

# Implicaciones funcionales de los linfocitos B en el desarrollo de la artritis reumatoide\*

María-Carolina Páez Leal, MD\*\*<sup>†‡</sup>

Luis Miguel Gómez, MV, MSc<sup>†</sup>

Juan-Manuel Anaya, MD<sup>†§</sup>

## Resumen

Los linfocitos B tienen un papel importante en la regulación del sistema inmune, pues además de producir anticuerpos, son células presentadoras de antígenos que interactúan con otras células mononucleares y contribuyen directamente en las vías inflamatorias. Existe evidencia acerca de una disrupción en la regulación de estos procesos en la patogénesis de las enfermedades autoinmunes, tales como la artritis reumatoide (AR). Esta enfermedad se caracteriza por una inflamación crónica de las articulaciones afectadas en las que es característico el desarrollo de centros germinales ectópicos en la membrana sinovial. Este microambiente facilita la diferenciación y activación de las células B, las cuales, al transformarse en células plasmáticas, secretan directamente en la membrana sinovial anticuerpos de alta afinidad. En consecuencia, la formación de complejos inmunes con la posterior activación de la cascada del complemento y el estímulo de macrófagos, contribuyen en la destrucción de la articulación. Las células B también tienen un papel relevante en la activación de las células T sinoviales y en la inducción de la síntesis de citoquinas. Finalmente, la eficacia terapéutica obtenida con la depleción de linfocitos B por medio del uso de anticuerpos monoclonales contra CD20, enfatiza su importancia en la patogénesis de la AR [Páez M-C, Gómez LM, Anaya J-M. *Functional implications of B lymphocytes in the development of rheumatoid arthritis. MedUNAB 2006; 9:34-44*].

**Palabras clave:** Linfocitos B, artritis reumatoide, factor reumatoide, anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados (Anti-CCP), BAFF, anticuerpos anti-CD20.

## Summary

B cells play a key role in regulating the immune system by producing antibodies, acting as antigen-presenting cells, providing support to other mononuclear cells, and contributing directly to inflammatory pathways. Accumulating evidence indicates that there is a disruption of these regulated processes in the pathogenesis of autoimmune diseases, including rheumatoid arthritis (RA). In RA there is a chronic inflammation in the affected joints leading to the development of ectopic germinal centers. A micro-environment is established which supports B cell activation and differentiation. Plasma cells may develop which secrete autoantibodies of high affinity directly into the synovial tissue. As a result, antigen/antibody complex formation, the activation of the complement cascade and the stimulation of macrophages may contribute to the destruction of joints. B cells also play a pivotal role in the activation of synovial T cells and the induction of cytokine secretion. Finally, the success of B cell depletion therapy by using monoclonal antibodies against CD20 further emphasized the importance of B cells in the pathogenesis of RA [Páez M-C, Gómez LM, Anaya J-M. *Functional implications of B lymphocytes in the development of rheumatoid arthritis. MedUNAB 2006; 9:34-44*].

**Key words:** B cells, rheumatoid arthritis, rheumatoid factor, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (Anti-CCP), BAFF, anti-CD20.

\* Nota del editor: Una versión previa de este artículo fue publicado en Anaya JM, Pineda-Tamayo R, Gómez LM, Galarza C, Rojas-Villarraga A, Martín J (Eds). *Artritis reumatoide. Bases moleculares, clínicas y terapéuticas. Medellín: CIB, Universidad del Rosario y Funpar, 2006. Publicado con permiso de los editores.*

\*\* Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Bucaramanga, Bucaramanga, Colombia.

<sup>†</sup> Unidad de Biología Celular e Inmunogenética, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Medellín, Colombia.

<sup>‡</sup> Maestría en Biología con énfasis en Autoinmunidad, Facultad de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>§</sup> Universidad del Rosario (Convenio CIB), Medellín, Colombia.

**Correspondencia:** Dr. Juan Manuel Anaya, Unidad de Biología Celular e Inmunogenética, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Medellín, Colombia. Carrera 72A No. 78B-141, Medellín, Colombia. E-mail: janaya@cib.org.co

## Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica de etiología desconocida, que afecta principalmente las articulaciones diartrodiales, y cuya frecuencia estimada en la población latinoamericana es aproximadamente del 0,4%.<sup>1</sup> Basándose en el predominio de los linfocitos T (LT) en la sinovia de los pacientes con AR, estas células han sido señaladas como claves en el estudio de la AR y otras enfermedades autoinmunes (EAI), hasta tal punto que se ha propuesto que estas enfermedades son secundarias a la presencia de LT defectuosos. Por el contrario, la descripción de la función de los linfocitos B (LB) se ha limitado a la producción de anticuerpos (Ac) y no se les ha asignado papel protagónico en autoinmunidad. La teoría que por años se ha difundido es que la persistencia de los LB autorreactivos es secundaria a la falla del mantenimiento de la tolerancia de los LT y que las citoquinas existentes en el medio potencian la proliferación de esta clase de LB.<sup>2</sup>

En la actualidad se han logrado importantes avances en el conocimiento de los LB autorreactivos. Klinman y Steinberg proponen que las EAI sistémicas son el resultado de la activación policlonal de los LB.<sup>3</sup> Por otra parte, alteraciones en los niveles de Ac se han observado en familiares de pacientes con AR,<sup>4</sup> como la aumentada producción de IgG sérica observada en ellos en respuesta a mitógenos y por ende a antígenos (Ag) y a auto-Ag, lo que sugiere que los familiares de pacientes con AR podrían estar predispuestos a desarrollar algún tipo de EAI.

En las EAI, el papel limitado de los LB como productores de inmunoglobulinas (Ig) ha sido revaluado y en la actualidad se les reconocen otras funciones, entre ellas su

papel como célula presentadora profesional de antígenos (APC), fuente importante de citoquinas y quimioquinas, y potenciadores de la actividad de los LT (figura 1).<sup>5</sup>

Algunos LB pueden ser defectuosos y podrían participar en la patogénesis de la AR, así, la tolerancia de los LB y el rompimiento de ésta, al igual que los factores que influyen sobre la supervivencia y selección de dichas células, son conceptos que deben ser revaluados a la luz de la evidencia actual como procesos implicados en la génesis de la AR.

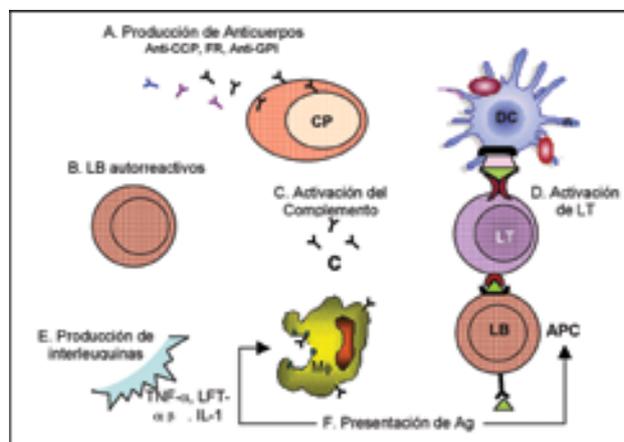
Estudios para el tratamiento de las EAI sistémicas dirigidos contra distintas subclases de LB, contra auto-Ac o ambos,<sup>6</sup> son llevados a cabo para un mayor conocimiento del papel de éstas células en la AR y sus resultados han mostrado tanto disminución eficiente en los niveles de auto-Ac, como una correlación directa con mejoría clínica. Algunos de las principales hallazgos que relacionan la ontogenia y funcionalidad de los LB con el desarrollo de la AR son planteados en este capítulo.

## Ontogenia y subpoblaciones de linfocitos B

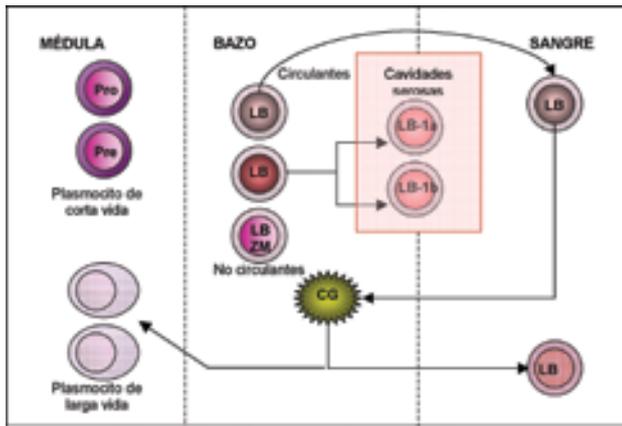
Los LB se originan en el hígado durante la vida fetal y en la médula ósea (MO) después del nacimiento,<sup>7</sup> lugar en el que estas células atraviesan por diferentes estados de maduración y donde se estima se producen diariamente aproximadamente  $2 \times 10^7$  LB.<sup>8</sup> Los LB maduros constituyen un 10 al 15% de los linfocitos periféricos en humanos, un 50% de los linfocitos esplénicos y aproximadamente un 10% de los linfocitos en MO.

Los LB expresan en su superficie una Ig de membrana como parte constitucional del receptor para antígenos (BCR), que tiene la capacidad de reconocer Ag nativos y proliferar ante ellos. La gran diversidad en el repertorio del BCR resulta del rearreglo que experimentan estas Ig, específicamente los segmentos genéticos V, D y J de la cadena pesada y de los segmentos V y J del gen de la cadena liviana, que la conforman.<sup>9</sup> Las células pro-B, que ya han experimentado el rearreglo de las Ig pasan a ser célula pre-B, las cuales son conocidas como LB inmaduros que abandonan los tejidos linfoides primarios, emigran a la periferia y llegan a los órganos linfoides secundarios (OLS), en respuesta a las señales generadas por los Ag.

Tres principales sub-tipos de LB maduros han sido claramente identificados en ratones: *LB-1*, que a su vez se dividen en *LB-1a* (CD5+) y en *LB-1b* (CD5-), *LB-2* y los LB de la zona marginal (*LB-ZM*; figura 2).<sup>10, 11</sup> Los *LB-2* son conocidos como los LB foliculares y son el prototipo de LB del sistema inmune adaptativo, ya que participan en las reacciones Timo-dependientes que tienen lugar en los centros germinales (CG), donde se diferencian a células productoras de Ac tempranas, mientras otras dan lugar a CG con hipermutación y memoria en respuesta a Ag T-dependientes.<sup>12</sup> En contraste, los *LB-1* y *LB-ZM* están localizados en sitios anatómicos específicos, los primeros



**Figura 1. Papel inmunoregulatorio de los LB en enfermedades autoinmunes.** Anti-CCP: anticuerpos anti péptidos cíclicos citrulinados; FR: factor reumatoide; Anti-GPI: anticuerpos anti-glucosa 6-fosfato isomerasa ; CP: célula plasmática; LB: linfocitos B; LT: linfocitos T; DC: célula dendrítica; APC: célula presentadora de antígeno; Mφ: macrófago; C: complemento; TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa; LFT $\alpha$ - $\beta$ : linfotóxina alfa y beta; IL-1: interleuquina -1.



**Figura 2. Ontogénesis de linfocitos B en el modelo murino.**  
LBZM: linfocito-B de zona marginal, LBM: Linfocito B de memoria.

en cavidad pleural y peritoneal, y los segundos en la ZM del bazo.<sup>13</sup> Estos LB median una respuesta temprana, con generación de Ac naturales típicamente timo-independientes, de baja afinidad y frecuentemente polirreactivos, a los cuales se les otorga propiedades protectoras en respuestas tempranas a infecciones y también parecen tener papel relevante en la generación de procesos autoinmunes.<sup>13</sup>

A diferencia de los ratones, la clasificación de los LB en los humanos no es tan clara. Los LB CD5+ se caracterizan por la producción de auto-Ac polirreactivos de baja afinidad;<sup>14</sup> aquellos que se ubican en cavidades serosas y cuyos Ac actúan como protectores contra infecciones, pueden representar el equivalente a LB-1a en ratones. Por otra parte, los LB-ZM humanos son semejantes al modelo murino tanto en características funcionales como de localización, aunque exhiben diversos patrones de marcadores de superficie (tabla 1).<sup>15</sup>

**Tabla 1.** Subtipos de LB maduros (Bm) dentro de los centros germinales

Subtipos	IgD	CD38	CD23	CD27
Bm1 (virgen)	+	-	-	-
Bm2 (activadas)	+	+	+	-
Bm2' (encontradas en centros germinales)	+	++	+	-
Bm3 (centroblasto)	-	++	-	-
Bm4 (centrocito)	-	++	-	-
Bm5 temprano (LB memoria)	-	+	-	-

El análisis de los LB en los CG dentro de los folículos linfoides (FL) secundarios, ha revelado un amplio número de marcadores de superficie, que permite clasificar los estados de desarrollo de los LB humanos en siete subpoblaciones de LB maduros (Bm).<sup>16</sup>

La proporción de LB CD5+ es por lo general constante en un individuo dado,<sup>17</sup> pero se ha visualizado un número ele-

vado de estas células como patrón, no solo en los pacientes con AR,<sup>18,19</sup> sino también en sus familiares, si se comparan con los familiares de individuos sanos.<sup>20</sup> Más importante aún, es que al parecer su expresión en los pacientes se correlaciona con actividad de la enfermedad, como en el caso particular de la AR juvenil.<sup>21</sup>

Se han identificados para algunas EAI un patrón de distribución de los subtipos de LB, sin embargo, en el caso específico de AR, las sub-poblaciones de LB de sangre periférica no evidencian diferencia significativa al compararlos con controles sanos.<sup>22, 23</sup> No obstante, se ha descrito que en el líquido sinovial (LS) de estos pacientes existen LB CD20+ CD38- con respuesta proliferativa defectuosa,<sup>24</sup> que podría ser un punto importante de partida para el estudio de las subpoblaciones localizadas de LB en estos pacientes.

## Funciones de los linfocitos B y su implicación en la génesis de la artritis reumatoidea

Los LB han sido considerados parte del sistema inmune adaptativo, especializándose en la generación de Ac protectores de alta afinidad. Sin embargo, por lo menos un subtipo de LB también participa en la respuesta inmune innata y puede representar el puente de comunicación entre ésta y la respuesta inmune adaptativa.<sup>13</sup>

En inmunidad innata, la activación de los LB tiene un papel benéfico, por medio de la generación de Ac naturales con reactividad cruzada, que contribuyen por una parte al mantenimiento de los LB de memoria y por otra, a ejercitar las funciones inmunomoduladoras que proporcionan protección contra autoinmunidad.<sup>25, 26</sup> De la misma manera, la activación de LB autorreactivos, como parte del sistema inmune sano, tiene un papel potencial en el rompimiento de la tolerancia y se considera un blanco de autoinmunidad.<sup>27</sup>

El paradigma clásico de la patogénesis de la AR se había centrado en el rol de los LT CD4+, pero nuevas evidencias han emergido en los últimos años que demuestran que parte la patogénesis de la AR está mediada por LB (tabla 2).<sup>28, 29</sup>

**Autoanticuerpos y AR.** Anticuerpos de tipo IgG producidos por LB autoreactivos pueden estar involucrados directamente en el daño tisular en AR. Además, estas células, y posiblemente otra clase de LB, median la activación de LT CD4+ sinoviales, potencian la liberación de citoquinas y regulan el daño articular (figura 3).

Una de las evidencias más interesantes del papel de estas células en AR, es el modelo transgénico de artritis K/BxN, generado por el cruce de ratones K/B (modelo murino de artritis espontánea producido por la auto-reactividad del TCR transgénico contra el Ag7 del complejo mayor de his-

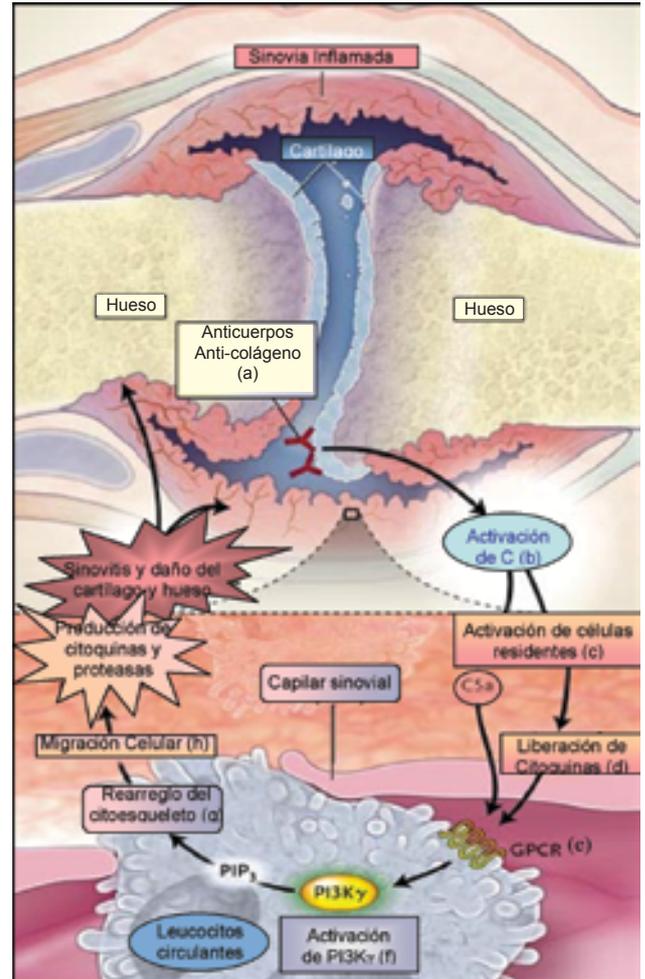
**Tabla 2.** Hallazgos fisiopatológicos en las AR que reflejan el papel de los LB en su desarrollo.

a.	Activación de LB policlonales como la alteración inmunológica más temprana en modelos animales de autoinmunidad.
b.	Presencia de diferentes tipos de auto-Ac de carácter patogénico.
c.	Presencia de inmunocomplejos y daño tisular por depósito.
d.	Evidencia de autonomía de los LB, con la producción espontáneamente de Ig y cambio de isotipo sin la ayuda de los LT.
e.	Los LB actúan como APC y activan las vías de coestimulación requeridas por los LT CD4+ para su expansión clonal y potenciación de sus funciones.
f.	Los LB son capaces de secretar citocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ ) y quimiocinas en la membrana sinovial reumatoide.

to compatibilidad -MHC- en ratones C57BL/6) con ratones NOD (diabéticos no-obesos), donde el híbrido resultante presenta una artritis severa con hallazgos patológicos similares a los de AR.<sup>31</sup> En este modelo los anticuerpos con capacidad de destrucción articular son producidos previa estimulación de los LT CD4+ y se encuentran dirigidos contra una enzima glicolítica ubicua, la Glucosa 6-fosfato isomerasa (GPI).

*Anticuerpos anti-glucosa 6-fosfato isomerasa (Anti-GPI).* Las propiedades patológicas de los anticuerpos anti-GPI se han confirmado en modelos experimentales, donde el suero de ratones K/BxN es inyectado en ratones normales y estos desarrollan una marcada artritis.<sup>32</sup> Además, recientemente se demostró que la GPI está presente en la superficie del cartílago, y que los anti-GPI pueden por lo tanto unirse a la superficie articular y formar complejos inmunes, causando daño de la articulación.<sup>33</sup> Como factor coadyuvante del daño tejido específico en este modelo, también se ha descrito la carencia de ciertos inhibidores del complemento (C) en la superficie articular, y que por lo tanto propician el daño mediado por su activación.<sup>33</sup> Lo anterior fue corroborado por un reciente estudio en pacientes con AR positivos para IgG anti-GPI, que demostró la presencia de un infiltrado celular difuso y un marcado depósito de IgG y C3 a nivel sinovial. Estos hallazgos fueron reproducidos en micos *cynomolgus*, después de inocularlos con fracciones IgG purificadas de los sueros de estos pacientes. Estos resultados confirman que la fracción IgG de pacientes con AR, incluyendo Ac anti-GPI, tienen un papel en la sinovitis asociada con AR.<sup>34</sup>

Los niveles elevados de anti-GPI en pacientes con AR pueden ser manipulados farmacológicamente, como fue demostrado recientemente por Mavropoulos *et al*, quienes evidenciaron disminución de dichos Ac con la administración intravenosa (IV) de dipeptidil peptidasa (DPP), enzima con una importante actividad anti-inflamatoria,

**Figura 3.** Esquema de daño articular mediado por anticuerpos en AR, ejemplo con Ac dirigidos contra el colágeno tipo II.

Los Ac se unen al cartílago (a) y tienen la capacidad de fijar complemento (b), para producir C5a y activar las células residentes por su unión a receptores Fc (c), induciendo la liberación de quimiocinas (d). Estas últimas se unen a receptores acoplados a proteína G (GPCR) en leucocitos circulantes (e). Estos receptores activan PI3K (f), que cataliza la conversión de PIP<sub>2</sub> a PIP<sub>3</sub>, un segundo mensajero que induce rearrreglo del citoesqueleto (g) y migración celular al interior de la sinovia inflamada (h). Las nuevas células que migran, producen más citoquinas que contribuyen a perpetuar la inflamación y aumentar el daño tisular. Adaptado de Firestein.<sup>30</sup>

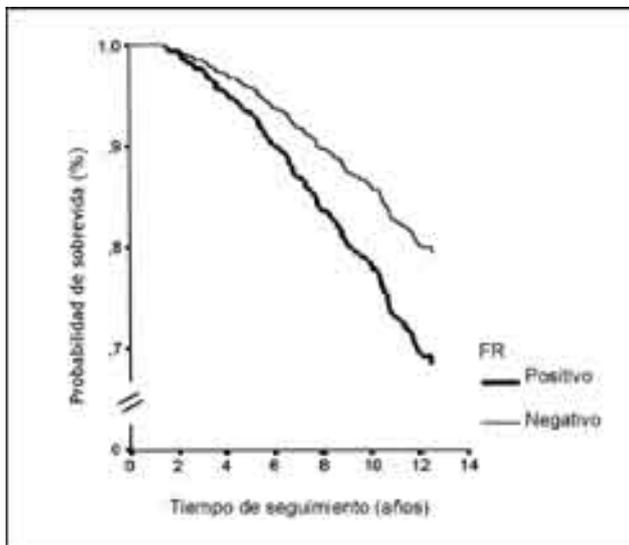
cuya forma soluble se correlacionan directamente con la activación de los LT.<sup>35</sup> En este trabajo, la administración de adalimumab, un anticuerpo monoclonal anti-TNF, promueve una reversión en el patrón enzimático de la DPP, generando un incremento de su actividad enzimática, que produce una disminución de los niveles de Ac (anti-GPI) y mejoría significativa del índice de actividad de la enfermedad DAS28.<sup>35</sup>

Otro hallazgo que soporta el papel de los Ac en AR, se enfoca en las moléculas “blanco” de estas Ig, donde es

clara la existencia de dos grupos principales de auto-Ag que son reconocidos por los auto-Ac, la región Fc de las IgG, blanco del factor reumatoide (FR) y las proteínas citrulinadas, blancos de los anti-CCP.

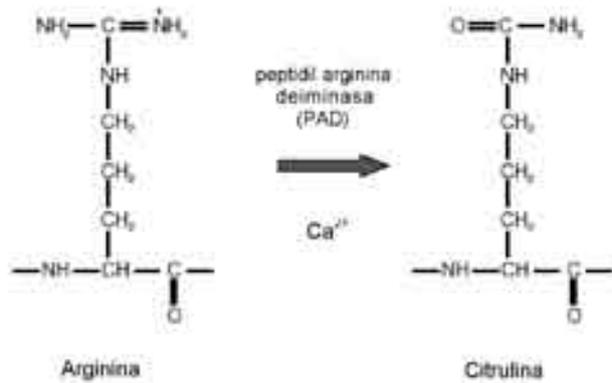
**Factor reumatoide (FR):** La activación de los LB y la producción de FR es un indicador de enfermedad severa en AR. El FR tiene la capacidad de activar la cascada del C', contribuyendo así a la lesión del órgano blanco. Además, niveles elevados se asocia con la presencia de manifestaciones extraarticulares como nódulos subcutáneos y vasculitis reumatoide y, en general, con incremento de la mortalidad.<sup>36</sup>

En estudios previos se ha descrito que el FR positivo predice la mortalidad en pacientes con AR, pero el riesgo descrito en estos varia ampliamente de acuerdo con la técnica utilizada (OR 1,93–11,9).<sup>36, 37</sup> Por lo tanto, recientemente un estudio evaluó la predicción del riesgo para el FR aplicado para cinco métodos de detección diferente, de manera individual o en combinación, y determinó que este riesgo varía de 1,32 a 1,80. Tanto la positividad para FR de tipo IgA como IgM predijo el incremento en la mortalidad en un modelo de análisis multivariado, que incluyó la edad del paciente, el sexo y la duración de la enfermedad, y que fue determinada por razón de riesgo de muerte (hazard ratio, HR); para IgA un HR = 1,002, p = 0,006 y para IgM HR de 1,003, p = 0,003.<sup>38</sup> Concluyendo que los pacientes positivos para FR, especialmente de los isotipos IgA e IgM poseen un riesgo de morir más tempranamente que los pacientes sin estos hallazgos serológicos (figura 4).



**Figura 4. Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier.** Desarrollo de mortalidad en pacientes con AR de acuerdo a la presencia o ausencia de factor reumatoide (FR). Adaptado de Sihvonon.<sup>38</sup>

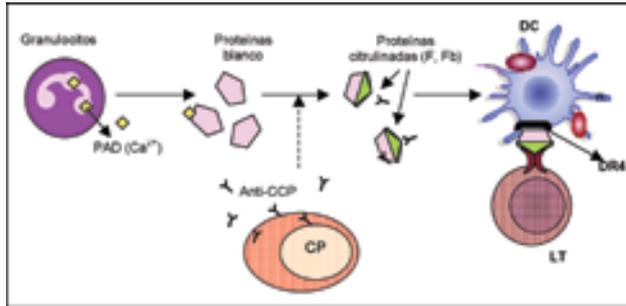
**Anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP).** Un proceso relevante en la generación de Ac es la citrulinación. Éste es el proceso por el cual los residuos de arginina en una cadena peptídica son convertidos en citrulina por deiminación, proceso que es catalizado por la enzima peptidil arginina deaminasa (PAD; figura 5).<sup>39</sup> Los Ac detectados en pacientes con AR no se unen a los péptidos cuyos residuos poseen arginina, pero si lo hacen a los citrulinados. La ELISA usada para determinar los niveles de estos Ac, utiliza péptidos cíclicos citrulinados (cyclic citrullinated peptide; CCP) derivados de la filagrina, el prototipo de proteína antigénica blanco de la AR.<sup>40</sup> El repertorio de acción de estos Ac no se limita a la filagrina, puede reconocer otros péptidos citrulinados como la fibrina y el fibrinógeno, los cuales se expresan predominantemente en las articulaciones.<sup>40</sup> La presencia de IgM anti-CCP en sinovia y LS de pacientes con AR, es un indicativo de constante activación de los LB específicos a Ag citrulinados.



**Figura 5. Conversión enzimática de las proteínas que contienen arginina a citrulina.** Adaptado de Walther.<sup>39</sup>

En la sinovia de pacientes con AR se describe la existencia de enzimas PAD y proteínas citrulinadas, como la fibrina.<sup>41</sup> Por lo menos cinco isotipos de PAD existen en los mamíferos, dos de estos isotipos (PAD2 y PAD4) se expresan en células hematopoyéticas normales<sup>42</sup> y en sinovia de pacientes con AR.<sup>43</sup> Es de especial interés la enzima PAD4, presente en el núcleo de los granulocitos y monocitos CD4+, porque variantes en el gen que codifican para esta enzima, han reportado una fuerte asociación con AR en población japonesa.<sup>42, 44</sup> La presencia de algunos haplotipos particulares (combinación de diferentes variantes ubicadas en los exones 2, 3 y 4 de este gen) se correlacionan con alteraciones en la estabilidad y maduración del mRNA, y mayores niveles de anti-CCP, lo que se plantea como una posible causa del incremento en la producción de proteínas citrulinadas, eficaces auto-Ag potenciadores de la respuesta inmune en AR (figura 6).<sup>42, 44</sup>

Los anti-CCP pueden llegar a estar presentes en más del 70% de los pacientes con AR, pero en menos del 5% de la población general, lo cual le otorga la mayor especificidad



**Figura 6. Citrulinación como activador de la respuesta inmune en AR.** F: Fibrina; Fb: Fibrinógeno. DC: célula dendrítica; LT: linfocito T; Anti-CCP: anticuerpos anti proteínas cíclicas citrulinadas

definida para un auto-Ac en esta entidad, con valores de 90,4% en comparación con la del FR que se aproxima 80,3%.<sup>45</sup> Recientemente, se ha descrito una técnica de ELISA automatizada que proporciona una mayor sensibilidad y especificidad para los anti-CCP con valores de 80 y 97%, respectivamente.<sup>46</sup> Debido a que los anti-CCP, aparecen antes del inicio de la enfermedad pueden ser usados como marcadores predictores del desarrollo de AR, se estima que estos Ac tiene un valor predictivo positivo (VPP) de 93% y un valor predictivo negativo (VPN) de 74%.<sup>46</sup> Sin embargo, para población colombiana (antioqueña) donde la frecuencia de estos Ac es del 96% en pacientes con AR, los VPP y VPN son mayores, con un 87% y 96% respectivamente.<sup>47</sup>

Recientemente un estudio que analizó pacientes que habían donado sangre, previo al desarrollo de AR, concluyó que la determinación combinada de un polimorfismo de nucleótido simple (SNP), 1858C>T en el gen que codifica para la proteína Lyp (*PTPN22*) y la cuantificación de anti-CCP en este grupo de individuos “pre-pacientes” muestra un contundente riesgo relativo alto para el desarrollo de AR, con una especificidad del 100%.<sup>48</sup> Lyp es una fosfatasa de tirosina, que participa como regulador de la activación de linfocitos T en la respuesta inmune, y cuyo SNP se ha asociado a diversas EAI severas.<sup>48</sup> Este hallazgo confirma una vez más la utilidad de este Ac como marcador predictivo de enfermedad.

## Linfocitos B como reguladores de la respuesta inmune

*Mediadores de la proliferación y activación de LT.* Diferentes estudios han demostrado el papel protagónico de los LB en la fisiopatología de la AR, ya sea por influir en la ontogénesis de las células dendríticas (DC), expresar linfotóxina-β (LT-β),<sup>49</sup> o por regular el funcionamiento de los LT al inducir su migración y diferenciación.

En un modelo animal, donde membrana sinovial de pacientes con AR fue transferido a ratones NOD con inmunodeficiencia severa combinada (NOD-SCID), mostró que aquellos tejidos carentes de LB no pudieron mantener

el infiltrado y activación de LT CD4+.<sup>50</sup> Hallazgo que se replicó, cuando a estos ratones se les administró Ac anti-CD20 (rituximab) como depletor de LB, evidenciándose una disminución del infiltrado sinovial; pero más interesante aún fue la disminución dosis dependiente de la capacidad tisular para producir interleuquinas (IL) pro-inflamatorias, como IL-1 e IFN-γ.<sup>50</sup> Lo que estaría planteando que la habilidad de los LT sinoviales para dirigir una respuesta inflamatoria de tipo Th1 podría estar gobernada por la presencia de LB, probablemente en respuesta a la presentación antígeno-específica dada por esta célula.

Los LB como APC, internalizan un antígeno específico, lo procesan y presentan a los LT e incluso a otros LB en el contexto del MHC clase II, el cual es reconocido por los LT CD4+. Este proceso no sólo mejora la inmunidad celular mediada por LT, sino que amplifica la respuesta final de los Ac. Los LB que son específicos para el FR, tienen la capacidad de captar inmunocomplejos y así presentar una gran diversidad de auto-antígenos. Se estima que los LB son 100 a 1000 veces más potentes como estimuladores de LT Ag-específicos comparados con otras APC.<sup>51</sup>

Los LB pueden regular el residenciamiento y sobrevivencia de los LT, facilitando su actividad. Algunos estudios han clarificado que los LB son mediadores críticos en la organogénesis linfoide, en parte a través de su habilidad para expresar linfotóxina-β en su superficie celular.<sup>52</sup>

Partiendo de los mecanismos aquí descritos surgieron los tratamientos con agentes biológicos que influyen sobre la viabilidad de los LB y por ende LT, con el fin de prevenir o frenar la destrucción articular. Dentro de este grupo de fármacos se encuentra el rituximab cuya acción está dirigida a la molécula CD20, un Ag de superficie altamente específico que se expresa en las células pre-B y LB maduros, pero no en los precursores ni en CP. Mecanismos potenciales por medio de los cuales el rituximab genera depleción de LB han sido descritos (tabla 3).<sup>53</sup>

*Producción polarizada de citoquinas y factores de supervivencia.* Los LB tienen un mecanismo efector crítico para el daño tisular en la AR, por medio de la producción de citoquinas pro-inflamatorias, como el TNF-α, la IL-1

**Tabla 3.** Implicaciones biológicas terapéuticas de los anti-CD20.

- Citotoxicidad mediada por células dependiente de Ac, que genera lisis de los LB CD20+ por reclutamiento de células asesinas naturales (NK), macrófagos y monocitos.
- Activación de la cascada del complemento y generación del complejo de ataque a membrana en células CD20+, es decir citotoxicidad celular dependiente de complemento.
- Promoción de la apoptosis en LB CD20+
- Disminución de LB presentadores de Ag, lo que a su vez puede disminuir la activación de los LT involucrados en la fisiopatología de la AR.

y LT- $\alpha$ ,<sup>54,55</sup> las cuales tienen la capacidad de inducir producción de IL-6, que a su vez estimula los LB y por ende perpetúan la inflamación.

Patrones en la producción de citoquinas en el microambiente sinovial de los pacientes con AR es claramente distinto en presencia de sinovitis difusa, folicular o granulomatosa.<sup>56</sup> Los niveles tisulares de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$  son bajos en pacientes con sinovitis difusa; niveles elevados de IFN- $\gamma$  asociado a altas concentraciones de IL-10 es típicamente asociado a sinovitis folicular, y la formación de granulomas se correlaciona con la producción de altas concentraciones de IFN- $\gamma$  y carencia de IL-10. En algunos pacientes se ha evidenciado mRNA sinovial de IL-4, indicando que patrones similares Th1 y Th2 pueden estar presentes en la sinovitis reumatoide.<sup>57</sup>

Partiendo de la inflamación crónica del tejido sinovial como una característica importante de la AR, se ha descrito claramente un infiltrado linfocitario estructuralmente organizado como infiltrado folicular.<sup>58</sup> Este infiltrado consiste en una agregación perivascular de LT rodeado periféricamente por LB, que pueden diferenciarse a CP.<sup>59</sup> Se estima que cerca del 30% de los pacientes con AR presentan infiltrado folicular a nivel sinovial, como CG, cuya formación es propiciada por la presencia de TNF- $\beta$  y LFT- $\beta$ .<sup>59, 60</sup>

Los LB vírgenes se diferencian en LB con diversos patrones de citoquinas después de la estimulación antigénica y del efecto polarizante de Th1 y Th2, dividiéndose en LB efectoras (Be), tipo Be1 y Be2, que una vez generados imparten capacidades funcionales a los LT (figura 7).<sup>61</sup> Por eso los LBe1, en virtud de su producción de IFN- $\gamma$  y la presentación de Ag específicos a los LT, promueven la expansión de células Th1, mientras que la IL-4 liberada por LBe2 favorece el desarrollo de células Th2. De aquí que las células Be1 y Be2 se comporten como las APC más clásicas, que potencialmente regulan el perfil de la respuesta inmune. El hecho de que los linfocitos Th1/Th2 y Be1/Be2 tengan regulación cruzada en la diferenciación

de los LT y B vírgenes aumenta la posibilidad de que exista un mecanismo de amplificación secuencial.

El destino de los LB en la AR está también controlado por factores de crecimiento o supervivencia. Una de las citoquinas más potentes, es el *factor activador de células B de la familia del TNF* (BAFF). Su administración protege a los LB de la apoptosis, incrementa su número y promueve la producción de auto-Ac específicos en EAI,<sup>62</sup> hallazgo que puede estar implicado en el desarrollo de la AR, en cuyos pacientes se ha evidenciado niveles séricos elevados de BAFF, que podrían contribuir a la sobrevida inusual de clones de LB autorreactivos.<sup>63</sup> Se han descrito tres receptores para este factor de crecimiento: un antígeno de maduración de células B (BCMA), un activador de transmembrana, modulador de calcio y ligando de ciclofilina (TACI), y el tercer receptor de BAFF (BR3). BAFF es un regulador positivo cuando se une a BR3, y su sobre-expresión puede rescatar los LB autorreactivos de la delección y facilitar su migración a microambientes crípticos.<sup>64</sup> BAFF aumenta la expresión de CD19, miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que regula la señalización intrínseca de los LB y cuya expresión es crítica para su activación.<sup>65</sup> Además, ratones transgénicos que sobreexpresan BAFF desarrollan títulos elevados de múltiples auto-Ac, entre ellos anti-DNA de doble cadena, Ac anti-nucleares y FR.<sup>66</sup> Un estudio reciente realizado en pacientes con AR, mostró mayores niveles de BAFF circulante ( $9,7 \pm 1,5$  ng/ml) en comparación con controles ( $4,8 \pm 3,8$  ng/ml),  $p < 0,02$ , y una buena correlación con los niveles de FR ( $r^2 = 0,6936$ ,  $p < 0,001$ ).<sup>67</sup>

Un estudio realizado por Tan y col demostró además, niveles elevados de BAFF en LS de pacientes con artritis inflamatoria, al compararlos con los niveles en suero de estos mismos pacientes y los encontrados en personas saludables. Este mismo estudio evidenció que los niveles de BAFF se correlacionaban significativamente con el número de monocitos, neutrófilos y linfocitos en LS, sugiriendo la producción local de BAFF por estas células inflamatorias.<sup>68</sup>

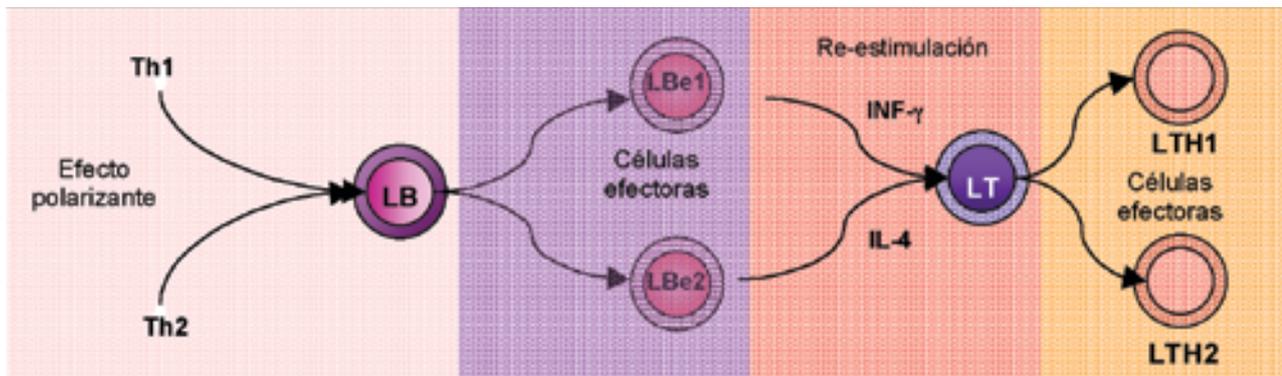


Figura 7. Efecto potenciador entre linfocitos T ayudadores y linfocitos B efectoras. Los LT ayudadores (Th) Th1 o Th2 promueven la emergencia de linfocitos B efectoras (Be) 1 o 2, y a su vez, Be1 o Be2 favorecen a Th1 o Th2. Adaptado de Harris.<sup>61</sup>

*Señalización, co-receptores y autoinmunidad en AR.* El Ag encontrado en el BCR es un punto esencial para evaluar la tolerancia a lo propio. El BCR está constituido por una subunidad de unión, una Ig de membrana y una subunidad de señalización con colas intracitoplasmáticas que contienen motivos de activación basados en tirosinas (ITAM), que constituyen sitios de unión de quinasas de tirosinas (PTK), y participan en la transducción de señales. Las interacciones de alta afinidad entre el auto-Ag y el BCR producen apoptosis de los LB inmaduros.<sup>69</sup> Por el contrario, el procesamiento de maduración para Ag externos es un poco diferente, donde los LB en maduración emergen ya sea como células con baja afinidad que resisten la apoptosis, o como células de mayor afinidad que se convierten en CP. De esta manera, los receptores para los Ag regulan positiva o negativamente la supervivencia, migración y diferenciación de los linfocitos.

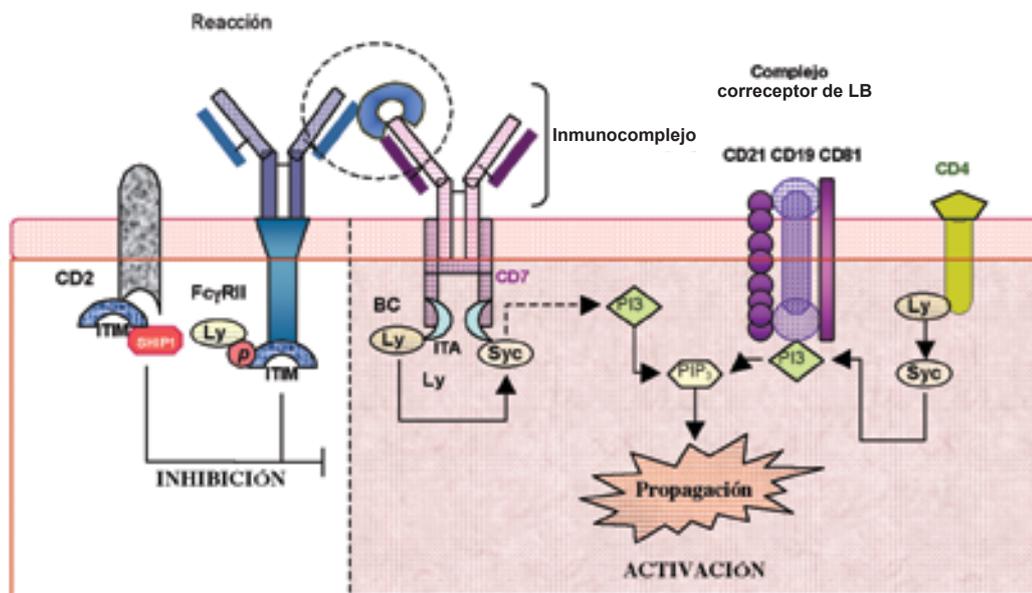
Alteraciones moleculares han sido también observadas en diversos contextos autoinmunes, que incluyen defectos de la señalización<sup>70</sup> y apoptosis anormal de linfocitos autorreactivos,<sup>71</sup> o distorsiones en la maquinaria de transducción estimulada por el CD19 y CD21, o inhibida por el CD22, CD72 y CD5.

Moléculas como el CD21, CD19 y CD81 juegan un papel importante como reguladores de las respuestas inmunes timo-independientes y sobrevivencia de los LB, al ser parte del complejo multimolecular llamado “co-receptor de las células B” (figura 8). El CD19 controla la señalización intrínseca del LB mediada por el BCR, regulando la actividad de las quinasas de la familia Src.<sup>72</sup> Modelos murinos han demostrado que ratones deficientes en

CD19 son hiporrespondedores a las señales mediadas por el BCR, en contraste con los animales que la sobreexpresan, ya que estos últimos desarrollan autoinmunidad espontánea, vuelven a los LB más sensibles a estímulos de transmembrana e inducen la producción de FR y anti-dsDNA.<sup>73</sup> Como resultado, incrementos modestos en su expresión pueden modificar el balance entre la tolerancia y autoinmunidad.

Un pequeño estudio de pacientes con AR evaluó la capacidad de los LB CD19+ para reaccionar ante el colágeno tipo II, tanto en sangre periférica (SP) como en LS, y demostró que el porcentaje de células activas en LS es significativamente mayor que en SP de controles y casos, apoyando el papel de esta glicoproteína en el mantenimiento de la actividad de los LB localizados a nivel de la sinovia articular.<sup>74</sup>

Alteraciones en el proceso de inhibición de la actividad de los LB también han sido planteados dentro de la fisiopatología de la AR, como es el caso de la glicoproteína de la superfamilia de las Ig, CD22, expresada exclusivamente en los LB maduros y que actúa como componente de señalización accesoria del BCR. Esta molécula posee en su cola intracitoplasmática, dominios inhibidores basados en tirosina (ITIM), los cuales son fosforilados ante la presencia de reacción cruzada con el BCR (figura 8), y además pueden unirse a las fosfatasa de tirosinas (SHIP-1), regulando negativamente de ambas maneras la señalización del BCR. Además, ratones deficientes en CD22 generan niveles elevados de Ac, como anti-dsDNA,<sup>76</sup> pero su papel en la fisiopatología de la AR es aún controvertido.



**Figura 8. Defectos en la activación de los LB.** Potenciación de los mecanismos estimuladores y bloqueo de los inhibitorios. Ver detalles en el texto. Adaptado de Davidson.<sup>74</sup>

Una característica de la señalización a través de receptores de membrana de tipo "multicadena", como el BCR, es el reclutamiento de algunas subunidades del receptor al interior de unos microdominios de membrana celular ricos en colesterol y gangliósido M1, denominados "balsas lipídicas" (Lipid Rafts-LR). Las cuales también albergan subunidades de transducción de tipo quinasas de tirosinas (Lyn, Lck, Fyn), estructurando así, el espacio para el ensamblaje del complejo multimérico de transducción e inicio de las vías de señalización.<sup>77, 78</sup> Un mecanismo por el cual el CD19 y el CD32 pueden modular la transducción, es prolongar su permanencia dentro de las LR, o el bloqueo de la señal. El CD19 retrasa la exclusión del BCR de las LR,<sup>79</sup> mientras que el CD32 recluta SHIP,<sup>80</sup> al igual que CD22.

**Selección de LB y autoreactividad.** La importancia de los auto-Ag en la selección negativa y positiva de los LB en MO ha sido difícil de evaluar.<sup>81</sup> Por cambios en la especificidad del BCR en MO, los LB autorreactivos pueden iniciar nuevos reordenamientos de la cadena liviana de la Ig,<sup>82, 83</sup> permitiendo que el sistema se libere de los BCR autorreactivos generados en el proceso de recombinación, no sólo por la delección clásica, sino también por recombinación continua.<sup>84</sup> Estos LB inmaduros que experimentan la reedición del receptor transcriben genes de activación de la recombinación (RAG, del inglés *recombinase-activating genes*), RAG1 y RAG2, y sintetizan endonucleasas de secuencia específica que activan las reorganizaciones V (D) J.<sup>85</sup>

En pacientes con AR los LB autorreactivos generados durante el desarrollo del LB en MO, no sufren selección. Un estudio reciente describió que independientemente de la edad y tiempo de inicio de la enfermedad, los pacientes con AR presentan un porcentaje elevado de LB nativos maduros autorreactivos en comparación con individuos sanos. Esta alteración genera LB autoreactivos en periferia, cuyos anticuerpos tienen la propiedad de ser igualmente polirreactivos, en particular con actividad anti-CCP.<sup>86</sup> Esta pérdida temprana de la tolerancia puede explicar, porque los pacientes inicialmente respondedores recaen ante el manejo con anti-CD20.<sup>87</sup>

## Conclusión

Aunque la AR se ha descrito como una entidad inflamatoria de predominio LT CD4+, las anormalidades de los LB han surgido como nuevas protagonistas en su fisiopatología, y los datos de investigaciones promisorias presentadas en esta revisión están en proceso de ser transferidos a la clínica. En este momento, la depleción de LB tiene un papel terapéutico en la AR así como en otras EAI,<sup>88</sup> y es actualmente aceptado que varias funciones de los LB están íntimamente ligadas con la acción de otras células inflamatorias que participan en estos procesos autoinmunes. Así mismo la aplicación de agentes biológicos como mediadores de los mecanismos expuestos, incluyendo

antagonistas de BAFF y Ac monoclonales anti-TNF en combinación con otros agentes, predicen futuros avances terapéuticos, útiles para disminuir la progresión de la AR<sup>67, 76</sup> e incluso inducir su remisión. Sin embargo, los consensos basados en los hallazgos clínicos están aún en construcción y los trabajos experimentales reflejan que aún existe mucho por aprender sobre el papel de los LB en el desarrollo de la AR.<sup>89</sup>

## Referencias

1. Spindler A, Bellomio V, Berman A, Lucero E, Baigorria M, Paz S et al. Prevalence of rheumatoid arthritis in Tucuman, Argentina. *J Rheumatol* 2002; 29:1166-7.
2. Lipsky PE. Systemic lupus erythematosus: an autoimmune disease of B cell hyperactivity. *Nature Immunol* 2001; 2:764-6.
3. Klinman DM, Steinberg AD. Systemic autoimmune diseases arise from polyclonal B cell activation. *J Exp Med* 1987; 165:1755-60.
4. Youinou P, Semana G, Muller S, Piette JC, Guillevin L, Jouquan J, et al. Interaction between HLA class I1 determinants and TCR elements promote the antibody production to extractable nuclear antigen-related peptides. *Hum Immunol* 1997; 52:12-21.
5. Páez MC, Gómez LM, Anaya JM. Linfocitos B. Implicaciones Funcionales en el Desarrollo de la Artritis Reumatoidea. Anaya JM, Pineda-Tamayo R, Gómez LM, Galarza Maldonado C, Rojas-Villarraga A, Martín J. *Artritis Reumatoide. Bases Moleculares, Clínicas y Terapéuticas*, Primera edición, Medellín, CIB, 2006: 69-78.
6. Gorman C, Leandro M, Isenberg D. Does B cell depletion have a role in the treatment of systemic lupus erythematosus? *Lupus* 2004; 13:312-6.
7. Defiance T, Casamayor-Palleja M, Krammer PH. The life and death of a B cell. *Adv Cancer Res* 2002; 86:195-225.
8. Osmond DG. The turnover of B cell populations. *Immunol Today* 1997; 14:34-7.
9. Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 1983; 302:575-81.
10. Martin F, Kearney JF. B-cell subsets and the mature preimmune repertoire. Marginal zone and B1 B cells as part of a "natural immune memory". *Immunol Rev* 2000; 175:70.
11. Carsetti R, Rosado MM, Wardmann H. Peripheral development of B cells in mouse and man. *Immunol Rev* 2004; 197:179
12. Song H, Cerny J. Functional heterogeneity of marginal zone B cells revealed by their ability to generate both early antibody-forming cells and germinal centers with hypermutation and memory in response to a T-dependent anti- gen. *J Exp Med* 2003; 198:1923-35.
13. Milner EC, Anolik J, Cappione A, Sanz I. Human innate B cells: a link between host defense and autoimmunity?. *Springer Semin Immun* 2005; 26:433-52
14. Lydyard PM, MacKenzie LE, Youinou P, Deane M, Jefferis R, Mageed RA. Specificity and idiotype expression of IgM produced by CD5+ and CD5- cord blood B cells. *Ann NY Acad Sci* 1992; 651:527-35.
15. Zandvoort A, Lodewijk ME, Boer NK de, Dammers PM, Kroese FG, Timens W. CD27 expression in the human splenic marginal zone: the infant marginal zone is populated by naive B cells. *Tissue Antigen* 2001; 58:234
16. Youinou P, Jamin C, Hillion S, Jousse S, Saraux A, Pers JO. Linfocitos B, en la primera línea de autoinmunidad. In: Anaya JM, Shoenfeld Y, Correa PA, García-Carrasco M, Cervera R. editor. *Autoinmunidad y Enfermedad Autoinmune*, Medellín, CIB, 2005:83-98.

17. Kipps TJ, Vaughan JH. Genetic influence on the levels of circulating CD5+ B lymphocytes. *J Immunol* 1987; 139:1060-4.
18. Youinou P, MacKenzie LE, Jouquan J, Le Goff P, Lydyard PM. CD5- positive B cells in patients with rheumatoid arthritis: phorbol ester-mediated enhancement of detection. *Ann Rheum Dis* 1987; 46:17-22.
19. Plater-Zyberk C, Maini RN, Lam K, Kennedy TD, Janossy G. A rheumatoid arthritis B cell subset expresses a phenotype similar to that in chronic lymphocytic leukemia. *Arthritis Rheum* 1985; 28:971-6.
20. Youinou P, Le Goff P, Merdignac G, Tuailon N, Lamour A, MacKenzie LE, et al. The relation between CD5-B lymphocytes in rheumatoid arthritis patients and their relatives. *Arthritis Rheum* 1990; 33:339-48.
21. Jarnis JN, Kaplan J, Fine N. Increase in CD5+ B cells in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1992; 35:204-7.
22. Arce E, Jackson DG, Gill MA, Bennet LB, Banchereau J, Pascual V. Increased frequency of pre-germinal center B cells and plasma cell precursors in the blood of children with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2001; 167:2361-9.
23. Potter KN, Mockridge CI, Rahman A, Buchan S, Hamblin T, Davidson B, et al. Disturbances in peripheral blood B cell subpopulations in autoimmune patients. *Lupus* 2002; 11:872-7.
24. Reparon-Schuijt C, van Esch WEJ, van Kooten C, Ezendan NPM, Levarht EWN, Breedveld FC, et al. Presence of a population of CD20+ CD38- lymphocytes with defective proliferative responsiveness in the synovial compartment of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2029-37.
25. Bernasconi NL, Traggiai E, Lanzavecchia A. Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells. *Science* 2002; 298:2199.
26. Fillatreau S, Sweenie CH, McGeachy MJ, Gray D, Anderton SM. B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. *Nat Immunol* 2002; 3:944.
27. Tian J, Zekzer D, Hanssen L, Lu Y, Olcott A, Kaufman DL. Lipopolysaccharide-activated B cells down-regulate Th1 immunity and prevent autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J Immunol* 2001; 167:1081.
28. Kotzin BL. The role of B cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32 (Suppl 73):14-8.
29. Panayi GS. B cells: a fundamental role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis?. *Rheumatology* 2005; 44(Suppl. 2):ii3-7.
30. Firestein GS. Inhibiting Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2006; 354:80-2.
31. Kouskoff V, Korganow AS, Duchatel V, Degott C, Benoist C, Mathis D. Organ-specific disease provoked by systemic auto-reactivity. *Cell* 1996; 87:811-22.
32. Matsumoto I, Staub A, Benoist C, Mathis D. Arthritis provoked by linked T and B cell recognition of a glycolytic enzyme. *Science* 1999; 286:1732-5.
33. Matsumoto I, Maccioni M, Lee DM, Maurice M, Simmons B, Brenner M et al. How antibodies to a ubiquitous cytoplasmic enzyme may provoke joint-specific autoimmune disease. *Nat Immunol* 2002; 3:360-5.
34. Matsumoto I, Muraki Y, Yasukochi T, Hua Z, Kori Y, Hayashi T et al. The exploration of joint-specific immunoreactions on immunoglobulins G of anti-glucose-6-phosphate isomerase antibody-positive patients with rheumatoid arthritis. *Int J Mol Med* 2005; 16:793-800.
35. Mavropoulos JC, Cuchacovich M, Llanos C, Aguillon JC, Gatica H, Pizzo SV et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy augments dipeptidyl peptidase IV activity and decreases autoantibodies to GRP78/BIP and phosphoglucose isomerase in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32:2116-24.
36. Gabriel S, Crowson C, O'Fallon W. Mortality in rheumatoid arthritis: Have we made an impact in 4 decades? *J Rheumatol* 1999; 26:2529-33.
37. Glennas A, Kvien T, Andrup O, Karstensen B, Munthe E. Recent onset arthritis in the elderly: a 5 year longitudinal observational study. *J Rheumatol* 2000; 27:101-8.
38. Sihvonen S, Korpela M, Mustila A, Mustonen J. The predictive value of rheumatoid factor isotypes, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, and antineutrophil cytoplasmic antibodies for mortality in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32:2089-94.
39. Walther J, van Venrooij, Ger J M Pruijn. Citrullination: a small change for a protein with great consequences for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2000; 2:249-51.
40. van Venrooij WJ, Pruijn GJM. Citrullination: a small change for a protein with great consequences for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2000; 2:249-51.
41. Masson-Bessière C, Sebbag M, Girbal-Neuhausser E, Nogueira L, Vincent C, Sensus T, Serre G. The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha- and beta-chains of fibrin. *J Immunol* 2001; 166:4177-84.
42. Vossenaar ER, Zendman AJW, van Venrooij WJ, Pruijn G. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bio Essays* 2003; 25:1106-18.
43. Chapuy-Ragaud S, Sebbag M, Nachat R, Baeten D, Foulquier V, Simon M et al. Peptidylarginine deiminase isoforms expressed in the synovial membrane of rheumatoid arthritis patients [abstract]. *Arthritis Res Ther* 2003; 5(Suppl 1):S2.
44. Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokuhira S, Sawada T, Suzuki M et al. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003; 34:395-402.
45. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:870-4.
46. van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, de Jong BA, Breedveld FC, Verweij CL et al. Autoantibodies predict progression to rheumatoid arthritis in undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Res Ther* 2003; 5(Suppl 1):28.
47. Correa PA, Tobon GJ, Citera G, Cadena J, Schneeberger E, Camargo JF et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis: relation with clinical features, cytokines and HLA-DRB1. *Biomedica* 2004; 24:140-52.
48. Johansson M, Årlestig L, Hallmans G, Rantapää-Dahlqvist S. PTPN22 polymorphism and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in combination strongly predicts future onset of rheumatoid arthritis and has a specificity of 100% for the disease. *Arth Res Ther* 2006; 8:1-6.
49. Gonzalez M, Mackay F, Browning JL, Kosco-Vilbois MH, Noelle RJ. The sequential role of lymphotoxin and B cells in the development of splenic follicles. *J Exp Med* 1998; 187:997-1007.
50. Takemura S, Klimiuk PA, Braun A, Coronzy JJ, Weyand CM. T cell activation in rheumatoid synovium in B cell-dependent. *J Immunol* 2001; 167:4710-8.
51. Lanzavecchia A. Receptor-mediated antigen uptake and its effect on antigen presentation to class II-restricted T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 1998; 8:773-93.
52. Yamada A, Salama AD, Sayegh MH. The role of novel T cell-costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:539-75.
53. Panayi GS, Hainsworth JD, Looney RJ, Keystone EC. Panel discussion on B cells and rituximab: mechanistic aspects, efficacy and safety in rheumatoid arthritis and non-Hodgkin's lymphoma. *Rheumatology* 2005; 44(Suppl. 2):ii18-ii20.
54. Duddy ME, Alter A, Bar-Or A. Distinct profiles of human B cell effector cytokines: a role in immune regulation? *J Immunol* 2004; 172:3422-7.

55. Pistoia V. Production of cytokines by human B cells in health and disease. *Immunol Today* 1997; 18:343-50.
56. Klimiuk PA, Goronzy JJ, Bjornsson J, Beckenbaugh RD, Weyand CM. Tissue cytokine patterns distinguish variants of rheumatoid synovitis. *Am J Pathol* 1997; 151:1311-9.
57. Weyand CM, Klimiuk PA, Goronzy JJ: Heterogeneity of rheumatoid arthritis: from phenotypes to genotypes. *Springer Semin Immunopathol* 1998; 20:5-22.
58. Cyster JG. Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science* 1999; 286:2098-102.
59. Kim H-J, Berek C. Review: B cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2000; 2:126-31.
60. Gause A, Berek C. Role of B cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: potential implications for treatment. *BioDrugs* 2001; 15:73-9.
61. Harris DP, Haynes L, Sayles PC, Duso DK, Eaton SM, Lepak NM, et al. Reciprocal regulation of polarized cytokine production by effector B and T cells. *Nature Immunol* 2000; 1:475-82.
62. Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:465-75.
63. Batten M, Groom J, Cachero TG, Qian F, Schneider P, Tschopp J, Browning JL, Mackay F. BAFF Mediates Survival of Peripheral Immature B Lymphocyte. *J Exp Med* 2000; 192:1453-65.
64. Thien M, Phan TG, Gardam S, Amesbury M, Basters A, Mackay F, et al. Excess BAFF rescues self-reactive B cells from peripheral deletion and allows them to enter forbidden follicular and marginal zone niches. *Immunity* 2004; 20:785-98.
65. Hase H, Kanno Y, Kojima M, Hasegawa K, Sakurai D, Kojima H, Tsuchiya et al. BAFF/BLYS can potentiate B-cell selection with the B-cell coreceptor complex. *Blood* 2004; 103:2257-65.
66. Mackay F, Woodcock SA, Lawton P. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J Exp Med* 1999; 190:1697-710.
67. Pers JO, Daridon C, Devauchelle V, Jousse S, Saraux A, Jamin C, Youinou P. BAFF overexpression is associated with autoantibody production in autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050:34-9.
68. Tan SM, Xu D, Roschke V, Perry JW, Arkfeld DG, Ehresmann GR et al. Local production of B lymphocyte stimulator protein and APRIL in arthritic joints of patients with inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48:982-92.
69. Reth M, Wienands J. Initiation and processing of signals from the B cell antigen receptor. *Annu Rev Immunol* 1997; 15:453-79.
70. Liossis SMC, Kovacs B, Dennis G, Kammer GC. B cells from patients with systemic lupus erythematosus display abnormal antigen receptor-mediated early transduction events. *J Clin Invest* 1996; 98:2549-57.
71. Zouali M, Sarmay G. B lymphocyte signalling pathways is systemic auto- immunity. Implications for pathogenesis and treatment. *Arthritis Rheum* 2004; 50:2730-41.
72. Tedder TF, Sato S, Poe JC, Fujimoto M. CD19 and CD22 regulate a B lymphocyte signal transduction pathway that contributes to autoimmunity. *Keio J Med* 2000; 49:1-13.
73. Sato S, Hasegawa M, Fujimoto M, Tedder TF, Takehara K. Quantitative genetic variation in CD19 expression correlates with autoimmunity. *J Immunol* 2000; 165:6635-43.
74. He X, Kang AH, Stuart JM. Anti-Human type II collagen CD19+ B cells are present in patients with rheumatoid arthritis and healthy individuals. *J Rheumatol* 2001; 28:2168-75.
75. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001; 345:340-50.
76. Oligino TJ, Dalrymple SA. Targeting B cells for the treatment of rheumatoid arthritis *Arthritis Res Ther* 2003; 5(Suppl 4):S7-S11.
77. Pierce SK. Lipid rafts and B cell activation. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:96-105.
78. Martín-Belmonte F, Millán J. Estructura y función de las balsas lipídicas ("rafts"), dominios de membrana ricos en esfingolípidos y colesterol. *Inmunología* 2001; 20:216-24.
79. Cherukuri A, Cheng PC, Sohn HW, Pierce SK. The CD19/CD21 complex functions to prolong B cell antigen receptor signaling from lipid rafts. *Immunity* 2001; 14:169-79.
80. Aman MJ, Tosello-Tramont AC, Ravichandran K. Fc $\gamma$ RIIB1/SHIP-mediated inhibitory signalling in B cells involves lipid rafts. *J Biol Chem* 2001; 276:46371-8.
81. Rajewsky K. Clonal selection and learning in the antibody system. *Nature* 1996; 381:751-8.
82. Gay D, Saunders T, Camper S, Weigert M. Receptor editing: an approach by autoreactive B cells to escape tolerance. *J Exp Med* 1993; 177:999-108.
83. Tiegs SL, Russel DM, Nemazee D. Receptor editing in self-reactive bone marrow B cells. *J Exp Med* 1993; 177:1009-20.
84. Radic MZ, Zouali M. Receptor editing, immune diversification and self-tolerance. *Immunity* 1996; 5:505-11.
85. Oettinger MA, Schatz DG, Gorka C, Baltimore D. RAG1 and RAG2, adjacent genes that synergistically activate V(D) recombination. *Science* 1990; 248:1517-23.
86. Rycke LD, Nicholas AP, Cantaert T, Kruihof E, Echols JD, Vandeckerckhove B et al. Intracellular Citrullinated Proteins Colocalizing With Peptidyl Arginine Deiminase as Pathophysiologically Relevant Antigenic Determinants of Rheumatoid Arthritis-Specific Humoral Autoimmunity. *Arth Rheum* 2005; 52:2323-30.
87. Panayi GS, Hainsworth JD, Looney RJ, Keystone EC. Panel discussion on B cells and rituximab: mechanistic aspects, efficacy and safety in rheumatoid arthritis and non-Hodgkin's lymphoma. *Rheumatology* 2005; 44(Suppl. 2):ii18-ii20.
88. Goryman C, Leandro M, Isenberg DA. Does B cell depletion have a role to play in the treatment of systemic lupus erythematosus? *Lupus* 2004; 13:312-6.
89. Looney RJ. B cells as a therapeutic target in autoimmune diseases other than rheumatoid arthritis *Rheumatology* 2005; 44(Suppl. 2):ii13-ii17