



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

**Papel dos autoanticorpos contra proteínas do sistema
nervoso no desempenho cognitivo de pacientes com Artrite
Reumatoide**

Talita Siara Almeida Baptista

Orientador: Prof. Dr. Moisés Evandro Bauer

Porto Alegre

Março, 2016

TALITA SIARA ALMEIDA BAPTISTA

Dissertação de mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Biologia Celular e
Molecular da Pontifícia
Universidade Católica do Rio
Grande do Sul como requisito
para a obtenção do grau de
Mestre.

Orientador: Moisés Evandro Bauer

Porto Alegre

2016

AGRADECIMENTOS

Inicio meus agradecimentos por DEUS, já que Ele colocou pessoas tão especiais a meu lado, sem as quais certamente não teria dado conta!

A meus pais, Loi e Isméria, meu infinito agradecimento. Sempre acreditaram em minha capacidade e me acharam A MELHOR de todas, mesmo não sendo. Isso só me fortaleceu e me fez tentar não ser A MELHOR, mas a fazer o melhor de mim. Obrigada pelo amor incondicional!

Ao meu querido irmão, Breno, por ser tão importante na minha vida. Sempre a meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Devido a sua amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado. Obrigada!!

Às minhas amigas do coração, Camila, Suyan, Isis, por só quererem o meu bem e me valorizarem tanto como pessoa. Obrigada pela amizade! Um obrigada especial para minha grande amiga Laura, não só pela amizade, mas também pela presença constante ao meu lado no laboratório. Obrigada amiga por fazer do meu sonho o nosso sonho!

Às minhas colegas de laboratório Carine e Andréia, pelas orientações, pelos momentos divididos juntos. Obrigada por dividir comigo as angústias e alegrias e ouvirem minhas bobagens. Foi bom poder contar com vocês!

Ao meu orientador Moisés Bauer por todo apoio, conhecimento compartilhado e disposição para a produção desta pesquisa.

A todas as pessoas que de uma forma ou outra contribuíram para que eu chegasse até aqui.

LISTA DE ABREVIATURAS

AR – artrite reumatoide

SNC – sistema nervoso central

HLA - complexo de histocompatibilidade humano

BCR - receptor de células B

Treg – linfócitos T regulatórios

FR - fator reumatoide

Anti – CP – anticorpos anti peptídeos citrulinados

IgG – Imunoglobulina G

IL-1 β – interleucina 1 β

IL-6 – interleucina 6

TNF – α – fator de necrose tumoral α

DCL – dano cognitivo leve

LESNP – lúpus neuropsiquiátrico

SA – síndrome antifosfolipídica

MBP – proteína básica da mielina

MOG – glicoproteína da mielina de oligodentrócitos

EM – esclerose múltipla

Anti – MBP – anticorpo anti proteína básica da mielina

Anti – MOG - anticorpo anti glicoproteína da mielina de oligodentrócitos

BHE – barreira hemato encefálica

S100 β – proteína ligadora de cálcio S100 β

MMSE – mini exame do estado mental

TMA – trail making parte A

TMB - trail making parte B

BDI – inventário de depressão de Beck

GCs - glicocorticoides

RESUMO

A Artrite Reumatoide (AR) é uma doença autoimune crônica e inflamatória caracterizada pela produção de auto anticorpos e por eventos articulares e extra articulares, atingindo inclusive o Sistema Nervoso Central (SNC) dos pacientes. Fatores como a inflamação crônica a presença de auto anticorpos contra proteínas da mielina são potenciais mecanismos envolvidos com a disfunção cognitiva em outras doenças autoimunes. Patologias como o dano cognitivo leve e doença de Alzheimer apresentam altos níveis plasmáticos de auto anticorpos contra proteínas da mielina bem como alterações cognitivas importantes e aumento dos níveis da proteína S100 β . Com base nisto, neste trabalho nós exploramos as relações entre desempenho cognitivo, níveis de auto anticorpos e da proteína S100 β na circulação periférica de pacientes com AR. Vinte pacientes com AR e dezenove controles saudáveis, que não diferiram significativamente em relação a sexo, idade e escolaridade, foram recrutados neste estudo. A função cognitiva (MMSE, memória de trabalho, velocidade de processamento, controle inibitório e flexibilidade mental) memória declarativa e depressão foram avaliados através de entrevistas onde foram aplicados questionários clínicos específicos. O plasma dos pacientes e controles foi obtido por centrifugação para investigação dos níveis da proteína S100 β e de auto anticorpos contra Proteína Básica da Mielina (em inglês MBP – *Myelin Basic Protein*), contra Glicoproteína da Mielina de Oligodendrócitos (em inglês MOG *Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein*). Os pacientes com AR tiveram um desempenho cognitivo inferior no MMSE, memória declarativa, memória de trabalho, velocidade de processamento, controle inibitório e flexibilidade mental se comparado a controles saudáveis. Embora todos os indivíduos, de ambos os grupos, tiveram uma pontuação superior à estabelecida pelo *cutoff* do MMSE. Os pacientes apresentaram níveis de proteína S100 β e de anticorpos anti – MBP e anti – MOG mais altos do que os controles o que se correlacionou negativamente com o desempenho cognitivo desses indivíduos. Nas análises de regressão os níveis periféricos de anti – MOG e anti – MBP atuaram como preditores dos escores de funções executivas como memória declarativa e de trabalho, velocidade de processamento e capacidade inibitória. Concluindo, quando comparados a controles saudáveis pacientes com AR

tem níveis plasmáticos mais altos de auto anticorpos e proteína S100 β , que se correlacionaram e predisseram negativamente o pior desempenho cognitivo destes indivíduos.

Palavras chave: Artrite reumatoide, prejuízo cognitivo, auto anticorpos, sistema nervoso central, S100 β .

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune and inflammatory disease characterized by the production of autoantibodies and the articular and extra articular events, including the Central Nervous System (CNS) of patients. Factors such as the chronic inflammation and the presence of autoantibodies against myelin proteins are potential mechanisms involved with cognitive dysfunction in other autoimmune diseases. Disorders such as mild cognitive impairment and Alzheimer's disease have high plasma levels of autoantibodies against myelin proteins well as important cognitive impairment and increased levels of S100 β protein. Based on this, here we explore the relationship between cognitive performance, plasma levels of antibodies and S100 β protein of patients with RA. Twenty patients with RA and nineteen healthy controls did not differ significantly by gender, age and schooling, were recruited in this study. Cognitive function, (MMSE, working memory, processing speed, inhibitory control and mental flexibility) declarative memory and depression were assessment through interviews where specific clinical questionnaires were apply. The plasma of patients and controls was obtained by centrifugation to investigate the levels of S100 β protein and autoantibodies against Basic Myelin Protein (English MBP - Myelin Basic Protein) and against Glycoprotein Myelin oligodendrocyte (English MOG Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein). RA patients had a lower cognitive performance in the MMSE, declarative memory, working memory, processing speed, inhibitory control and mental flexibility compared to healthy controls. Patients present S100 β protein levels and anti - MBP and anti - MOG higher than controls which negatively correlated with cognitive performance of these individuals. In regression analyzes peripheral levels of anti - MOG and anti - MBP acted as predictors of executive function scores as declarative and working memory, processing speed and inhibitory capacity. In conclusion, when compared to healthy controls, RA patients have higher serum levels of autoantibodies and S100 β protein which were negatively related and predicted the worst cognitive performance of these individuals.

Keywords: Rheumatoid arthritis, cognitive impairment, autoantibodies, central nervous system, S100 β .

Sumário

AGRADECIMENTOS.....	3
LISTA DE ABREVIATURAS	4
RESUMO.....	6
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO.....	10
1.1 <i>Imunopatogênese da Artrite reumatoide</i>	10
1.2 <i>Células B e auto anticorpos na artrite reumatoide</i>	11
1.3 <i>Aspectos cognitivos e alterações na Artrite Reumatoide</i>	13
1.4 <i>Autoanticorpos, desempenho cognitivo e a relação com proteínas do sistema nervoso</i> 16	
2 HIPÓTESES	20
3 JUSTIFICATIVA.....	21
4 OBJETIVOS	22
1.5 <i>Geral</i>	22
1.6 <i>Específicos</i>	22
5 ARTIGO.....	23
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

1.1 Imunopatogênese da Artrite reumatoide

A artrite reumatoide (AR) é uma doença crônica, autoimune e degenerativa caracterizada por sinovite, produção de autoanticorpos e inflamação sistêmica.^{1,2} Na sinóvia do paciente com AR ocorre infiltração e acúmulo de células inflamatórias que leva a hiperplasia do tecido sinovial, a cartilagem é degradada e por fim ocorre erosão óssea responsável pelas deformidades características da doença.^{3,4} Sistemicamente a AR pode acometer pulmões, sistema cardiovascular e sistema nervoso central.^{5,6} A prevalência mundial da doença é de aproximadamente 1% dos adultos, e está associada a um aumento da mortalidade e morbidade⁷.

A etiologia da artrite reumatoide permanece desconhecida, embora existam evidências de que fatores genéticos, imunológicos e ambientais contribuam para o desenvolvimento da doença.^{7,8} O Complexo maior de Histocompatibilidade (HLA) é fortemente relacionado a suscetibilidade e severidade da AR. A presença ou ausência de determinados aminoácidos em posições estratégicas da sequência codificadora do gene HLADR-B1 são importantes preditores do risco em desenvolver a doença.⁹ Os genes *PTPN22*, *STAT4* e *IRF5* já são associados a outras doenças autoimunes e também vêm sendo relacionados à AR.^{10,11} De forma geral as alterações genéticas resultantes afetam funções do sistema imune adaptativo, influenciam em processos como o reconhecimento de peptídeos pelos linfócitos T, afetam as vias de sinalização do receptor de células B (BCR) e a consequente produção de anticorpos por essas células contribuindo para o desenvolvimento da autoimunidade.^{8,12}

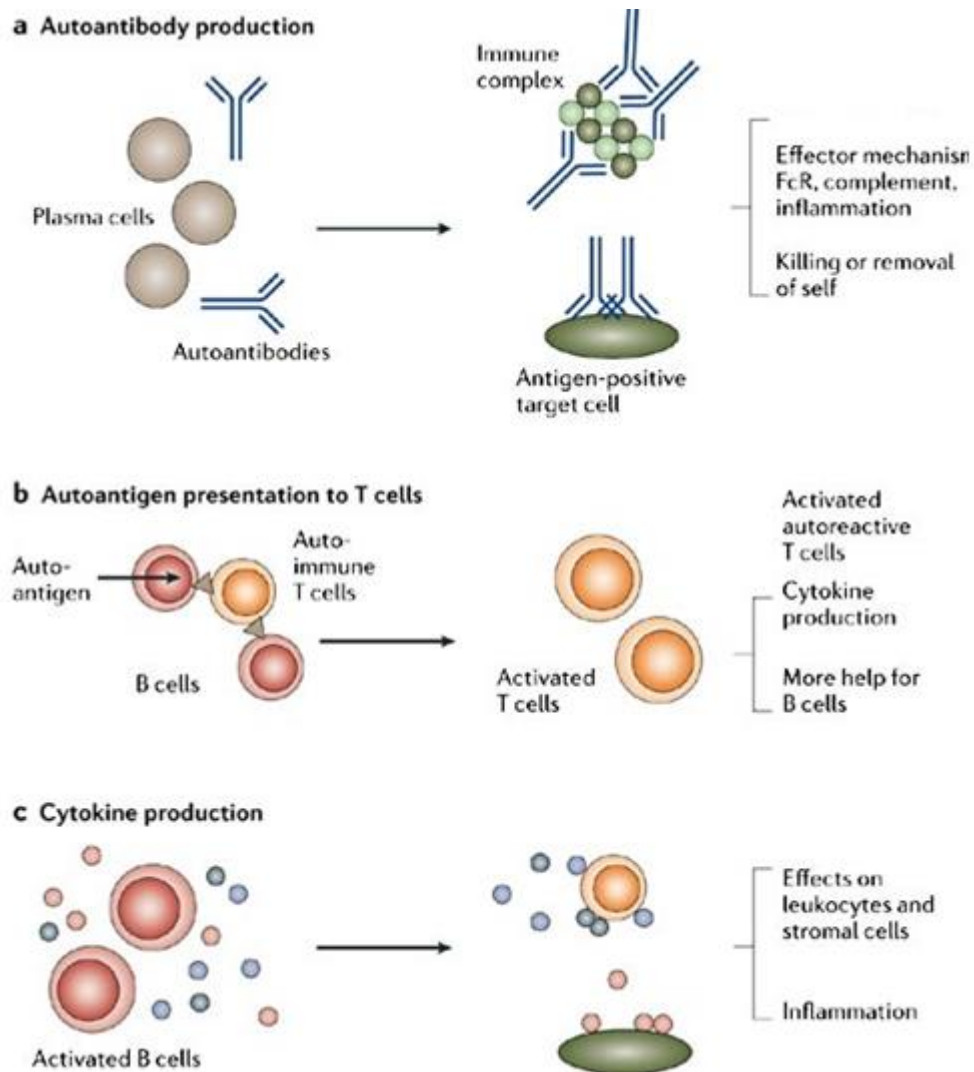
Os auto anticorpos produzidos na AR estão envolvidos nos eventos articulares e sistêmicos característicos da doença.^{13,14} As citocinas, mediadores pró inflamatórios e auto anticorpos liberados durante a resposta imune contra a sinóvia do paciente podem migrar facilmente até outros órgão e sistemas dando origem a sítios inflamatórios distantes da articulação.¹⁵ Pacientes que apresentam títulos mais altos de auto anticorpos e inflamação sistêmica tem um pior prognóstico no que diz respeito a ao acometimento extra articular.^{16,17} Apesar do mecanismo por trás do desenvolvimento destas manifestações ainda não ser compreendido a presença de auto anticorpos na AR parece ter papel chave neste processo.

1.2 Células B e auto anticorpos na artrite reumatoide

A produção de auto anticorpos é característica de doenças autoimunes em que a integridade dos mecanismos de indução de tolerância central e periférica é afetada.¹⁸ Na AR ambos os processos são ineficazes resultando em numerosos linfócitos auto reativos livres na circulação e um conseqüente aumento de até 4 vezes no número de linfócitos B auto reativos no pool de células *naive*.¹⁹ Em indivíduos saudáveis células B com BCRs (Complexo do Receptor de células B) que reagem contra o próprio sofrem edição de receptor, apoptose ou anergia. Pacientes com AR possuem linfócitos B que apresentam resistência a supressão mediada por apoptose. Além disso a modulação imunológica via células T regulatórias (Tregs) está prejudicada devido as alterações funcionais existentes nas Tregs dos indivíduos com a doença.^{19,20}

Os linfócitos B contribuem de forma importante para a patogênese da doença produzindo auto anticorpos, apresentando auto antígenos as células T e secretando citocinas. (Figura – 2). Na AR as células B podem produzir auto anticorpos na articulação de forma T dependente ou independente. No ambiente extra articular a produção ocorre de forma T independente, isto possibilita que tanto moléculas presentes na sinóvia quanto em outros sítios anatômicos possam ser reconhecidas como antígenos por células auto reativas.¹⁹ De fato, estudos encontraram auto anticorpos contra proteínas de regiões mais distantes da articulação como proteínas ligantes de hormônios da tireoide, proteínas da superfície de mononucleares e de células endoteliais vasculares.^{21,22 23}

Em estudos com modelos animais de AR a depleção de linfócitos B diminuiu a severidade da artrite e das manifestações extra articulares.^{24,25} Da mesma forma pesquisadores observaram que ocorre melhora significativa na sintomatologia de pacientes com AR quando há diminuição dos títulos de auto anticorpos circulantes após a utilização de terapias que possuem células B como alvo.^{24,26} As imunoglobulinas auto reativas mais comumente encontradas no soro de pacientes com AR são o fator reumatoide (FR) e os anticorpos anti-peptídeos citrulinados (Anti-CP), ambos são considerados biomarcadores diagnósticos e de acompanhamento da doença.²⁷



Adaptado de Browning 2006²⁸

Figura - 2 **(a)** As células B podem produzir anticorpos que formam complexos com antígenos próprios. Estes complexos podem ligar-se a outras células B, à porção FC de células efetoras e ao sistema complemento levando a co-estimulação dos linfócitos B e à resposta inflamatória. A formação de imunocomplexos pode ocorrer na superfície das células tornando-as alvos para células efetoras e para o sistema complemento. **(b)** As células B podem atuar fornecendo sinais de co-estimulação para as células T autorreativas. **(c)** Assim como as células T os linfócitos B ativados produzem e secretam citocinas que potencializam a inflamação.²⁸

O FR é um anticorpo específico para a porção FC da imunoglobulina G (IgG), é encontrado em 70% a 80% dos pacientes com AR.^{29,30} Estes anticorpos formam imunocomplexos contendo IgGs e peptídeos autólogos que ativam o sistema complemento e são reconhecidos por receptores de macrófagos. Quando processados e apresentados aos linfócitos T autorreativos os imunocomplexos podem contribuir para criação de novos antígenos.³¹ Apesar de ser utilizado como biomarcador para AR o FR pode ser detectado em

diversas outras patologias autoimunes, diferente dos anti-CPs que possuem alta especificidade para a AR.³²

Os anti-CPs são encontrados em aproximadamente 70% dos pacientes diagnosticados com AR e, assim como o FR, podem ser detectados no soro 10 a 14 anos antes do aparecimento dos sintomas, na fase pré-clínica da doença.^{33,34} Estes anticorpos reconhecem peptídeos que foram citrulinizados por enzimas presentes no ambiente intracelular. Fisiologicamente quando ocorre morte da célula e seu conteúdo é liberado os fagócitos são recrutados para limpar o local. Na ocorrência de morte celular massiva as células responsáveis não são capazes de conter o aumento da liberação de enzimas que acabam citrulinizando antígenos próprios no ambiente extracelular.³⁵ Quando estes peptídeos citrulinados são apresentados pelo epítipo compartilhado do HLA-DR ocorre ativação das células B auto reativas e produção de auto anticorpos.³⁶

Embora a citrulinização seja mais comum, outras modificações pós traducionais podem criar neo-antígenos e frequentemente são encontradas na AR.³⁷ Reações como carbamilação, acetilação e metilação são exemplos de modificações que ocorrem após a tradução e que darão origem a proteínas que não são mais reconhecidas como próprias gerando uma resposta autoimune que induz a produção de auto anticorpos.^{37,38} Muitos outros anticorpos são encontrados em pacientes com AR, mas em menor escala.

Diversos estudos observaram que auto anticorpos e sintomas se co-localizam. A sinovite é normalmente acompanhada por altos títulos de anticorpos contra moléculas que formam os tecidos componentes da articulação como o anti-colágeno tipo II e anticorpos contra proteoglicanos da matriz sinovial.³⁹ Vasculites são comuns em pacientes com AR e estão vinculadas a presença de anticorpos contra células endoteliais.⁴⁰ Doenças pulmonares são a manifestação extra articular mais grave da doença e se relacionam intimamente com os títulos de Anti-CPs.⁴¹ Estes dados reforçam a participação das imunoglobulinas no desenvolvimento dos sintomas e severidade da AR.

1.3 Aspectos cognitivos e alterações na Artrite Reumatoide

O declínio das habilidades cognitivas é um processo que ocorre naturalmente a medida que o tempo passa e o indivíduo envelhece.⁴² A performance cognitiva é resultado da

capacidade de uma série de sistemas de processamento que armazenam, transformam e aplicam as informações recebidas para que estas possam ser interpretadas de maneira sistemática pelo cérebro. Embora não reflita demência incipiente, alterações no processamento cognitivo podem levar ao comprometimento funcional do indivíduo.^{43,44} O paciente com AR, em qualquer fase da vida, possui maior vulnerabilidade ao declínio cognitivo especialmente no que diz respeito a memória, atenção e velocidade de processamento das informações.^{45,46}

Pesquisadores já observaram que alguns pacientes com AR possuem diferentes níveis de prejuízo cognitivo e embora qualquer domínio da cognição possa ser afetado, existem determinadas áreas em que o prejuízo foi mais frequentemente relatado.^{6,45,47-50} O primeiro ponto relevante para a avaliação da performance cognitiva é a velocidade de processamento das informações/estímulos fornecidos, ou seja, a fluidez com que atividades cognitivas simples que requerem atenção e concentração são executadas.⁵¹ O desempenho em qualquer tarefa cognitiva depende deste processo, portanto, sua lentificação pode afetar a performance de outros domínios cognitivos como a atenção, a memória e o aprendizado, além de influenciar tarefas que não têm requisitos óbvios de velocidade.⁵²

Em estudo recente do nosso grupo de pesquisa no laboratório de Imunologia do Envelhecimento observamos que pacientes com AR apresentam uma pior performance cognitiva, quando comparados aos controles saudáveis, em tarefas onde a atenção e a memória de trabalho foram avaliadas.⁴⁵ O processamento da memória é dividido em duas etapas chamadas memória de curto e longo prazo. A primeira estende-se desde segundos ou minutos após o aprendizado até três a seis horas depois, tempo que a memória de longo prazo leva para ser consolidada. Pesquisas que avaliaram indivíduos com AR através de tarefas cognitivas identificaram o declínio da memória de curto prazo dos pacientes.⁴⁶ Este tipo de memória pode ser acessada sem esforço, no entanto possui capacidade muito limitada e armazenamento suscetível ao esquecimento.

Inserida na memória de curto prazo está a memória de trabalho, composta por quatro integrantes: 1) alça fonológica que retêm informações sonoras por um período limitado de tempo, 2) esboço visoespacial responsável pela manipulação da informação espacial e visual, 3) executiva central que sintetiza as informações que vêm do circuito fonológico e do esboço visoespacial para planejar estratégias e coordenar a ação necessária, e por fim 4) o buffer

episódico que retém e integra as informações dos componentes anteriores da memória de trabalho de forma que possam ser manuseados e processados. Estes 4 componentes da memória de trabalho foram investigados por Shin e Bartolin e colaboradores através de uma bateria de testes que forneceram resultados onde a função executiva e o esboço visoespacial dos pacientes com AR mostraram-se prejudicados.^{6 48}

Conforme citado anteriormente a memória de Longo prazo é responsável por reter informações por longos períodos e por isso possui grande capacidade de armazenamento. A consolidação de memórias de longo prazo acontece em duas etapas, a codificação onde ocorre o primeiro contato com a informação e seu armazenamento, e a recuperação que se refere a retomada da memória já codificada. Compondo a memória de longo prazo estão a memória episódica que recorda conscientemente eventos pessoais do passado, a memória procedural utilizada no aprendizado e recordação de habilidades e a memória semântica que refere-se ao nosso conhecimento geral sobre o mundo.

Sabe-se que nossos recursos cognitivos são limitados, portanto existe a necessidade de egermos uma quantidade de estímulos que serão processados e outros que serão ignorados. O mecanismo responsável por essa seleção é chamado atenção e nos permite processar informações que consideramos pertinentes. A atenção possui caráter seletivo ou dividido. Quando seletiva, nos permite focalizar apenas um estímulo, qualquer outro será desconsiderado. A atenção dividida é exigida quando existe a necessidade de nos ocuparmos com mais de um estímulo/tarefa ao mesmo tempo, dividindo nossos recursos de atenção conforme a demanda. Para pacientes com doenças crônicas e debilitantes como AR é imprescindível um sistema atencional eficiente especialmente durante a adesão ao tratamento e na prevenção de acidentes/quedas que diminuiriam ainda mais a qualidade de vida do paciente. Alguns pesquisadores obtiveram resultados alarmantes em que todos os pacientes com AR apresentaram diminuição da performance cognitiva atencional, quando comparados aos controles saudáveis.^{45,49,53}

Ainda não está claro o mecanismo por trás das alterações cognitivas presentes na AR. No entanto evidências sugerem que o perfil inflamatório sistêmico característico da doença colabore de alguma forma.⁶ Marcadores inflamatórios periféricos (IL-1 β , IL-6, TNF- α e Proteína-C reativa), presentes em altas concentrações no soro de pacientes com AR, são fortemente relacionados aos prejuízos cognitivos em outras doenças autoimunes.⁵⁴⁻⁵⁷ De fato,

em patologias como o dano cognitivo leve (DCL), demência e doença de Alzheimer o prejuízo cognitivo, que é a manifestação clínica primária, vem sendo cada vez mais associado a inflamação^{58,59} Portanto em doenças autoimunes em que se identifica o declínio cognitivo de forma secundária o perfil inflamatório pode influenciar significativamente.

1.4 Autoanticorpos, desempenho cognitivo e a relação com proteínas do sistema nervoso

Doenças com perfis semelhantes ao encontrado na AR como o Lupus Eritematoso Sistêmico neuropsiquiátrico (LESNP), a Síndrome de Sjogren (SS) e a Síndrome Antifósfolipídica (SA) são caracterizadas por inflamação sistêmica, baixo desempenho cognitivo dos pacientes e presença de autoanticorpos.⁶⁰⁻⁶⁴ Alguns destes autoanticorpos reagem contra moléculas componentes do SNC e já está claro que existe uma correlação entre os títulos destas IgGs e a existência de declínio cognitivo nesses pacientes reforçando o conceito de que a autoimunidade humoral está associada a disfunções cognitivas.⁶⁵⁻⁶⁷

Contudo, na Artrite Reumatoide faltam na literatura estudos que investiguem a presença de autoanticorpos periféricos que reconhecem moléculas presentes no sistema nervoso e se estas se relacionam a um pior desempenho cognitivo.

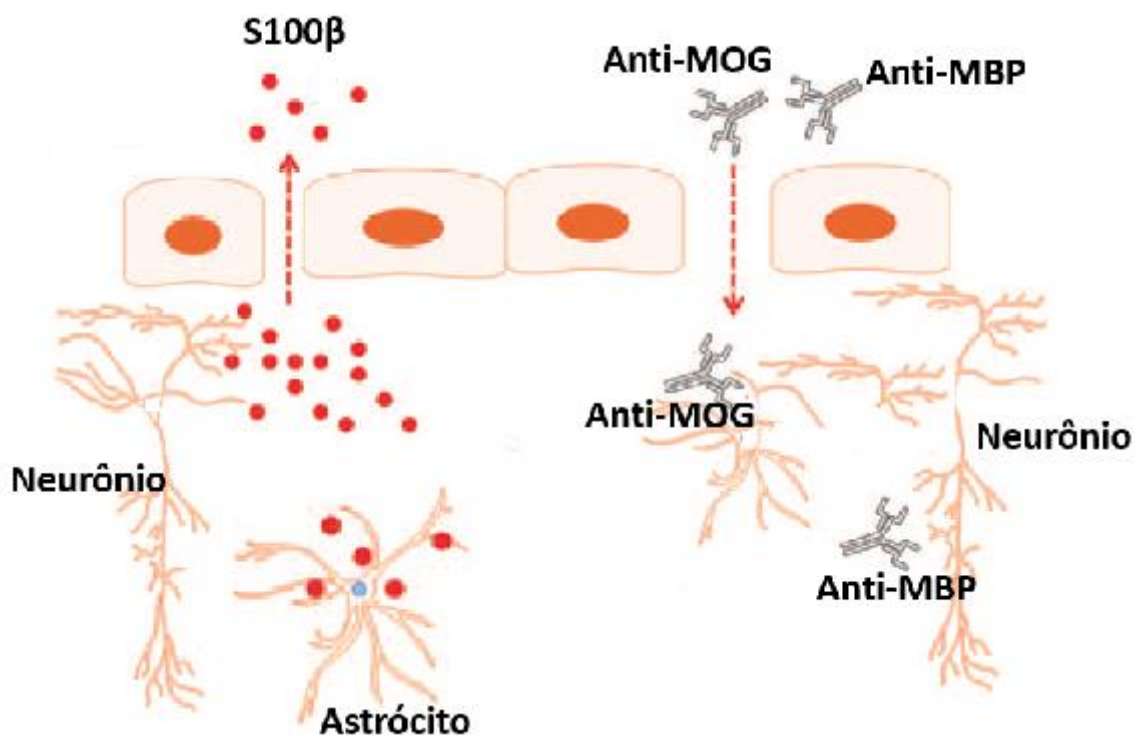
A integridade e funcionalidade de moléculas estruturais no SNC é um fator crítico para o processamento cognitivo. O dano direto ou qualquer alteração estrutural da mielina no SNC provoca a diminuição da velocidade de processamento da informação e uma ruptura lenta e progressiva da transmissão do impulso neural que degrada a sincronia temporal das redes neurais. O decurso de tempo entre estas redes impacta primeiramente em funções mais dependentes de sincronização em grande escala, incluindo as funções executivas e a formação de novas memórias.⁶⁸⁻⁷⁰ Estudos em modelos animais mostram que a presença de inibidores associados à mielina interferem nos mecanismos sinápticos prejudicando o aprendizado e a memória.⁷¹ Além disso, em modelos animais a degradação da mielina está associada a déficits na memória de trabalho, na memória viso-espacial e influencia negativamente na potenciação de longa duração.^{72,73}

A proteína básica de mielina MBP (em inglês *Myelin Basic Protein*), que forma aproximadamente 80% da bainha de mielina, está presente no sistema nervoso central e em

baixas quantidades no sistema nervoso periférico. Esta proteína mantém a adesão da superfície citoplasmática lamelar da mielina.⁷⁴ Esta proteína já foi descrita como alvo de autoanticorpos na AR e no Lupus neuropsiquiátrico onde os títulos podem chegar a níveis 4 vezes mais altos do que os encontrados em indivíduos saudáveis.^{75 76} A Esclerose múltipla (EM) é a doença utilizada como exemplo clássico de como o dano a bainha de mielina resulta, inicialmente, dentre outras manifestações, em prejuízo cognitivo.^{77,78} Na EM autoanticorpos anti-MBP e anti glicoproteína da mielina de oligodendrócitos (em inglês anti-MOG *Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein*) são encontrados em altos níveis no soro dos pacientes além de acompanharem a progressão da doença e o prejuízo cognitivo.⁷⁹⁻⁸¹

A glicoproteína da mielina de oligodendrócitos (MOG) está presente unicamente no SNC e é um alvo conhecido de auto anticorpos e células T auto reativas.^{82,83} MOG localiza-se na porção mais externa da bainha de mielina dos oligodendrócitos o que facilita seu reconhecimento como antígeno por células imunes.⁷⁴ IgGs contra MOG são comumente encontradas em doenças como neuromielite óptica e esclerose múltipla e promovem mudanças estruturais ou mesmo alterações sutis na transmissão sináptica de determinadas áreas cerebrais o que compromete a conectividade neuronal e resulta em comprometimento cognitivo.^{82,84} Em pacientes com Esclerose múltipla anticorpos contra MOG são frequentemente associados ao déficit cognitivo existente da doença.^{85,86}

Ainda não está claro se a presença destes autoanticorpos no soro dos pacientes com AR se correlaciona com o declínio cognitivo e como isso ocorre. Estudos defendem a hipótese de que estes autoanticorpos podem ligar-se as células endoteliais da BHE externamente ativando-as e induzindo a produção de fatores pró-inflamatórios internamente no SNC.⁸⁷ Entretanto outros pesquisadores apresentam evidências de que estas IgGs autorreativas podem ter acesso ao SNC através da barreira hematoencefálica (BHE) que tem sua permeabilidade aumentada em resposta a processos inflamatórios sistêmicos, como ocorre na AR.⁸⁸⁻⁹⁰ (Figura 3) A BHE, quando íntegra, não permite o extravasamento de moléculas do SNC a ponto de serem detectáveis periféricamente, portanto a presença de níveis elevados de determinadas proteínas oriundas de células do sistema nervoso no soro dos pacientes vem sendo considerada marcador de injúria e aumento de permeabilidade da barreira.⁹¹⁻⁹⁴



Adaptado de Bargerstock *et al.* 2014⁹⁵

Figura – 3 Normalmente a barreira hematoencefálica (BHE) impede o acesso ao SNC de anticorpos vindos da corrente sanguínea, bem como o extravasamento de moléculas do SNC para a periferia. O aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica ou até mesmo a violação da integridade celular permite, ao mesmo tempo, o influxo de proteínas, como a S100 β , para fora do SNC e o acesso de anticorpos ao tecido nervoso.⁹⁶

Uma destas moléculas é a S100 β , uma pequena proteína ligadora de cálcio presente no citoplasma das células da glia e liberada especialmente por astrócitos e oligodendrócitos. A S100 β influencia diversos processos intra e extracelulares como proliferação, metabolismo, comunicação célula-célula, diferenciação e transdução de sinal.⁹⁷ Embora esta proteína encontre-se também no sistema nervoso periférico sua concentração no plasma é muito baixa (0,05 ug/L) e o aumento dos níveis ocorre principalmente durante injúria ou ativação glial no SNC.⁹⁵ É importante ressaltar que o extravasamento de S100 β através da BHE ocorrerá se houver maior permeabilidade ou lesão à barreira (Figura 3).^{98,99} Hamed e colaboradores observaram que pacientes com AR possuem no soro altos níveis de S100 β .¹⁰⁰ Estes pesquisadores demonstraram ainda que existe uma associação entre os níveis de S100 β e um pior desempenho cognitivo nesses indivíduos.¹⁰⁰ De fato, em outras condições como declínio cognitivo leve, Alzheimer e doenças neurodegenerativas como esclerose múltipla os níveis de

S100 β se correlacionam negativamente com o desempenho cognitivo e se correlacionam positivamente com marcadores pró-inflamatórios plasmáticos.¹⁰¹⁻¹⁰³

A partir desta pesquisa bibliográfica dos dados existentes na literatura, observou-se a escassez estudos envolvendo análises cognitivas em pacientes com AR e a relação imunológica com os resultados obtidos. Tanto a proteína S100 β quanto os autoanticorpos são moléculas que, quando presentes, podem fornecer pistas sobre o que pode estar ocorrendo no SNC dos pacientes com AR.

2 HIPÓTESES

1. Pacientes com AR possuem maiores títulos de auto anticorpos anti-MBP e anti-MOG quando comparados a indivíduos saudáveis.
2. Pacientes com AR que possuem auto anticorpos em títulos mais altos tem pior performance cognitiva quando comparados aos controles saudáveis.
3. Pacientes com AR possuem níveis maiores níveis de S100 β no plasma quando comparados a indivíduos saudáveis.
4. Pacientes com níveis mais elevados de S100 β no plasma tem pior desempenho cognitivo quando comparados aos controles saudáveis.

3 JUSTIFICATIVA

A AR é uma doença auto imune, sistêmica e potencialmente incapacitante que em virtude de seu perfil inflamatório crônico representa um problema comum para a saúde pública.² A OMS estima que após 10 anos do início da doença, pelo menos, 50% dos pacientes em países desenvolvidos são incapazes de manter um emprego em tempo integral e mais de 40% apresentarão deformidades articulares.¹⁰⁴ Contudo a AR não compromete apenas tecidos e sistemas periféricos dos pacientes mas também influencia em aspectos cognitivos indispensáveis para manutenção da qualidade de vida do indivíduo.^{44,45} No entanto as informações na literatura são escassas e ainda são pouco explorados os mecanismos que contribuem para a pior performance cognitiva que os pacientes com AR podem apresentar quando são comparados a controles saudáveis.

Em vista disso, estudos como este, que investiguem se a imunidade humoral, particularmente a presença de determinados autoanticorpos e proteínas periféricos, se correlaciona com a pior performance cognitiva dos pacientes com AR, são de grande valia, visto que resultam em novas informações sobre a doença, além de auxiliar na determinação de novos escopos para pesquisas que visam elucidar os pontos ainda obscuros sobre o envolvimento cognitivo na AR.

4 OBJETIVOS

1.5 Geral

Correlacionar a presença de proteínas do sistema nervoso e auto anticorpos periféricos com o desempenho cognitivo de pacientes com AR.

1.6 Específicos

- Avaliar a performance cognitiva dos pacientes com artrite reumatoide ativa.
- Dosar os níveis de auto anticorpos no plasma de pacientes com AR ativa e controles saudáveis.
- Mensurar os níveis da proteína S100 β no plasma de pacientes com AR ativa e controles saudáveis.
- Investigar a existência de relação entre os níveis de auto anticorpos no plasma e a performance cognitiva de pacientes com AR.

5 ARTIGO

AUTOANTIBODIES AGAINST MYELIN SHEATH ARE ASSOCIATED WITH COGNITIVE DYSFUNCTION IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Talita Siara Almeida Baptista ^a, Laura Esteves Petersen ^a, Julia K. Molina ^b, Tatiana de Nardi ^b, Andréa Wieck ^a, Aline do Prado ^c, Mauro Keisermann ^c, Rodrigo Grassi-Oliveira ^b and Moisés Evandro Bauer ^{a,1}.

^aLaboratory of Immunosenescence, Institute of Biomedical Research, Pontifical Catholic University of the Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil;

^b Cognitive Neuroscience Research Group (GNCD), Centre of Studies and Research in Traumatic Stress (NEPTE), Postgraduate Program in Psychology, PUCRS, Porto Alegre, Brazil;

^cRheumatology Unit, Hospital São Lucas da PUCRS, Porto Alegre, Brazil.

¹ **Correspondence:** Moisés E. Bauer, PhD. Instituto de Pesquisas Biomédicas, Faculty of Biosciences, PUCRS. Av. Ipiranga 6690, 2º andar. P.O. Box 1429. Porto Alegre, RS 90.610-000, Brazil. Phone: +55 51 33203000. Email: mebauer@pucrs.br.

Abbreviations: anti-MBP, autoantibodies against myelin basic protein; anti-MOG, myelin oligodendrocyte glycoprotein; BBB, Blood–Brain Barrier; BDI-II, Beck Depression Inventory II; CPs, antibodies Citrullinated Peptides; DAS, Disease Activity Score; DMARDs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs; DSB, Digit Span Backward; DSF, Digit Span Forward; DST, Digit Span Test; DVR, Delayed Verbal Recall; EAE, Experimental Autoimmune Encephalomyelitis; GCs, glucocorticoids; IVR, Immediate Verbal Recall; LM, Logical Memory; MMSE, Mini-Mental; State Examination; MS, Multiple Sclerosis; NPSLE, neuropsychiatric lupus; NSAID, Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs; SLE, Systemic Lupus Erythematosus; SPSS, Statistical Package for Social Sciences; SS, Sjogren syndrome; STC, Stroop Test Color; STW, Stroop Test Word; STWC, Stroop Test Word- Color; TMA, Trail Making – A; TMB, Trail Making – B; TMT, Trail Making test; VIF, Variance Inflation Factor;

Abstract

Rheumatoid Arthritis (RA) has been associated with extra articular manifestations including cognitive dysfunction. Increased autoantibody levels have been implicated with cognitive impairment in other autoimmune diseases. Here, we investigated the plasma levels of autoantibodies against myelin basic protein (anti-MBP), myelin oligodendrocyte glycoprotein (anti-MOG) and S100 β calcium-binding protein and their relationships with cognitive performance in RA patients. Twenty patients with active rheumatoid arthritis and 19 age-, sex- and schooling- matched healthy controls were recruited. Multiple dimensions of cognitive function were evaluated by structured clinical questionnaires. Autoantibodies and S100 β levels were assessed by ELISAs. Patients had significantly higher plasma levels of anti-MBP IgG, anti-MOG IgG and S100 β protein than controls (all $p < 0.0001$). RA group presented worse cognitive performance involving the working memory and executive functions such as inhibition, flexibility and mental control in parallel to higher autoantibodies and S100 β levels than healthy controls (all $p < 0.001$). The cognitive scores were negatively correlated with anti-MOG, anti-MBP and S100 β levels. In conclusion, RA is associated with impaired cognitive performance associated with higher levels of CNS-related autoantibodies and S100 β levels. Given the importance of myelin integrity to cognition, our data indicate these autoantibodies may be harmful to proper cognitive function.

Keywords: Rheumatoid Arthritis, cognitive dysfunction, autoantibodies, myelin sheath, S100 β .

1. Introduction

Rheumatoid Arthritis (RA) is a systemic autoimmune disease associated with peripheral tissue damage beyond the synovial joints (Turesson, 2013). Extra-articular manifestations are related with disease activity and include systemic inflammatory reactions, such as vasculitis and rheumatoid nodules, as well as central nervous system (CNS)-related damage and cognitive dysfunctions (Happonen et al. , 2013, Lopez-Longo et al. , 2009, Prete et al. , 2011, Turesson, 2013, Turesson et al. , 2013). Indeed, cognitive impairment is observed to be common in up to 70% of RA patients, and has been considered as a critical factor for functional disability in RA (Appenzeller et al. , 2004, Bartolini et al. , 2002, Petersen et al. , 2015).

Despite the cognitive assessment of the RA patients indicate overall cognitive dysfunction, some specific cognitive domains seem to be more involved than others (Hamed et al. , 2012). In the last decade, previous reports indicate cognitive deficits involving tasks of verbal fluency, comprehension, mental control, short and working memory. This impairment has been associated with demyelination investigated by brain imaging (Appenzeller, Bertolo, 2004, Hamed, Selim, 2012). Although the underlying mechanisms of cognitive dysfunction in RA remain poorly understood, previous studies in other autoimmune diseases, such us Systemic Lupus Erythemoatosus (SLE), Multiple Sclerosis (MS) and Sjogren syndrome (SS), revealed detrimental relationships between cognitive impairment and autoantibodies against CNS proteins (Belogurov et al. , 2008, Lauvsnes et al. , 2014, Massardo et al. , 2015).

Autoantibodies against myelin sheath may underlie the cognitive dysfunction by promoting demyelination of neural circuits (Bartzokis, 2004). Myelin integrity is required to correctly flow of information across the neural networks involved in cognitive functions (Bartzokis, 2004). Recognition and degradation of myelin peptides by serum myelin-specific autoantibodies, as well as the presence of these antibodies in demyelination plaques in patients with MS, highlight the role of these autoantibodies for the cognitive impairment reported in MS (Belogurov, Kurkova, 2008, Genain et al. , 1999, Kuhle et al. , 2007). Antibodies against the Myelin Basic Protein (anti-MBP) and against myelin oligodendrocyte glycoprotein (anti-MOG) are frequently found in MS and have been documented in neuropsychiatric lupus (NPSLE), a disease characterized by cognitive impairment similarly to MS (Bezuglova et al. , 2011, Maciel et al. , 2016, Monastero et al. , 2001). Of key note, anti-MBP and anti-MOG are found significantly increased in dementia and Alzheimer's disease, both characterized by pronounced

cognitive damage (Maetzler et al. , 2011, Papuc et al. , 2015). These data highlight the potential role of myelin sheath autoantibodies in cognitive dysfunction.

CNS-reactive antibodies are normally restricted to the brain. However, increased Blood–Brain Barrier (BBB) permeability is commonly documented in systemic inflammatory conditions and may thus enable the influx of several peripheral molecules (Diamond et al. , 2013, Hagberg and Mallard, 2005, Larochelle et al. , 2011, Mina et al. , 2014). Indeed previous studies have suggested that BBB function is impaired during inflammation in experimental arthritis model (Nishioku et al. , 2011). In other hand, the BBB dysfunction may lead the release of molecules which usually remain confined to brain tissues, such as calcium-binding protein S100 β that has been considered a biomarker of BBB dysfunction and cognitive impairment (Bargerstock et al. , 2014, Diamond, Honig, 2013, Hagberg and Mallard, 2005). Interestingly the S100 β levels have been negatively associated with cognitive performance in diseases characterized by BBB dysfunction and increased levels of anti-MOG and anti-MBP, such as NPSLE, Alzheimer’s disease, MS and dementia (Barateiro et al. , 2015, Gruden et al. , 2007, Yang et al. , 2008).

The role of CNS autoantibodies in cognitive deficit has been under-investigated in RA. Here, we hypothesize that serum myelin autoantibodies and BBB dysfunction could be implicated with cognitive impairment in the active form of RA.

2. Methods

2.1. Subjects

Twenty RA patients with high active disease (DAS \geq 5.2) and twenty healthy controls were included in this cross-sectional study. RA group was recruited at the outpatient Rheumatology Unit of the São Lucas Hospital, Pontifical Catholic University of the Rio Grande do Sul (Porto Alegre, Brazil). All patients were diagnosed according to the 1987 American college of Rheumatology, by a trained Rheumatologist, and criteria and classification of disease activity was made following DAS 28, (Disease Activity Score 28). Control subjects were recruited from local community and matched according to their age, sex, and years of education with RA patients.

The exclusion criteria considered variables that might interfere with cognitive performance and/or immunological system and/or S100 β levels. Exclusion criteria to both groups were:

a)HIV, b) HCV, c) auto immune disorders, d) neoplasias, e) anemia, f) illiteracy, g) diabetes, h) dementia i) infections, j) neurological disease, k) undernourishment, l) biological medication use, m) recent cardiac or brain surgery, n) recent brain trauma, o) cardiovascular disease and p) use of more than 10 mg of GCs per day q) psychiatric disorder evaluated by structured clinical interview. This study was approved by the Ethical Committee of Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), and all subjects provided their written informed consent before inclusion in the study.

2.2. Cognitive assessments and depressive symptoms

Several cognitive domains were investigated in this study. All cognitive assessments were made by the same expert psychiatrist, blinded to each subject. The severity of depressive symptoms were assessed by Beck Depression Inventory II (BDI-II) (Beck et al. , 1996).

2.2.1. Mini-Mental State Examination (MMSE)

MMSE was used to assess global cognition as well as to exclude dementia. The test is composed by 11 tasks, including the assessment of praxis, attention, memory, orientation to time, place and comprehension. MMSE scores varied from 0 to 30 points and were adjusted for education level (Folstein et al. , 1975). The cut-off for cognitive impairment was ≤ 13 points for those without schooling and ≤ 18 points for individuals with <8 years of education and ≤ 26 points for those with >8 years of education (Bertolucci et al. , 1994).

2.2.2. Logical Memory (LM)

LM is a verbal declarative memory subtest from the Wechsler Scale-Revised; it is well defined and it has been used extensively (Wechsler, 1985). The test measures Immediate Verbal Recall (IVR) and Delayed Verbal Recall (DVR). Two short stories are read to the subject, who must remember and recount them immediately after listening (IVR score) as well as 30 minutes later (DVR score). The stories incorporate 25 “story elements,” each of which the subject must recall to match points.

2.2.3. N-Back test

The N-back task has been used to evaluate working memory (Owen et al. , 2005). The participants heard a sequence of digits from 0 to 9, randomly distributed in series of 10 numbers. Subjects were then instructed to indicate which number was heard N positions back: N = 0 (0-back), N = 1 (1-back), N = 2 (2-back), N = 3 (3-back).

2.2.4. *Digit Span test (DST)*

Working memory was assessed by Digit Span Backward (DSB) test, which investigated the processing of speed function, as well as by Digit Span Forward (DSF) test (Wechsler, 1985). In this test, sequences of numbers were presented to the subject, which must repeat back the sequence to the investigator. The length of the digit sequences gradually increases, starting with a sequence of three numbers to a sequence of nine numbers. In the DSF task the participant must immediately repeat the list of number in the same order, whereas in DSB task the participants must reproduce the sequence of digits in the reverse order.

2.2.5. *Trial Making Test (TM)*

We also investigated cognitive dimensions associated with processing speed and flexibility by Trail Making test (TM) (R.M. Reitan, 1993). In TMT part A (TMA) the participant must connect numbers, randomly positioned, in ascending order (1-2-3-4...), or connect numbers and letters in alternate sequence: 1-A-2-B-3-C...) in TM part B (TMB). The scoring typically used to evaluate a performance on the test is the time taken to connect the dots.

2.2.6. *Stroop Color-Word Interference Test*

The inhibitory function was assessed by the Stroop Color-Word Interference Test (J., 1978). The Stroop is composed by three conditions. Initially the subject read out loud a list of colors names printed in black ink (e.g PINK), composing the first score the Stroop Test Word (STW). Next, the subject was instructed to read the font color in which the color name is printed (e.g. XXX), resulting in the second score, the Stroop Test Color (STC). Lastly, the subject was requested to read a list color names printed in colors that do not match the word (e.g. GREEN printed in pink), composing the last score, the Stroop Test Word Color (STWC). The first and second part of the test assessed the processing of speed whereas in the third part assessed the inhibitory control.

2.3. Blood collection and plasma isolation

Twenty milliliters of peripheral blood were collected by venipuncture and stored in EDTA tubes prior to analyses. Immediately after blood collection, the samples were centrifuged at 1800 RPM for 5 min and plasma samples were stored at -80°C until further analysis.

2.4. Autoantibodies and S100 β

Plasma biomarkers were analyzed by a trained researcher, blinded to study groups. S100 β protein was measured in the plasma using Human S100 β enzyme-linked immunosorbent assay kits (ELISA) Kit (EMD- Milipore, Missouri – USA). The levels of autoantibodies anti-MOG and anti-MBP were respectively determined by human Anti-Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein antibody Anti-MOG ELISA Kit, and human Anti Myelin Basic Protein Anti-MBP, following manufacturer's instructions (Biomatik Cambridge- Canada). The absorbance was determined by spectrophotometer at 460 nm for all ELISAs. Results are expressed in ng/ml (anti-MBP and anti-MOG) and pg/ml (S100 β protein). The sensitivities of these assays were 1.22 ng/mL (anti-MBP), 1.35 ng/mL (anti-MOG) and 2.7 pg/mL (S100 β). The intra- and inter-assay coefficients of variation were less than 10%.

2.5. Statistical analysis

All variables were tested for normality of distribution by *Shapiro-Wilk* tests. For continuous variables, differences between groups were analyzed by Student's t-test or the Mann-Whitney U test when appropriate. A GLM model, with linear or gamma distribution, was generated for each cognitive test variable using Group as a fixed factor and BDI, age, years of education and glucocorticoids (GCs) and DAS-28 (in the case of patients) as covariates. The relationships between cognitive tests scores and age, sex, years of education, BDI, S100 β protein and autoantibodies (anti-MBP and anti-MOG) were analyzed by means of the Pearson and Spearman correlation tests. We generated linear multivariate regression analyses using each cognitive test as the dependent variable and anti-MBP, anti-MOG and S100 β scores as independent variables. Statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 20.0 (IBM, Chicago, IL, USA). All data are represented as mean \pm SE. We considered error α of 5% and B of 20%.

3. Results

3.1. Sample characteristics

Clinical and demographic characteristics of the study groups are summarized in Table 1. Both groups were homogeneous regarding age, gender, body mass index and education. All patients were under multiple drug regimen, which included glucocorticoids (GCs; prednisone), disease-modifying antirheumatic drugs, (DMARDs; methotrexate, hydroxychloroquine, sulfasalazine or leflunomide) and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs; ibuprofen or diclofenac).

3.2. RA patients had increased anti-MBP, anti-MOG and S100 β levels

Patients had significantly higher plasma levels of anti-MBP IgG, anti-MOG IgG and S100 β protein than controls ($U = 2.0$; $p < 0.0001$; $U = 11.0$; $p < 0.0001$ and $U = 27.5$; $p < 0.0001$, respectively – Fig 1).

3.3. RA patients had generalized impaired cognition

Both patients (28.0 ± 1.74) and controls (28.7 ± 1.32) had similar MMSE scores (Wald- $\chi^2(1) = 0.86$ $p = 0.35$), excluding dementia. We next investigated different cognitive dimensions of healthy controls and RA patients (Figure 2). RA patients presented poorer cognitive performance as observed by lower scores in most cognitive tests when compared to healthy subjects. In addition, patients with RA were more depressed than the controls according to BDI scores (13.95 vs. 8.32 $t = 2.33$, $p = 0.02$).

Specifically, when compared to healthy controls (27.53 ± 9.12), RA patients presented poorer memory performance (19.20 ± 6.02), reflected by lower Logical Memory IVR score (Wald- $\chi^2(1) = 11.58$ $p = 0.001$), Logical Memory DVR (Wald- $\chi^2(1) = 15.57$ $p < 0.0001$, Figure 2A), N-Back total score (Wald- $\chi^2(1) = 10.49$ $p = 0.001$, Figure 2B) and Digit Span Backward test (RA, 3.60 ± 0.94 ; HC, 6.53 ± 2.17 ; Wald- $\chi^2(1) = 25.36$ $p < 0.0001$). In addition RA group ($0.85^{**} \pm 0.37^{**}$) had also poorer performance in Trail Making test A as compared to HC ($0.73^{**} \pm 1.52^{**}$), Wald- $\chi^2(1) = 12.51$ $p = 0.005$), Digit Span Forward test (RA, 7.10 ± 2.12 ; HC, 9.68 ± 2.58 ; Wald- $\chi^2(1) = 13.07$ $p < 0.0001$), and Stroop Word test (Wald- $\chi^2(1) = 4.59$ $p = 0.03$, Figure 2C), revealing that patients had slowing of processing speed when compared to HC group. Moreover when we investigated executive functions, RA group showed lower scores than

controls in Stroop Color-Word test ($Wald-\chi^2(1)= 17.71 p<0.0001$, Figure 2D) and Trail Making test B ($Wald-\chi^2(1)= 15.07 p<0.0001$, Figure 2E).

3.4. Relationships between autoantibodies, S100 β and cognition

The initial exploratory analysis revealed negative associations between the cognitive tasks and the autoantibodies and S100 β in both groups. The anti-MOG levels were negatively correlated with Logical Memory test IDR ($r = -0.40$, $p= 0.02$) and DVR ($r = -0.64$, $p<0.0001$), Digit Span Forward ($r = -0.44$, $p=0.005$) and Backward ($r = -0.53$, $p=0.001$), Word-Color Stroop ($r = -0.51$, $p=0.001$), N-Back total scores ($r = -0.35$, $p=0.03$) and positively correlated with Trail Making part A ($r = 0.51$, $p=0.001$), Trail Making part B ($r = -0.50$, $p=0.003$; Fig. 3A). In addition, we found negative correlations between anti-MBP levels and Logical Memory IVR ($r = -0.54$, $p=0.001$) and DVR ($r = -0.42$, $p=0.005$), Trail Making test A ($r = 0.48$, $p=0.002$), Trail Making test B ($r = 0.53$, $p=0.001$), Digit Span Forward ($r = -0.48$, $p=0.002$) and Backward ($r = -0.54$, $p=0.001$; Figure 3B), Word-Color Stroop ($r = -0.48$, $p=0.004$; Figure 3C), and N-Back total scores ($r = -0.59$, $p<0.0001$).

Similarly, the S100 β levels were negatively associated with Logical Memory test IDR ($r = -0.55$, $p=0.001$), DVR ($r = -0.51$, $p= 0.002$), Trail Making test A time ($r = 0.37$, $p=0.03$), Trail Making test B time ($r = 0.46$, $p=0.008$), Digit Span Forward ($r = -0.55$, $p=0.001$) and Backward ($r = -0.49$, $p=0.003$), Stroop Word-Color ($r = -0.67$, $p<0.0001$), Stroop Word ($r = -0.59$, $p=0.0001$; Figure 3D) and N-Back total scores ($r = -0.52$, $p= 0.003$). There were neither significant correlations between cognitive scores and age, BDI and years of education in both groups, nor between DAS-28 and GCs use in the case of RA patients (data not shown).

3.5. Multivariate regression analysis

Considering the results obtained for the exploratory analyses, a theoretical regression model was tested in which cognitive variables (IVR and DVR, TMA, TMB, DSF, DSB, WCS, N-back and SW) were entered as dependent variables, and S100 β , anti-MBP, anti-MOG as predictors (Table 2). During the regression models there was no evidence of high collinearity between selected variables, and all Variance Inflation Factor (VIF) values were < 2 . In this model, anti-MBP, anti-MOG and S100 β levels predicted the impaired performance in declarative memory ($R^2 = 0.46$, $F = 7.82$, $p = 0.001$), working memory ($R^2 = 0.48$, $F = 3.90$, $p = 0.03$), and mental flexibility ($R^2 = 0.46$, $F = 7.82$, $p = 0.001$). Also, the anti-MBP levels

predicted negatively the evocative memory ($R^2 = 0.34$, $F = 4.74$, $p = 0.009$), and anti-MOG predicted negatively the inhibitory control ($R^2 = 0.47$, $F = 5.13$, $p = 0.006$).

4. Discussion

Here, we confirmed the hypothesis that serum myelin autoantibodies and BBB dysfunction, as indicated by increased S100 β levels, are implicated with cognitive impairment in the active form of RA. The MOG is found exclusively in the CNS and is essential in the regulation of microtubule stability in oligodendrocytes. The MOG peripheral location in the myelin sheath and its assemble in later stages of myelination may induce a robust of both, humoral and cell-mediated immune responses (Arbour et al. , 2003). Anti-MOG autoantibodies cause demyelination of myelinated cell cultures as well as in animal models of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), MS and has been considered a serum biomarker for demyelination (Girolamo et al. , 2011, Stefferl et al. , 2000, von Budingen et al. , 2001). Furthermore, this autoantibody is commonly found in serum of patients with MS, negatively associated with cognitive status in MS, as well as associated in Alzheimer's disease and Lewy body-associated dementia (Papuc, Kurys-Denis, 2015). The demyelinating activity of myelin specific antibodies can act by inducing the complement system or opsonizing MOG or MBP expressing in surface of cells in humans and animal models (Mader et al. , 2011, McLaughlin et al. , 2009, Sun et al. , 2010). Moreover the MOG-specific antibodies may induce cell death by natural killer cells (Brilot et al. , 2009). Concurrently, the myelin basic protein is localized on the cytoplasmic side of myelin sheath and is also present on peripheral nervous system (Boggs, 2006). Previously study reported higher levels of anti-MBP antibody in association with the number of lesions seen on MRI brain scans in patients with MS and clinically isolated syndromes (Angelucci et al. , 2005, Kuhle, Lindberg, 2007).

The levels of Anti-MOG and Anti-MBP reported in this study did not reach the levels observed in classical demyelinating diseases such as optic neuritis (Anti-MOG levels around 88,7 ng/mL) and MS (Anti-MBP levels around 12 mg/mL) (Doronin et al. , 2014, Kezuka et al. , 2012). Nevertheless it should be highlighted that plasma anti-MBP (3.7 fold increase) and anti-MOG (11.8 fold increase) levels were found remarkably higher in RA as compared to healthy controls. It remains unclear why the immune system reacted against myelin proteins, however in the autoimmune environmental characteristic of RA only small peptides are sufficient to induce an immune reaction (Pozsgay et al. , 2016).

The relationship between autoantibodies and severity of RA is well established (McInnes and Schett, 2011, Nell et al. , 2005). The synovitis is generally accompanied by high titers of antibodies against major antigens of joint tissues, such as anti-type II collagen and proteoglycan antibodies (Magalhaes et al. , 2002). Vasculitis is common in RA and is associated to antibodies against endothelial cells (Domiciano et al. , 2009). Lung diseases are more severe extra articular manifestations and have been strongly related to antibodies against citrullinated peptides (anti-CPs) (Perry et al. , 2014). In parallel, we observed that cognitive impairment in RA was associated with increased autoantibodies against CNS proteins.

The presence of autoantibodies against myelin sheath in the periphery does not ensure that these immunoglobulins reach the CNS, unless they are able to overcome the BBB. In physiological circumstances, the circulating antibodies do not cross the BBB (Diamond, Honig, 2013). However it has been suggested that BBB endothelium in RA is impaired via upregulation of adhesion molecules that may recruit peripheral immune cells (Jacobs and Tavitian, 2012). Indeed, the peripheral inflammation may lead the activation of endothelial cells that compose the barrier by increasing its permeability and allowing the diffusion of antibodies to the CNS (Diamond, Honig, 2013, Hagberg and Mallard, 2005, Larochelle, Alvarez, 2011). Additionally, a recent study observed increased BBB permeability in experimental arthritis induced by collagen in rodents (Nishioku et al. , 2010). When the BBB is more permeable, some molecules leak in the peripheral circulation. One of these molecules is the S100 β protein, considered a marker of increased BBB permeability (Bargerstock, Puvenna, 2014).

The S100 β is an intracellular calcium binding protein predominantly expressed in astrocytes and oligodendrocytes, involved in neural growth and maintenance (Arcuri et al. , 2005, Hachem et al. , 2007). Under physiological conditions the extracellular low levels of S100 β in the brain tissue is trophic and play role to cognitive development and maintenance (Donato et al. , 2013, Donato et al. , 2009). However, in high levels, the S100 β may promote detrimental effects including the activation of microglia and astrocytes (Donato, Cannon, 2013). It has been speculated that S100 β is involved with cognitive decline. Indeed, increased S100 β levels are commonly found in diseases characterized by cognitive dysfunction such as Alzheimer's disease (average levels around of 97 ng/mL) and remitting-relapsing MS (average levels around 40 pg/mL) (Bartosik-Psujek et al. , 2011, Gruden, Davidova, 2007). Nevertheless it should be stressed out that S100 β levels were found significantly higher (5.3 fold increase) in RA as compared to healthy controls.

Supporting these findings, Hamed and col. (Hamed, Selim, 2012) reported the association between increased S100 β levels, cognitive dysfunction and demyelination in RA brain tissue (Hamed, Selim, 2012). In demyelination sites, the damage against structural myelin proteins lead to profound effects on neural function and can result in cognitive impairment (Egg et al. , 2001, Tomassini et al. , 2007). Interestingly, autoantibodies against myelin sheath may be found in CNS demyelinating lesions (Bartzokis, 2005, Lu et al. , 2013). Indeed, anti-MBP and anti-MOG are notably increased in diseases characterized by cognitive damage (Maetzler, Berg, 2011, Papuc, Kurys-Denis, 2015). Moreover, studies in animal models revealed myelin injury was correlated with decreased long-term potentiation and spatial working memory (Coltman et al. , 2011, Gonzalez-Gronow et al. , 2015).

The information processing is dependent of the integrity of myelin sheath (Bartzokis et al. , 2010, Fields, 2008). The reduced speed of information processing may negatively impact the life on several ways, including mentally juggling ideas, when following directions and in conversation (Bartzokis, 2004). Furthermore, in accordance with previous studies we showed that RA patients had worse cognitive performance in verbal memory task when compared to controls. Appenzeller and col. found similarly low achievement scores in verbal memory, indispensable tool for the learning process (Appenzeller, Bertolo, 2004). Consistent with our findings, previous studies reported impaired executive function in RA patients, as well as dysfunction in divided/sustained attention and mental flexibility, critical components in successfully completing daily tasks (Bartolini, Candela, 2002, Shin et al. , 2012). Individuals with impairments in these domains may have difficulties in performing daily activities and maintaining self-management regimens causing a significant impact in patient's life.

Confounding factors may interfere with cognitive performance in active RA. Indeed, depression and particular medications commonly used in RA could be interfering with the cognitive tests. Indeed, previous studies indicated that RA is associated with high incidence of depression (Blair et al. , 2016, Iaquina and McCrone, 2015). We have similarly reported here that RA patients were more depressed when compared to healthy controls. However, impaired cognitive performance was observed in RA after adjusting for BDI scores. In addition we did not observe significant correlations between cognitive assessments and BDI scores. Moreover, is well established that cognitive performance can be also influenced by glucocorticoids: GCs receptors are highly expressed in the hippocampus and are critical in consolidation and retention of learned information (Almela et al. , 2012, Coluccia et al. , 2008, Jameison and Dinan, 2001, Wolf et al. , 2001). Increased natural or synthetic GC levels, as seen during chronic stress or

pharmacological use, are known to impair memory by inducing neuronal loss in the hippocampus. However, in this study we did not observe significant correlations between cognitive assessment and GC use. We speculate this could be due to the fact that RA patients were using GCs at very low levels (< 10 mg per day). During the period of exchange of drug therapy is possible to find subjects using lower doses of these medications.

Finally, this study has some limitations. First, our study has relatively small sample sizes due to difficulty in recruiting RA patients with high disease activity while using low levels of GCs. The stringent exclusion criteria and the difficulty of RA patients in completing the cognitive tasks also were important limiting the sample size. Replication with large samples will be needed to overcome this limitation. Second, the cross-sectional design of this study does not discard the possibility that RA patients were born with cognitive dysfunctions. Third, despite the largest cell producers reside in the brain, we cannot discard that anti-MBP and S100 β levels are not produced at peripheral sites. Finally, autoantibodies against other CNS-proteins should also be explored in order to better characterize this humoral profile and its involvement with cognitive functions.

5. Conclusion

In conclusion, taking into consideration the limitations, our data support the impairing role of autoantibodies against CNS-related proteins and S100 β protein in cognitive performance in RA. This study also suggested alterations in BBB permeability, indicated by increasing levels of S100 β protein. Experimental studies should address the detrimental role of autoantibodies against myelin sheath in cognitive performance.

Acknowledgments

This work was supported by grants from FAPERGS, CAPES and CNPq. The funding institutions had no further roles in study design, in the collection, analysis and interpretation of data, in the writing of the report, and in the decision to submit the paper for publication.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

6. References

- Almela M, van der Meij L, Hidalgo V, Villada C, Salvador A. The cortisol awakening response and memory performance in older men and women. *Psychoneuroendocrinology*. 2012;37:1929-40.
- Angelucci F, Mirabella M, Frisullo G, Caggiula M, Tonali PA, Batocchi AP. Serum levels of anti-myelin antibodies in relapsing-remitting multiple sclerosis patients during different phases of disease activity and immunomodulatory therapy. *Dis Markers*. 2005;21:49-55.
- Appenzeller S, Bertolo MB, Costallat LT. Cognitive impairment in rheumatoid arthritis. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2004;26:339-43.
- Arbour N, Holz A, Sipe JC, Naniche D, Romine JS, Zyroff J, et al. A new approach for evaluating antigen-specific T cell responses to myelin antigens during the course of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2003;137:197-209.
- Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, Donato R. S100B increases proliferation in PC12 neuronal cells and reduces their responsiveness to nerve growth factor via Akt activation. *J Biol Chem*. 2005;280:4402-14.
- Barateiro A, Afonso V, Santos G, Cerqueira JJ, Brites D, van Horsen J, et al. S100B as a Potential Biomarker and Therapeutic Target in Multiple Sclerosis. *Mol Neurobiol*. 2015.
- Bargerstock E, Puvenna V, Iffland P, Falcone T, Hossain M, Vetter S, et al. Is peripheral immunity regulated by blood-brain barrier permeability changes? *PLoS One*. 2014;9:e101477.
- Bartolini M, Candela M, Brugni M, Catena L, Mari F, Pomponio G, et al. Are behaviour and motor performances of rheumatoid arthritis patients influenced by subclinical cognitive impairments? A clinical and neuroimaging study. *Clin Exp Rheumatol*. 2002;20:491-7.
- Bartosik-Psujek H, Psujek M, Jaworski J, Stelmasiak Z. Total tau and S100b proteins in different types of multiple sclerosis and during immunosuppressive treatment with mitoxantrone. *Acta Neurol Scand*. 2011;123:252-6.
- Bartzokis G. Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2004;25:5-18; author reply 49-62.
- Bartzokis G. Brain Myelination in Prevalent Neuropsychiatric Developmental Disorders: Primary and Comorbid Addiction. *Adolesc Psychiatry*. 2005;29:55-96.
- Bartzokis G, Lu PH, Tingus K, Mendez MF, Richard A, Peters DG, et al. Lifespan trajectory of myelin integrity and maximum motor speed. *Neurobiol Aging*. 2010;31:1554-62.
- Beck AT, Steer RA, Ball R, Ranieri W. Comparison of Beck Depression Inventories -IA and -II in psychiatric outpatients. *J Pers Assess*. 1996;67:588-97.
- Belogurov AA, Jr., Kurkova IN, Friboulet A, Thomas D, Misikov VK, Zakharova MY, et al. Recognition and degradation of myelin basic protein peptides by serum autoantibodies: novel biomarker for multiple sclerosis. *J Immunol*. 2008;180:1258-67.

- Bertolucci PH, Brucki SM, Campacci SR, Juliano Y. [The Mini-Mental State Examination in a general population: impact of educational status]. *Arq Neuropsiquiatr*. 1994;52:1-7.
- Bezuglova AM, Konenkova LP, Doronin BM, Buneva VN, Nevinsky GA. Affinity and catalytic heterogeneity and metal-dependence of polyclonal myelin basic protein-hydrolyzing IgGs from sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J Mol Recognit*. 2011;24:960-74.
- Blair M, Coleman K, Jesso S, Desbeaumes Jodoin V, Smolewska K, Warriner E, et al. Depressive Symptoms Negatively Impact Montreal Cognitive Assessment Performance: A Memory Clinic Experience. *Can J Neurol Sci*. 2016:1-5.
- Boggs JM. Myelin basic protein: a multifunctional protein. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63:1945-61.
- Brilot F, Dale RC, Selter RC, Grummel V, Kalluri SR, Aslam M, et al. Antibodies to native myelin oligodendrocyte glycoprotein in children with inflammatory demyelinating central nervous system disease. *Ann Neurol*. 2009;66:833-42.
- Coltman R, Spain A, Tsenkina Y, Fowler JH, Smith J, Scullion G, et al. Selective white matter pathology induces a specific impairment in spatial working memory. *Neurobiol Aging*. 2011;32:2324 e7-12.
- Coluccia D, Wolf OT, Kollias S, Roozendaal B, Forster A, de Quervain DJ. Glucocorticoid therapy-induced memory deficits: acute versus chronic effects. *J Neurosci*. 2008;28:3474-8.
- Diamond B, Honig G, Mader S, Brimberg L, Volpe BT. Brain-reactive antibodies and disease. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:345-85.
- Domiciano DS, Carvalho JF, Shoenfeld Y. Pathogenic role of anti-endothelial cell antibodies in autoimmune rheumatic diseases. *Lupus*. 2009;18:1233-8.
- Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ, et al. Functions of S100 proteins. *Curr Mol Med*. 2013;13:24-57.
- Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1793:1008-22.
- Doronin VB, Parkhomenko TA, Castellazzi M, Padroni M, Pastore M, Buneva VN, et al. Comparison of antibodies hydrolyzing myelin basic protein from the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis. *PLoS One*. 2014;9:e107807.
- Egg R, Reindl M, Deisenhammer F, Lington C, Berger T. Anti-MOG and anti-MBP antibody subclasses in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2001;7:285-9.
- Fields RD. Oligodendrocytes changing the rules: action potentials in glia and oligodendrocytes controlling action potentials. *Neuroscientist*. 2008;14:540-3.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12:189-98.

- Genain CP, Cannella B, Hauser SL, Raine CS. Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis. *Nat Med*. 1999;5:170-5.
- Girolamo F, Ferrara G, Strippoli M, Rizzi M, Errede M, Trojano M, et al. Cerebral cortex demyelination and oligodendrocyte precursor response to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neurobiol Dis*. 2011;43:678-89.
- Gonzalez-Gronow M, Cuchacovich M, Francos R, Cuchacovich S, Blanco A, Sandoval R, et al. Catalytic autoantibodies against myelin basic protein (MBP) isolated from serum of autistic children impair in vitro models of synaptic plasticity in rat hippocampus. *J Neuroimmunol*. 2015;287:1-8.
- Gruden MA, Davidova TB, Malisauskas M, Sewell RD, Voskresenskaya NI, Wilhelm K, et al. Differential neuroimmune markers to the onset of Alzheimer's disease neurodegeneration and dementia: autoantibodies to Aβ(25-35) oligomers, S100b and neurotransmitters. *J Neuroimmunol*. 2007;186:181-92.
- Hachem S, Laurenson AS, Hugnot JP, Legraverend C. Expression of S100B during embryonic development of the mouse cerebellum. *BMC Dev Biol*. 2007;7:17.
- Hagberg H, Mallard C. Effect of inflammation on central nervous system development and vulnerability. *Curr Opin Neurol*. 2005;18:117-23.
- Hamed SA, Selim ZI, Elattar AM, Elserogy YM, Ahmed EA, Mohamed HO. Assessment of biocorrelates for brain involvement in female patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2012;31:123-32.
- Happonen KE, Saxne T, Jacobsson L, Sturfelt G, Ronnelid J, Mollnes TE, et al. COMP-C3b complexes in rheumatoid arthritis with severe extraarticular manifestations. *J Rheumatol*. 2013;40:2001-5.
- laquinta M, McCrone S. An Integrative Review of Correlates and Predictors of Depression in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Arch Psychiatr Nurs*. 2015;29:265-78.
- J. GC. *Stroop Color and Word Test: A Manual for Clinical and Experimental Uses*. Wood Dale, Illinois: Stoelting Company; 1978.
- Jacobs AH, Tavitian B. Noninvasive molecular imaging of neuroinflammation. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32:1393-415.
- Jameison K, Dinan TG. Glucocorticoids and cognitive function: from physiology to pathophysiology. *Hum Psychopharmacol*. 2001;16:293-302.
- Kezuka T, Usui Y, Yamakawa N, Matsunaga Y, Matsuda R, Masuda M, et al. Relationship between NMO-antibody and anti-MOG antibody in optic neuritis. *J Neuroophthalmol*. 2012;32:107-10.
- Kuhle J, Lindberg RL, Regeniter A, Mehling M, Hoffmann F, Reindl M, et al. Antimyelin antibodies in clinically isolated syndromes correlate with inflammation in MRI and CSF. *J Neurol*. 2007;254:160-8.

Larochelle C, Alvarez JI, Prat A. How do immune cells overcome the blood-brain barrier in multiple sclerosis? *FEBS Lett.* 2011;585:3770-80.

Nell VP, Machold KP, Stamm TA, Eberl G, Heinzl H, Uffmann M, et al. Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:1731-6.

Nishioku T, Furusho K, Tomita A, Ohishi H, Dohgu S, Shuto H, et al. Potential role for S100A4 in the disruption of the blood-brain barrier in collagen-induced arthritic mice, an animal model of rheumatoid arthritis. *Neuroscience.* 2011;189:286-92.

Nishioku T, Yamauchi A, Takata F, Watanabe T, Furusho K, Shuto H, et al. Disruption of the blood-brain barrier in collagen-induced arthritic mice. *Neurosci Lett.* 2010;482:208-11.

Owen AM, McMillan KM, Laird AR, Bullmore E. N-back working memory paradigm: a meta-analysis of normative functional neuroimaging studies. *Hum Brain Mapp.* 2005;25:46-59.

Papuc E, Kurys-Denis E, Krupski W, Tatara M, Rejdak K. Can Antibodies Against Glial Derived Antigens be Early Biomarkers of Hippocampal Demyelination and Memory Loss in Alzheimer's Disease? *J Alzheimers Dis.* 2015;48:115-21.

Perry E, Kelly C, Eggleton P, De Soyza A, Hutchinson D. The lung in ACPA-positive rheumatoid arthritis: an initiating site of injury? *Rheumatology (Oxford).* 2014;53:1940-50.

Petersen LE, Grassi-Oliveira R, Siara T, dos Santos SG, Ilha M, de Nardi T, et al. Premature immunosenescence is associated with memory dysfunction in rheumatoid arthritis. *Neuroimmunomodulation.* 2015;22:130-7.

Pozsgay J, Babos F, Uray K, Magyar A, Gyulai G, Kiss E, et al. In vitro eradication of citrullinated protein specific B-lymphocytes of rheumatoid arthritis patients by targeted bifunctional nanoparticles. *Arthritis Res Ther.* 2016;18:15.

Prete M, Racanelli V, Digiglio L, Vacca A, Dammacco F, Perosa F. Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: An update. *Autoimmun Rev.* 2011;11:123-31.

R.M. Reitan DW. *The Halstead-Reitan Neuropsychological Test Battery: Theory and Clinical Interpretation.* Tucson, AZ Neuropsychological Press; 1993.

Shin SY, Katz P, Wallhagen M, Julian L. Cognitive impairment in persons with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2012;64:1144-50.

Stefflerl A, Brehm U, Linington C. The myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG): a model for antibody-mediated demyelination in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *J Neural Transm Suppl.* 2000:123-33.

Sun X, Wang X, Chen T, Li T, Cao K, Lu A, et al. Myelin activates FAK/Akt/NF-kappaB pathways and provokes CR3-dependent inflammatory response in murine system. *PLoS One.* 2010;5:e9380.

Tomassini V, De Giglio L, Reindl M, Russo P, Pestalozza I, Pantano P, et al. Anti-myelin antibodies predict the clinical outcome after a first episode suggestive of MS. *Mult Scler.* 2007;13:1086-94.

Turesson C. Extra-articular rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2013;25:360-6.

Turesson C, Mathsson L, Jacobsson LT, Sturfelt G, Ronnelid J. Antibodies to modified citrullinated vimentin are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72:2047-8.

von Budingen HC, Tanuma N, Villoslada P, Ouallet JC, Hauser SL, Genain CP. Immune responses against the myelin/oligodendrocyte glycoprotein in experimental autoimmune demyelination. *J Clin Immunol*. 2001;21:155-70.

Wechsler D. The Wechsler Memory Scale—Revised. In: Psychological Corporation, editor. New York 1985.

Wolf OT, Convit A, McHugh PF, Kandil E, Thorn EL, De Santi S, et al. Cortisol differentially affects memory in young and elderly men. *Behav Neurosci*. 2001;115:1002-11.

Yang XY, Lin J, Lu XY, Zhao XY. Expression of S100B protein levels in serum and cerebrospinal fluid with different forms of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2008;27:353-7.

Figure legends

Figure 1. Data shown plasma levels of autoantibodies and S100 β for each reactive RA patients and healthy controls. Differences in Anti – MBP levels and Anti – MOG levels in reactive RA patients and healthy controls. C) Plasma S100 β levels between reactive RA patients and healthy controls. Statistical significant differences are indicated: *** $p < 0,0001$. (n) = 20 RA patients and 19 controls.

Figure 2. Domain-specific cognitive assessment in RA patients and healthy controls. The scores are specific elements accordingly to the cognitive task used. **A)** delayed recall memory (logical memory), **B)** working memory (N-back task), **C)** speed of processing (Stroop word test), **D)** inhibition control (Stroop word/color test) and **E)** flexibility (trail making test B). Statistical significant differences are indicated: * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$. (n) = 20 RA patients and 19 controls.

Figure 3. Relationships between cognitive domains and autoantibodies and S100 β levels. **A)** The decreased of mental flexibility scores were correlated with increased anti-MOG levels. **B)** Lower scores in working memory and **C)** inhibition control (Stroop word/color test) were associated with increased anti-MBP antibodies. **D)** The increased S100 β levels were associated with reduced scores in processing speed assessment. (n) = 20 RA patients and 19 controls.

Figure 1.

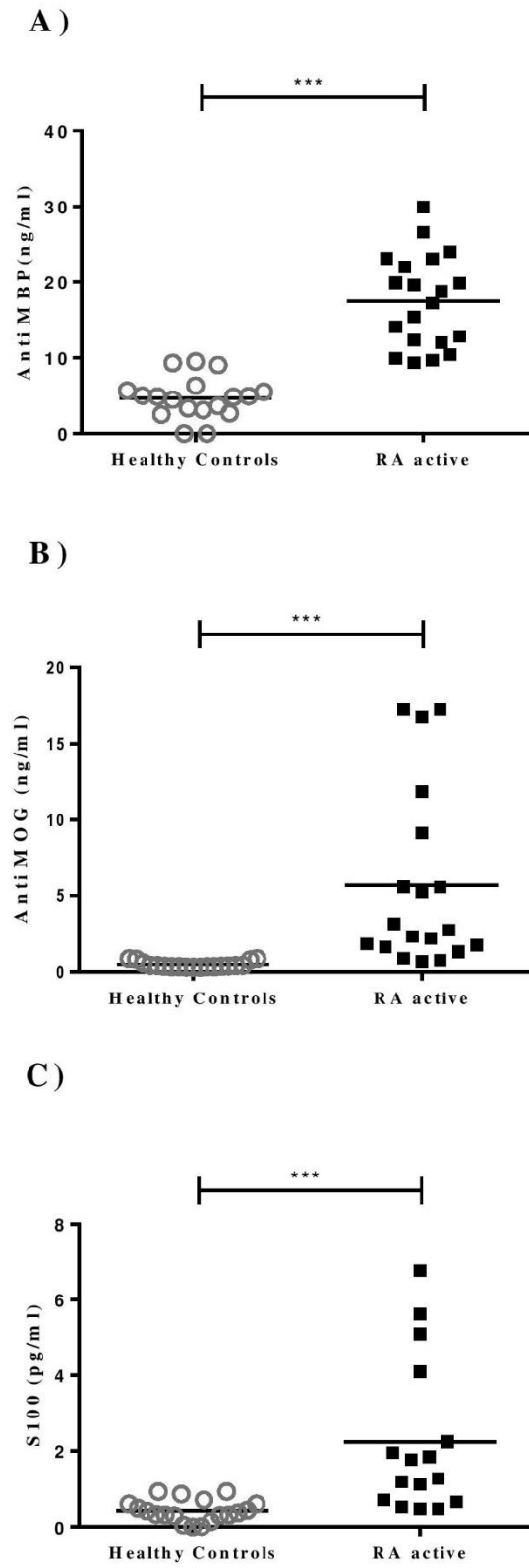


Figure 2.

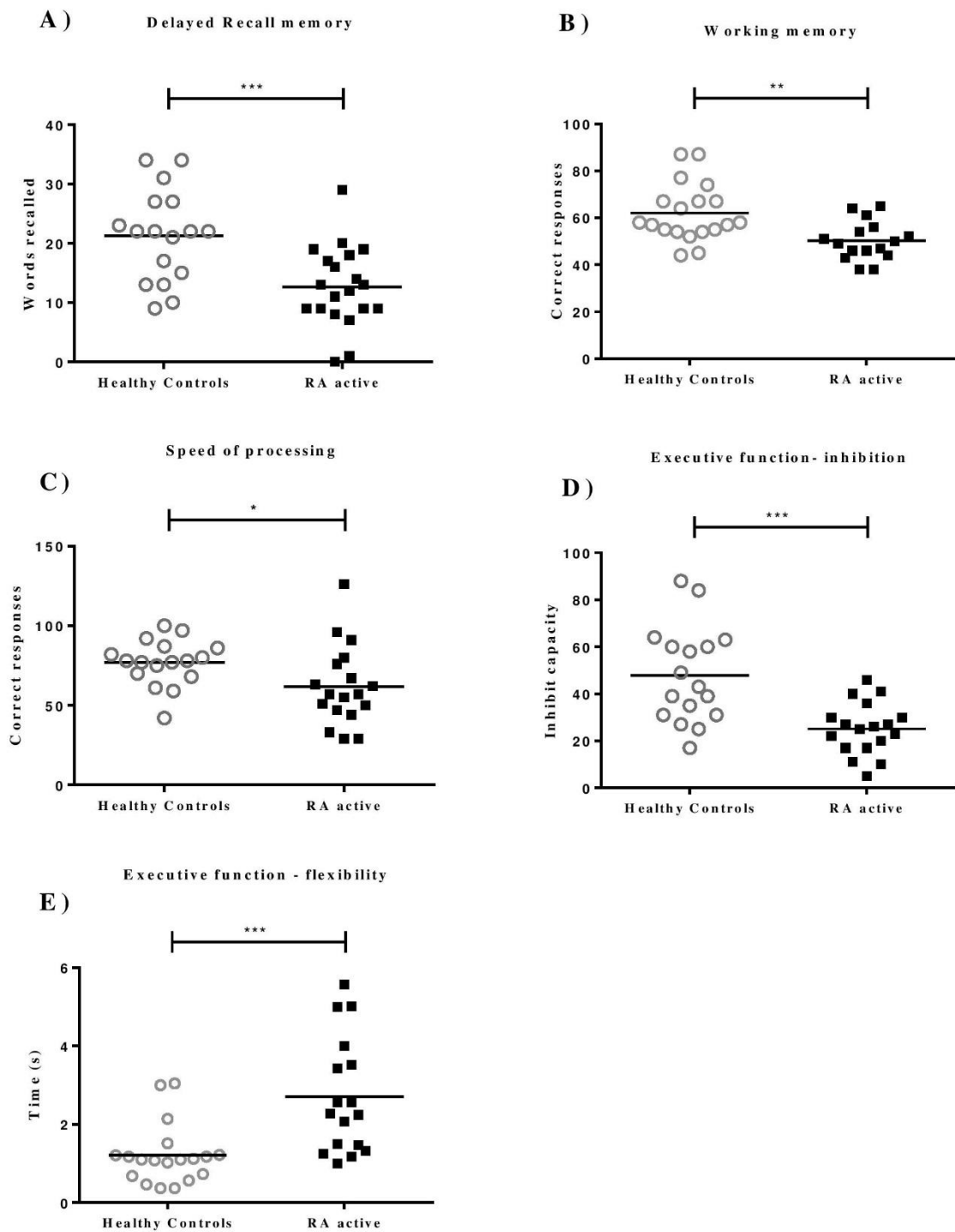


Figura 3.

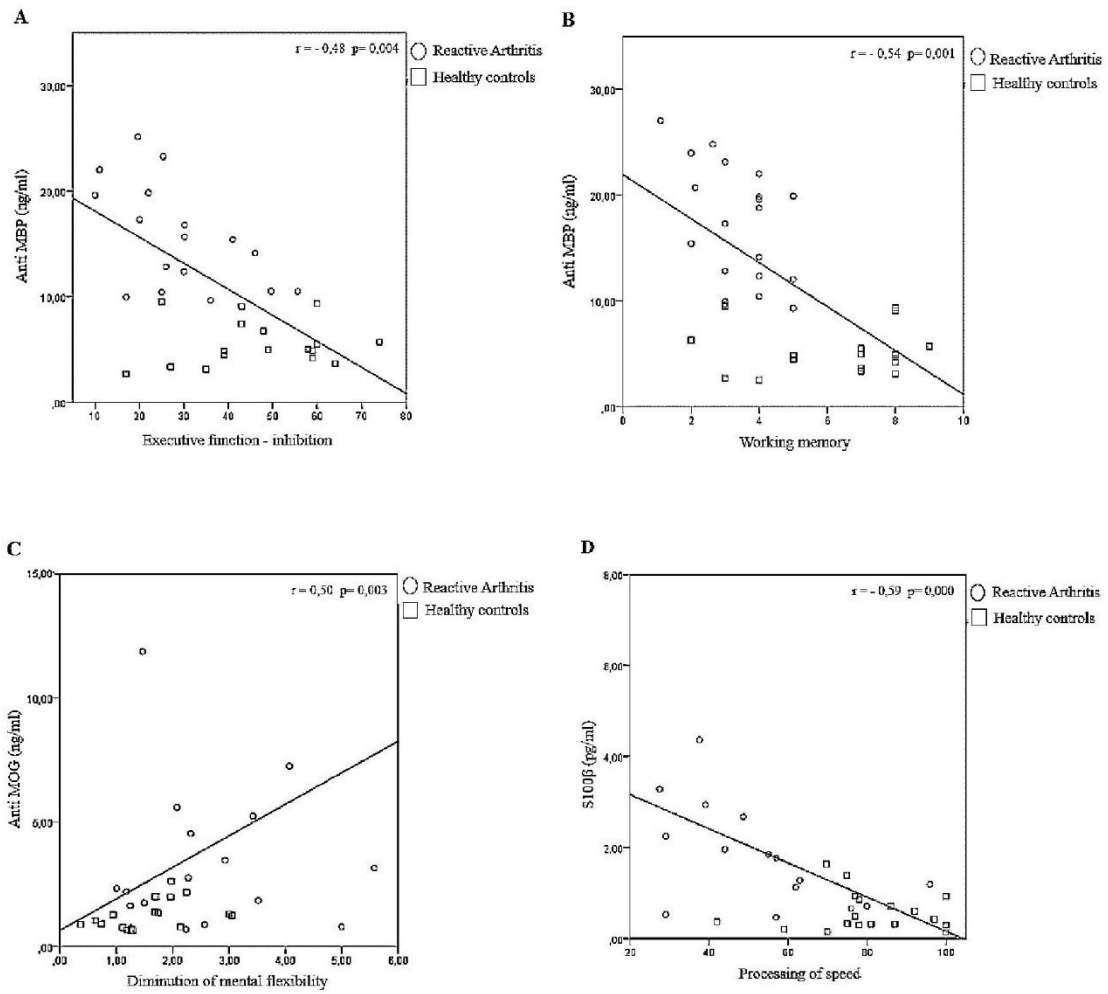


Table 1. Characteristics of the studied populations.

	RA (n = 20)	Healthy Controls (n = 19)	P value
Age/years	56.90±9.20	55.47±8.49	0.61
Ratio: male/female	3/20	3/19	0.94
BMI	21.95±0.84	20.78±0.67	0.29
Schooling (years)	8.30±3.49	8.95±2.79	0.52
RF-positive (n)	19	-	-
Treatment. n (%)			
DMARDs	19 (95%)	-	-
NSAIDs	17 (85%)	-	-
GCs	10 (50%)	-	-
DAS-28	5,87±1,0	-	-
S100β (pg/ml)	2,24±0,9	0,46±0,7	-

Data show as mean ± SD. unless otherwise indicated Data analyzed by Student t test or Mann-Whitney. DMARDs = Disease-modifying antirheumatic drugs; NSAIDs = nonsteroidal anti-inflammatory drugs; RF = rheumatoid factor; DAS-28 = Disease Activity Score – 28; S100β protein = Calcium-binding protein β.

Table 2. Associations between cognitive performance and autoantibodies and S100 β levels.

Dependent variables	S100 β	Anti -MBP	Anti -MOG
IVR	$\beta^a = -0.06$	$\beta^a = -2.32$	$\beta^a = -0.11$
	t = -0.2	t = -2.5	t = -0.1
	p = 0.76	p < 0.01	P = 0.12
DVR	$\beta^a = -1.04$	$\beta^a = -1.59$	$\beta^a = -1.10$
	t = -1.1	t = -2.6	t = -1.5
	p = 0,70	p = 0.01	p < 0.0001
DSB	$\beta^a = -0.78$	$\beta^a = -1.32$	$\beta^a = -0.12$
	t = -0.2	t = -1.7	t = -0.6
	p = 0.06	p = 0.04	p = 0.02
TMB (time in sec.)	$\beta^a = 0.98$	$\beta^a = 1.25$	$\beta^a = 1.21$
	t = 1.2	t = 1.5	t = 2.1
	p = 0.02	p = 0.03	p = 0.02
SWCT	$\beta^a = -0.39$	$\beta^a = -1.29$	$\beta^a = -3.38$
	t = -1.7	t = -1.6	t = -2.4
	p = 0.08	p = 0.01	p = 0.03
Total N-back	$\beta^a = -1.71$	$\beta^a = -0.67$	$\beta^a = -2.03$
	t = -2.7	t = -0.7	t = -2.4
	p = 0.04	p = 0.18	p = 0.005

Linear regression analyses with declarative (IVR) and evocative (DVR) memory, inhibitory control (SWCT), mental flexibility (TMB) and working memory (N-Back and DSB) as dependent variable. S100 β , Anti-MBP and Anti-MOG are predictors. Statistical significant differences are highlighted in bold type. ^aStandardized regression coefficients β .

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados nessa dissertação sustentam a hipótese de que a presença de auto anticorpos contra proteínas presentes no sistema nervoso central pode estar envolvida com a disfunção cognitiva encontrada em pacientes com artrite reumatoide. Observamos um prejuízo cognitivo acentuado que acompanhou o aumento da proteína S100 β e de auto anticorpos contra proteínas da mielina.

Embora existam estudos anteriores que identificaram disfunções cognitivas em pacientes com AR, esse é o primeiro trabalho que detectou relações entre alterações cognitivas e auto anticorpos contra mielina nessa doença. O prejuízo cognitivo foi evidenciado pela aplicação de testes de avaliação cognitiva de domínios específicos. Estes testes nos forneceram escores de avaliação do desempenho cognitivo geral e exclusão da presença de demência (mini exame do estado mental; MMSE) de dois diferentes tipos de memória, memória de trabalho (tarefa *N-back* e *Span* de dígitos inverso) e memória declarativa (memória lógica); velocidade de processamento (*Trail making A* e *Span* de dígitos direto); flexibilidade mental (*Trail Making B*) e controle inibitório (*STROOP*).

É importante considerar que a depressão tem sido reportada como importante fator que pode influenciar o desempenho cognitivo e, de fato, pacientes com AR apresentam alta incidência de depressão. De fato, nós observamos que pacientes com AR incluídos nesse estudo são mais deprimidos quando comparados aos controles. No entanto, mesmo depois de controlar a influência dessa variável sobre os testes cognitivos, não observamos correlação significativa da avaliação cognitiva com os scores do teste que avalia sintomas depressivos (BDI). O mesmo ocorre com o uso de glicocorticoides, apesar de alguns estudos terem reportado correlações entre uma pior performance cognitiva e utilização destas medicações, nós não detectamos associação entre os níveis de GCs e os scores cognitivos. Isso pode ser explicado pela baixa dose de GCs (média de 7mg por dia), considerada dose de manutenção, utilizada pelos pacientes com AR incluídos nesta pesquisa. Estes dados sugerem ser improvável que as alterações cognitivas detectadas nos pacientes com AR tenham ocorrido em virtude dos índices depressivos ou da dose de GCs utilizada pelos indivíduos.

Nesse estudo nós também observamos o aumento de anticorpos anti - MBP e anti - MOG e da proteína S100 β , que se correlacionaram positivamente com a pior performance cognitiva dos pacientes em relação aos controles. A produção de auto anticorpos contra a bainha de mielina é um dos possíveis fatores que contribuem para a disfunção cognitiva observada em algumas doenças autoimunes.⁶⁸ Em doenças como Esclerose Múltipla, Alzheimer e Lúpus eritematoso sistêmico existe uma forte associação entre a presença periférica de auto anticorpos contra a mielina e dano cognitivo.¹⁰⁵⁻¹⁰⁸ É importante salientar que anticorpos anti – MOG tem a capacidade de promover desmielinização no SNC de roedores e em culturas celulares mielinizadas.¹⁰⁹⁻¹¹¹ Além disso, os níveis de anticorpos anti – MBP estão fortemente associados a lesões compatíveis com desmielinização no sistema nervoso central de pacientes com MS e AR.^{100,112} A mielinização promove a condução saltatória de potenciais de ação, o que aumenta a velocidade da transmissão dos sinais e faz com que seja possível integrar informações através das redes neurais vastamente distribuídas viabilizando o desenvolvimento de funções cognitivas superiores.¹¹³ De fato, neste estudo nós observamos que os níveis periféricos de anti – MOG e anti – MBP atuaram como preditores dos escores de funções executivas como memória declarativa e de trabalho, velocidade de processamento e capacidade inibitória, todas consideradas funções cognitivas superiores.

A presença periférica de auto anticorpos contra proteínas da mielina não significa que estas imunoglobulinas irão alcançar o SNC, a não ser que exista um aumento na permeabilidade da BHE.⁹⁵ Notavelmente, estudos anteriores observaram que em modelos animais de artrite reumatoide experimental houve nítido aumento na permeabilidade da BHE.¹¹⁴ Além disso, está bem estabelecido que mediadores pró inflamatórios circulantes tem a capacidade de induzir uma resposta inflamatória nas células endoteliais da BHE alterando sua permeabilidade.¹¹⁵⁻¹¹⁷ As flutuações na permeabilidade da BHE podem ser acompanhadas na periferia através dos níveis de proteína S100 β .⁹⁵ Em condições não patológicas a proteína ligadora de cálcio S100 β atua no metabolismo e ciclo celular de astrocitos e oligodendrócitos especialmente. [40, 41] Aqui nós observamos aumento significativo nos níveis de S100 β no plasma de pacientes com AR em relação aos controles. Sob condições fisiológicas, os níveis celulares de S100 β no tecido cerebral atuam no desenvolvimento e manutenção cognitiva. [42, 43] De fato, nós detectamos uma associação negativa entre os níveis de S100B e o desempenho cognitivo de pacientes e controles. Quando super expressa a S100B pode exercer

efeitos detrimenais ativando a microglia e astrócitos [42]. Interessantemente o aumento da concentração plasmática S100 β é frequentemente observado em doenças caracterizadas por disfunção cognitiva e alterações na permeabilidade da BHE como Alzheimer e esclerose múltipla. Levando em consideração que a proteína S100 β é utilizada como indicador das flutuações na permeabilidade da barreira nós hipotetizamos que o perfil pró inflamatório característico da AR pode promover aumento na permeabilidade da BHE e conseqüentemente o escape da proteína S100 β inicialmente confinada ao parênquima cerebral, o que explicaria o aumento significativo dessa proteína na periferia.⁹⁵

Concluindo, os achados deste trabalho corroboram com estudos anteriores que observaram prejuízo cognitivo em pacientes com AR. Além disso, nosso estudo fornece indícios da relação entre auto anticorpos contra a mielina e cognição. No entanto, mais estudos a respeito desta relação deveriam ser realizados com o objetivo de verificar se, de fato, estas IgGs estão presentes também no tecido nervoso e se o aumento da proteína S100 β periférica reflete a permeabilidade da BHE nos pacientes com AR. O desenho experimental deste estudo não permitiu responder estas questões, mas desperta para a necessidade de explorar melhor estas relações.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. *McInnes, I.B. & Schett, G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. N Engl J Med* **365**, 2205-2219 (2011).
2. *Bax, M., Huizinga, T.W. & Toes, R.E. The pathogenic potential of autoreactive antibodies in rheumatoid arthritis. Semin Immunopathol* **36**, 313-325 (2014).
3. *Pickens, S.R., et al. Characterization of interleukin-7 and interleukin-7 receptor in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum* **63**, 2884-2893 (2011).
4. *Goronzy, J.J. & Weyand, C.M. Rheumatoid arthritis. Immunol Rev* **204**, 55-73 (2005).
5. *Cavagna, L., et al. The multifaceted aspects of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis. Biomed Res Int* **2013**, 759760 (2013).
6. *Shin, S.Y., Katz, P., Wallhagen, M. & Julian, L. Cognitive impairment in persons with rheumatoid arthritis. Arthritis Care Res (Hoboken)* **64**, 1144-1150 (2012).
7. *Taneja, V. Arthritis susceptibility and the gut microbiome. FEBS Lett* (2014).
8. *Klareskog, L., Malmstrom, V., Lundberg, K., Padyukov, L. & Alfredsson, L. Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. Semin Immunol* **23**, 92-98 (2011).
9. *Han, B., et al. Fine mapping seronegative and seropositive rheumatoid arthritis to shared and distinct HLA alleles by adjusting for the effects of heterogeneity. Am J Hum Genet* **94**, 522-532 (2014).
10. *Fousteri, G., Liossis, S.N. & Battaglia, M. Roles of the protein tyrosine phosphatase PTPN22 in immunity and autoimmunity. Clin Immunol* **149**, 556-565 (2013).
11. *Kurko, J., et al. Genetics of rheumatoid arthritis - a comprehensive review. Clin Rev Allergy Immunol* **45**, 170-179 (2013).
12. *Tsai, S. & Santamaria, P. MHC Class II Polymorphisms, Autoreactive T-Cells, and Autoimmunity. Front Immunol* **4**, 321 (2013).
13. *Gonzalez-Lopez, L., et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) and anti-mutated citrullinated vimentin (anti-MCV) relation with extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. J Immunol Res* **2014**, 536050 (2014).
14. *Mikuls, T.R., Payne, J.B., Deane, K.D. & Thiele, G.M. Autoimmunity of the lung and oral mucosa in a multisystem inflammatory disease: The spark that lights the fire in rheumatoid arthritis? J Allergy Clin Immunol* **137**, 28-34 (2016).
15. *Moreland, L.W. & Curtis, J.R. Systemic nonarticular manifestations of rheumatoid arthritis: focus on inflammatory mechanisms. Semin Arthritis Rheum* **39**, 132-143 (2009).

16. Goeldner, I., et al. Association of anticyclic citrullinated peptide antibodies with extra-articular manifestations, gender, and tabagism in rheumatoid arthritis patients from southern Brazil. *Clin Rheumatol* **30**, 975-980 (2011).
17. Ortega-Hernandez, O.D., Pineda-Tamayo, R., Pardo, A.L., Rojas-Villarraga, A. & Anaya, J.M. Cardiovascular disease is associated with extra-articular manifestations in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* **28**, 767-775 (2009).
18. Sang, A., Zheng, Y.Y. & Morel, L. Contributions of B cells to lupus pathogenesis. *Mol Immunol* (2013).
19. Bugatti, S., Vitolo, B., Caporali, R., Montecucco, C. & Manzo, A. B Cells in Rheumatoid Arthritis: From Pathogenic Players to Disease Biomarkers. *Biomed Res Int* **2014**, 681678 (2014).
20. Bugatti, S., Codullo, V., Caporali, R. & Montecucco, C. B cells in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* **7**, 137-142 (2007).
21. Sharma, S., et al. Identification of autoantibodies against transthyretin for the screening and diagnosis of rheumatoid arthritis. *PLoS One* **9**, e93905 (2014).
22. Xiong, Y.S., et al. Increased expression of Siglec-1 on peripheral blood monocytes and its role in mononuclear cell reactivity to autoantigen in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* **53**, 250-259 (2014).
23. Salih, A.M., Nixon, N.B., Dawes, P.T. & Matthey, D.L. Soluble adhesion molecules and anti-endothelial cell antibodies in patients with rheumatoid arthritis complicated by peripheral neuropathy. *J Rheumatol* **26**, 551-555 (1999).
24. Finnegan, A., Ashaye, S. & Hamel, K.M. B effector cells in rheumatoid arthritis and experimental arthritis. *Autoimmunity* **45**, 353-363 (2012).
25. Pigott, E. & Mandik-Nayak, L. Addition of an indoleamine 2,3,-dioxygenase inhibitor to B cell-depletion therapy blocks autoreactive B cell activation and recurrence of arthritis in K/BxN mice. *Arthritis Rheum* **64**, 2169-2178 (2012).
26. Bluml, S., McKeever, K., Ettinger, R., Smolen, J. & Herbst, R. B-cell targeted therapeutics in clinical development. *Arthritis Res Ther* **15 Suppl 1**, S4 (2013).
27. Hu, Z.D. & Deng, A.M. Autoantibodies in pre-clinical autoimmune disease. *Clin Chim Acta* (2014).
28. Browning, J.L. B cells move to centre stage: novel opportunities for autoimmune disease treatment. *Nat Rev Drug Discov* **5**, 564-576 (2006).
29. Tatarewicz, S., Miller, J.M., Swanson, S.J. & Moxness, M.S. Rheumatoid factor interference in immunogenicity assays for human monoclonal antibody therapeutics. *J Immunol Methods* **357**, 10-16 (2010).
30. Choe, J.Y., Bae, J., Lee, H., Bae, S.C. & Kim, S.K. Relation of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody with disease activity in rheumatoid arthritis: cross-sectional study. *Rheumatol Int* **33**, 2373-2379 (2013).

31. Sutton, B., Corper, A., Bonagura, V. & Taussig, M. The structure and origin of rheumatoid factors. *Immunol Today* **21**, 177-183 (2000).
32. Shelef, M.A., et al. Peptidylarginine Deiminase 4 Contributes to Tumor Necrosis Factor alpha-Induced Inflammatory Arthritis. *Arthritis Rheumatol* **66**, 1482-1491 (2014).
33. Rombouts, Y., et al. Anti-citrullinated protein antibodies acquire a pro-inflammatory Fc glycosylation phenotype prior to the onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* (2013).
34. Holmdahl, R., Malmstrom, V. & Burkhardt, H. Autoimmune priming, tissue attack and chronic inflammation - the three stages of rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* **44**, 1593-1599 (2014).
35. Luban, S. & Li, Z.G. Citrullinated peptide and its relevance to rheumatoid arthritis: an update. *Int J Rheum Dis* **13**, 284-287 (2010).
36. Modi, S., Soejima, M. & Levesque, M.C. The effect of targeted rheumatoid arthritis therapies on anti-citrullinated protein autoantibody levels and B cell responses. *Clin Exp Immunol* **173**, 8-17 (2013).
37. Burska, A.N., et al. Autoantibodies to posttranslational modifications in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm* **2014**, 492873 (2014).
38. Klareskog, L., Amara, K. & Malmstrom, V. Adaptive immunity in rheumatoid arthritis: anticitrulline and other antibodies in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* **26**, 72-79 (2014).
39. 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* **441**, 415-427 (2002).
40. Domiciano, D.S., Carvalho, J.F. & Shoenfeld, Y. Pathogenic role of anti-endothelial cell antibodies in autoimmune rheumatic diseases. *Lupus* **18**, 1233-1238 (2009).
41. Perry, E., Kelly, C., Eggleton, P., De Soyza, A. & Hutchinson, D. The lung in ACPA-positive rheumatoid arthritis: an initiating site of injury? *Rheumatology (Oxford)* (2014).
42. Harada, C.N., Natelson Love, M.C. & Triebel, K.L. Normal cognitive aging. *Clin Geriatr Med* **29**, 737-752 (2013).
43. Petersen, R.C. Clinical practice. Mild cognitive impairment. *N Engl J Med* **364**, 2227-2234 (2011).
44. McCarten, J.R. Clinical evaluation of early cognitive symptoms. *Clin Geriatr Med* **29**, 791-807 (2013).
45. Petersen, L.E., et al. Premature Immunosenescence Is Associated with Memory Dysfunction in Rheumatoid Arthritis. *Neuroimmunomodulation* (2014).
46. Appenzeller, S., Bertolo, M.B. & Costallat, L.T. Cognitive impairment in rheumatoid arthritis. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* **26**, 339-343 (2004).

47. Julian, L.J., et al. *Validity of brief screening tools for cognitive impairment in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Arthritis Care Res (Hoboken) 64, 448-454 (2012).*
48. Bartolini, M., et al. *Are behaviour and motor performances of rheumatoid arthritis patients influenced by subclinical cognitive impairments? A clinical and neuroimaging study. Clin Exp Rheumatol 20, 491-497 (2002).*
49. Dick, B., Eccleston, C. & Crombez, G. *Attentional functioning in fibromyalgia, rheumatoid arthritis, and musculoskeletal pain patients. Arthritis Rheum 47, 639-644 (2002).*
50. Raftery, G., et al. *Disease activity and cognition in rheumatoid arthritis: an open label pilot study. Arthritis Res Ther 14, R263 (2012).*
51. Takeuchi, H. & Kawashima, R. *Effects of processing speed training on cognitive functions and neural systems. Rev Neurosci 23, 289-301 (2012).*
52. Moll, K., Gobel, S.M., Gooch, D., Landerl, K. & Snowling, M.J. *Cognitive Risk Factors for Specific Learning Disorder: Processing Speed, Temporal Processing, and Working Memory. J Learn Disabil (2014).*
53. Roldan-Tapia, L., Canovas-Lopez, R., Cimadevilla, J. & Valverde, M. *[Cognition and perception deficits in fibromyalgia and rheumatoid arthritis]. Reumatol Clin 3, 101-109 (2007).*
54. Bettcher, B.M. & Kramer, J.H. *Longitudinal Inflammation, Cognitive Decline, and Alzheimer's Disease: A Mini-Review. Clin Pharmacol Ther (2014).*
55. Simpson, E.E., et al. *Intracellular cytokine production and cognition in healthy older adults. Psychoneuroendocrinology 38, 2196-2208 (2013).*
56. Mooijaart, S.P., et al. *Circulating interleukin-6 concentration and cognitive decline in old age: the PROSPER study. J Intern Med 274, 77-85 (2013).*
57. Yaffe, K., et al. *Inflammatory markers and cognition in well-functioning African-American and white elders. Neurology 61, 76-80 (2003).*
58. Monson, N.L., et al. *Elevated CNS inflammation in patients with preclinical Alzheimer's disease. J Cereb Blood Flow Metab 34, 30-33 (2014).*
59. Leung, R., et al. *Inflammatory proteins in plasma are associated with severity of Alzheimer's disease. PLoS One 8, e64971 (2013).*
60. Lapteva, L., et al. *Anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies, cognitive dysfunction, and depression in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 54, 2505-2514 (2006).*
61. Frauenknecht, K., Katzav, A., Grimm, C., Chapman, J. & Sommer, C.J. *Neurological impairment in experimental antiphospholipid syndrome is associated with increased ligand binding to hippocampal and cortical serotonergic 5-HT1A receptors. Immunobiology 218, 517-526 (2013).*

62. *Blanc, F., et al. Cognitive Dysfunction and Dementia in Primary Sjogren's Syndrome. ISRN Neurol* **2013**, 501327 (2013).
63. *Paul, R.H., Cohen, R.A., Gilchrist, J.M., Aloia, M.S. & Goldstein, J.M. Cognitive dysfunction in individuals with myasthenia gravis. J Neurol Sci* **179**, 59-64 (2000).
64. *Appenzeller, S., Lapa, A.T., de Carvalho, J.F., Peres, F.A. & Shoenfeld, Y. Cognitive dysfunction and antiphospholipid antibodies. Curr Rheumatol Rep* **14**, 95-98 (2012).
65. *Geschwind, M.D., et al. Voltage-gated potassium channel autoimmunity mimicking creutzfeldt-jakob disease. Arch Neurol* **65**, 1341-1346 (2008).
66. *McKeon, A., et al. Potassium channel antibody associated encephalopathy presenting with a frontotemporal dementia like syndrome. Arch Neurol* **64**, 1528-1530 (2007).
67. *Cohen-Bittan, J., et al. Atypical dementia. Lancet* **376**, 656 (2010).
68. *Bartzokis, G. Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer's disease. Neurobiol Aging* **25**, 5-18; author reply 49-62 (2004).
69. *Lu, P.H., et al. Age-related slowing in cognitive processing speed is associated with myelin integrity in a very healthy elderly sample. J Clin Exp Neuropsychol* **33**, 1059-1068 (2011).
70. *Lu, P.H., et al. Myelin breakdown mediates age-related slowing in cognitive processing speed in healthy elderly men. Brain Cogn* **81**, 131-138 (2013).
71. *Vanguilder, H.D., Bixler, G.V., Sonntag, W.E. & Freeman, W.M. Hippocampal expression of myelin-associated inhibitors is induced with age-related cognitive decline and correlates with deficits of spatial learning and memory. J Neurochem* **121**, 77-98 (2012).
72. *Gonzalez-Gronow, M., et al. Catalytic autoantibodies against myelin basic protein (MBP) isolated from serum of autistic children impair in vitro models of synaptic plasticity in rat hippocampus. J Neuroimmunol* **287**, 1-8 (2015).
73. *Coltman, R., et al. Selective white matter pathology induces a specific impairment in spatial working memory. Neurobiol Aging* **32**, 2324 e2327-2312 (2011).
74. *Kursula, P. Structural properties of proteins specific to the myelin sheath. Amino Acids* **34**, 175-185 (2008).
75. *Reindl, M., et al. Antibodies against the myelin oligodendrocyte glycoprotein and the myelin basic protein in multiple sclerosis and other neurological diseases: a comparative study. Brain* **122 (Pt 11)**, 2047-2056 (1999).
76. *Timofeeva, A.M., Dmitrenok, P.S., Konenkova, L.P., Buneva, V.N. & Nevinsky, G.A. Multiple sites of the cleavage of 21- and 25-mer encephalytogenic oligopeptides corresponding to human myelin basic protein (MBP) by specific anti-MBP antibodies from patients with systemic lupus erythematosus. PLoS One* **8**, e51600 (2013).
77. *Patti, F., et al. Cognitive impairment and its relation with disease measures in mildly disabled patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: baseline results from the*

- Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis (COGIMUS) study. Mult Scler* **15**, 779-788 (2009).
78. E, G., et al. A multi-centre cohort study of short term outcomes of hospital treatment for anorexia nervosa in the UK. *BMC Psychiatry* **13**, 287 (2013).
 79. Bonnet, M.C., et al. Evidence of cognitive compensation associated with educational level in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurol Sci* **251**, 23-28 (2006).
 80. Deloire, M.S., et al. How to detect cognitive dysfunction at early stages of multiple sclerosis? *Mult Scler* **12**, 445-452 (2006).
 81. Mirshafiey, A. & Kianiaslani, M. Autoantigens and autoantibodies in multiple sclerosis. *Iran J Allergy Asthma Immunol* **12**, 292-303 (2013).
 82. Tanaka, M. & Tanaka, K. Anti-MOG antibodies in adult patients with demyelinating disorders of the central nervous system. *J Neuroimmunol* **270**, 98-99 (2014).
 83. Mayer, M.C. & Meinl, E. Glycoproteins as targets of autoantibodies in CNS inflammation: MOG and more. *Ther Adv Neurol Disord* **5**, 147-159 (2012).
 84. Mandolesi, G., Grasselli, G., Musumeci, G. & Centonze, D. Cognitive deficits in experimental autoimmune encephalomyelitis: neuroinflammation and synaptic degeneration. *Neurol Sci* **31**, S255-259 (2010).
 85. Rostasy, K., et al. Persisting myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in aquaporin-4 antibody negative pediatric neuromyelitis optica. *Mult Scler* **19**, 1052-1059 (2013).
 86. Lee, D.H. & Linker, R.A. The role of myelin oligodendrocyte glycoprotein in autoimmune demyelination: a target for multiple sclerosis therapy? *Expert Opin Ther Targets* **16**, 451-462 (2012).
 87. Yoshio, T., Okamoto, H., Hirohata, S. & Minota, S. IgG anti-NR2 glutamate receptor autoantibodies from patients with systemic lupus erythematosus activate endothelial cells. *Arthritis Rheum* **65**, 457-463 (2013).
 88. Kowal, C. & Diamond, B. Aspects of CNS lupus: mouse models of anti-NMDA receptor antibody mediated reactivity. *Methods Mol Biol* **900**, 181-206 (2012).
 89. Tasaki, A., et al. Autocrine MMP-2/9 secretion increases the BBB permeability in neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **85**, 419-430 (2014).
 90. Bouras, C., Riederer, B.M., Kovari, E., Hof, P.R. & Giannakopoulos, P. Humoral immunity in brain aging and Alzheimer's disease. *Brain Res Brain Res Rev* **48**, 477-487 (2005).
 91. Marchi, N., et al. Peripheral markers of brain damage and blood-brain barrier dysfunction. *Restor Neurol Neurosci* **21**, 109-121 (2003).
 92. Marchi, N., et al. Peripheral markers of blood-brain barrier damage. *Clin Chim Acta* **342**, 1-12 (2004).

93. Winter, C.D., et al. Elevated plasma S100B levels in high altitude hypobaric hypoxia do not correlate with acute mountain sickness. *Neurol Res* **36**, 779-785 (2014).
94. Kanner, A.A., et al. Serum S100beta: a noninvasive marker of blood-brain barrier function and brain lesions. *Cancer* **97**, 2806-2813 (2003).
95. Bargerstock, E., et al. Is peripheral immunity regulated by blood-brain barrier permeability changes? *PLoS One* **9**, e101477 (2014).
96. Bosch, X., Ramos-Casals, M. & Khamashta, M.A. The DWEYS peptide in systemic lupus erythematosus. *Trends Mol Med* **18**, 215-223 (2012).
97. Schroeter, M.L., Sacher, J., Steiner, J., Schoenknecht, P. & Mueller, K. Serum S100B represents a new biomarker for mood disorders. *Curr Drug Targets* **14**, 1237-1248 (2013).
98. Yilmaz, N., et al. Elevated S100B and neuron specific enolase levels in patients with migraine-without aura: evidence for neurodegeneration? *Cell Mol Neurobiol* **31**, 579-585 (2011).
99. Donato, R., et al. Functions of S100 proteins. *Curr Mol Med* **13**, 24-57 (2013).
100. Hamed, S.A., et al. Assessment of biocorrelates for brain involvement in female patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* **31**, 123-132 (2012).
101. de Boussard, C.N., et al. S100 and cognitive impairment after mild traumatic brain injury. *J Rehabil Med* **37**, 53-57 (2005).
102. Steiner, J., Bogerts, B., Schroeter, M.L. & Bernstein, H.G. S100B protein in neurodegenerative disorders. *Clin Chem Lab Med* **49**, 409-424 (2011).
103. Li, C., et al. Astrocytes: implications for neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* **8**, 67-80 (2011).
104. organization, W.h. World health organization database (2014).
105. Belogurov, A.A., Jr., et al. Recognition and degradation of myelin basic protein peptides by serum autoantibodies: novel biomarker for multiple sclerosis. *J Immunol* **180**, 1258-1267 (2008).
106. Genain, C.P., Cannella, B., Hauser, S.L. & Raine, C.S. Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis. *Nat Med* **5**, 170-175 (1999).
107. Bezuglova, A.M., Konenkova, L.P., Doronin, B.M., Buneva, V.N. & Nevinsky, G.A. Affinity and catalytic heterogeneity and metal-dependence of polyclonal myelin basic protein-hydrolyzing IgGs from sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J Mol Recognit* **24**, 960-974 (2011).
108. Papuc, E., Kurys-Denis, E., Krupski, W., Tatara, M. & Rejdak, K. Can Antibodies Against Glial Derived Antigens be Early Biomarkers of Hippocampal Demyelination and Memory Loss in Alzheimer's Disease? *J Alzheimers Dis* **48**, 115-121 (2015).

109. Stefferl, A., Brehm, U. & Linington, C. *The myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG): a model for antibody-mediated demyelination in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. J Neural Transm Suppl*, 123-133 (2000).
110. von Budingen, H.C., et al. *Immune responses against the myelin/oligodendrocyte glycoprotein in experimental autoimmune demyelination. J Clin Immunol* **21**, 155-170 (2001).
111. Girolamo, F., et al. *Cerebral cortex demyelination and oligodendrocyte precursor response to experimental autoimmune encephalomyelitis. Neurobiol Dis* **43**, 678-689 (2011).
112. Bartzokis, G. *Myelination and brain electrophysiology in healthy and schizophrenic individuals. Neuropsychopharmacology* **28**, 1217-1218 (2003).
113. Nave, K.A. & Werner, H.B. *Myelination of the nervous system: mechanisms and functions. Annu Rev Cell Dev Biol* **30**, 503-533 (2014).
114. Nishioku, T., et al. *Potential role for S100A4 in the disruption of the blood-brain barrier in collagen-induced arthritic mice, an animal model of rheumatoid arthritis. Neuroscience* **189**, 286-292 (2011).
115. Larochelle, C., Alvarez, J.I. & Prat, A. *How do immune cells overcome the blood-brain barrier in multiple sclerosis? FEBS Lett* **585**, 3770-3780 (2011).
116. Hagberg, H. & Mallard, C. *Effect of inflammation on central nervous system development and vulnerability. Curr Opin Neurol* **18**, 117-123 (2005).
117. Diamond, B., Honig, G., Mader, S., Brimberg, L. & Volpe, B.T. *Brain-reactive antibodies and disease. Annu Rev Immunol* **31**, 345-385 (2013).