

Antígenos reconocidos por el suero de pacientes con artritis reumatoide

Eber Oliva-Gutiérrez¹, Mayra Paulina Martínez-Godoy², Martín Zapata-Zúñiga³, Sergio Hugo Sánchez-Rodríguez^{4*}

1 Estudiante de la Licenciatura en Biología. Laboratorio de Biología Celular. Unidad Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Zacatecas. E-mail: eberolivagtz@hotmail.com

2 Estudiante de la Licenciatura en Biología. Laboratorio de Biología Celular. Unidad Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Zacatecas. E-mail: pau5_mpmg@hotmail.com

3 Médico internista y reumatólogo. Hospital General Jerez, Servicios de Salud de Zacatecas. Hospital Rural No. 51 IMSS oportunidades en Villanueva Zacatecas. E-mail: martinzz1@yahoo.com

4 Doctor en Ciencias. Laboratorio de Biología Celular. Unidad Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Zacatecas. E-mail: smdck@hotmail.com

Correspondencia:

✉ smdck@hotmail.com

* Fernando Villalpando # 80. Col. Ramón López Velarde. Guadalupe, Zacatecas. 98600, México.

Resumen

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad articular inflamatoria crónica que lleva a una destrucción progresiva de cartílago y hueso. Se ha establecido una relación entre los haplotipos del sistema antígeno leucocitario humano clase II y la predisposición a desarrollar esta enfermedad; involucrando factores genéticos, ambientales, étnicos, geográficos, nutricionales, inmunológicos y hormonales, entre otros. El objetivo del presente estudio es la detección de antígenos celulares que son reconocidos por los auto-anticuerpos provenientes de pacientes con AR. Material y métodos: se colectaron 30 sueros de pacientes con AR. Para la detección de los antígenos, se utilizó piel de ratón, cuyas proteínas fueron caracterizadas por *Western Blot* e inmunodetectadas con el suero de estos pacientes. Resultados: El 50 % de los sueros analizados reconoció 14 antígenos diferentes. De este 50 % (2 hombres y 13 mujeres), la relación de género fue de 6:1, cuya edad promedio en mujeres fue de 48 años. Los antígenos detectados por los auto-anticuerpos fueron sPLA2, colágeno tipo II, HSP90, cPLA2, HSP70, Ro60, HSP60, p53, calreticulina, p105-p42, aldolasa, OMP C, Hn-RNP-A2, TNF- α . Conclusiones: Se detectaron 14 antígenos por medio de 15 sueros, algunos útiles para diagnóstico. De 30 sueros utilizados en este estudio, el 50 % de ellos no dieron reacción.

Palabras clave: Artritis reumatoide, antígenos, auto-anticuerpos.

Antigens recognized for sera of patients with rheumatoid arthritis

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a joint chronic inflammatory disease carrying to progressive destruction of cartilage and bone. It has established a relationship between haplotypes of human leukocyte antigens system of class II and predisposition to the disease involving genetic, environmental, ethnic, geographical, nutritional,



This article is available from:
www.archivosdemedicina.com

immunological and hormonal, among others factors. The aim of this study is the cellular antigens detection that are recognized by auto-antibodies from patients with RA. Material and methods: Were collected 30 sera from patients with RA. For detection of antigens was used mouse skin whose proteins were characterized by *Western Blot* and immunodetected with serum from these patients. Results: 50% of the sera recognized 14 different antigens. Of this 50 % (2 men and 13 women), gender ratio was 6:1, in women average age was 48 years. The antigens detected by auto-antibodies were sPLA2, collagen type II, HSP90, cPLA2, HSP70, Ro60, HSP60, p53, calreticuline, p105-p42, aldolase, OMP C, Hn-RPN-A2, TNF- α . Conclusions: Were found 14 antigens in 15 sera, some useful for diagnosis. Of 30 sera utilized in this study, 50 % of these sera gave no reaction.

Key words: Rheumatoid arthritis, antigens, auto-antibodies.

Introducción

Las enfermedades reumáticas afectan el tejido conectivo [1,2]. Algunas de ellas conocidas como enfermedades auto-inmunes, donde el sistema inmune se altera y daña los tejidos propios [3], como en el caso de la artritis reumatoide (AR). El signo cardinal de todos los tipos de artritis es la inflamación de las articulaciones sinoviales y pueden tener diferentes etiopatogenias, por ello, existen muchos tipos de artritis, como la artritis psoriásica, las artritis infecciosas, la gota, la AR, etc. [1].

La AR es una enfermedad inflamatoria [4], crónica [5], deformante, de carácter sistémico [6], cuya etiología es multifactorial [7] y afecta principalmente las membranas sinoviales de las articulaciones diartrodiales [8,9,10,11,12]. También puede incluir manifestaciones extra-articulares [9] como vasculitis, glomerulonefritis, pericarditis, pleuritis, escleritis, entre otras. Las manifestaciones extra-articulares más frecuentes, son los nódulos reumatoides, se encuentran comúnmente en las superficies extensivas de los codos, articulaciones de los dedos, protuberancias isquiática y hueso sacro, cuero cabelludo occipital y tendón de Aquiles, aunque también se pueden encontrar en órganos internos. Los pacientes con manifestaciones extra-articulares muestran un riesgo más elevado de desarrollar una enfermedad cardiovascular (CV) o graves infecciones [2]. Su prevalencia es alrededor del 1 % en la población general [2,13,14,15], y es más frecuente en mujeres que en hombres [2,6,16]. La incidencia en mujeres ocurre entre los 40 y los 60 años de edad [6,17].

La AR se caracteriza por la participación de factores genéticos [17], ambientales, étnicos [7,18], geográficos [19], nutricionales [20] inmunológicos, hormonales [21], entre otros [9] que interaccionan y llevan al desarrollo de una reacción autoinmunitaria. Estudios en familiares han mostrado que existe un alto grado de predisposición genética hacia la autoinmunidad [7]. La genética influye en gran medida en la prevalencia de la AR. Se ha estimado que la región del *complejo mayor de*

histocompatibilidad (CMH) del genoma humano, denominado *Human Leukocyte Antigen* (HLA, por sus siglas en ingles) [2], cuenta con un tercio del componente genético general de riesgo para desarrollar AR [22,23]. Gran parte del riesgo de presentar AR es atribuido a los alelos en el genotipo HLA-DRB1 [24,25,26].

La presencia de los alelos DRB1*0401 y DRB1*0404, con una inflamación crónica en pacientes con AR, puede favorecer un mayor riesgo de desarrollar una enfermedad CV [27]. Un factor que se ha relacionado con el incremento del riesgo para desarrollar AR, es fumar [2]. Klareskog y col., en 2006 observaron una correlación genético-ambiental entre la presencia del alelo HLA-DRB1*0401 [28] y anticuerpos anti-CCP (anti-péptidos cíclicos citrulinados) en individuos fumadores con AR [13].

La AR conlleva la producción de auto-anticuerpos dirigidos hacia numerosos antígenos, pero la mayoría de esos auto-anticuerpos no son específicos para AR [29]. El factor reumatoide considerado como biomarcador en AR [14,30,31], posee una gran sensibilidad para el diagnóstico de AR, el problema es su baja especificidad ya que puede detectarse en otros trastornos inflamatorios agudos y crónicos de tipo autoinmune, infecciosos u otros; e incluso en población sana, principalmente mayores de 55 años [14], por lo que actualmente se utiliza otros marcadores más específicos que permiten conocer no solo el diagnóstico de la enfermedad, sino también facilitar el diagnóstico diferencial con otras enfermedades inflamatorias, dichos marcadores son los anticuerpos anti-CCP [14,32,33], ya que se ha demostrado que los auto-anticuerpos de AR reconocen péptidos que contienen residuos de citrulina [6,28,34] y son actualmente usados como herramienta para el diagnóstico de AR [28,30,35]. Ejemplo de ellos son los antígenos o proteínas citrulinadas con alta especificidad para AR, entre las que se encuentran la filagrina, las colagenas tipo I y II, fibrinógeno, Sa y vimentina [13]. El antígeno Sa, ha sido identificado como vimentina citrulinada y se ha demostrado que está presente en el líquido sinovial

de pacientes con AR [34,36]. Estos antígenos son valorados con técnicas de laboratorio como la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y Western Blot [31,37,38].

En AR, se realiza investigación con el objetivo de explicar el rol de los auto-anticuerpos y antígenos que modulan la enfermedad, por ello, son usados como marcadores de diagnóstico temprano [39]. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue la detección de antígenos celulares que reconocen los auto-anticuerpos de pacientes con artritis reumatoide de población del estado de Zacatecas, México.

Material y métodos

Pacientes con AR. Los pacientes con AR asisten a consulta en el sector público (programa IMSS oportunidades) en la ciudad de Villanueva y de Zacatecas. La selección de los pacientes se basó en los criterios establecidos por el Colegio Americano de Reumatología, resultando también seropositivos en pruebas de laboratorio.

Obtención de los sueros. Se obtuvo 10 mL de sangre mediante venopunción y se pasó a un tubo de ensayo sin anticoagulante. Las muestras obtenidas se llevaron al laboratorio para ser centrifugadas a 1500 rpm. Se obtuvo el suero, el cual contenía los auto-anticuerpos, entre otros elementos.

Preparación antigénica y cuantificación de proteínas. Los ratones neonatos de tres días de nacidos, se inmovilizaron a baja temperatura (4 °C), se obtuvo la piel, ésta se congeló en nitrógeno líquido y en un mortero se maceró para obtener el extracto antigénico, a esto se le adicionó 1 mL de buffer de lisis el cual está compuesto de: Tritón X-100 al 1 %, NaCl 140 mM, EDTA 1 mM, Tris-HCl 10 mM pH 7.6, y 1 mM de inhibidor de proteasas (PMSF; P-7626, Sigma Chemical Co, St Louis MO, USA). Después se homogenizó y centrifugó a 14,000 rpm/10 min y se rescató el sobrenadante [40]. Del sobrenadante se realizó la cuantificación de proteínas mediante la técnica descrita por Bradford [41]. Posteriormente, utilizando 15 µg de proteína, estas se caracterizaron por la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE-SDS al 12.5 %) para separar por masa molecular a las proteínas [42].

Western Blot e inmunodetección: Las proteínas separadas por PAGE-SDS fueron transferidas a papel de nitrocelulosa. Después, para verificar si la transferencia tuvo éxito, la membrana de nitrocelulosa fue teñida con solución de Ponceau, donde se observaron las bandas de proteína de color rojo. La membrana fue marcada en carriles, numerándolos y cortándolos. Las tiras se destiñeron con agua destilada y fueron

colocadas en solución bloqueadora PBS/leche al 3 % durante 24 h con la intención de evitar uniones inespecíficas durante la inmunodetección. Para visualizar la unión antígeno-anticuerpo, se realizó una primera incubación de cada una de las tiras con el suero de cada paciente con AR, diluido 1:500 con solución bloqueadora al 3 % durante 1 h. Posteriormente se realizaron cinco lavados alternando PBS y PBS-Tween al 3 %. Para identificar la unión del anticuerpo al antígeno, se realizó una segunda incubación durante 1 h, esta vez utilizando un anticuerpo anti-IgG humano conjugado a la enzima peroxidasa, que reconoce la región Fc de las inmunoglobulinas provenientes del suero de los pacientes con AR. Después se lavó diez veces alternando PBS y PBS-Tween al 3%. La unión de este complejo se detectó mediante las técnicas de color utilizando 3,3'Diaminobencidina o por quimioluminiscencia (ECL plus "Western Blotting Detection Reagents, RPN2106). Posteriormente se visualizó el complejo antígeno-anticuerpo calculando su peso molecular aproximado mediante proteínas de referencia, y se asociaron a proteínas prevalentes en esta patología.

Resultados

Caracterización de sueros de pacientes con AR por Western Blot

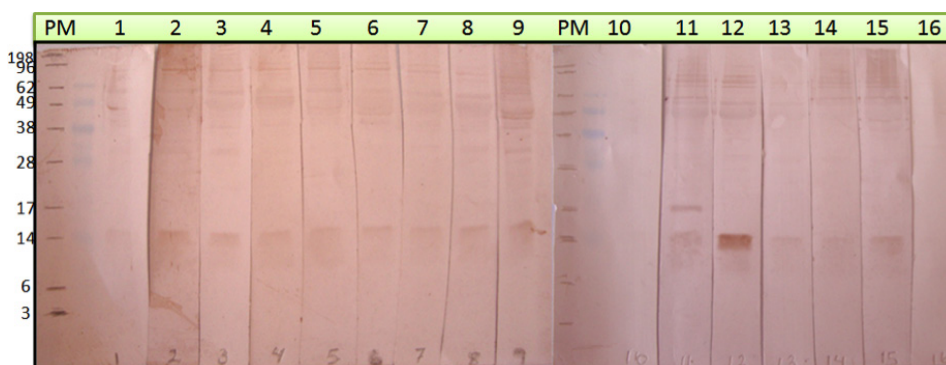
Mediante la técnica de Western Blot, se analizaron 30 sueros de pacientes con AR utilizando como extracto antigénico células de piel de ratón. De las 30 muestras analizadas, 15 expresaron reconocimiento antigénico (**Figura 1**), mientras que las 15 restantes no expresaron reconocimiento antigénico como se muestra en la **tabla 1**. Cabe hacer mención que, de estos 15 pacientes con AR (2 hombre y 13 mujeres), la relación de género fue de 6:1, cuya edad promedio en mujeres fue de 48 años.

Tabla 1. Reconocimiento antigénico de sueros de pacientes con AR obtenidos por la técnica de Western Blot e inmunodetección.

Sueros	Número	Porcentaje
Positivos	15	50%
Negativos	15	50%
Total	30	100%

En los 15 resultados seropositivos obtenidos por la técnica de Western Blot, se identificaron diferentes proteínas antigénicas, tomándose en cuenta las proteínas más notorias de las membranas de nitrocelulosa del corrimiento electroforético como se muestra en la **figura 1**.

Figura 1. Proteínas reconocidas por los sueros de pacientes con AR. Sueros que dieron reacción (Bandas 1-15), suero control negativo (Banda 16). Técnica de Western Blot e inmunodetección.



Identificación y caracterización de antígenos

De los 15 sueros positivos, se detectaron 52 bandas reactivas en las tiras de nitrocelulosa correspondientes a 14 antígenos diferentes. Se obtuvo una gran variedad antigénica con pesos moleculares que van de los 14 a 96 kDa. Los antígenos detectados por los sueros de pacientes con AR fueron sPLA2, colágeno tipo II, HSP90, cPLA2, HSP70 y/o BiP, fosfoproteína inducida a estrés, Ro60 y/o HSP60, P53, calreticulina, p105-p42, aldolasa, OMP C, Hn-RNP-A2 y TNF- α como se muestra en la **tabla 2**.

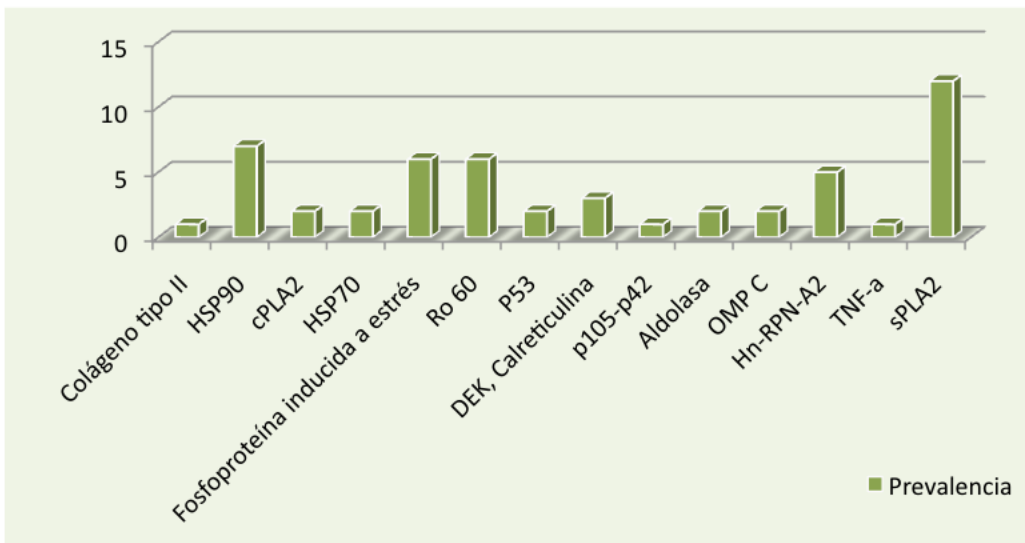
Prevalencia de antígenos reconocidos por el suero de pacientes con AR

Los sueros reconocieron diferentes antígenos celulares, cuyo patrón de bandeo en algunos sueros es similar al de otros, encontrando péptidos proteicos más prevalentes que otros como son HSP90, Ro60, fosfoproteína inducida a estrés, Hn-RNP-A2 y Grupo II sPLA2 (**gráfica 1**).

Tabla 2. Péptidos detectados por el suero de pacientes con AR.

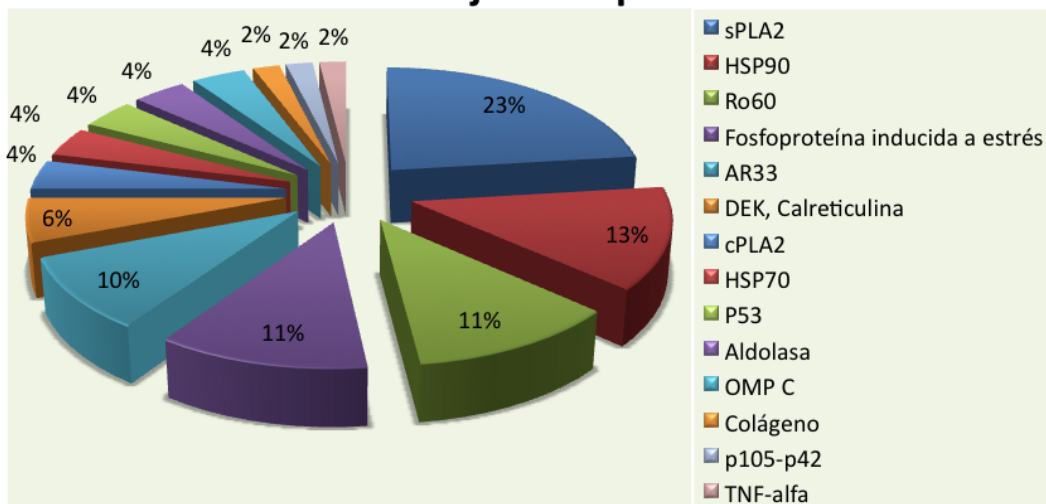
Antígenos	Anticuerpos	Peso Molecular Literatura	Peso Molecular Encontrado	Número de Bandas	Sueros que lo expresaron
Colágeno tipo II	Anti-Colágeno	95 kDa	95 kDa	1	9
HSP90	Anti-HSP90	90 kDa	89.3 kDa	7	2-8
cPLA2	Anti-cPLA2	85 kDa	84.66 kDa	2	11,12
HSP70, BiP 78	Anti-HSP70, Anti-BiP-78	70 kDa	73.33 kDa	2	11,12
Fosfoproteína inducida a estrés	Anti-Fosfoproteína inducida a estrés	62 kDa	62 kDa	6	2-7
Ro60	Anti-Ro60	60 kDa	57.66 kDa	6	8,9,11,12,14,15
P53	Anti-P53	(53.33)	53.33 kDa	2	11,12
Calreticulina	Anti-calreticulina	46 kDa	44.6 kDa	3	6,12,15
p105-p42	p105-p42	42 kDa	42.4 kDa	1	9
Aldolasa	Anti-Aldolasa	40 kDa	40.2 kDa	2	6,15
OMP C	Anti-OMP C	38 kDa	38 kDa	2	3,9
Hn-RNP-A2	Anti-AR33	33 kDa	32.25 kDa	5	2,3,7,8,9
TNF-a	Anti-TNF-a	17 kDa	17 kDa	1	11
Group II sPLA2	Anti-sPLA2	14 kDa	14 kDa	12	2-9,12-15

Patrón Antigénico



Gráfica 1. Patrón de reconocimiento antigénico.

Porcentaje de expresión



Gráfica 2. Porcentaje de expresión de antígenos reconocidos por el suero de pacientes con AR.

Porcentaje de expresión de antígenos en AR

El porcentaje de reconocimiento antigénico obtenido por Western Blot fue con la siguiente proporción: sPLA2 fue el más detectado con un 23%, seguido de HSP90 con 13%, la proteína Ro60 y la fosfoproteína inducida a estrés con 11%, Hn-RNP-A2 con un 10 %, calreticulina 6%, mientras que el porcentaje de cPLA2, HSP70, P53, aldolasa y OMP C fue el más bajo, obteniendo 4% de sensibilidad. Los antígenos con menos porcentaje fueron: colágeno tipo II, p105-p42 y TNF- α con un porcentaje de 2%, como se muestra en la **Gráfica 2**.

Discusión

En el presente estudio se investigó el reconocimiento de diversos antígenos celulares de piel de ratón por auto-anticuerpos procedentes del suero de pacientes con AR. De 30 pacientes con AR, 15 pacientes reconocieron antígenos por la técnica de Western Blot (2 hombre y trece mujeres) donde la relación de género fue de 6:1, este dato no coincide con lo publicado por Hochberg y col., [2] donde menciona una relación de 3:1. Lo anterior posiblemente se deba a que el número de pacientes que se analizaron en este estudio fue bajo. Asimismo encontramos que la edad promedio en mu-

eres fue de 48 años, datos que coinciden con lo reportado por Olivares y col., [13].

Al analizar estos sueros por Western Blot, observamos distintos péptidos antigénicos, entre ellos uno de 14 kDa, posiblemente perteneciente a la fosfolipasa (sPLA₂) y otro de 85 kDa de la fosfolipasa (cPLA₂). Estas fosfolipasas fueron originalmente descritas y caracterizadas en plaquetas, sugiriendo que cPLA₂ es responsable de la liberación de aminoácidos inducida por agonistas en plaquetas, en tanto las sPLA₂ por sí mismas, inducen la activación de plaquetas [43]. Así, la fosfolipasa humana sPLA₂ descubierta aproximadamente un cuarto de siglo atrás, desempeña un rol importante en procesos inflamatorios [44]. En 1988 se demostró que el 25% de 51 pacientes con AR contenían en el fluido sinovial altos niveles de actividad de sPLA₂ [44]. Resultados similares obtuvieron Jamal y col., [45] al demostrar que la expresión de sPLA₂ se incrementa en la membrana sinovial en individuos con AR y Osteoartritis [46].

Se encontró además el reconocimiento de otros antígenos con un peso similar al de las proteínas de estrés HSP90, HSP70 y HSP60, coincidiendo con un estudio realizado por Hayem y col., [47], donde demuestran que existen IgGs contra las HSP70 y HSP90 en pacientes con AR, siendo más común las HSP90 en pacientes con erosiones articulares. Otro trabajo similar fue el de Panchapakesan y col., [48] quienes encontraron anticuerpos IgG e IgM contra HSP 65 y 70 en AR y Lupus Eritematoso Generalizado (LEG). Lo anterior se explica al encontrar que las HSP70 y HSP60 inducen citocinas proinflamatorias como IL-8 y TNF- α [49]. La misma banda que asociamos a HSP70 también la relacionamos a la proteína de estrés BiP-78, descrita del mismo modo en 1995 por Blass y col., [50] y observada por Bläß y col., [51] en secciones sinoviales de pacientes con AR. En un artículo previamente publicado, menciona a esta chaperona como un posible autoantígeno para esta enfermedad [52]. BiP estimula la proliferación de linfocitos T CD8+ del fluido sinovial por lo que se ha sugerido que estas células pueden llevar a cabo un papel regulador en la respuesta normal a la inflamación [53].

Se detectaron bandas similares a Ro60 y calreticulina (46 kDa) en este padecimiento. Reportes de auto-anticuerpos en AR mencionan que Ro60 se encuentra con regularidad en pacientes con esta enfermedad [50]. Otros datos publicados por *Staikou y col.*, [54] mencionan que la calreticulina se enlaza a los epitopos lineales de Ro60 en células B aumentando el reconocimiento por anticuerpos anti-Ro60, además de que sus propiedades biológicas e inmunológicas se han asociado aún más con complejos RNP Ro/La sobre los anticuerpos que se producen contra calreticulina en este y otros padecimientos reumáticos autoinmunes.

Detectamos también una banda de aproximadamente 40.2 kDa asociándola a la aldolasa (40 kDa). Esta proteína ha sido identificada en el suero de pacientes con AR erosiva [55] o grave [56]. Otra proteína reconocida por el suero de pacientes con AR tiene un peso de 53 kDa, y posiblemente corresponde a la fosfoproteína nuclear de 53 kDa (p53), que desempeña un papel importante como regulador del ciclo celular. Anticuerpos anti-p53 han sido encontrados en tejido sinovial reumatoide [57,58], mientras que Soon Lee y col., [59] mencionan que su expresión es muy baja, por lo que argumentan que p53 puede no tener un papel importante en la patogenia de AR y que solo puede representar un proceso de reparación de daño secundario al ADN debido a las reacciones inmunes e inflamatorias asociadas a la enfermedad. Así mismo, es posible que un antígeno encontrado de 17 kDa, pudiera ser TNF- α . Esta potente citocina inflamatoria ha sido encontrada en esta patología [60,61] y su secreción al ser inhibida por los fármacos adalimumab e infliximab, manifiesta una mejoría en estos pacientes [62]. TNF- α puede incitar la secreción de vimentina, mientras que la citocina anti-inflamatoria IL-10, bloquea su secreción [53].

La banda con más peso molecular en nuestro estudio es de aproximadamente 95 kDa, correspondiente a la masa molecular del colágeno tipo II, donde el péptido del colágeno tipo II, puede ser reconocido como antígenos por linfocitos T [63]. Otro antígeno encontrado es la proteína de membrana OMP C, la cual se ha visto que presentan reacción cruzada entre proteínas de membrana externa de *enterobacteriaceae*, y que pueden ser detectadas de manera muy consistente en muestras de suero y fluido sinovial de pacientes con AR [64]. El Gabalawy y Wikins en 2004, descubrieron que los anticuerpos anti-Sa son dirigidos hacia antígenos citrulinados como la vimentina en pacientes con AR temprana destinados a tener una enfermedad agresiva y destructiva. Labrador y col., [65] describieron que los anticuerpos para antígenos citoplasmáticos y nucleolares p105-p42 podrían ser usados como marcadores para un subgrupo de AR con signos de poliartritis erosiva y escleroderma. Los péptidos con masa molecular de aproximadamente 32.3 kDa los relacionamos con las ribonucleoproteínas nucleares heterogéneas, Hn-RNP-A2, las cuales se describieron en 1992 y son reconocidas por los anticuerpos anti-A2/anti-AR33. Los anti-AR33 fueron encontrados por tener alta especificidad al ser encontrados en un tercio de pacientes con AR [50].

Conclusiones

La población Zacatecana con AR muestra distintos marcadores serológicos que están involucrados en el desencadenamiento de reactividad autoinmune. En este estudio, el 50% de los sueros de pacientes con AR reconoció 14 antígenos

diferentes detectados por los auto-anticuerpos, ellos fueron sPLA2, colágeno tipo II, HSP90, cPLA2, HSP70, Ro60, HSP60, p53, calreticulina, p105-p42, aldolasa, OMP C, Hn-RNP-A2, TNF- α . De 30 sueros utilizados en este estudio, el 50 % de ellos no dieron reacción.

Es importante hacer notar, que para la continuidad de este trabajo a futuro, será necesario contar con un número mayor de pacientes. Además también se requiere contar con sueros de pacientes mono-específicos para cada antígeno, o bien, contar con una colección de anticuerpos monoclonales para un número importante de estos antígenos descritos, los cuales son blanco de los auto-anticuerpos de pacientes con AR. Por último, demostrar cuales de dichos antígenos descritos se encuentran citrulinados.

Agradecimientos

En el presente estudio agradecemos la colaboración del Dr. Pedro Martínez Tejada por la aportación de un número importante de sueros de pacientes con AR.

Referencias

1. Álvarez LB. Artritis reumatoide. Díaz de Santos, Madrid, España. 2003.
2. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH. Rheumatoid arthritis. Philadelphia. 2009.
3. Sánchez-Rodríguez SH, Barajas-Vázquez GE, Ramírez-Alvarado ED, Moreno-García A, Barbosa-Cisneros OY. El fenómeno de autoinmunidad: enfermedades y antígenos relacionados. *Rev Biomed* 2004;15:4955.
4. Roig VD, Hoces HC. Efecto de la coexistencia de fibromialgia en el índice DAS28 en mujeres con artritis reumatoide. *Reumatol Clin*. 2008;4:96-99.
5. Moreno J, Vázquez-Ortiz G, López-Blanco JA, López-Romero R, Medina F. Hacia un tratamiento no empírico de la artritis reumatoide basado en su patogenia molecular. *Reumatol Clin*. 2008;4:19-31.
6. Pérez ML, Gómara MJ, Kasi D, Alonso A, Viñas O, Ercilla G, et al. Synthesis of overlapping fibrin citrullinated peptides and their use for diagnosing rheumatoid arthritis. *Chem Biol Drug Des* 2006;68:194-200.
7. Rueda B, Orozco G, Sánchez E, Oliver J, Martín J. Factores genéticos comunes en autoinmunidad. *Reumatol Clin*. 2008;4:supl 151-4.
8. Díaz-González JF, Ferraz AI. La célula B en la patogenia de la artritis reumatoide. *Reumatol Clin*. 2007;3:176-182.
9. García VM, Quesada MMS. Artritis reumatoide fisiopatología y tratamiento. Centro Nacional de Información de Medicamentos, Instituto de Investigaciones, Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. 2004.
10. Mahler M, Fritzier MJ. Epitope specificity and significance in systemic autoimmune diseases. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010;1183:267-287.
11. Carbonell J, Badia X, EXPRESAR G. desarrollo y validación de un cuestionario de satisfacción con el tratamiento en pacientes con artritis reumatoide. *Reumatol Clin*. 2006;2:173-145.
12. Schellekens GA, Hendrik V, De Jong BAW, Van Den Hoogen FHH, Hazes JMW, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis & Rheumatism* 2000;43:155-163.
13. Olivares ME, Hernández RDF, Núñez-Álvarez CA, Caiedes J. Proteínas citrulinadas en artritis reumatoide. *Reumatol Clin*. 2011;7(1):68-71.
14. Jaude AN. Anticuerpos anti-peptido citrulinado cíclico en artritis reumatoide, artritis psoriática y otras enfermedades. *Reumatología* 2007;23:142-150.
15. Xibillé-Friedmann D, Mondragón-Flores V, Horcasitas de la Rosa C. Criteria used by primary care physicians for the diagnosis and referral to a rheumatologist of patients with rheumatoid arthritis. *Reumatol Clin*. 2006;2:235-238.
16. Ábalos MGM, Rúa VG, Sánchez CD, Rúa VR, Ramírez RJ, Raya AE, et al. calidad de vida relacionada con la salud tras terapia anti-factor de necrosis tumoral alfa en pacientes con artritis reumatoide. Un estudio piloto. *Reumatol Clin*. 2011;7:167-171.
17. Rodnan GP, Schumacher R, Zvaifler N. Compendio de las Enfermedades Reumáticas. The Arthritis Foundation, 1983, Atlanta, Georgia, USA.
18. García-Lechuz JMM. Los agentes infecciosos en la etiopatogenia de las enfermedades reumáticas. *Reumatol Clin*. 2008;4(3):29-34.
19. Peláez-Ballesteros I, Sanin LH, Moreno Montoya J, Álvarez Nemegeyi J, Burgos-Vargas R, Garza-Elizondo M, et al. Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study based on the COPCORD methodology. *J Rheumatol Suppl*. 2011;38(3):585.
20. Cardiel MH. Epidemiología de la Artritis Reumatoide. Conceptos y retos actuales. *Reumatología*. 2005;21(3):139-140.
21. Domínguez MC, Lorenzo N, Barbera A, Hernández MV, Torres AM, Nazabal M, et al. Caracterización de Moléculas HLA tipo II y evaluación de citocinas en pacientes cubanos con Artritis Reumatoide. *Revista Cubana de Reumatología*. 2006;8:43-51.
22. Serrano HA. Células colaboradoras (TH1, TH2, TH17) y reguladoras (Treg, TH3, NKT) en la artritis reumatoide. *Reumatol Clin*. 2009;5:1-5.
23. Van Der Woude D, Lie BA, Lundström E, Balsa A, Feitsma AL, Houwing-Duistermaat JJ, et al. Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1*1301. *Arthritis & Rheumatism* 2010;62:1236-1245.
24. Rego-Pérez I, Fernandez-Moreno M, Carreira-García V, Blanco FJ. Polimorfismos genéticos y farmacogenética en la artritis reumatoide. *Reumatol Clin*. 2009;5:268-279.
25. Verpoort KN, Cheung K, Ioan-Facsinay A, Van der Helm-van Mil AH, de Vries-Bouwstra JK, Allart CF, et al. Fine Specificity of the Anti-citrullinated Protein Antibody Response Is Influenced by the Shared Epitope Alleles. *Arthritis & Rheumatism*. 2007;56:3949-3952.
26. Von Delwing A, Locke J, Robinson JH, Wan-fai N. Response of Th17 to a citrullinated erthritogenic aggreccan peptide in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2010;62:143-149.
27. González-Gay MA, González-Juanatey C. Enfermedad cardiovascular en artritis reumatoide. Importancia y tratamiento clínico. *Reumatol Clin*. 2009;5:95-97.
28. Snir O, Widhe M, Hermansson M, Von Spe C, Lindberg J, Hensen S, et al. Antibodies to several citrullinated antigens are enriched in the joints of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis & Rheumatism* 2010;62:44-52.
29. Rodríguez-Mahou M, López-Longo FJ, Sánchez-Ramón S, Estecha A, García-Segovia A, Rodríguez-Molina JJ, et al. Association of Anti-Cyclic citrullinated peptide and Anti-Sa/citrullinated vimentin autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2006;55:657-661.
30. Gómez CA. Anticuerpos antipeptidos citrulinados en la artritis reumatoide. *Rev Esp Reumatol* 2004;31:165-8.
31. Hernández RDF, Cabiedes J. Técnicas inmunológicas que apoyan el diagnostico de enfermedades autoinmunes. *Reumatol Clin*. 2010;6:173-177.
32. Sanmartí R, Gómez-Puerta JA. Biomarcadores en la artritis reumatoide. *Reumatol Clin*. 2011;6:525-528.
33. Gómez A. Nuevos criterios de clasificación de artritis reumatoide. *Reumatol Clin*. 2011;6:533-537.
34. Feitsma AL, Van der Vort EIH, Franken KLMC, El Bannoudi H, Elferink BG, Drijfhout JW, et al. Identification of citrullinated vimentin peptides as T cell epitopes in HLA-DR4-positive patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2010;62:117-125.
35. Kinloch A, Lundberg K, Wait R, Wegner N, Lim NH, Zendman AJW, et al. Synovial fluid is a site of citrullination of autoantigens in inflammatory arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2008;58:2287-2295.
36. Vittecoq O, Incaugarat B, JouenBeades F, Legoedec J, Letourneur O, Rolland D. Autoantibodies recognizing citrullinated rat flaggrin in an ELISA using citrullinated and non-citrullinated recombinant proteins as antigens are highly diagnostic for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2004;135:173-180.
37. Gelpi SC. Anticuerpos en las enfermedades autoinmunitarias sistémicas. Especial mención al lupus eritematoso sistémico. *Reumatol Clin*. 2008;4 supl 1s11-16.
38. Cabiedes J, Núñez-Álvarez CA. Anticuerpos antinucleares. *Reumatol Clin*. 2010;6:224-230.
39. Oliva-Gutiérrez E, Martínez-Godoy MP, Zapata-Zúñiga M, Sánchez-Rodríguez SH. Artritis Reumatoide: Prevalencia, inmunopatogenia y antígenos relevantes para su diagnóstico. *Archivos de Medicina*. 2012;8(1:3):1-7.
40. Harlow E, Lane D. Antibodies a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, N.Y.
41. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Analitical* 1976;72:248-254.
42. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227:680-685.
43. Polgár J, Kramer RM, Um SL, Jakabowski A, Clemetson KJ. Human group II 14 kDa phospholipase A2 activates human platelets. *Biochem*. 1997;327:259-265.

44. Pruzanski W, Phospholipase A2: quo vadis?. The Journal of Rheumatology. 2005;32:400-402.
45. Jamal OS, Conaghan PG, Cunningham AM, Brooks PM, Munro VF, Scott KF. Increased expression of human type IIa secretory phospholipase A2 antigen in arthritic synovium. Ann Rheum Dis. 1998;57:550-558.
46. Fonteh AN, Samet JM, Chilton FH. Regulation of Arachidonic Acid, Eicosanoid, and Phospholipase A2 Levels in Murine Mast Cells by Recombinant stem Cell Factor. J Clin Invest. 1995;96:1432-1439.
47. Hayem G, De Brandt M, Palazzo E, Roux S, Combe B, Eliaou JF, et al. Anti-Heat Shock protein 70 kDa and 90 kDa antibodies in serum of patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 1999;58:291-296.
48. Panchapakesan J, Daglis M, Gatenby P. Antibodies to 65 kDa and 70 kDa heat shock proteins in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Immunology and Cell Biology. 1992;70:295-300.
49. Yokota S, Minota S, Minota S, Fujii N. Anti-HSP auto-antibodies enhance HSP-induced pro-inflammatory cytokine production in human monocytic cells via Toll-like receptors. International Immunology. 2006;18:573-580.
50. Steiner G, Smolen J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. Arthritis Research. 2002;4:S1-S5.
51. Bläß S, Union A, Raymackers J, Schumann F, Ungethüm U, Müller-Steinbach S, et al. The Stress Protein BiP Is Overexpressed and Is a Major B and T Cell Target in Rheumatoid Arthritis. Arthritis & Rheumatism. 2001;44:761-771.
52. Corrigal VM, Bodman-Smith MD, Fife MS, Canas B, Myers LK, Wooley PH, et al. The Human Endoplasmic Reticulum Molecular Chaperone, BiP Is an Autoantigen for Rheumatoid Arthritis and Prevents the Induction of Experimental Arthritis. J Immunol. 2001;166:1492-1498.
53. Rosales-Borjas DM, Arévalo MA, Ortiz-Ortiz L. Artritis Reumatoide: importancia de los antígenos citrulinados en el diagnóstico del padecimiento. Revista Médica de la Extensión Portuguesa. 2009;4:125-130.
54. Staikou EV, Routsias JG, Makri AA, terzoglou A, Sakarellos-Daitsiotis M, Sakarellos C, et al. Calreticum Binds preferentially with B cell linear epitopes of Ro60 kD autoantigen, enhancing recognition by anti-Ro60 kD autoantibodies. Clin Exp Immunol. 2003;134:143-150.
55. Hueber W, Hassfeld W, Smolen JS, Steiner G. Sensitivity and specificity of anti-Sa autoantibodies for rheumatoid arthritis. Rheumatology. 1999;38:155-159.
56. Ukaji F, Kitajima I, Toshikazu K, Shimizu C, Nakajima T, Maruyama I. Serum samples of patients with rheumatoid arthritis contain a specific autoantibody to "denatured" aldolase A in the osteoblast-like cell line, MG-63. Ann Rheum Dis. 1990;58:169-174.
57. Nickels A, Selter H, Pfreundschuh M, Montanarh m, Koch B. Detection of p53 in inflammatory tissue and lymphocytes using immunohistology and flow cytometry: a critical comment. J Clin Pathol. 1997;50:654-660.
58. Di Cesare E, Previti M, Lombardo F, Di Benedetto A, Mazzú N, Romano G, et al. Serum Anti-p53 Autoantibodies in Patients with Type 1 Diabetes. Annals of Clinical & Laboratory Science. 2001;31:253-258.
59. Soon Lee C, Porket I, Edmonds J, Kirkham B. Synovial membrane p53 protein immunoreactivity in rheumatoid arthritis patients. Ann Rheum Dis. 2000;59:143-145.
60. Robache-Gallea S, Morand V, Bruneau JM, Schoot\$, Tagat E, Réalao E, et al. In vitro Processing of human Tumor Necrosis Factor- α . The Journal of Biological Chemistry. 1995;270:23688-23692.
61. Ksontini R, Mackay SLD, Moldawer LL. Revisiting the Role of Tumor Necrosis Factor α and the Response to Surgical Injury and Inflammation. Arch Surg. 1998;133:558-567.
62. Mitoma H, Horiuchi T, Tsukamoto H, Tamimoto Y, Kimoto Y, Uchino A. Mechanisms for Cytotoxic Effects of Anti-Tumor Necrosis Factor Agents on Transmembrane Tumor Necrosis Factor α -Expressing Cells. Arthritis & Rheumatism. 2008;58:1248-1257.
63. Kim WU, Yoo WH, Park W, Kang YM, Kim SI, Park JH, et al. IgG antibodies to type II collagen reflect inflammatory activity in patients with rheumatoid arthritis. The Journal of Rheumatology. 2000;27(3):575-581.
64. Aoki S, Yoshikawa K, Yokoyama T, Nonogaki T, Iwasaki S, Mitsui T, et al. Role of enteric bacteria in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: evidence for antibodies to enterobacterial common antigens in rheumatoid sera and synovial fluids. Annals of the Rheumatic Diseases. 1996;55:363-369.
65. Labrador M, Alguero A, Diaz C, Geli C, Pérez E, García-Valero J, et al. Antibodies against a novel nuclear and cytoplasmic antigen (p105-p42) present in the sera of patients with a subset of rheumatoid arthritis (RA) with signs of scleroderma. Clin Exp Immunol. 1998;114:301-310.

Síguenos:



En Medicalia.org.es

Los médicos disponen de una red social para intercambiar experiencias clínicas, comentar casos y compartir conocimiento. También proporciona acceso gratuito a numerosas publicaciones. ¡Únase ahora!
<http://medicalia.org.es/>

Publish with iMedPub

<http://www.imedpub.com>

- ✓ Es una revista en español de libre acceso.
- ✓ Publica artículos originales, casos clínicos, revisiones e imágenes de interés sobre todas las áreas de medicina.

Archivos de Medicina

- ✓ Se hace bilingüe.

Para la versión en inglés los autores podrán elegir entre publicar en Archives of Medicine:

<http://www.archivesofmedicine.com>

o International Archives of Medicine:

<http://www.intarchmed.com>