 30:429-442.
 68. Shergy, W.J. 2009. Selective costimulation modulation with abatacept: a look at quality-of-life outcomes in patients with rheumatoid arthritis. *Semin. Arthritis Rheum.* 38:434-443.
 69. Smeets, T.J., Dolhain, R.J.E.M., Miltenburg, A.M., et al. 1998. Poor expression of T-cell derived cytokines and activation and proliferation markers in early rheumatoid synovial tissues. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 88:84-90.
 70. Thomas, R., Lipsky, P.E. 1997. Could endogenous self-peptides presented by dendritic cells initiate rheumatoid arthritis? *Immunol. Today* 17:559-564.
 71. Firestein, G.S. 2003. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 423:356-361.

72. Mojcik, C.F., Shevach, E.M. 1997. Adhesion molecules: a rheumatologic perspective. *Arthritis Rheum.* 40:991-1004.
73. Kunkel, S.L., Lukacs, N., Kasama, T. Strieter, R.M. 1996. The role of chemokines in inflammatory joint disease. *J. Leukoc. Biol.* 59:6-12.
74. Firestein, G.S., Alvaro-Gracia, J.M., Maki, R. 1990. Quantitative analysis of cytokine gene expression in rheumatoid arthritis. *J. Immunol.* 144:3347-3353.
75. Ridderstad, A., Abedi-Valugerdi, M., Möller, E. 1991. Cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann. Med.* 23:219-223.
76. Chen, E., Keystone, E.C., Fish, E.N. 1993. Restricted cytokine expression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 36:901-910.
77. Feldmann, M., Brennan, F.M., Maini, R. 1998. Cytokines in autoimmune disorders. *Int. Rev. Immunol.* 17:217-228.
78. Arend, W.P. 2001. Physiology of cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 45:101-106.
79. Klimiuk, P.A., Goronzy, J.J., Björnsson, J., et al. 1997. Tissue cytokine patterns distinguish variants of rheumatoid synovitis. *Amer. J. Pathol.* 151:1311-1319.
80. Feldmann, M., Brennan, F.M., Maini, R.N. 1996. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu. Rev. Immunol.* 14:397-440.
81. Kirkham, B.W., Lassere, M.N., Edmonds, J.P., et al. 2006. Synovial membrane cytokine expression is predictive of joint damage progression in rheumatoid arthritis: a two-year prospective study (the DAMAGE study cohort). *Arthritis Rheum.* 54:1122-1131.
82. Fossiez, F., Djossou, O., Chomarat, P., et al. 1996. T-cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J. Exp. Med.* 183:2593-2603.
83. Chen, X., Oppenheim, J.J., Zack Howard, O.M. 2004. Chemokines and chemokine receptors as novel therapeutic targets in rheumatoid arthritis (RA): inhibitory effects of traditional Chinese medicinal components. *Cell. Mol. Immunol.* 1:336-342.
84. Szekanecz, Z., Koch, A.E. 2001. Update on synovitis. *Curr. Rheumatol. Rep.* 3:53-63.
85. Qin, S., Rottman, J.B., Myers, P., et al. 1998. The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. *J. Clin. Invest.* 101:746-754.
86. Kim, C.H., Kunkel, E.J., Boisvert, J., et al. 2001. Bonzo/CXCR6 expression defines type 1-polarized T-cell subsets with extra lymphoid tissue homing potential. *J. Clin. Invest.* 107:595-601.
87. Koch A. 2000. Chemokines in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 1 (suppl. 1):S23
88. Lisse, J.R. 1993. Does rheumatoid factor always mean arthritis? *Postgrad. Med.* 94:133-134.
89. van Venrooij, W.J., Hazes, J.M., Visser, H. 2002. Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth. J. Med.* 60:383-388.
90. Blazek-O'Neill, B.W. 1999. Nonimaging diagnostic studies. En, *Orthopaedic Surgery. The Essentials.* M.E. Baratz, A.D. Watson, J.E. Imbriglia, editores. Thieme, New York. pp. 101-106.
91. Masson-Bessière, C., Sebbag, M., Durieux, J.J., et al. 2000. In the rheumatoid pannus, anti-flaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of IgG than in synovial fluid and serum. *Clin. Exp. Immunol.* 119:544-552.
92. Masson-Bessière, C., Sebbag, M., Girbal-Neuhausser, E., et al. 1999. Synovial target antigens of antiflaggrin autoantibodies are deiminated forms of fibrin alpha and beta chains (abstract). *Rev. Rheum.* 66:754.
93. Visser, H., le Cessie, S., Vos, K., et al. 2002. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum.* 46:357-365.
94. Meyer, O., Labarre, C., Dougados, M., et al. 2003. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann. Rheum. Dis.* 62:120-126.
95. Reparón-Schuijt, C.C., van Esch, W.J., van Kooten, C., et al. 2001. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 44:41-47.
96. Bas, S. 2005. Usefulness of anti-citrullinated protein antibodies in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rev. Med. Suisse* 1:674-678.
97. Soós, L., Szekanecz, Z., Fekete, A., et al. 2007. Clinical evaluation of anti-mutated citrullinated vimentine by ELISA in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 34:1658-1663.
98. Sebbag, M., Chapuy-Regaud, S., Auger, I., et al. 2004. Clinical and pathophysiological significance of the autoimmune response to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 71:493-502.
99. Nogueira, V.C., Clavel, C., Sebbag, M., Serre, G. 2005. Autoantibodies to citrullinated proteins: ACPA. *Autoimmunity* 38:17-24.
100. Vanderlugt, C.L., Miller, S.D. 2002. Epitope spreading in immune-mediated diseases: implications for immunotherapy. *Nature Rev. Immunol.* 2:85-95.
101. Chiochia, G., Boissier, M.-C., Fournier, C. 2005. Therapy against murine collagen-induced arthritis with T cell receptor V β -specific antibodies. *Eur. J. Immunol.* 21:2899-2905.
102. Mathieson P.W., Cobbald, S.P., Hale, G., et al. 1990. Monoclonal antibody therapy in systemic vasculitis. *New Engl. J. Med.* 323:250-254.
103. Moreland, L.W., Bucy, R.P., Tilden, A., et al. 1993. Use of a chimeric monoclonal anti-CD4 antibody in patients with refractory rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 36:307-318.
104. Isaacs, J.D., Burrows, N., Wing, M., et al. 1997. Humanized anti-CD4 monoclonal antibody therapy of autoimmune and inflammatory disease. *Clin. Exp. Immunol.* 110:158-166.
105. Haringman, J.J., Oostendorp, R.L., Tak, P.P. 2005.

- Targeting cellular adhesion molecules, chemokines and chemokine receptors in rheumatoid arthritis. *Expert. Opin. Emerg. Drugs.* 10:299-310.
106. Szekanecz, Z., Koch, A.E. 2004. Therapeutic inhibition of leukocyte recruitment in inflammatory diseases. *Curr. Opin. Pharmacol.* 4:423-428.
107. Sandler, C., Joutsiniemi, S., Lindstedt, K.A., et al. 2006. Imatinib mesylate inhibits platelet derived growth factor stimulated proliferation of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 347:31-35.
108. Nakano, K., Okada, Y., Saito K., Tanaka, Y. 2004. Induction of RANKL expression and osteoclast maturation by the binding of fibroblast growth factor 2 to heparan sulfate proteoglycan on rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 50:2450-2458.
109. Fan, K., Dai, J., Wang, H., et al. 2008. Treatment of collagen-induced arthritis with an anti-osteopontin monoclonal antibody through promotion of apoptosis of both murine and human activated T cells. *Arthritis Rheum.* 58:2041-2052.
110. Piguet, P.F., Grau, G.E., Vesin, C., et al. 1992. Evolution of collagen arthritis in mice is arrested by treatment with anti-tumor necrosis factor (TNF) antibody or a recombinant soluble TNF receptor. *Immunology* 77:510-514.
111. Williams, R.O., Feldmann, M., Maini, R.N. 1992. Anti-tumor necrosis factor ameliorates joint disease in murine collagen-induced arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:9784-9788.
112. Arend, W.P., Dayer, J.-M. 1995. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2:151-160.
113. Arend, W.P. 1997. The pathophysiology and treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 40:595-597.
114. Mountz, J.D., Chen, J., Hsu, H.-C. 2005. Safe and sound. *Gene Therapy* 12:1542-1543.
115. Elsenberg, R., Albert, D. 2006. B-cell targeted therapies in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 2:20-27.
116. Roll, P., Tony, H.P. 2009. B-cell targeted therapy in the treatment of autoimmune diseases. *Z. Rheumatol.* 68:255-259.
117. Tedder, T.F. 2009. CD19: a promising B cell target for rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 5:572-577.
118. Elliot, M.J., Maini, R.M., Feldmann, M., et al. 2008. Treatment of rheumatoid arthritis with chimeric monoclonal antibodies to tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum.* 58: S92-S101.
119. Maini, R., St. Clair, E.W., Breedveld, F., et al. 1999. Infliximab (chimeric anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomized phase III trial. ATTRACT Study Group. *Lancet* 354:1932-1939.
120. Bathon, J.M., Martin, R.W., Fleischmann, R.M., et al. 2000. A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.* 343:1586-1593.
121. Molta, Ch.T. 2007. Etanercept. *En, Biologics in General Medicine.* W.-H. Boehncke, H.H. Radeke, editores. Springer, New York. pp. 32-41.
122. Salfeld, J., Kaymakcalan, Z., Tracey, D., et al. 1998. Generation of fully human anti-TNF antibody D2E7 (abstract). *Arthritis Rheum.* 41, suppl. 9:S57.
123. Barrera, P., van der Maas, A, van Ede, A.E., et al. 2002. Drug survival, efficacy and toxicity of immunotherapy with a fully human anti-tumor necrosis factor- α antibody compared with methotrexate in long-standing rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 41:430-439.
124. Fleischmann, R.M., Schechtman, J. Bennett, R., et al. 2003. Anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist (r-metHuiL-1ra), in patients with rheumatoid arthritis: A large, international, multicenter, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 48:927-934.
125. Ikonomidis, I., Lekakis, J.P., Nikolaou, M., et al. 2008. Inhibition of interleukin-1 by anakinra improves vascular and left ventricular function in patients with rheumatoid arthritis. *Circulation* 117:2662-2669.
126. Reff, M.E., Carner, K., Chambers, K.S., et al. 1994. Depletion of B-cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 83:435-445.
127. Edwards, J.C., Cambridge, G. 2005. Prospects for B-cell-targeted therapy in autoimmune diseases. *Rheumatology* 44:151-156.
128. Roll, P., Palanichamy, A., Kneitz, C., et al. 2006. Regeneration of B cell subsets after transient B cell depletion using anti-CD20 antibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 54:2377-2386.
129. Rehnberg, M., Amu, S., Tarkowski, A., et al. 2009. Short- and long-term effects of anti-CD20 treatment on B cell ontogeny in bone marrow of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 11:R123.
130. Whiting, C.C., Ramanujan, S., Young, D.L., et al. 2007. Mechanism of action of abatement: insights from predictive biosimulation studies. *J. Immunol.* 178:S146
131. Arlene, H., Sharpe, A.H., Abbas, A.K. 2006. T-cell costimulation-biology, therapeutic potential, and challenges. *N. Engl. J. Med.* 355:973-975.
132. Makarov, S.S., Olsen, J.C., Johnston, W.N., et al. 1996. Suppression of experimental arthritis by gene transfer of interleukin 1 receptor antagonist cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:402-406.
133. Müller-Ladner, U., Roberts, C.R., Franklin, B.N., et al. 1997. Human IL-1Ra gene transfer into human synovial fibroblasts is chondroprotective. *J. Immunol.* 158:3492-3498.
134. Gabay, C. 2000. IL-1 inhibitors: novel agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Exp. Opin. Investig. Drugs* 9:113-127.
135. Evans, C.H., Robbins, P.D., Ghivizzani, S.C., et al. 2005. Gene transfer to human joints: Progress toward a gene

therapy of arthritis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:8698-8703.

136. Wheling, P., Reinecke, J., Baltzer, A.A., et al. 2009. Clinical responses to gene therapy in joints of two subjects with rheumatoid arthritis. Hum. Gene Ther. 20:97-101.

137. Mease, P.J., Wei, N., Fudman, E.J., et al. 2010. Safety, tolerability, and clinical outcomes after intraarticular injection of a recombinant adeno-associated vector containing a TNF antagonist gene: results of a phase 1/2 study. J. Rheumatol. 37:692-704.