

Universitat de Barcelona
Divisió de Ciències de la Salut
Departament de Medicina

CARACTERITZACIÓ DE LA SINOVITIS
MITJANÇANT MÈTODES ARTROSCÒPICS I
IMMUNOHISTOQUÍMICS.
VALOR DIAGNÒSTIC I PRONÒSTIC

Tesi presentada per **Georgina Salvador Alarcón**
per aspirar al grau de Doctora en Medicina

Director

Dr. Juan D. Cañete Crespillo

Barcelona, Octubre de 2006

Índex

ÍNDEX

1. ABREVIATURES	5
2. INTRODUCCIÓ	7
TEIXIT SINOVIAL NORMAL. CONCEPTES GENERALS	
• Definició i estructura	7
• Composició cel·lular	7
• Funcions	9
FENÒMENS INFLAMATORIS AL TEIXIT SINOVIAL	
2.2.1 Hiperplàsia sinovial	10
2.2.2 Infiltrat cel·lular:	10
▪ Cèl.lules implicades a la sinovitis reumatoide	11
▪ Cèl.lules implicades a la sinovitis de les espondiloartropaties	16
2.2.3 Neovascularització (Angiogènesi) :	19
▪ Angiogènesi a l'artritis reumatoide	21
▪ Angiogènesi a les espondiloartropaties	23
ASPECTE MACROSCÒPIC DE LA SINOVITIS	
• Valoració artroscòpica	24
• Patrons vasculars sinovials	26
3. HIPÒTESI DE TREBALL	28
4. OBJECTIUS	29

5. INVESTIGACIÓ I RESULTATS	30
Treball 1	30
Expressió de p53 al teixit sinovial de pacients amb artritis reumatoide i artritis psoriàsica i la seva associació amb el dany articular.	
Treball 2	34
Utilitat de la morfologia vascular sinovial en el diagnòstic de l'artritis crònica. Una anàlisi sistemàtica de 100 casos.	
Treball 3	39
Patrons vasculars sinovials i expressió de factors angiogènics al teixit sinovial i sèrum de pacients amb artritis reumatoide.	
6. DISCUSSIÓ CONJUNTA	43
7. CONCLUSIONS FINALS	52
8. BIBLIOGRAFIA	54
9. APÈNDIX	68
Altres treballs relacionats amb el tema d'aquesta tesi doctoral	
• Originals	68
• Revisions	69
• Presentacions a Congressos	69

1. ABREVIATURES

MS: Membrana sinovial

LA: líquid articular

AR: Artritis Reumatoide

APso: Artritis Psoriàsica

Esp: Espondiloartropaties

EA: Espondilitis Anquilosant

ARe: Artritis Reactiva

VSG: Velocitat de sedimentació globular

PCR: Proteïna C reactiva

FR: Factor Reumatoide

FMM: fàrmacs modificadors de la malaltia

TNF α : Factor de necrosi tumoral alfa

FGF: "fibroblast growth factor". Factor de creixement de fibroblastes

TGF- β : "Transforming growth factor- β ". Factor de transformació de creixement beta

DAF: "decay accelerating factor". Factor accelerador de l'envelliment

Anti-PCC: anticossos anti pèptid citrul.linat cíclic

P53: proteïna p53

IHC: immunohistoquímica

IFN- γ : Interferon gamma

IL- (1 β , 2, 4, 5, 6, 8 i10) :Interleuquina (1 beta, 2, 4, 5, 6, 8 i10)

RANKL: lligand del receptor activador del factor nuclear kappa beta

OPG: osteoprotegerina

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay (Enzimoimmunoassaig)

VEGF: "Vascular endothelial growth factor". Factor de creixement vascular de l'endotel.li

VCAM-I: "vascular cell adhesion molecule I". Mol.lècules d'adhesió vascular I

Ang: angiopoietina

MMP: metal.loproteasses

UDPGD: uridin-difosfoglucosa dehidrogenasa

DIA: "Digital image analysis". Anàlisi per imatge digital

2. INTRODUCCIÓ

TEIXIT SINOVIAL NORMAL. CONCEPTES GENERALS

- **Definició i estructura**

La membrana sinovial (MS) és el teixit tou que recobreix l'espai que conformen les articulacions diartrodials, les beines dels tendons i les burses. Aquest espai conté una petita quantitat de líquid ric amb àcid hialurònic (que és qui dóna consistència a la clara de l'ou), d'aquí l'origen etimològic del terme sinovial o "synovium" ("syn= amb, ovium= ou) ⁽¹⁾.

A la MS es distingeixen dues parts ben definides:

- la capa de revestiment o capa de cèl·lules superficials o capa íntima o "lining cells" que conté d'una a tres files de cèl·lules sense unions entre elles, formant un gruix d'unes 20-40 µm. Aquesta capa és en algunes zones discontinua la qual cosa permet el contacte directe entre el líquid articular (LA) i la subíntima.
- la capa de l'estroma sinovial o subíntima, rica en plexes vasculars i fibroblastes especialitzats que pot tenir en condicions normals fins a uns 5 mm de gruix.

Ocasionalment la capa de l'estroma pot estar formada per teixit adipós o fibrós.

- **Composició cel·lular**

La **capa de revestiment** està formada per dos tipus de cèl·lules: els sinoviòcits de tipus A o tipus macròfaq que tindrien com a funció

catabolitzar els residus produïts pel funcionament normal de l'articulació, i en major número els sinoviòcits de tipus B o tipus fibroblaste que són capaços de secretar components de la matriu sinovial com: àc.hialurònic, procol.làgena, α -2-globulina, fibronectina, laminina etc; components que determinen les característiques físico-químiques del líquid articular ⁽²⁾. Els sinoviòcits A tipus macròfag provenen dels monòcits derivats del moll d'os i expressen marcadors de macròfags com CD68, mol.lècules del sistema major d'histocompatibilitat classe II, receptors Fc, antígens leucocitaris CD14, CD45 i no tenen activitat esterasa específica ⁽³⁾. Els sinoviòcits de tipus B, semblen provenir de les cèl.lules progenitores mesenquimals i expressen VCAM-I, DAF ^(4,5) i alts nivells de UDPGD, que és l'enzim que converteix la UDP-glucosa a UDP-glucuronat que constitueix el substrate per la síntesi de hialuronat. Els sinoviòcits de tipus B, i a diferència d'altres tipus de fibroblastes, expressen també mol.lècules d'adhesió com la α 6 β I integrina que s'uneix a la laminina de la membrana basal i és expressada normalment per les cèl.lules endotelials, els adipòcits i els macròfags ⁽⁶⁾. Curiosament la α 6 β I integrina, no és expressada pels sinoviòcits tipus macròfags. La col·làgena de tipus IV és la col·làgena que es localitza preferentment a la capa íntima i sol ser més resistent a la digestió per part de les metal.loproteases (1, 2 i 3), la qual cosa explicaria l'estabilitat de la matriu sinovial en un ambient tan proteolític com el de la sinovial reumatoide.

La **capa de l'estroma** o subíntima està formada per una xarxa de fibres de col·làgena amb fibroblastes, adipòcits i escassos vasos sanguinis. Els fibroblastes de la capa subíntima solen ser menys especialitzats que els de la íntima i no tenen UDPGD, VCAM-1 i DAF ⁽⁴⁾. Estudis recents en individus sans han mostrat mitjançant tècniques immunohistoquímiques la presència a la capa íntima, de limfòcits T de predomini perivascular i macròfags HLA-DR però no de limfòcits B ⁽⁷⁾.

- **Funcions**

Clàssicament, se li atribueixen funcions relacionades amb la millora i/o preservació de la biomecànica articular tals com: mantenir una superfície cel·lular no adherent per facilitar el moviment, lubricar el cartílag, controlar el volum i la composició del líquid articular i nodrir als condrocits .

FENÒMENS INFLAMATORIS AL TEIXIT SINOVIAL. SINOVITIS

La membrana sinovial és un teixit inespecífic sense una arquitectura ben definida a diferència d'òrgans com el ronyó o el fetge. Per aquest motiu la sinovial no mostra diferències notables en els diferents tipus d'artritis no infeccioses i a més a més, les cèl·lules implicades: limfòcits, cèl·lules plasmàtiques i macròfags no mostren especificitat per cap d'aquestes malalties. Tenint en compte, doncs, les limitacions del teixit, els canvis morfològics observats ens poden ser d'utilitat a l'hora d'estudiar i classificar les diferents patologies inflamatòries. Els principals canvis morfològics observats són:

Hiperplàsia sinovial

La MS reacciona davant diferents estímuls amb un augment de la seva superfície, que apareix inflamada, edematosa i hipertrofiada i que es disposa en forma de vellositats de manera similar a com ho fan altres membranes mesodèrmiques com la pleura i el peritoni ⁽⁸⁾.

A nivell microscòpic aquests canvis es tradueixen en un engruiximent de la capa de revestiment de la MS, que pot arribar a tenir fins a 8 files de cèl.lules. Si aquesta hiperplàsia és deguda a una proliferació in situ o a l'influx d'algunes cèl.lules des del torrent circulatori, continua sent un tema controvertit. També s'ha especulat que l'alteració dels mecanismes de l'apoptosi ⁽⁹⁾, disregulada probablement per la sobreexpressió de proteïnes antiapoptòtiques com la sentrina ⁽¹⁰⁾, podria tenir un paper important. Probablement i amb les dades acumulades, la hiperplàsia s'explicaria per una combinació dels tres mecanismes: proliferació cel.lular "in situ", influx de cèl.lules (monòcits/macròfags) de la circulació general i disregulació de l'apoptosi.

Aquesta hiperplàsia de la capa de revestiment és molt més característica de la sinovial reumatoide que de la sinovial de les espondiloartropaties i estaria augmentada en les AR de més llarga evolució ⁽¹¹⁾.

2.2.2 Infiltrat cel.lular

Les característiques laxes del teixit sinovial afavoreixen la infiltració de diferents tipus de cèl.lules: limfòcits, cèl. plasmàtiques, macròfags i ocasionalment neutròfils. Aquestes cèl.lules infiltrants participen de forma

inespecífica en les diferents artritis no bacterianes. Malgrat aquesta inespecificitat, l'estudi minuciós del teixit sinovial ha permès distingir alguns fets morfològics diferencials amb implicació de diferents cèl·lules que podrien contribuir a una millor avaluació diagnòstica i pronòstica.

- **Cèl·lules implicades a la sinovitis reumatoide**

A l'artritis reumatoide, el fenotip de la sinovial s'altera i es converteix en un teixit hiperplàsic que creix de forma invasiva destruint el cartílag i l'os subcondral. A la sinovial reumatoide trobem característicament una hiperplàsia de la capa íntima, i l'existència del "pannus" o sinovial proliferada que envaeix el cartílag subjacent. Les propietats invasives d'aquest teixit s'han atribuït a característiques especials dels sinoviòcits tipus fibroblastes d'aquesta zona ("panocits")⁽¹²⁾. La disregulació d'alguns factors de transcripció, i del gen supressor de tumors, p53, ha estat implicada en la proliferació agressiva i la capacitat invasiva d'aquestes cèl·lules⁽¹³⁾

A través de la anàlisi del teixit sinovial s'ha pogut demostrar que és possible diferenciar l'AR, a l'inici dels símptomes, d'altres tipus d'artritis amb un valor predictiu del 85%, si trobem infiltració abundant de macròfags i cèl·lules plasmàtiques a la capa subíntima⁽¹⁴⁾. Aquesta infiltració per cèl·lules específiques és independent de la durada de la malaltia i de l'activitat clínica^(14,15). Inclús s'han pogut observar canvis inflamatoris en articulacions asimptomàtiques en pacients amb AR⁽¹⁶⁾.

En els fenòmens inflamatoris de la sinovial reumatoide s'han vist implicats diferents tipus cel·lulars distribuïts tant a la capa de revestiment o íntima com a la capa de l'estroma o subíntima.

Dos tipus cel·lulars predominen a la capa de revestiment: els macròfags i els sinoviòcits tipus fibroblaste o tipus B.

Els **macròfags** de la íntima són cèl·lules activades, que expressen citoquines, quimiocines, mol·lècules d'adhesió i metal·loproteasses. Tenen capacitat fagocítica i marcadors específics com el CD68 i el CD14. A part també expressen l'antígen leucocitari humà (HLA classe II) i mol·lècules d'adhesió com ICAM-1 ⁽¹⁷⁾, la qual cosa dóna idea del seu estat d'activació i suggereix un paper en la interacció cèl·lula a cèl·lula.

Diferents treballs han demostrat que existeix un perfil d'expressió de citoquines a la sinovial reumatoide característic de la línia macrofàgica-fibroblàstica, amb una major expressió de IL-1 β , IL-6, IL8, TNF- α i TGF- β i una escassa o nul·la expressió de citoquines derivades de cèl·lules T (IL-2, IL-4, IL-5) ⁽¹⁸⁾.

Els **sinoviòcits tipus fibroblastes (tipus B)** són cèl·lules de probable origen mesenquimal i produeixen gran quantitat de citoquines i metal·loproteasses. Es comporten com a cèl·lules amb capacitat invasiva, i tenen fenotip semblant a les cèl·lules tumorals (pèrdua d'inhibició de creixement per contacte, creixement independent de l'anclatge, activació d'oncogens, mutacions somàtiques de gens etc.). Els sinoviòcits tipus fibroblastes envaeixen el cartílag i l'os subcondral provocant les erosions

(19,20). Aquestes propietats podrien estar condicionades per l'acció del gen supressor de tumors p53 que experimentaria certes mutacions somàtiques perdent les seves propietats reguladores (21,22,23). També s'han detectat mutacions en alguns gens reguladors dels processos tumorals com H-ras (24).

En quant a la capa de l'estroma o "sublining", les cèl·lules predominants són: cèl·lules T, cèl·lules B, cèl·lules plasmàtiques i macròfags. En menys quantitat podem trobar mastòcits, cèl·lules NK "natural killer", cèl·lules dendrítiques i neutròfils.

Els **limfòcits T** poden distribuir-se de forma difusa o bé en forma de fol·licles limfoides, en gairebé el 50% dels pacients amb AR. D'aquests pacients, la meitat mostren totes les característiques d'òrgans limfoides secundaris amb la formació de centres germinals (limfogeneosi sinovial), i es comportarien com a fol·licles limfàtics ectòpics. En aquesta zona es produeix la presentació dels antígens i és on es creu que té lloc la maduració local de les cèl·lules B cap a cèl·lules plasmàtiques (25).

Els limfòcits T CD4+ es troben en major proporció que els CD8+ i expressen un fenotip Th1. Estudis del nostre grup van demostrar respecte a l'expressió de citokines derivades de cèl·lules T, que existeix un patró predominant d'expressió de citokines Th1 (IFN- γ i IL-2) a les que clàssicament s'atorgaren característiques pro-inflamatòries, respecte a les Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) que mostraven propietats anti-inflamatòries amb una ratio Th1/Th2 5 vegades superior a la sinovial reumatoide que a la de les

espondiloartropaties ⁽²⁶⁾. Aquests resultats són concordants amb estudis previs que també mostraren de forma prevalent, el patró de citokines Th1 a la sinovial de l'AR ^(27,28).

Diversos estudis han demostrat també que els limfòcits T activats, a part d'expressar en la seva membrana RANKL, són capaços de secretar-lo, promovent així la formació i maduració dels osteoclastes i consegüentment afavorint el dany estructural ^(29,30).

Els **limfòcits B** es troben en escassa proporció sobretot en els agregats limfoides juntament amb cèl·lules T CD4+ (T "helper"), que ajudarien a la maduració de les cèl·lules B cap a cèl·lules plasmàtiques productores d'anticossos ⁽²⁵⁾. Tot i que inicialment es pensava que les cèl·lules B tenien un paper secundari en la fisiopatologia de l'AR, s'ha vist que realitzen funcions essencials en: presentació d'antígens a través dels seus receptors d'immunoglobulines (Ig), secreció de citokines proinflamàtores (TNF- α , IL-1, limfotoxina- α) i co-estimulació de les cèl·lules T ⁽³¹⁾ i dels sinoviòcits tipus fibroblaste a través de la limfotoxina beta ⁽³²⁾.

Les **cèl·lules plasmàtiques** principalment derivades de les cèl·lules B que han migrat de la circulació, envolten en forma de corona els agregats limfoides a la membrana sinovial i són la major font d'autoanticossos ⁽³³⁾. Els autoanticossos més característics són el factor reumatoide i els anticossos anticitrulina (anti-PCC). El factor reumatoide és un autoanticòs dirigit contra la regió Fc de les immunoglobulines i els anti-PCC van dirigits contra proteïnes citrulinades que es produeixen a la membrana sinovial. Les

proteïnes citrul·linades no són específiques de l'AR sino que estan relacionades amb la inflamació; el que sí és específica és la resposta humoral que es genera en front aquestes proteïnes en pacients amb AR ⁽³⁴⁾. La presència dels anti-PCC s'ha associat a dany estructural donant mostra d'un paper relevant en la patogènesi de l'AR ⁽³⁵⁾.

Els **macròfags de l'estroma** són les cèl·lules inflamatòries majoritàries de la sinovial reumatoide, amb una important expressió de CD68. Deriven dels monòcits circulants i solen estar sobretot en els pacients amb artritis evolucionada (mostres sinovials obtingudes en cirurgia) en la unió del cartílag amb el pannus ⁽³⁶⁾. Els macròfags de la capa subíntima també correlacionen amb l'activitat de la malaltia ⁽¹⁵⁾ i amb la destrucció articular en l'AR ⁽³⁷⁾.

Els **mastòcits** s'han trobat en un nombre important en el teixit sinovial de pacients amb AR establerta, en mostres provinents d'artroplàstia i sobretot en els punts on es produeixen les erosions (unió cartílag-pannus). Els mastòcits segreguen potents mediadors com la histamina, heparina, leucotriens, proteinases (com la triptasa i la quimasa que activen les formes precursors de les metal·loproteinases), factors de creixement i citoquines que estarien estretament relacionades amb el dany estructural ^(38,39). Tot i les troballes d'aquest grup i les demostracions amb models experimentals ⁽⁴⁰⁾, estudis posteriors ben dissenyats, no han confirmat el paper d'aquestes cèl·lules en la sinovitis ni en la producció d'erosions.

Les **cèl·lules natural killer** “NK” també s’expressen en quantitats importants al “sublining”. Tot i la dificultat, s’identifiquen a través de marcadors que són els “granzims” que es detecten en els grànuls especialitzats de les cèl·lules NK activades. Es troben freqüentment a la unió pannus-cartíleg i se les relaciona amb el dany estructural ^(36,41).

Les **cèl·lules dendrítiques** poden ser de dos tipus: les interdigitals i les fol·liculars. Les interdigitals són potents cèl·lules presentadores d’antígens i es troben en els agregats limfoides perivasculars ⁽⁴²⁾. Expressen mol·lècules HLA de classe II, mol·lècules d’adhesió i receptors de quimioquines. El segon tipus o fol·licular sol tenir un paper en la diferenciació de les cèl·lules B a cèl·lules plasmàtiques.

Els **neutròfils** tot i ser les cèl·lules més abundants en el líquid articular són poc freqüents al TS , disposant-se enxarxats amb els dipòsits de fibrina. Poden participar en la degradació del cartílag mitjançant l’alliberament d’enzims proteolítics ⁽⁴³⁾.

- **Cèl·lules implicades a la sinovitis de les espondiloartropaties.**

Les espondiloartropaties (Esp) són un grup heterogeni de malalties que inclou l’espondilitis anquilosant (EA), les artritis reactives (ARe), l’artritis psoriàsica (APso), l’espondiloartropatia associada a malaltia inflamatòria intestinal i les espondiloartropaties indiferenciades. Les troballes histològiques són bastant similars a les de l’AR, tot i que s’ha especulat que la sinovitis no seria una lesió primària com a l’AR sinó secundària a la

inflamació de l'entesis ⁽⁴⁴⁾. Estudis recents que comparen la sinovitis de l'APso , en les seves formes poli i oligoarticular amb la de l'AR i la resta d'Esp, demostren que la histopatologia sinovial de l'APso en qualsevol de les seves presentacions s'assembla més a la de les Esp que a la de l'AR. A destacar l'absència de proteïnes citrul.linades altament específiques de la sinovial reumatoide en aquests pacients amb APso ⁽⁴⁵⁾.

Malgrat les similituds, existeixen alguns trets diferencials respecte l'AR: el principal seria un augment significatiu de la vascularitat just per sota de la capa superficial, comparat amb pacients amb AR localment activa (vessament articular) ^(11, 46). Per altra banda, la capa íntima al TS de les Esp, sol ser monocapa, podent augmentar en el número de files en relació a l'activitat de la malaltia ⁽¹¹⁾; la capa subíntima o de l'estroma, sol ser poc cel·lular amb presència de limfòcits (en menor proporció que a l'AR, segons alguns autors) ^(11,36), macròfags, cèl·lules plasmàtiques i neutròfils.

Les cèl·lules més implicades en la inflamació i el dany articular serien els macròfags que secreten citoquines: (TNF- α i IL-1, IL-6, IL-8...) amb clara activitat pro-inflamatòria. Prova indirecta d'aquesta implicació és la milloria clínica que presenten aquests pacients quan són tractats amb infliximab (anti-TNF- α) i la reducció de macròfags que s'objectiva paral·lelament a nivell tissular ⁽⁴⁷⁾. També s'ha estudiat el patró de citoquines de cèl·lules T en aquests malalts, que correspon a un patró predominant Th2 (IL-4,IL-5,IL-10..) en relació a l'AR ⁽²⁶⁾ . Aquest predomini de citoquines Th2 es traduiria en una resposta deficitària contra els bacteris intracel·lulars, característica a

l'ARe, i que no observem a l'APso, que té un patró Th1 similar al de l'AR⁽⁴⁸⁾. Altres cèl·lules implicades són els limfòcits T helper o CD4+, els limfòcits B i les cèl·lules plasmàtiques (podent formar aquestes últimes, fol·licles limfoides però en menys proporció que a l'AR)⁽⁴⁸⁾. De fet, segons les dades de Kraan i col.laboradors⁽¹⁴⁾ la mínima expressió de cèl·lules plasmàtiques i macròfags a la capa subíntima permetia diagnosticar en un 96% de probabilitats una entitat diferent de l'AR (Esp). De tota manera els resultats en aquest estudi, podrien estar esbiaixats per l'escàs nombre de pacients controls amb APso (n= 2) i EA (n=3), que solen presentar un augment de cèl·lules plasmàtiques a la MS encara que curiosament no es correlacioni amb la producció d'autoanticossos. En pacients amb APso s'ha objectivat un infiltrat limfocític important tant a pell com a MS, que també es localitza a les entesis de pacients amb Esp⁽⁴⁹⁾. L'infiltrat sol ser perivascular, sobretot de cèl·lules T amb predomini CD4 (ratio CD4/CD8 de 2:1), aquesta relació es veu invertida al líquid articular (LA) i a les entesis on existeix un predomini de limfòcits CD8⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾. També s'observen en els pacients amb APso cèl·lules B en forma d'agregats limfoides.

En múltiples estudis, s'ha demostrat l'important paper de la citoquina TNF- α en la patogènesi de la psoriasis i de l'APso : activant als limfòcits T, afavorint la seva infiltració i augmentant la proliferació dels queratinocits a les plaques psoriàtiques⁽⁵¹⁾. També s'ha demostrat el seu efecte sinèrgic amb el RANKL en la potenciació de l'osteoclastogènesi, i el seu paper en la

reabsorció òssia característica d'aquesta malaltia ⁽⁵²⁾. Dóna prova d'això l'eficàcia dels tractaments anti-TNF en aquestes dues entitats.

2.2.3 Neovascularització. Angiogènesi

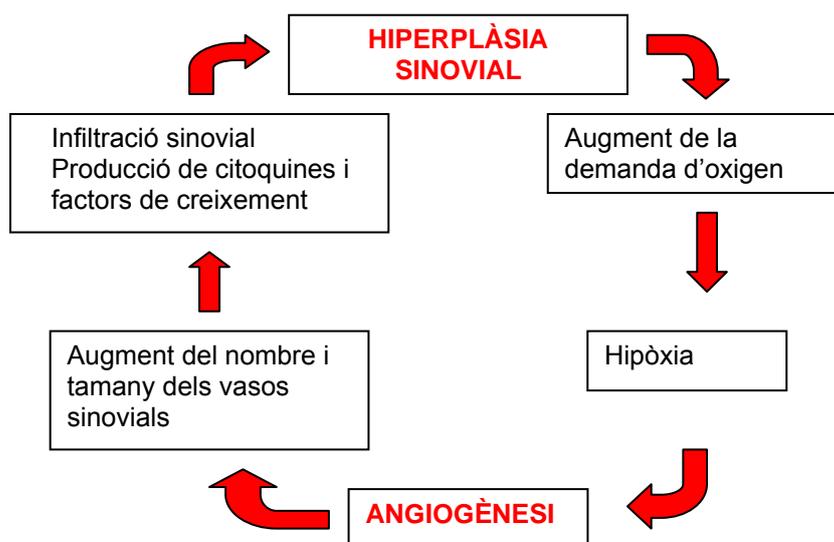
L'angiogènesi es defineix com la formació de nous vasos a partir de vasos preexistents. En l'adult és un procés fisiològic en el cicle menstrual, l'embriogènesi i la cicatrització de les ferides. Com a procés patològic contribueix a la retinopatia diabètica i facilita el creixement i les metàstasis dels tumors ⁽⁵³⁾. En els últims anys i gràcies a estudis experimentals, s'ha demostrat que l'angiogènesi és un procés fonamental en la fisiopatologia de l'artritis, obrint una porta des del punt de vista terapèutic amb tractaments dirigits específicament contra les cèl·lules endotelials ⁽⁴⁹⁾. Es creu que l'angiogènesi es produeix en un intent d'aportar oxigen i nutrients a un teixit sinovial proliferant on existeix un important estrès oxidatiu; malgrat aquest intent, la neovascularització és disfuncional i no aconsegueix revertir l'ambient hipòxic de l'articulació. Paral·lelament a l'aport de nutrients, els nous vasos faciliten l'accés de leucòcits a la MS contribuint a la perpetuació de la sinovitis ⁽⁵³⁻⁵⁵⁾. A part, les cèl·lules endotelials activades són capaces de segregar diferents mediadors inflamatoris, citoquines i quimioquines ⁽⁵⁶⁾. L'angiogènesi apareix per la secreció de mol·lècules pro-angiogèniques en un ambient hipòxic i és regulada per factors activadors i inhibidors. En aquest ambient hipòxic es produeix un factor de transcripció que és el HIF o factor induïble per la hipòxia, l'activació del qual promou

l'expressió de "Fibroblast growth factor " (FGF β), "Vascular endothelial growth factor" (VEGF), i dels seus receptors a la cèl·lula endotelial, promovent així l'angiogènesi. Aquesta producció sembla ser més marcada en presència de citokines inflamatòries com IL-1, TNF- α i TGF- β que indueixen l'expressió del VEGF pels fibroblasts ^(54,55,57). Els factors de creixement FGF i VEGF promouen la proliferació i migració de les cèl·lules endotelials als llocs d'inflamació, procés que ve facilitat per l'expressió de metal·loproteases (MMP) i de mol·lècules d'adhesió com les integrines, sobretot $\alpha\beta3$ ⁽⁵⁸⁾. L'angiogènesi també apareix en estats precoços de l'aterosclerosi, manifestada com una disfunció endotelial; donat que aquesta disfunció endotelial es produeix en pacients amb artropaties inflamatòries, especialment AR, podria ser que l'angiogènesi contribuís a la comorbiditat cardiovascular associada d'aquests pacients ⁽⁵⁵⁾. El factor activador de l'angiogènesi més potent és el VEGF amb especificitat per la cèl·lula endotelial. El VEGF actua a través de dos receptors : el VEGFR1 o Flt-1 que s'expressa en macròfags, la unió indueix l'activació d'aquestes cèl·lules i el VEGFR2 o Flk-1/KDR expressat específicament a l'endotel·li i que al activar-se indueix proliferació endotelial ^(54,59). Altres factors angiogènics que actuen sobre l'endotel·li són les angiopoietines (ang) 1 i 2, que regulen la unió dels components no endotel·lials del vas, com el múscul llis vascular. Ambdues proteïnes interaccionen amb la cèl·lula endotelial a través del receptor tirosinquinasa (Tie2). L'ang-1 és essencial per la remodelació, maduració i estabilització dels vasos. L'ang-2 s'uneix a Tie-2 amb la mateixa

afinitat però produeix un senyal negatiu actuant com inhibidor competitiu de l'ang-1, és a dir produint vasos immadurs, augmentant la permeabilitat vascular i exposant les cèl·lules endotelials a factors angiogènics com el VEGF ⁽⁶⁰⁾.

- **Angiogènesi a l'artritis reumatoide (AR)**

A conseqüència de la hiperplàsia sinovial associada a l'AR es produeix un augment de la distància entre les cèl·lules i els vasos sanguinis més propers. Això comporta una hipòxia del teixit, un augment de la demanda d'oxigen i nutrients a les cèl·lules i una hipoperfusió, factors que promouen l'angiogènesi que a la vegada farà augmentar la infiltració cel·lular i la hiperplàsia, tancant així el cercle ⁽⁶¹⁾ Fig 1.



A la sinovitis reumatoide hi ha un augment de l'expressió de factors pro-angiogènics en relació als inhibidors. Alguns tenen una acció directa sobre la cèl·lula endotelial, o indirecta a través de l'expressió del VEGF.

Taula 1. Factors angiogènics

FACTORS INDUCTORS		FACTORS INHIBIDORS	
Directes	Indirectes	Endògens	Exògens
<ul style="list-style-type: none"> ▪ VEGF ▪ Ang-1 ▪ Ang-2 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ FGF ▪ TGF-β ▪ TNF-α ▪ IL-8 ▪ IL-1 ▪ IL-18 ▪ SDF-1¹ ▪ VCAM-1² ▪ E-selectina² 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Troponina-1³ ▪ IL-4⁴ ▪ IL-1 RA⁴ ▪ Angiostatina⁵ ▪ Endostatina⁶ ▪ Trombospondina⁷ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Esteroides ▪ Minociclina ▪ Fumigilina ▪ Cloroquina ▪ Metotrexate ▪ Sals d'or ▪ Penicil·lamina ▪ Sulfapiridina ▪ Ciclosporina ▪ Talidomida ▪ Anti-TNF-α ▪ Taxol ▪ Inhibidors de la COX-2

¹ factor derivat de l'estroma, ² mol·lècules sol·ubles d'adhesió, ³ factor derivat del cartílag, ⁴ citokines antiinflamàtoies, ⁵ fragment de la proteïna plasminògen, ⁶ fragment de col·làgena, ⁷ proteïna de la matriu extracel·lular.

El VEGF es troba augmentat al TS, al LA i al sèrum de pacients amb AR^(62,63). La isoforma VEGF165 és la més angiogènica i s'ha associat a pacients amb AR erosiva, podent ser un marcador de mal pronòstic a nivell tissular⁽⁶⁴⁾. A nivell sèric valors augmentats de VEGF en pacients amb AR d'inici es correlacionaven amb aparició d'erosions a l'any de seguiment⁽⁶⁵⁾. En quant a l'expressió d'angiopoietines i els seus receptors, s'ha reportat l'expressió a la sinovial reumatoide dels dos receptors Tie-1 i Tie-2⁽⁶⁶⁾, i l'expressió constitutiva de ang-1 i 2 pels fibroblasts sinovials en l'AR. El

TNF- α pot induir l'expressió de ang-1 en els fibroblasts de la sinovial reumatoide ^(67,68), fet que explicaria en part l'efecte antiangiogènic dels anti-TNF- α . Quan es produeix un augment de VEGF i ang-2 es produeix l'angiogènesi ⁽⁶⁹⁾ i quan el VEGF disminueix però no ho fa ang-2 es produeix regressió vascular per apoptosi endotelial ⁽⁷⁰⁾. La regulació de les ang i els seus receptors és complexa i no sempre factors pro-angiogènics actuen augmentant l'expressió d'ang, sinó que depèn de múltiples factors com l'estat d'activació de la cèl.lula estimulada. També s'ha documentat la presència d'inhibidors de l'angiogènesi com l'endostatina a nivell sèric i en el LA de pacients amb AR sense mostrar diferències significatives respecte els pacients amb malalties diferents de l'AR ⁽⁷¹⁾.

- **Angiogènesi a les espondiloartropaties (Esp)**

S'han fet estudis comparatius de l'expressió de factors angiogènics tissulars i sèrics, entre AR i APso d'inici, detectant-se un augment significatiu de l'expressió de VEGF, ang-2 i TGF- β en APso comparada amb AR. Això es correlacionava estretament amb el patró vascular macroscòpic de l'APso, mostrant un perfil angiogènic diferencial ja a les fases inicials de la malaltia ⁽⁷²⁾. S'ha demostrat també l'eficàcia antiangiogènica de les teràpies anti-TNF- α (influximab) en pacients amb APso, produïnt-se a les 8 setmanes de tractament una disminució de l'àrea vascular total i dels factors VEGF, flt-1, flk-1, SDF-1 i de la integrina $\alpha\beta 3$ ⁽⁴⁷⁾, la qual cosa dona mostra de potencials dianes terapèutiques en les Esp i en concret a l'APso.

ASPECTE MACROSCÒPIC DE LA SINOVITIS

- **Valoració artroscòpica**

L'artroscòpia és un mètode endoscòpic que permet la visualització interna de les articulacions. Els pioners de l'artroscòpia van ser els japonesos, concretament Kengi Takagi el 1918, que practicà la primera artroscòpia en un genoll de cadàver, però no va ser fins els anys setanta que aquesta tècnica començà a tenir difusió. L'aparició d'òptiques de menor tamany (1.9 i 2.7 mm) que les convencionals utilitzades en cirurgia ortopèdica (4-5 mm), ha permès accedir a articulacions més petites millorant així la seguretat i l'accessibilitat d'aquesta tècnica ⁽⁷³⁾. L'artroscòpia reumatològica es realitza en un mitjà estèril amb anestèsia local i sedació suau opcional amb benzodiacepines. En 36 pacients (24 AR, 4 APso i 8 artrosis) en els que es practicà una artroscòpia de petita articulació, va ser ben tolerada en >90% dels casos i >80% dels pacients es mostraven disposats a repetir-la ⁽⁷⁴⁾. De un total de 16.532 artroscòpies realitzades per 72 artroscopistes només es produïren complicacions en un 1.5% del total (0.1% infecció articular, 0.1% infecció de la ferida, 0.9% hemartrosi, 0.2% trombosi venosa profunda, 0.02% afectació neurològica, 0.08 % tromboflebitis, i 0.06% altres) ⁽⁷⁵⁾. Una altra sèrie prèvia amb 335 artroscòpies van mostrar un 1.2% de complicacions majors [artritis sèptica (1), cel·lulitis (2) i trombosi venosa profunda (1)], i un 12.8% de complicacions menors, sent la més freqüent l'hemartrosi ⁽⁷⁶⁾.

Les aplicacions de l'artroscòpia en reumatologia són múltiples. S'ha utilitzat amb fins diagnòstics i terapèutics (taula 2) i amb l'adveniment de les noves tècniques de biologia molecular s'ha fet un gran avenç en l'ús d'aquesta tècnica en l'àmbit de la recerca. L'artroscòpia ens permet fer una visualització macroscòpica de la cavitat articular i de la membrana sinovial on es produeix la major part dels fenòmens inflamatoris en les malalties reumàtiques i ens facilita l'obtenció de mostres biòpsiques dirigides per visualització directa per a estudi microscòpic. També ens permet controlar la resposta al tractament.

Taula 2

INDICACIONS DE L'ARTROSCÒPIA
DIAGNÒSTIQUES
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Articulació dolorosa i/o tumefacta amb proves no conclouents ▪ Agudització monoarticular d'una artropatia crònica ▪ Confirmar o excloure artritis sèptica ▪ Confirmar el diagnòstic de patologia articular amb aspectes artroscòpics característics: (s.vellonodular,condromatosi sinovial, M. de Behçet...) ▪ Inspecció i obtenció de mostra sinovial per diagnòstic (tumors, sarcoidosi, hemocromatosi) ▪ Falta de resposta a les teràpies administrades
TERAPÈUTIQUES
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rentat articular en artrosi, malaltia per dipòsit de microcristalls o artropaties inflamatòries per filiar ▪ Extracció de cossos lliure ▪ Sinovectomia ▪ Aplicació intraarticular de corticoides o teràpies biològiques
RECERCA
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estudis sobre membrana sinovial ▪ Estudis sobre cartílag en artropaties degeneratives

* adaptat de: Cañete JD, Salvador G, Sanmartí R, Gómez A. "Artroscopia reumatológica en el diagnóstico, tratamiento e investigación de las enfermedades articulares". MTA 1999;17(7):229-256.

- **Patrons vasculars sinovials**

L'exàmen artroscòpic de la membrana sinovial ha permès comprovar que existeix una correlació significativa entre les troballes macroscòpiques i microscòpiques de la MS, sent la hiperèmia capil·lar el signe macroscòpic amb més correlació amb els infiltrats cel·lulars de les corresponents àrees inflamades ⁽⁷⁷⁾. Aquests mateixos autors van establir un sistema de gradació de la sinovitis que tot i no estar validat s'ha seguit emprant en posteriors estudis.

Watanabe ja va parlar l'any 1978 de diferents morfologies vasculars: vasos rectes i capil·lars tortuosos. Però va ser en treballs posteriors on es començaren a consolidar aquestes observacions, de manera que segons Reece i col·laboradors, el 89% dels pacients amb AR de curta evolució o d'inici (<12m), presentaven un patró predominant de vasos rectes i ramificats, mentre que el 73% dels pacients amb APso i ARe d'inici (<12m) presentaven preferentment un patró amb vasos tortuosos o en cabdell, la qual cosa reflexaria diferències patogenètiques ja des de l'inici de la malaltia ⁽⁷⁸⁾. Treballs posteriors han trobat certes diferències sobretot pel que respecta al patró recte, així mentre alguns autors trobaren en AR d'inici un 84% ⁽⁷²⁾ o un 100% ^(79,80) de patró recte, en altres sèries les xifres van ser més baixes 28% ⁽¹¹⁾ o 49% ⁽⁸¹⁾. El tipus de patró no sembla dependre de la durada de la malaltia però sí de l'activitat local (presència o no de vessament articular) ⁽¹¹⁾. Queda per determinar el valor diagnòstic dels patrons mixtes. S'han fet estudis de correlació entre patrons, "scores" vasculars microscòpics i marcadors angiogènics en APso i AR d'inici ⁽⁷²⁾,

que mostren una correlació significativa entre el patró tortuós, l'expressió de VEGF i ang-2 en els pacients amb APso. Previament, altres autors demostraren una correlació entre el patró tortuós i l'expressió a LA de VEGF i MMP-9 en pacients amb APso d'inici ⁽⁷⁹⁾.

Taula 3. Distribució en percentatges dels diferents patrons observats en pacients amb AR segons diferents estudis.

AUTOR	N	Temps evolució (mesos)	Patró Recte (%)	Patró Tortuós (%)	Patró Mixt (%)
Reece ⁽⁷⁸⁾ (1999)	18	< 12 m	89	11	
Baeten ⁽¹¹⁾ (2000)	30	<12 m en 18	28	28	44
Fraser ⁽⁷⁹⁾ (2001)	12	<12 m	100		
Fiocco ⁽⁸⁰⁾ (2001)	19	>12 m	100		
Cañete ⁽⁸¹⁾ (2003)	35	<12 m en 18	49	23	28
Fearon ⁽⁷²⁾ (2003)	14	<12 m	84	0	16

3. HIPÒTESI DE TREBALL

L'estudi de la membrana sinovial, les seves característiques macroscòpiques vasculars i l'expressió de certes cèl.lules i mol.lècules, poden orientar-nos sobre el tipus de sinovitis, sobre la patogènesi d'aquestes malalties i ens ajuda a trobar marcadors sinovials que tinguin utilitat en el diagnòstic i pronòstic.

4. OBJECTIUS

1. Estudiar l'expressió de la proteïna p53 (gen supressor de tumors) i el grau d'infiltració per macròfags, en el teixit sinovial dels pacients amb AR i APso i la seva associació amb el dany estructural.

2. Estudiar i classificar els diferents patrons vasculars macroscòpics valorats per artroscòpia en funció dels diagnòstics clínics. Estudiar la validesa d'aquests patrons vasculars en predir l'evolució de les artritis indiferenciades.

3. Determinar si els pacients amb AR que presenten diferents patrons vasculars a la membrana sinovial tenen també una diferent expressió de moduladors angiogènics i diferents fenotips clínic-biològics.

5. INVESTIGACIÓ I RESULTATS

5.1 TREBALL 1

EXPRESSIÓ DE p53 AL TEIXIT SINOVIÀL DE PACIENTS AMB
ARTRITIS REUMATOIDE I ARTRITIS PSORIÀSICA I LA SEVA
ASSOCIACIÓ AMB EL DANY ARTICULAR

Ann Rheum Dis 2005;64:183-187

RESUM DELS RESULTATS

- Es van analitzar per tècniques immunohistoquímiques mostres de membrana sinovial de 45 pacients (27 AR i 18 APso) obtingudes per artroscòpia de l'articulació afecta.
- No existien diferències significatives en la durada de la malaltia entre els dos grups amb una mitja de durada de 60,3 mesos per AR i de 88 mesos per APso, ni en els paràmetres biològics d'inflamació (VSG i PCR) en els pacients amb i sense erosions.
- Un 40% dels pacients (12 AR/ 6 APso) presentaven erosions radiològiques en el moment de l'artroscòpia. S'observà progressió radiològica en 4 d'un subgrup de 11 pacients amb AR en els que es va poder analitzar de forma prospectiva l'evolució radiològica en 1 any.

Expressió de p53

- La proteïna p53 es detectà en el 89% de pacients amb AR i en el 56% de pacients amb APso, però l'expressió va ser significativament més intensa en els pacients amb AR.
- El "score" o puntuació mitja per l'expressió total de p53 va ser major en els pacients amb AR que amb APso. Els majors "scores" 3 i 4 van ser també significativament més freqüents en pacients amb AR.

-
- Avaluant els “scores” mitjos d’expressió de p53 per zones (revestiment o “lining”, estroma o “sublining” i endotel·li) també van ser significativament majors en els pacients amb AR respecte APso.
 - La presència d’un “score” ≥ 2 de p53 en qualsevol de les àrees estudiades conferia un risc 8 vegades superior de tenir AR (ajustat per paràmetres d’activitat biològica). Si aquesta expressió de p53 era a nivell de la capa de revestiment o “lining” el risc augmentava fins a 31.5.
 - Un 44% dels pacients amb APso van presentar “scores” de 0 en front d’un 11% dels pacients amb AR.
 - En els pacients amb AR, l’expressió de la proteïna p53 (total i al “sublining” o estroma) es va associar significativament a malaltia erosiva presentant “scores” majors aquells pacients en els que es va objectivar progressió radiològica a l’any. Aquesta associació no es va veure en pacients amb APso.

Infiltrat cel·lular

- L’expressió de CD4 va ser significativament major en els pacients amb AR que amb APso.
- L’expressió de CD68 també va ser significativament major en els pacients amb AR i malaltia erosiva, associació que no es va observar en els pacients amb APso.

CONCLUSIONS

1. Existeix una major expressió de proteïna p53 en el teixit sinovial dels pacients amb AR comparat amb APso.
2. La sobreexpressió de p53 i la seva associació amb malaltia erosiva i progressió radiològica és característica dels pacients amb AR però no d' APso. Això suggereix diferències fisiopatològiques en la sinovitis i en el paper que la p53 i els macròfags tenen sobre el dany estructural conseqüent en aquestes dues patologies.
3. L'expressió a teixit sinovial de p53 podria ser un marcador pronòstic de dany estructural a l'AR.

5.2 TREBALL 2

**UTILITAT DE LA MORFOLOGIA VASCULAR SINOVIAL EN EL
DIAGNÒSTIC DE L'ARTRITIS CRÒNICA. UNA ANÀLISI
SISTEMÀTICA DE 100 CASOS.**

Semin Arthritis Rheum 2003; 32:378-387

RESUM DELS RESULTATS

- Es seleccionaren de la base de dades de la unitat d'artroscòpia els primers 100 malalts consecutius:
 - 81 amb artritis inflamatòria:
 - 35 AR
 - 29 Esp (16 APso)
 - 17 artritis indiferenciada (AI)
 - 8 pacients amb artrosi
 - 11 amb condrocalcinosi
- Trenta nou d'aquests pacients presentaven artritis d'inici considerada com de durada inferior o igual a 12 mesos abans de la pràctica de l'artroscòpia.
- Les articulacions valorades van ser (85 genolls, 11 canells, 3 colzes i 1 metacarpofalàngica).
- S'analitzà la morfologia vascular sobre les imatges gravades arreu de tota l'articulació, i es classificà en tres patrons: recte, tortuós i mixt.

Distribució de patrons

Segons durada de la malaltia

- No s'observaren diferències significatives en la distribució dels patrons vasculars entre els pacients amb artritis d'inici i els de més de 12 mesos

d'evolució, malgrat que aquests últims estaven seguint tractament de fons amb diferents FMM.

Segons diagnòstics

- El total de pacients amb **patró recte** es repartiren segons els següents diagnòstics :
 - 77% AR
 - 18% AI
 - 5% Esp
- El total de pacients amb **patró tortuós** es repartiren segons els següents diagnòstics :
 - 62% Esp
 - 20% AI
 - 18% AR
- Analitzat a la inversa, és a dir, en funció dels diagnòstics destacàrem:
 - En el **grup AR** :
 - un 49% presentaren un patró recte
 - un 28% un patró mixt
 - un 23% un patró tortuós
 - En el **grup Esp**:
 - un 93% presentaren un patró tortuós
 - un 3% un patró mixt
 - un 4% un patró recte

En el **grup AI** :

- un 53% presentaren un patró tortuós
- un 24% un patró mixt
- un 23% un patró recte
- El patró recte va presentar una sensibilitat del 77% i una especificitat del 70% pel diagnòstic d'AR. El patró tortuós va presentar una sensibilitat del 61% i una especificitat del 95% pel diagnòstic d'Esp.
- En un model ajustat per sexes, el risc de tenir una AR amb un patró recte va ser del 57.3% i amb un patró tortuós del 33.7%.
- Més de la meitat dels pacients amb AR i patró recte o mixt tenien un FR+ (76 i 70% respectivament) en contrast amb només el 25% dels pacients amb AR i patró tortuós.
- Dels 17 pacients amb AI, 6 varen evolucionar a un diagnòstic definitiu als dos anys:
 - 4 d'ells compliren criteris d'AR:
 - 2 tenien patrons rectes (ambdós oligoartritis FR+)
 - 2 tenien patrons tortuosos (1 amb oligoartritis FR+ i HLA-B27+)
 - 1 evolucionà a Esp (patró tortuós)
 - 1 a APso (patró tortuós)
- Els pacients amb artritis no inflamatòria (artrosi i condrocalcinosi) presentaren una sinovitis lleu amb predomini d'un patró similar al tortuós però de menor intensitat.

CONCLUSIONS

1. La morfologia vascular de la sinovial sembla estar més relacionada amb els tipus d'artritis inflamatòria que amb la durada de la malaltia, els tractaments de fons previs o el tamany de l'articulació estudiada.
2. En la nostra població el patró recte té una especificitat del 70% i una sensibilitat del 77% pel diagnòstic d'AR i s'associa a un major risc de tenir una AR (OR=57.3).
3. Gairebé una tercera part dels pacients amb AR tenen un patró mixt, en contraposició a altres sèries en les quals el 100% de les AR presenten un patró recte. En el nostre grup el patró mixt també s'associa a un major risc de patir una AR comparat amb el patró tortuós (OR=33.7).
4. Els pacients amb AR i patró tortuós (23%) van ser predominantment seronegatius pel factor reumatoide, la qual cosa ens fa pensar en que la morfologia vascular podria estar en relació amb la fisiopatogènesi de la malaltia.
5. El patró tortuós és altament específic pel diagnòstic d'APso i Esp.
6. El patró vascular més prevalent en el grup d'AI va ser el tortuós. L'estudi de la morfologia vascular en aquests pacients, podria ser d'utilitat en el seu diagnòstic i pronòstic, establint-se com a possible factor predictiu d'evolució clínica.
7. En el grup d'artritis no inflamatòries (artrosi i condrocalcinosi) el patró més observat va ser un patró similar al tortuós.

5.3 TREBALL 3

PATRONS VASCULARS SINOVIALS I EXPRESSIÓ DE FACTORS ANGIOGÈNICS AL TEIXIT SINOVIAL I AL SÈRUM DE PACIENTS AMB ARTRITIS REUMATOIDE

Rheumatology 2006; 46:966-971

RESUM DELS RESULTATS

- Es van analitzar 27 pacients amb AR de forma consecutiva, als que s'havia practicat una artroscòpia amb finalitat diagnòstica o terapèutica.
- Els pacients van ser classificats en tres subgrups en funció del patró vascular observat: recte, tortuós o mixt. El 41% dels pacients van presentar un patró recte (dades similars a l'estudi anteriorment presentat), 33% un patró mixt i un 26% un patró tortuós.
- El FR va ser positiu en un 73% dels pacients amb patró recte i en un 89% dels pacients amb patró mixt en contrast amb un 43% dels pacients amb un patró tortuós.
- La durada de la malaltia era significativament major en el grup de patró recte respecte als altres grups. No es van observar diferències significatives entre els grups respecte a l'activitat clínica de la malaltia expressada en funció del DAS 28, ni respecte el numero de FMM, AINES o glucocorticoids orals que rebien els pacients.
- El 55% de pacients amb patró recte i el 44% de pacients amb patró mixt presentaven erosions en el moment de l'artroscòpia comparat amb el 14% de pacients del grup tortuós.
- L'activitat inflamatòria mesurada en funció de la PCR i la IL-6 va ser significativament major en el grup de patró mixt i recte respecte al tortuós.
- L'anàlisi immunohistoquímica mostrà una distribució del VEGF predominantment perivascular i a la zona de l'estroma ("sublining"). Amb

menys quantitat s'observà a la zona del revestiment ("lining") i a nivell de l'endotel·li. L'anàlisi per imatge digital (DIA) mostrà una expressió significativament augmentada de VEGF en el grup de patró recte respecte al grup mixt. El VEGF s'expressà en la capa de revestiment ("lining") en el 36% dels pacients amb patró recte, en el 11% dels pacients amb patró mixt i en cap pacient del grup de patró tortuós. L'expressió del VEGF en l'endotel·li va ser més freqüent en el grup tortuós (60%) que en el patró recte (40%) i en el mixt (22%).

- L'expressió del TGF- β va ser significativament major en el grup tortuós que en el de patró recte. La totalitat dels pacients amb patrons recte i mixt expressaven TGF- β en l'infiltrat perivascular a diferència del 55% dels pacients en el grup tortuós.
- L'estudi dels marcadors angiogènics a sèrum no mostrà diferències estadísticament significatives entre els tres grups. Només els nivells sèrics de VEGF van mostrar una tendència a la significació entre els grups recte i mixt.

CONCLUSIONS

1. En la nostra cohort de pacients amb AR, el patró vascular recte va ser el més freqüent (41%), dada concordant amb estudis previs del nostre grup.
2. Existeix una major prevalença de FR+, de malaltia erosiva i d'augment dels reactants de fase aguda en els patrons recte i mixt comparats amb el patró tortuós, fet que podria identificar un subgrup d'AR (patró tortuós) amb un pronòstic clínic més favorable.
3. Els pacients amb el patró mixt són similars clínicament i biològica als pacients amb patró recte. Probablement es requeriria consens sobre la definició d'aquest patró en estudis propers.
4. Les diferències observades en la localització dels factors angiogènics (VEGF i TGF- β) a nivell de la membrana sinovial podrien tenir rellevància des del punt de vista patogènic.

5. DISCUSSIÓ CONJUNTA

Com ja s'ha esmentat en la introducció, la membrana sinovial és el teixit diana on s'expressen els canvis fisiopatològics de les diferents malalties inflamatòries, especialment AR i Esp. En els darrers anys, la introducció de l'artroscòpia en l'àmbit reumatològic ha permès un accés senzill al teixit sinovial que ha significat un gran avenç tant pel que fa a l'estudi macroscòpic d'aquest teixit (morfologia i patrons vasculars) com pel que fa a l'obtenció de mostres adequades pel seu estudi microscòpic.

Els desenvolupaments tecnològics en altres camps com la immunohistoquímica, els mètodes de quantificació per imatge digital ⁽⁸²⁾, el cultiu cel·lular i la biologia molecular, han permès un salt qualitatiu en la recerca de factors amb significat pronòstic o indicadors directes o indirectes dels diferents processos fisiopatològics en les malalties reumàtiques inflamatòries. L'estudi de diferents marcadors cel·lulars, l'expressió de citoquines, quimiocines i altres mol·lècules implicades en processos com l'angiogènesi i la destrucció articular, ens donen llum sobre mecanismes específics patogenètics i poden ser també d'utilitat a l'hora d'avaluar noves teràpies ⁽⁸³⁾.

En els treballs presentats en aquesta tesi mostrem que existeixen diferències en l'aspecte macroscòpic de la membrana sinovial, en relació als patrons vasculars entre diferents patologies inflamatòries i que aquests patrons poden

ser d'utilitat quan es presenten en una mateixa entitat com l'AR per identificar un subgrup amb millor pronòstic clínic.

Per altra banda existeix una associació entre aquesta expressió macroscòpica i l'expressió de diferents marcadors tissulars angiogènics que podria traduir mecanismes fisiopatològics diferencials.

També mostrem que l'expressió de certs marcadors tissulars com la proteïna p53 ens permet establir mecanismes diferencials en relació al dany estructural entre l'AR i l'APso, dues entitats que comparteixen algunes característiques fisiopatològiques.

Els sinoviòcits tipus fibroblast de pacients amb AR, exhibeixen característiques de cèl·lules transformades: pèrdua d'inhibició per contacte, proliferació sense anclatge, i expressen diferents oncogens característics de cèl·lules que han escapat dels mecanismes normals de control del creixement. Això va fer pensar, per similitud amb els estudis en el camp de l'oncologia, si la transformació d'aquestes cèl·lules en els llocs d'invasió del cartílag era causada per canvis genètics permanents.

El gen supressor de tumors p53 (tp53) s'activa quan es produeix dany cel·lular, aquest gen indueix l'arrest cel·lular i permet la reparació del DNA malmès o indueix l'apoptosi en cas de no ser possible la reparació. L'estrès oxidatiu en els llocs on existeix inflamació crònica com la membrana sinovial, podria produir efectes genotòxics, és a dir mutacions en el gen p53 que

impedissin una correcta reparació cel·lular i que convertissin la inflamació en un procés crònic ⁽²³⁾ .

Treballs previs han demostrat la sobreexpressió i algunes mutacions funcionals de la proteïna p53 al teixit sinovial de pacients amb AR ^(21, 84), la major part en AR de llarga evolució. Els mateixos autors han demostrat també aquest augment d'expressió en AR de curta durada (< 6 mesos) sense diferències significatives respecte a les AR de llarga durada (> 5 anys) i inclús en articulacions no afectes en un mateix pacient amb AR. La presència de p53 en els pacients control amb artrosi i artritis reactiva va ser significativament menor a l'observada en els pacients amb AR ⁽⁸⁵⁾.

Treballs recents han demostrat també que la via de la p53 està activada tant en pacients amb AR activa, com en pacients amb AR en remissió, la qual cosa dóna suport a la idea d'un paper adaptatiu de la p53 en l'AR ⁽⁸⁶⁾. Tot i les troballes d'algunes mutacions somàtiques de la p53 en la sinovial reumatoide, cada cop sembla més cert que la p53 és induïda de forma normal durant el procés inflamatori i actúa suprimint i modulant les respostes inflamatòries locals ⁽⁸⁷⁾. El percentatge de p53 anormal o mutada és controvertit (5-30%) ja que les tècniques immunohistoquímiques de que disposem fins la data no permeten distingir les formes salvatges de p53 de les mutades.

En el primer treball d'aquesta tesi i donat que l'APso i l'AR són dues entitats que comparteixen mecanismes fisiopatològics [patró de citoquines Th1 ⁽⁸⁸⁾, expressió sinovial de marcadors angiogènics ⁽⁴⁷⁾, paper central del TNF- α

en la seva patogènesi i mecanismes derivats del sistema RANK-L en la producció de les erosions ⁽⁵²⁾] vàrem voler estudiar si l'expressió de la proteïna p53 també era present en pacients amb APso i si aquesta es correlacionava amb el dany estructural. La sobreexpressió de p53 ja s'havia demostrat en lesions cutànies de psoriasi ⁽⁸⁹⁾, però no en teixit sinovial. En aquest estudi demostrem per primer cop que l'expressió de p53 a la sinovial reumatoide s'associa a malaltia erosiva i progressió radiològica en un any. Observem de forma similar, un augment d'expressió de p53 a la sinovial dels pacients amb APso però de menys intensitat i no associada a dany radiològic. Aquestes diferències en l'expressió de p53 en AR i APso no estan relacionades amb diferències en la durada de la malaltia ni amb l'activitat inflamatòria, factors que podrien afectar l'expressió de p53 ⁽⁸⁷⁾. No sabem, pels motius explicats anteriorment, quin percentatge d'aquesta proteïna està mutada, però donat que la proteïna mutada té una vida mitja més llarga, possiblement estigui en una proporció important. Aquesta proteïna mutada, que s'expressa fonamentalment a la capa de revestiment, pot induir la síntesi de MMP i de citoquines proinflamatòries causant dany estructural ⁽⁹⁰⁾. És probable que l'efecte protector que observem en els nostres pacients amb APso sigui degut a una major expressió de les formes salvatges, tot i que això queda de moment en l'àmbit de l'especulació.

També en aquest estudi hem confirmat l'associació entre la infiltració per macròfags (CD68+) i el dany estructural en AR ⁽³⁷⁾. Aquest acúmulo de macròfags a nivell de la capa de revestiment i la conseqüent producció de

citoquines i MMP s'han implicat en el dany articular a l'AR ⁽⁹¹⁾. Aquest estudi suggereix, doncs, diferents conseqüències patogèniques en la sinovitis de l'AR i de l'APso.

Els dos altres treballs presentats, es centren en els aspectes macroscòpics de la membrana sinovial i la seva relació amb característiques clíniques dels pacients i expressió de mediadors angiogènics.

Des de l'aparició del treball de Reece i col.laboradors ⁽⁷⁸⁾, i tal com s'esmentava en la introducció, han aparegut diversos estudis sobre l'aspecte macroscòpic que ofereix la sinovitis per visió artroscòpica, observant diferents patrons vasculars ^(11,72,79-81). Tot i així, els resultats són discordants en funció de les sèries, probablement degut a una diferent selecció de pacients o una definició diferent dels patrons. En el que sí convergeixen tots els estudis és en l'alta especificitat del patró tortuós (95% en la nostra sèrie) pel diagnòstic d'espondiloartropaties i especialment d'APso i en que el patró recte, si bé no és sempre el més freqüent en els pacients amb AR, sí és el més característic. La nostra sèrie va bastant en paral·lel a la de Baeten ⁽¹¹⁾, que objectivà que en els pacients amb AR el percentatge de patró recte era del 28% observant-se un 44% de pacients amb patró mixt. A la nostra sèrie el número conjunt de pacients amb AR i patrons mixt i tortuós (28% i 23% respectivament) era major que el que presentaven patró recte (49%). Resulta d'interès el patró mixt assignat a pacients amb similars proporcions de patró recte i tortuós i també el percentatge de pacients amb AR i patró tortuós que havia estat probablement infravalorat en altres sèries ⁽⁷⁸⁻⁷⁹⁾. En el nostre grup de pacients, el patró mixt va

presentar un risc augmentat d'associació a AR (OR 33.7) comparat amb el patró tortuós i discretament inferior al que presentava el patró recte (OR 57.3).

De forma similar a altres treballs ^(11,80), els diferents patrons no tenen relació amb el temps d'evolució de la malaltia i sí amb els diagnòstics. L'alta prevalença de FR+ en els pacients amb patrons rectes i mixtes respecte als tortuosos, com posteriorment confirmem en el tercer treball d'aquesta tesi, ens fa pensar que aquesta morfologia està en relació amb la patogènesi de l'AR.

El nostre, és el primer estudi prospectiu sobre patrons vasculars que inclou pacients amb AI. En la majoria de casos el patró predominant va ser el tortuós. Si bé és cert que només 6 dels 17 pacients amb AI van evolucionar a un diagnòstic definitiu després de dos anys de seguiment i per tant no podem extrapolar resultats, la combinació de FR+ i del patró recte es va associar al diagnòstic d'AR i els dos pacients que van desenvolupar una Esp van presentar patró tortuós. Probablement la valoració dels patrons vasculars en aquest grup de pacients resulta de gran interès diagnòstic per a projectes futurs.

En la mateixa línia d'estudi de la morfologia vascular i amb la idea de que l'AR és una malaltia heterogènea clínicament, genètica i histopatològica ⁽⁹²⁾, vam intentar establir subgrups de pacients amb AR en funció del patró vascular exhibit i l'expressió de diferents factors angiogènics a la membrana sinovial i al sèrum. Aquest és el primer treball que intenta establir subgrups d'AR en funció dels patrons vasculars. Estudis previs ja han demostrat la presència de diferents patrons vasculars a l'AR ^(72, 78,79,81), que podrien reflectir

l'efecte de factors específics angiogènics a la patogènesis de l'artritis. També s'ha demostrat la relació entre angiopoietines, VEGF, MMP-9, TGF- β i la morfologia vascular ja a les fases inicials de l'APso ^(72,79). En el nostre estudi, el patró vascular més freqüent a l'AR va ser el recte (41%), i es va observar una major prevalença del FR+ en els patrons recte i mixt respecte el tortuós, resultats concordants amb l'estudi previ del nostre grup. Donat que els estudis de patrons vasculars en AR realitzats per altres grups no aportaven dades sobre el FR, no podem, malauradament, comparar aquests resultats. També varem observar una major prevalença de malaltia erosiva als patrons recte i mixt comparat amb el grup tortuós que, si bé podria estar en relació al major temps d'evolució que presentaven aquests pacients, no es van trobar diferències estadísticament significatives en quant a la durada de la malaltia entre el patró mixt i el tortuós, resultats similars a estudis d'altres grups ⁽¹¹⁾. Tampoc hi havien diferències significatives en quant al percentatge de pacients tractats amb FMM en el moment de l'artroscòpia. En canvi, aquest augment d'erosions en els grups recte i mixt podria estar en relació a una major activitat inflamatòria en els grups esmentats. És evident doncs que el grup d'AR amb patró tortuós té unes característiques diferencials respecte als grups rectes i mixts, que es comporten de forma molt similar. La baixa prevalença del FR+ i d'erosions, els nivells baixos dels reactants de fase aguda (PCR i IL-6) i la tendència a rebre un menor nombre de FMM fa pensar en que es tracta d'un subgrup de pacients amb millor pronòstic.

En quant a l'associació d'aquests patrons vasculars amb l'expressió de factors angiogènics, dos treballs previs d'un mateix grup ^(72,79) havien demostrat l'associació del patró tortuós en APso d'inici amb l'expressió de VEGF (tissular i a LA) , TGF- β , MMP-9 (al LA) i angiopoietina-2 (MS), comparats amb el patró recte. En el nostre estudi no es va poder demostrar aquesta associació en cap dels marcadors sèrics valorats (VEGF, TGF- β i IL-8), si bé es va observar una tendència a una major expressió del VEGF sèric en el patró recte comparat amb el patró mixt. Probablement aquests resultats negatius són deguts al tamany de la mostra i al fet de què els factors angiogènics es produeixen al teixit i els seus nivells sèrics solen ser baixos. Estudis recents han demostrat com a contrapartida que nivells sèrics augmentats de IL-8 i altres quimioquines s'associen a diferents variants histològiques de sinovitis reumatoide ⁽⁹³⁾.

A nivell tissular vam objectivar una expressió diferencial d'alguns dels marcadors: major expressió del VEGF al grup de patró recte respecte als altres dos i localitzat predominantment en la capa de revestiment o "lining"; i una major expressió del TGF- β al grup tortuós respecte als altres dos patrons. La major expressió del VEGF al "lining" s'ha associat en estudis experimentals a major activitat macrofàgica amb producció augmentada de citocines i MMP que conduïrien a una major destrucció articular ⁽⁹⁴⁾. Tot i que s'ha demostrat que el TGF- β és un potent inductor de la producció de VEGF, pot mostrar efectes antiinflamatoris en artritis experimentals pel que no queda clar quin paper desenvolupa a l'AR i si podria tenir un paper protector en el grup de pacients amb patró tortuós. Així doncs, aquesta expressió diferencial del VEGF

i del TGF- β a la sinovial dels pacients amb AR, podria tenir una rellevància fisiopatològica.

6. CONCLUSIONS FINALS

- L'estudi de la membrana sinovial constitueix un repte en sí mateix en tant que el contexte on es produeix la investigació és un teixit poc diferenciat que dificulta trobar diferències rellevants. Els treballs exposats en aquesta tesi intenten aportar algunes claus per aprofundir en la patogènia i pronòstic dels diferents tipus d'artritis.
- Des del punt de vista macroscòpic, els patrons vasculars ens permeten distingir diferents tipus d'artritis i inclús poden mostrar variabilitat dins d'una mateixa malaltia com l'AR, associant-se a diferències clíniques i pronòstiques. Aquests patrons sembla que no es modifiquen amb el tractament ni amb la durada de la malaltia.
- El patró recte és el més freqüent i característic de l'AR tot i que també es poden observar patrons tortuosos i mixtes. Els pacients amb patrons rectes i mixtes mostren similituds clíniques i biològiques mentre que el patró tortuós en aquests pacients podria identificar un subgrup d'AR amb un pronòstic clínic més favorable.
- El patró tortuós és el més específic pel diagnòstic d'espondiloartropatia confirmant els resultats d'altres autors. En el grup d'artritis indiferenciada el patró més prevalent va ser el tortuós. L'estudi de la morfologia vascular en aquests pacients podria ser d'utilitat en el diagnòstic i evolució clínica.

-
- Malgrat que els patrons vasculars en pacients amb AR, no es van associar a una expressió diferencial de marcadors angiogènics, la distinta localització dels factors VEGF i TGF- β a nivell sinovial en els diferents subgrups d'AR, podrien tenir rellevància des del punt de vista patogènic.
 - Respecte a l'expressió diferencial de molècules a l'AR i a l'APso, el nostre treball conclou que existeix una expressió augmentada de la p53 a les dues entitats, sent aquesta expressió significativament major en els pacients amb AR. En relació a les implicacions pronòstiques, podem afirmar que l'expressió de p53 s'associa a malaltia erosiva i a progressió radiològica només en els pacients amb AR i no amb APso, pel que podríem parlar de diferències fisiopatogèniques en la sinovitis d'aquestes dues entitats. La p53 podria ser, doncs, un marcador pronòstic de dany radiològic en els pacients amb AR.
 - L'expressió de macròfags CD68+ va ser major en els pacients amb AR i malaltia erosiva així com en els pacients amb progressió radiològica, confirmant estudis previs.

8.BIBLIOGRAFIA

1. Edwards JC: The synovium. En: Hochberg MC, Silamn AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, eds. Rheumatology. Philadelphia: Elsevier, 2003:159-166.
2. Edwards JC, Willoughby DA. Demonstration of bone marrow derived cells in synovial lining by means of giant intracellular granules as genetic markers. *Ann Rheum Dis* 1982; 41(2):177-182.
3. Athanasou NA. Synovial macrophages. *Ann Rheum Dis* 1995;54:392-394.
4. Edwards JC. Fibroblast biology. Development and differentiation of synovial fibroblasts in arthritis. *Arthritis Research* 2000;2:344-347.
5. Edwards JC. Synovial intimal fibroblasts. *Ann Rheum Dis* 1995;54:395-397.
6. Pirilä L, Aho H, Roivainen A et al. Identification of $\alpha 6 \beta 1$ integrin positive cells in synovial lining layer as type B synoviocytes. *J Rheumatol* 2001;28:478-484.
7. Singh JA, Arayssi T, Duray P, Schumacher HR. Immunohistochemistry of normal human knee synovium: a quantitative study. *Ann Rheum Dis* 2004;63:785-790.
8. Fassbender HG. Pathology and pathobiology of rheumatic diseases. Heidelberg: Springer- Verlag;2002.

-
9. Firestein GS, Yeo M, Zvaifler NJ. Apoptosis in rheumatoid arthritis synovium. *J Clin Invest* 1995;96(3):1631-1638.
 10. Franz JK, Pap T, Hummel KM, Nawrath M, Aicher WK, Shigeyama Y et al. Expression of sentrin, a novel antiapoptotic molecule, at sites of synovial invasion in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43(3):599-607.
 11. Baeten D, Demetter P, Cuvelier C, Van den Bosch F, Kruithof E, Van Damme N et al. Comparative study of the synovial histology in rheumatoid arthritis, spondyloarthropathy, and osteoarthritis: influence of disease duration and activity. *Ann Rheum Dis* 2000;59:945-953.
 12. Gravallesse EM, Harada Y, Wang JT, Gorn AH, Thornhill TS, Goldring SR. Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 1998;152 (4):943-951.
 13. Davis LS. A question of transformation. The synovial fibroblast in Rheumatoid Arthritis. *Am J Pathol* 2003;162:1399-1402.
 14. Kraan MC, Haringman JJ, Post WJ, Verseendaal J, Breedveld FC and Tak PP. Immunohistological analysis of synovial tissue for differential diagnosis in early arthritis. *Rheumatology* 1999;38:1074-1080.
 15. Tak PP, Smeets TJM, Daha MR, Kluin PM, Meijers KA, Brand R et al. Analysis of the synovial cellular infiltrate in early rheumatoid synovial tissue in relation to local disease activity. *Arthritis Rheum* 1997;40:217-225.

-
16. Kraan MC, Versendaal H, Jonker M, Brenishan B, Post WJ, tHart BA, Breedveld FC, Tak PP: Assymptomatic synovitis precedes clinically manifest arthritis. *Arthritis Rheum* 1998;41(8):1481-1488.
 17. Hale LP, Martin ME, Mc Collum DE et al . Immunohistologic analysis of the distribution of cell adhesion molecules within the inflammatory synovial microenvironment. *Arthritis Rheum* 1989;32(1):22-30.
 18. Cañete JD, Llana J, Collado A, Sanmartí R, Gayá A, Gratacós J et al. Comparative cytokine gene expression in synovial tissue of early rheumatoid arthritis and seronegative spondyloarthropathies. *Br J Rheumatol* 1997;36:38-42.
 19. Firestein GS. Invasive fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis: passive responders or transformed agressors?. *Arthritis Rheum* 1996;39(11):1781-1790.
 20. Yamanishi Y, Firestein G. Pathogenesis of rheumatoid arthritis:The role of synoviocytes. *Rheum Dis Clin North Am* 2001 May ;27(2):355-371.
 21. Firestein GS, Echeverry F, Yeo M, Zvaifler NJ, Green DR. Somatic mutations in the p53 tumor suppressor gene in rheumatoid arthritis synovium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(20):10895-10900.
 22. Reme T, Travaglio A, Gueydon E, Adla L, Jorgensen C, Sany J. Mutations of the p53 tumor suppressor gene in erosive rheumatoid synovial tissue. *Clin Ex Immunol* 1998;111(2):353-358.

-
23. Tak PP, Zvaifler NJ, Green DR, Firestein GS. Rheumatoid arthritis and p53: how oxidative stress might alter the course of inflammatory diseases. *Immunol Today* 2000;21:78-82.
 24. Roivainen A, Jalava J, Pirila L, Yli-Jama T, Tiusanen H, Toivanen P. H-ras oncogene point mutations in arthritic synovium. *Arthritis Rheum* 1997;40:1636-1643.
 25. Magalhaes R, Stiehl P, Morawietz L, Berek C, Krenn V. Morphological and molecular pathology of the B cell response in synovitis of rheumatoid arthritis. *Virchows Arch* 2002;441:415-427.
 26. Cañete JD, Martínez SE, Farrés J, Sanmartí R, Blay M, Gómez A, Salvador G, Muñoz-Gómez J. Differential Th1/Th2 cytokine patterns in chronic arthritis: interferon γ is highly expressed in synovium of rheumatoid arthritis compared with seronegative spondyloarthropathies. *Ann Rheum Dis* 2000;59:263-268.
 27. Smeets TJ, Dolhain REJ, Breedveld FC, Tak PP. Analysis of the cellular infiltrates and expression of cytokines in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis and reactive arthritis. *J Pathol* 1998;186:75-81.
 28. Steiner G, Tohidast-Akrad M, Witzmann G, Veseley M, Studnicka-Benke A, Gal A et al. Cytokine production by synovial T-cells in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 1999;38:202-213.

-
29. Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, Caparelli C et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999;402:304-9.
 30. Gravallesse EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, Amento E, Goldring SR. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum* 2000;43:250-8.
 31. Takemura S, Klimiuk PA, Braun A, Goronzy JJ, Weyand CM. T cell activation in rheumatoid synovium is B cell dependent. *J Immunol* 2001;167(8):4710-4718.
 32. Braun A, Takemura S, Vallejo AN, Goronzy JJ, Weyand CM. Lymphotoxin β -mediated stimulation of synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50:2140-2150.
 33. Brown KA, Perry ME, Mustafa Y, Wood SK, Crawley M, Taub N, Dumonde DC. The distribution and abnormal morphology of plasma cells in rheumatoid synovium. *Scand J Immunol* 1995;141 (5):509-517.
 34. Vossenaarr ER, Smeets TJM, Kraan MC, Ratas JM, Van Venrooij WJ, Tak PP. The presence of citrullinated proteins is not specific for rheumatoid synovial tissue. *Arthritis Rheum* 2004;50(11):3485- 3494.
 35. Ronnelid J, Wick MC, Lampa J, Lindblad S, Nordmark B, Klareskog L, van Vollenhoven RF. Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies (anti-CP) during 5 year follow-up in early rheumatoid arthritis: anti-CP status predicts worse disease activity and greater radiological progression. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1744-1749.

-
36. Smeets TJM, Kraan MC, Galjaard S, Youssef PP, Smith MD, Tak PP. Analysis of the cell infiltrate and expression of matrix metalloproteinases and granzyme B in paired synovial biopsy specimens from the cartilage-pannus junction in patients with RA. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 561-565.
 37. Mulherin D, Fitzgerald O and Brenishan B. Synovial tissue macrophage populations and articular damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996;39 (1):115-124.
 38. Woolley DE, Tetlow LC. Mast cell activation and its relation to proinflammatory cytokine production in the rheumatoid lesion. *Arthritis Res* 2000;2:65-74.
 39. Woolley DE. The mast cell in inflammatory arthritis. *N Engl J Med* 2003;348(17):1709-1711.
 40. Lee DM, Friend DS, Gurish MF, Benoist C, Mathis D, Brenner MB. Mast cells: a cellular link between autoantibodies and inflammatory arthritis. *Science* 2002;297:1689-1692.
 41. Tak PP, Kummer JA, Hack CE, Daha MR, Smeets TJ, Erkelens GW, Meinders AE, Kluin PM, Breedveld FC. Granzyme-positive cytotoxic cells are specifically increased in early rheumatoid synovial tissue. *Arthritis Rheum* 1994;37(12):1735-1743.
 42. Thomas R, Quinn C. Functional differentiation of dendritic cells in rheumatoid arthritis: role of CD86 in the synovium. *J Immunol* 1996;156 (8):3074-3086.

-
43. Chatham WW, Swain R, Frohsin Jr, Heck LW, Miller EJ, Blackburn WD Jr. Degradation of human articular cartilage by neutrophils in synovial fluid. *Arthritis Rheum* 1993;36:51-58.
 44. Mc Gonagle D, Gibbon W, Emery P. Classification of inflammatory arthritis by enthesitis. *Lancet* 1998;352:1137-1140.
 45. Kruithof E, Baeten D, De Rycke L, Vandooren B, Foell D, Roth J, Cañete JD, Boots AM, Veys EM, De Keyser F. Synovial histopathology of psoriatic arthritis, both oligo- and polyarticular, resembles spondyloarthropathy more than it does rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7(3):R569-580.
 46. Veale D, Yanni G, Rogers S, Barnes L, Brenishan B and Fitzgerald O. Reduced synovial membrane macrophage numbers, ELAM-1 expression, and lining layer hyperplasia in psoriatic arthritis as compared with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993;36 (7): 893-900.
 47. Cañete JD, Pablos JL, Sanmartí R, Mallofré C, Marsal S, Maymó J et al. Anti-angiogenic effects of TNF- α therapy (infliximab) in psoriatic arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2004;50:1636-1641.
 48. Cañete JD. Histopatología de las espondiloartropatías. En: Raimon Sanmartí (ed), *Espondiloartritis. Monografías SER (2)*, Panamericana, Madrid, 51-64, 2004.
 49. Laloux L, Voisin M-C, Allain J, Martin N, Kerboull L, Chevalier X, Claudepierre P. Immunohistological study of entheses in

-
- spondyloarthropathies: comparison in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2001;60:316-321.
50. Costello P, Brenishan B, O'Farelli C, Fitzgerald O. Predominance of CD8+ T lymphocytes in psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 1999;26:1117-1124.
51. Veale DJ, Ritchlin C, Fitzgerald O. Immunopathology of psoriasis and psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64 (suppl II):ii26-ii29.
52. Ritchlin CT, Haas-Smith SA, Li P, Hicks DG and Schwarz EM. Mechanisms of TNF- α and RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone resorption in psoriatic arthritis. *J Clin Invest* 2003;111:821-831.
53. Walsh DA. Angiogenesis and arthritis. *Rheumatology* 1999;38:103-112.
54. Koch A. Angiogenesis as a target in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62 (suppl 2):ii60-ii67.
55. Taylor PC, Sivakumar B. Hypoxia and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2005;17:293-298.
56. Firestein GS. Starving the synovium: angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1999;103:3-4.
57. Berse B, Hunt JA, Diegel RJ, Morganelli P, Yeo K, Brown F et al. Hypoxia augments cytokine (transforming growth factor beta (TGF-beta) and IL-1 induced vascular endothelial growth factor secretion by human synovial fibroblasts. *Clin Exp Immunol* 1999;115:176-182.
58. Johnson BA, Haines GK, Harlow LA, Koch AE. Adhesion molecule expression in human synovial tissue. *Arthritis Rheum* 1993;36:137-146.

-
59. Cañete JD. Angiogénesis en la sinovitis reumatoide. *Rev Esp Reumatol* 2004; 31(4):173-178.
 60. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, et al. Angiopoietin 2, a natural antagonist for Tie-2 that disrupts angiogenesis. *Science* 1997;277:55-60.
 61. Paleolog EM. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research* 2002, 4 (suppl 3):S81-S90.
 62. Koch AE, Harlow LA, Haines GK, Amento EP, Unemori EN, Wong WL et al. Vascular endothelial growth factor. A cytokine modulating endothelial function in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1994;152:41-49.
 63. Harada M, Mitsuyama K, Yoshida H, Sakisaka S, Taniguchi E, Kawaguchi T et al. Vascular endothelial growth factor in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1998;27:377-380.
 64. Ikeda M, Hosoda Y, Hirose S, Okada Y, Ikeda E. Expression of vascular endothelial growth factor isoforms and their receptors Flt-1, KDR and neuropilin-1 in synovial tissues of rheumatoid arthritis. *J Pathol* 2000;191:426-433.
 65. Ballara S, Taylor PC, Reush P, Marme D, Feldmann M, Maini RN et al. Raised serum vascular endothelial growth factor are associated with destructive changes in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2055-2064.
 66. Uchida T, Nakashima M, Hirota Y, Miyazaki Y, Tsukazaki T, Shindo H. Immunohistochemical localisation of protein tyrosine kinase receptors

-
- Tie-1 and Tie-2 in synovial tissue of rheumatoid arthritis: correlation with angiogenesis and synovial proliferation. *Ann Rheum Dis* 2000;59:607-614.
67. Gravallesse EM, Pettit AR, Lee R, Madore R, Manning C, Tsay A et al. Angiopoietin-1 is expressed in the synovium of patients with rheumatoid arthritis and is induced by tumor necrosis factor alpha. *Ann Rheum Dis* 2003;62:100-107.
68. Scott BB, Zaratin PF, Colombo A, Hansbury MJ, Winkler JD, Jakson JR. Constitutive expression of angiopoietin-1 and -2 and modulation of their expression by inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *J Rheumatol* 2002;29:230-239.
69. Koch AE. The role of angiogenesis in rheumatoid arthritis: recent developments. *Ann Rheum Dis* 2000 (suppl I):i65-i71.
70. Lobov IB, Brooks PC, Lang RA. Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:11205-11210.
71. Nagashima M, Asano G, Yoshino S. Imbalance in production between vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000;27:2339-2342.
72. Fearon U, Griosios K, Fraser A, Reece R, Emery P, Jones PF and Veale D. Angiopoietins, growth factors, and vascular morphology in early arthritis. *J Rheumatol* 2003;30:260-268.

-
73. Cañete JD, Salvador G, Sanmartí R, Gómez A. Artroscopia reumatológica en el diagnóstico, tratamiento e investigación de las enfermedades articulares. MTA (métodos terapéutico-diagnósticos de actualidad) 1999;17(7):229-256.
74. Reece RJ, Cañete JD, Emery P, Veale DJ. Small joint arthroscopy: a safe, efficacious and well tolerated procedure in early inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 1997;41:S 1293.
75. Kane D, Veale DJ, Fitzgerald O and Reece R. Survey of arthroscopy performed by rheumatologists. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41:210-215.
76. Szachnowsky P, Nathan W, William JA, Cohen LM. Complications of office based arthroscopy of the knee. *J Rheumatol* 1995;22:1722-1725.
77. Lindblad S, Hedfors E. Intraarticular variation in synovitis. Local macroscopic and microscopic signs of inflammatory activity are significantly correlated. *Arthritis Rheum* 1985;28(9):977-986.
78. Reece RJ, Cañete JD, Parsons WJ, Emery P and Veale DJ. Distinct vascular patterns of early synovitis in psoriatic, reactive and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:1481-1484.
79. Fraser A, Fearon U, Reece R, Emery P and Veale D. Matrix metalloproteinase 9, apoptosis, and vascular morphology in early arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44:2024-2028.
80. Fiocco U, Cozzi L, Chieco-Bianchi F, Rigon C, Vezzu M, Fabero E et al. Vascular changes in psoriatic knee joint synovitis. *J Rheumatol* 2001;28:2480-2486.

-
81. Cañete JD, Rodriguez J, Salvador G, Gómez-Centeno A, Muñoz-Gómez J, Sanmartí R. Diagnostic usefulness of synovial vascular morphology in chronic arthritis. A systematic survey of 100 cases. *Semin Arthritis Rheum* 2003;32:378-387.
 82. Smith MD, Baeten D, Ulfgren A, McInnes IB, Fitzgerald O, Brenishan B, Tak P, Veale D. Standardisation of synovial tissue infiltrate analysis: how far have we come? How much further do we need to go?. *Ann Rheum Dis* 2006;65:93-100.
 83. Brenishan B, Baeten D, Firestein G, Fitzgerald OM, Gerlag DM, Haringman JJ, McInnes IB, Reece RJ, Smith MD, Ulfgren AK, Veale DJ and Tak PP. Omeract 7 special interest group. Synovial tissue analysis in clinical trials. *J Rheumatol* 2005;32:2481-2484.
 84. Firestein GS, Nguyen K, Aupperle KR, Yeo M, Boyle D, Zvaifler NJ. Apoptosis in rheumatoid arthritis: p53 overexpression in rheumatoid arthritis synovium. *Am J Pathol*;149:2143-2151.
 85. Tak PP, Smeets TJ, Boyle DL, Kraan MC, Shi Y, Zhuang S, Zvaifler N, Breedveld F and Firestein GS. P53 overexpression in synovial tissue from patients with early and longstanding rheumatoid arthritis compared with patients with reactive arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42 (5):948-953.
 86. Helmchen B, Eckauf H, Ehemann V, Wittmann I, Meyer-Scholten C and Berger I. Expression pattern of cell cycle-related gene products in

- synovial stroma and synovial lining in active and quiescent stages of rheumatoid arthritis. *Histol Histopathol* 2005;20:365-372.
87. Yamanishi Y, Boyle DL, Pinkoski MJ, Mahboubi A, Lin T, Han Z, Zvaifler N, Green DR, and Firestein G. Regulation of joint destruction and inflammation by p53 in collagen-induced arthritis. *Am J Pathol* 2002;160:123-130.
88. Ritchlin C, Haas-Smith SA, Hicks D, Cappuccio J, Osterland CK, Looney RJ. Patterns of cytokine production in psoriatic synovium. *J Rheumatol* 1998;25:1544-1552.
89. Hannuksela-Svahn, Paakko P, Autio P, Reunala T, Karvonen J, Vahakangas K. Expression of p53 protein before and after PUVA treatment in psoriasis. *Acta Derm Venereol* 1999;79:195-199.
90. Sun Y, Cheung HS. P53, proto-oncogene and rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2002;31:299-310.
91. Chu CQ, Field M, Feldmann M, Maini RN. Localization of tumor necrosis factor alpha in synovial tissue and at the cartilage-pannus junction in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1991;34:1125-1132.
92. Van der Pouw Kraan T, Van Gaalen FA, Kasperkovitz PV, Verbeet NL, Smeets TJ, Kraan MC, Fero M, Tak PP, Huizinga TW, Pieterman E, Breedveld FC, Alizadeh AA, Verweij CL. Rheumatoid arthritis is a heterogeneous disease. Evidence for differences in the activation of the STAT-1 pathway between rheumatoid tissues. *Arthritis Rheum* 2003;48(8):2132-2145.

-
93. Klimiuk PA, Sierakowsky S, Latosiewicz R, Skowronski J, Cylwik JP, Cylwick B, Chwiecko J. Histological patterns of synovitis and serum chemokines in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005;32:1666-1672.
94. De Bandt M, Mahdi B, Ollivier V, Grossin M, Dupuis M, Gaudry M, Bohlen P, Lipson KE, Rice A, Wu Y, Gougerot-Pocidallo MA, Pasquier C. Blockade of vascular endothelial growth factor receptor I (VEGF-R1), but not VEGF-RII, supresses joint destruction in the K/BxN model of rheumatoid arthritis. *J Immunol* 2003;171:4853-4589.

9. APÈNDIX

- **Originals**

1. Cañete JD, Martínez S, Farrés J, Sanmartí R, Blay M, Gómez A, **Salvador G**, Muñoz-Gómez J. Differential Th1/Th2 cytokine patterns in chronic arthritis: interferon γ is highly expressed in synovium of rheumatoid arthritis compared with seronegative spondyloarthropathies. *Ann Rheum Dis* 2000;59:263-268. (*)
2. **Salvador G**, Gómez A, Viñas O, Ercilla G, Cañete JD, Muñoz-Gómez J, Sanmartí R. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide and antikeratin antibodies in palindromic rheumatism. An abortive form of rheumatoid arthritis?. *Rheumatology* 2003;42:972-975. (*)
3. Sanmartí R, Gómez A, Ercilla G, Gratacós J, Larrosa M, Surís X, Viñas O, **Salvador G**, Muñoz-Gómez J, Cañete JD. Radiological progresión in early rheumatoid arthritis after DMARDS: a one– year follow-up study in a clinical setting. *Rheumatology* 2003;42:1044-1049. (*)
4. Sanmartí R, Cañete JD, **Salvador G**. Palindromic rheumatism and other relapsing arthritides. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004;18(5):647-61.
5. Cañete JD, Pablos JL, Sanmartí R, Mallofré C, Marsal S, Maymó J et al. Anti-angiogenic effects of TNF- α therapy (infliximab) in psoriatic arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2004;50:1636-1641. (*)

- **Revisions**

Cañete JD, **Salvador G**, Sanmartí R, Gómez A. Artroscopia reumatológica en el diagnóstico, tratamiento e investigación de las enfermedades articulares. MTA (métodos terapéutico-diagnósticos de actualidad) 1999;17(7):229-256. (*).

- **Presentacions a Congressos**

1. **Salvador G**, Gómez A, Martínez S E, Farrés J, Blay M, Sanmartí R, Muñoz-Gómez J. Analysis of the relationship between profile of synovial tissue T-cell derived cytokine gene expression and synovial fluid levels of proinflammatory cytokines (IL-1, IL-6, and TNF- α) in RA and SSP. Br J Rheumatol 1998; 37 (Suppl I) :S36.
2. **Salvador G**, Gomez A, Ros I, Sanmartí R, Viñas O, Cañete JD, Muñoz-Gómez J. Antikeratin antibodies in palindromic rheumatism: prevalence and clinical significance. Arthritis Rheum 1999;42(9):S 325.
3. C.Orellana, Sanmartí R, Cañete JD, Yagüe J, Ercilla G, Gómez A, **Salvador G**, Muñoz-Gómez J. El polimorfismo de TNF- α en la posición -308 podría tener un efecto protector frente al daño radiológico en la artritis reumatoide. Rev Esp Reumatol 2001;28 (5):184.
4. **Salvador G**, Sanmarti R, Cañete JD, Gómez A, Rodriguez JR, Muñoz-Gómez J. Early inflammatory arthritis clinics. Do we need new diagnostic criteria? Ann Rheum Dis 2001;60 (Suppl I):245.
5. **Salvador G**, Cañete JD, Sanmarti R, Gómez A, Rodriguez JR, Muñoz-Gómez J. Aplicaciones de la artroscopia reumatologica. Resultados preliminares tras el primer año. Rev Esp Reumatol 2001;28(5):244.

-
6. **Salvador G**, Cerdà D, Mallofré C, Sanmartí R, Gómez A, Muñoz-Gómez A, Cañete JD. Análisis de la expresión diferencial de marcadores celulares en la membrana sinovial de artritis reumatoide y Espondiloartropatías. *Rev Esp Reumatol* 2002;29(5):213.
 7. **Salvador G**, Mallofre C, Sanmarti R, Gómez A, Rodríguez JR, Muñoz-Gómez J, Cañete JD. P53 protein expresión correlates with synovial macrophage infiltration and erosions in chronic arthropathies. *Ann Rheum Dis* 2002;61(Suppl I):280.
 8. Gómez A, Ercilla G, Viñas O, **Salvador G**, Cañete JD, Muñoz-Gómez J, Sanmartí R. Antibodies anti-cyclic citrulinated peptide (CCP) distinguishes immunogenetically different subgroups in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002;61(Suppl I):281.
 9. Rodríguez JR, Sanmarti R, Gómez A, Viñas O, Ercilla G, Gratacós J, Surís X, Larrossa M, **Salvador G**, Cañete JD, Muñoz-Gómez J. Factores pronósticos de progresión radiológica en artritis reumatoide de inicio. *Rev Esp Reumatol* 2002;29(5):232.
 10. Rodríguez JR, **Salvador G**, Sanmartí R, Gómez A, Albaladejo C, Vazquez I, Muñoz-Gómez J, Cañete JD. Vascular patterns in chronic arthropathies. *Ann Rheum Dis* 2002;61(Suppl I):325.
 11. Gómez A, Ercilla G, Viñas O, **Salvador G**, Cañete JD, Muñoz-Gómez J, Sanmarti R. Variación en los títulos de anticuerpos anti-PCC a lo largo del tiempo en pacientes con AR de corta evolución. *Rev Esp Reumatol* 2003;30(5):262.
 12. Gómez A, Viñas O, Ercilla G, **Salvador G**, Canete JD, Rodriguez JR, Albaladejo C, Gómez-Puertas A, Sanmarti R. High titers of anti-CCP antibodies at baseline and after one year of DMARDS may predict a poor clinical response in patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004;63(Suppl1).

-
13. Gómez A, Albaladejo C, Rodríguez JR, Viñas O, Ercilla G, **Salvador G**, Cañete JD, Sanmartí R. Changes in anti-CCP levels after infliximab therapy start in patients with longstanding rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004;63(Suppl 1)
 14. **Salvador G**, Vazquez I, Gómez-Puerta JA, Hernández MV, Graell E, Albaladejo C, Cañete JD, Sanmartí R. One year follow-up in patients with mono/oligo arthritis in an early-onset arthritis clinic. Diagnostic role of HLA-B27 in spondyloarthropathies. *Ann Rheum Dis* 2005;64 (Suppl III):339.
 15. Larrosa M, Gómez A, Ercilla G, Viñas O, Cañete JD, Vázquez I, Gómez-Puerta JA, Gratacós J, **Salvador G**, Casado E, Sanmartí R. Rate and prognostic factors of radiographic progression in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006;65(Suppl II):148.
 16. Vázquez I, Graell E, Moll C, Gratacós J, Gómez-Centeno A, Larrosa M, Ercilla G, Hernández V, Gómez-Puerta J.A, Saura C, **Salvador G**, Cañete J.D, Sanmartí R. Prognostic markers of remission in early rheumatoid arthritis after two years of DMARDS in a clinical setting. *Ann Rheum Dis* 2006;65(Suppl II):158.