

# Artritis reumatoide

## Bases Inmunológicas para la terapia Biológica

Renato Guzmán Moreno<sup>1</sup>

### Resumen

La artritis reumatoide es una enfermedad agresiva, de mal pronóstico, que causa serias limitaciones en los pacientes con aumento importante en su morbi-mortalidad. Los conocimientos derivados de los estudios en el área de la biología molecular, la genética y la inmunología, han permitido conocer más a fondo los procesos que conllevan al daño articular. Estos progresos han permitido identificar blancos terapéuticos para un tratamiento modificador real y más racional de la enfermedad, generando muchas esperanzas en un futuro cercano. Cuando las ciencias básicas van de la mano con la clínica, los progresos son extraordinarios pero no debemos cegarnos con estos avances de la biología molecular, debemos recordar que nuestros pacientes deben permanecer como los actores principales de nuestros conocimientos para que los avances en las ciencias básicas conlleven a verdaderos beneficios para estos. La mejor garantía para nuestros pacientes es enfocarlos de manera integral y sopesar los beneficios entregados con estos tratamientos y los probables riesgos inherentes a los que los sometemos, escogiendo cada caso de manera individual. Hemos dado pasos de gigantes en los últimos años en el conocimiento de la artritis reumatoide, las ilusiones crecen, bienvenido el futuro.

**Palabras clave:** Artritis reumatoide, terapia biológica.

### Summary

The rheumatoid arthritis is a very aggressive disease, with bad prognostic that cause troubles and increase morbid-mortality in these patients. The knowledge in molecular biology, genetics and immunology has been important to understand the process that damaged the articular cartilage. These progress has permitted identified therapeutic target in this pathology. We are just beginning to reach the point at which the union of molecular biology, genetic engineering, and immunology will create exceptional opportunities for further advances. We do not to allow these dazzling enticements to blind us to our primary goal: our patients must remain the central figures in this endeavor so that the progress in Immunology leads to true benefit to patients. I recommend to study this patients in an integral form, and to choose each therapy in individual case. Everyone patients is different and require different treatment, we must to balance risk- benefice in each case in particular. In the last year, we have given big step in the study of Rheumatoid Arthritis, the ilussion grow-up, welcome the future.

**Key words:** Rheumatoid arthritis, biologic therapy.

### Generalidades

La Artritis Reumatoide, (AR), prototipo de las enfermedades reumáticas inflamatorias de naturaleza autoinmune afecta el 1% de la población mundial, su

---

<sup>1</sup> Internista Reumatólogo. Clínica SaludCoop, Bogotá.

curso generalmente es progresivo, después de 12 años de evolución el 80% de los pacientes se encuentran parcialmente limitados y el 16% totalmente. Es una artropatía de mal pronóstico, inflamatoria y destructiva; acorta la expectativa de vida de 3 a 18 años y genera altos costos, en USA se calcula que el costo médico por caso por año: US\$5.919 y en el Reino Unido \$2.600 libras esterlinas por caso-año<sup>1</sup>. Si se controla la enfermedad y se inicia rehabilitación temprana, estos costos se disminuyen en un 21%<sup>2</sup>. La enfermedad comprende tres procesos concatenados: inflamación, proliferación sinovial y destrucción tisular. El pronóstico de la enfermedad generalmente es malo y su tratamiento es imperfecto y en ocasiones frustrante<sup>3-5</sup>. Es una enfermedad que dramática y cruelmente compromete la calidad de vida de los pacientes, ocasionando dolor crónico, fatiga, daño articular progresivo, deformidad y pérdida de la función<sup>6</sup>.

## Inmunopatogenia

### Eventos Iniciales

(Presentación antigénica, células, moléculas de adhesión).

En los últimos años, con el avance en el campo de la Inmunología, de la Biología celular, de la Inmunogenética y de la Biología molecular, se han dado paso de gigantes en el entendimiento de la enfermedad. El avance en el conocimiento de la etiopatogenia de la AR, los protagonistas celulares y tisulares que participan en su génesis, han permitido identificar probables nuevos puntos de tratamiento al conocer los eventos celulares que acontecen en los tejidos. Aún se considera que en un huésped genéticamente susceptible se desarrolla la enfermedad al presentarse un estímulo antigénico que dispara una cascada inmunológica mediada por células y sus productos que conllevan al daño articular<sup>7-9</sup>. Estos eventos fueron descritos por Harris en 1990, quien clasificó la enfermedad en estadios patobiológicos correlacionando los eventos tisulares con la clínica y el pronóstico de la enfermedad<sup>10</sup>. Papel cardinal juegan las células presentadoras de antígeno, ya sean macrófagos o células dendríticas, quienes inician la respuesta inmune, reconociendo al antígeno, fagocitándolo y luego lo presentan al linfocito T, el cual inicia la respuesta inmune celular estimulando la diferenciación de células B a plasmocitos y generando la producción de

anticuerpos. Esta respuesta llega a organizarse en áreas perivasculares de la membrana sinovial y se forman nuevos vasos y proliferación excesiva de sinoviocitos. Las moléculas de adhesión vascular celular 1, (VCAM-1, CD 106) son importantes en esta situación y se constituyen en los pasos iniciales de la migración celular hacia el sinovium reumatoide, probablemente median la respuesta inflamatoria, favorecen la angiogénesis, formación e invasión del pannus, activa linfocitos B y T y los perpetua en el compartimento sinovial.<sup>11-13</sup>. Entender el mecanismo transcripcional que regula la inducción de VCAM-1 permitirá diseñar pequeñas moléculas inhibitoras que tendrían un impacto terapéutico en el manejo de la enfermedad<sup>14</sup>. El fenómeno de angiogénesis es definitivo para la evolución de la sinovitis reumatoide y es mediada por la producción de factores locales, citoquinas, y enzimas proteolíticas como las metaloproteinasas que facilitan la invasión del tejido conectivo. Existe acumulación de linfocitos T especialmente en el sinovium del tipo CD4 inductores de ayuda que se adhieren al endotelio de vénulas postcapilares. La producción de IL-2 por los linfocitos activa las células B. Este fenómeno de angiogénesis va estrictamente ligado a las quemoquinas y se sabe que la IL-8, la proteína activadora epitelial del neutrófilo 78, (ENA 78) y el producto del gen relacionado de crecimiento, (gro) y la proteína III activadora del tejido conectivo (CTAP-III) se encuentran elevadas en el sinovium reumatoide, al igual que abundantes cantidades de la proteína 1 quimioattractante del monocito (MCP-1), la proteína inflamatoria alfa del macrófago, (MIP-1  $\alpha$ ) y del RANTES. (Activación normal regulada de las células T expresadas y secretadas). El alto recambio de formación de capilares perpetúa la extravasación de leucocitos y así favorece la progresión de la AR. En el fenómeno de la angiogénesis participan activamente factores de crecimiento como factor de crecimiento del fibroblasto, básico y ácido, el factor de crecimiento del endotelio vascular y el factor del crecimiento del hepatocito que se unen a la heparina y al heparan-sulfato de la matriz extracelular. Otros que también participan incluyen el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el de células endoteliales derivado de plaquetas, el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento Insulina like y el TGF- $\beta$ , (factor transformante de crecimiento) al igual que múltiples citoquinas. Existen componentes de la matriz extracelular que tienen un rol activo en la angiogénesis

e incluyen al colágeno tipo I, la fibronectina, la heparina, la laminina, la tenascina y la angiogenina entre otras<sup>15-17</sup>.

### Citoquinas - Factores de Crecimiento

Las citoquinas son pequeños péptidos, productos celulares esenciales para la comunicación intracelular. Activación de células, especialmente de la serie monocito-macrófago las liberan, estas actúan sobre células blanco a través de receptores de alta afinidad. Las células T y sus respuestas son categorizadas como Th1, (Interferon  $\gamma$ ) o Th2, (IL-4, IL-13), las primeras son implicadas en enfermedades autoinmunes inflamatorias crónicas. La producción de estas en AR es variable y se correlacionan con el tipo de inflamación, en casos de sinovitis con agregados linfoides hay exceso de producción de INF  $\gamma$  e IL-10, y al desarrollar granuloma se aumenta también el INF  $\gamma$  y la IL-4. En la artritis reumatoide se destaca de manera preponderante la acción patogenética del Factor de necrosis tumoral alfa, (TNF  $\alpha$ ) y de la Interleukina 1.(IL-1), participando en el proceso inflamatorio articular, destructivo cartilaginoso y desmineralizante óseo, amén de sus manifestaciones sistémicas<sup>18</sup>. Se puede considerar a la artritis reumatoide como una enfermedad eminentemente mediada por las células de Th1, que poseen el receptor específico de Chemoquina CCR5, donde la IL-15 participa como una importante molécula en los fenómenos de quimiotaxis. El reclutamiento de las células endoteliales, de los macrófagos y de los sinoviocitos en la zona de inflamación, se ha denominado reacción mesenquimal y es cardinal en la génesis de la enfermedad. La célula T se activa de dos maneras en la AR, una dependiente de antígeno y otra totalmente independiente mediada por moléculas coestimuladoras al existir contactos célula a célula<sup>19-21</sup>. La IL-1  $\beta$  es un mediador clave de la enfermedad, induce la producción de metaloproteasas de matriz, (MMP) por los sinoviocitos y condrocitos contribuyendo al fenómeno resorptivo óseo<sup>22</sup>. Estas dos citoquinas pueden considerarse como citoquinas prodestructivas mayores<sup>23</sup>. A pesar de tener acciones similares en los tejidos, el efecto de la IL-1 en la producción local de MMP es más potente que el del TNF  $\alpha$ , pero este a su vez es más importante en los fenómenos inflamatorios a nivel sistémico, lo cual ha dado pie al concepto que el TNF  $\alpha$  es el responsable de la inflamación articular y la IL-1 ocasiona la destrucción del cartílago y los fenómenos osteopénicos yuxta

articulares con la generación de prostaglandinas E. Estas citoquinas también pueden ser producidas en menor proporción por los fibroblastos y los neutrófilos, pero la evidencia sugiere que la acción estimulante del linfocito T sobre la serie monocito-macrófago en el tejido sinovial, es más importante que el accionar del linfocito B en la destrucción tisular. La IL-1 y el TNF- $\alpha$  actúan de manera sinérgica y complementaria, estimulan diferentes receptores y vías de transducción, lo cual permitiría pensar que en el futuro las terapias biológicas combinadas que inhiban ambos factores serían de gran utilidad. Las citoquinas perpetúan y amplifican la inflamación en las articulaciones. La IL-1, IL-2, IL-3, IL-4 e Interferon  $\gamma$  los produce el linfocito T, activan y amplifican la respuesta inmune celular y humoral. La IL-1, la IL-6, CSF-1, TNF  $\alpha$  producidos especialmente por los macrófagos y fibroblastos, inician la respuesta inmune, conllevan a proliferación celular, actividad enzimática degradativa de la matriz mediadas por PGs, fiebre y resorción ósea<sup>24-26</sup> El TGF  $\beta$ , actúa contrarrestando los efectos de la IL-1, 6 y TNF  $\alpha$ . Suprime la producción de colagenasas por los sinoviocitos, tiene efectos reparativos a nivel articular, aumenta la biosíntesis de proteínas de matriz y tiene acciones inmunosupresivas. Igualmente, se producen también Chemoquinas, (se conocen hoy cuatro familias) siendo las más importantes la C-X-C y la C-C., que tienen poderoso efecto quimioattractante para los tejidos y permiten la migración y residencia de los neutrófilos en la articulación que al activarse generan radicales superóxidos lesivos para el tejido y enzimas lisosomales con propiedades degradativas<sup>27</sup>. Igualmente, se producen kininas vasoactivas, activación de fibrinólisis, producción de plasmina que activa a su vez otras colagenasas y stromelesina. Se ha enfatizado en la similitud de la AR con neoplasias localizadas por la formación del pannus y su característica invasiva, parece ser que a nivel molecular hay evidencia que los fibroblastos en respuesta a la IL-1, inducen la transcripción del gen de la procologenasa y activa al protooncogen c.Jun, lo cual produce jun, una proteína importante que aumenta la transcripción del mRNA para procologenasas. Últimamente se ha prestado mucha atención a la IL-15 y la IL-18, ya que trabajan reclutando más células T, la expande y la estimulan para que interactúe con macrófagos sinoviales y se produzca más TNF  $\alpha$ , de tal manera que perpetúan y mantienen el proceso inflamatorio. Ya se han detectado inhibidores

naturales de la IL-18, que bloquearían la estimulación permanente de las células Th1. (estas citoquinas trabajan sinérgicamente con citoquinas como IL-2-like, (dependiente de NF- $\kappa$ B), IL-2 like citoquina, (STAT3/STAT 5 dependiente). Que son transductoras de señales y activadoras de transcripción<sup>28-30</sup>. Algunos han considerado que las citoquinas inmunoreguladoras son el INF  $\gamma$ , la IL-2, 4, 5, 7, 9, 10 y 11 y las proinflamatorias el TNF  $\alpha$ , la IL-1, la IL-6 y la IL-8. La IL-4 actúa preferencialmente sobre las células B y tiene efecto inhibitorio en la producción de otras citoquinas por los monocitos, acción similar tiene la IL-10 y la IL-13; estas también producen al receptor soluble del IL-1, (IL-1R $\alpha$ ), e inhiben la producción de metaloproteinasas. La IL-17, se produce por células activadas de memoria CD4, tiene grandes efectos proinflamatorios e induce la producción de IL-1 y TNF  $\alpha$ , estimula la producción MMP-1, 9, aumenta la producción de óxido nítrico por el cartílago y estimula la diferenciación osteoclastica. La inhibición de esta citoquina es un potencial blanco para el tratamiento de la AR.

### Implicaciones Terapéuticas

(Células, Citoquinas, Osteoprotegerina)

De estos conocimientos se plantea el futuro para el tratamiento de la enfermedad; la esperanza reside en la información que se ha obtenido con el estudio de la tecnología del DNA recombinante. Se piensa interrumpir la cascada inflamatoria proliferativa a ciertos niveles. Probablemente se trabaje inhibiendo la angiogénesis in vivo con oligosacáridos cíclicos combinados con esteroides, anticuerpos versus moléculas Clase II MHC, contra el receptor de la IL-2, anti-CD4, globulina antitimocítica, TGF  $\beta$ , inhibidores de IL-1 e INF  $\gamma$ . El conocimiento de sus acciones ha permitido el desarrollo y la implementación de terapias contra el TNF  $\alpha$ , y es lo que se ha conocido como agentes anticitoquinas que desactivan la cascada proinflamatoria de las citoquinas y disminuyen el reclutamiento de las células inflamatorias en el sinovium<sup>31</sup>. El TNF  $\alpha$  tiene acciones pleiotrópicas y trabaja a través de dos receptores, (tipo I y tipo II), siendo actor principal en los fenómenos inflamatorios al regular la adhesión celular, el MHC, la secreción de citoquinas, la proliferación celular, la activación del NF- $\kappa$ B, la citotoxicidad y la activación de neutrófilos<sup>32-34</sup>. Recientemente la identificación de la citoquina que participa en la diferenciación del osteo-

clastos, RANK, (receptor activador del factor nuclear  $\kappa$ B) y su abundancia en el sinovium inflamado determina su papel en la resorción ósea focal, son producidos por linfocitos T activados y por monocitos;<sup>35, 36</sup> su probable bloqueo con la osteoprotegerina es una promesa en la terapéutica. Esta sustancia se había denominado inicialmente OCIF, (factor inhibitorio de la osteoclastogénesis) y es miembro de la familia del receptor para TNF. (TR1). El RANK participa en la diferenciación temprana de células B y T, en la organogénesis de los nódulos linfáticos y en el desarrollo de los linfocitos. La relación de la unión pannus-hueso y edema estromal con lesión erosiva del hueso subcondral por un lado y la unión de pannus-cartílago con fibroblastos y macrófagos que secretan citoquinas proinflamatorias que destruyen la matriz del cartílago y que son mediadas entre otras por IL-1 y TNF  $\alpha$ , permitirán diseñar una terapia más específica y efectiva en la prevención de la destrucción articular en AR<sup>37-39</sup>. El futuro plantea usar agentes que bloqueen las vías intracelulares comunes a diferentes niveles de elementos patogénicos que contribuyan al desarrollo de la enfermedad<sup>40</sup>. Resumimos con la patogénesis de la AR que el proceso se inicia por un agente infeccioso que dispara la liberación de citoquinas y chemoquinas de la APC, (célula presentadora de antígeno) lo cual recluta leucocitos en el sinovio a través de la regulación de moléculas de adhesión. La activación del complejo linfocito T/APC por el complejo mayor de histocompatibilidad y el receptor de la célula T, y el papel de moléculas coestimuladoras, liberan especialmente TNF $\alpha$  e IL-1, (desencadenan la llamada cascada de las citoquinas), actúan causando proliferación de las células sinoviales y liberan enzimas proteolíticas que degradan el cartílago; los fibroblastos de la sinovia y los macrófagos forman el pannus que invade y eroda el cartílago y hueso en compañía de las citoquinas resortivas para hueso; el pannus es mantenido por el proceso de angiogénesis, donde la modulación en la producción del factor inhibitorio de leucemia es mediado por TNF  $\alpha$  e IL-1<sup>41-43</sup>.

### Papel de células: Linfocito T., Sinovicitos, Fibroblastos, C. dentríticas, Genes factores de transcripción

De lo anterior se concluye que hay bases inmunológicas definitivas para el tratamiento de la AR con terapias biológicas. Al reconocer al linfocito T como un

paso obligado y principal en la génesis de la enfermedad, se han intentado terapias que depleten a esta población celular pero los resultados han sido insatisfactorios, probablemente porque la expansión clonal de estos linfocitos es tan amplia y extensa que sólo se logró una respuesta transitoria y además la capacidad reparativa del sistema linfoide en pacientes con AR es limitada, de tal manera los linfocitos tisulares a nivel del sinovium en estos pacientes permanecían inmodificables a pesar de linfocitopenia periférica<sup>44</sup>. Hoy se sabe que los linfocitos T activados inducen osteoclastogénesis, lo que favorece la destrucción ósea en pacientes con la enfermedad, (se ha documentado aumento de los niveles del RANK en el líquido sinovial), esto igualmente permitirá trabajar en el diseño de nuevas estrategias terapéuticas<sup>45</sup>. El descubrimiento de la Osteoprotegerina, hace algunos años ya, y su papel como OCIF, (Factor inhibidor de la Osteoclastogénesis), es un paso importante que ha ayudado a dilucidar aspectos etiopatogénicos de enfermedades crónicas como la Osteoporosis, la Osteopetrosis, la enfermedad de Paget Juvenil y en este caso la Artritis Reumatoide<sup>46-58</sup>. De tal manera que el papel de los linfocitos T en la génesis de la enfermedad es cada día más aceptado, al igual que la activación subsecuente de las células sinoviales, las cuales participan en la destrucción articular por señales intracelulares que incluyen al NF- $\kappa$ B y transductores de señales como el STAT 5, (signal transductor and activator of transcription 5) y defectos en la apoptosis mediada por Fas del fibroblasto sinovial<sup>59</sup>. Se sabe que citoquinas como el TNF- $\alpha$  estimula la activación de caspasas 3 y 8 y que el TGF- $\beta$  suprime este mecanismo. La inhibición del crecimiento de los fibroblastos en el sinovio reumatoide es uno de los principales objetivos en el tratamiento de la enfermedad y en la prevención del daño articular. La inhibición de protooncogenes tipo c-myc, que participa en la activación celular, es posible y tendría implicaciones terapéuticas. El descubrimiento de importante número de células mesenquimales embrionarias en el sinovium reumatoide, revela que estas quizás jueguen un papel preponderante en la agresividad de la enfermedad y en los fenómenos reparativos defectuosos que terminan en la generación del pannus con su conocida invasividad local tisular donde participan proteínas señales de transcripción como el wnt5a, que activa protein kinasa C aumentando la translocación nuclear del NF- $\kappa$ B. Esto tendría implicaciones terapéuticas, como se ha demos-

trado en enfermedades metabólicas óseas donde se podrían utilizar inhibidores naturales de la Wnt como las proteínas Dkk<sup>60-61</sup>. Los fibroblastos sinoviales pueden cambiar su fenotipo y convertirse en células agresivas, nocivas para el tejido, liberando enzimas degradativas<sup>62</sup>. Igualmente, se ha reconocido que las células dendríticas son claves en el desarrollo inicial de la enfermedad por su peculiar propiedad de presentar antígenos más eficientemente, lo que inicia y perpetúa el proceso inflamatorio por presentar el antígeno artrítogénico a las células T autorreactivas, este concepto explica el éxito de las cirugías totales de reemplazo articular en la supresión del proceso inflamatorio de novo<sup>63</sup>. Otros genes potenciales candidatos se están trabajando para que participen en los eventos tempranos del fenómeno inflamatorio en la AR como el p53, p73 y genes supresores de tumores como PTEN.

### Opciones Terapéuticas con bases Inmunes

Existen cinco maneras de regular las acciones de las citoquinas: Antagonistas de receptores específicos, receptores solubles de citoquinas, anticuerpos contra citoquinas, acciones opuestas por otras citoquinas y proteínas ligantes de citoquinas. Entre los primeros se ha utilizado antagonistas del receptor soluble de la IL-1, (IL-1 R $\alpha$ ) demostrándose disminución del infiltrado inflamatorio de células mononucleares en biopsias sinoviales, (probablemente este bloqueo inhiba la migración de células inflamatorias al sinovium y disminuya la producción de prostaglandinas y metaloproteinasas). Este antagonista del receptor regula fisiológicamente la IL-1, es su inhibidor natural, compete específicamente con este y se une muy ávidamente al receptor y es producido especialmente por macrófagos sinoviales. Su uso en clínica ha generado gran expectativa<sup>64, 65</sup>. Los tratamientos con esta terapia han demostrado que enlentecen la progresión del daño óseo al seguir a los pacientes radiológicamente, amén de controlar los signos y síntomas de la enfermedad, de reducir el daño articular y de ser seguro y bien tolerado<sup>66, 67</sup>. El saber que esta citoquina se encuentra largo tiempo después de iniciada la enfermedad, justifica su bloqueo en todas las etapas de la misma<sup>68</sup>. Los estudios clínicos con la molécula han demostrado su seguridad y eficacia cuando se usa sola o con metotrexate<sup>69-77</sup>.

Los antagonistas del TNF- $\alpha$  han revolucionado el tratamiento de la artritis reumatoide; neutralizan y previenen su unión a la célula efectora, el etanercept, versión dimerizada del receptor del factor soluble del TNF y el infliximab, anticuerpo monoclonal quimérico versus TNF- $\alpha$ , han sido aprobados por la FDA para el tratamiento de la enfermedad, ambos reducen la inflamación sinovial e inhiben la degradación ósea y del cartílago<sup>78-87</sup>. Para reducir la reactividad inmune a los anticuerpos se ha diseñado un anticuerpo monoclonal totalmente humanizado, (D2E7), (adalimumab) contra el TNF por tecnología DNA recombinante, los resultados preliminares han sido promisorios<sup>88-90</sup>. Se han utilizado también fragmentos de anticuerpos contra el TNF modificado con polietilenglicol de alto peso molecular para prolongar su vida media a dos semanas con buenos resultados. (CDP 870). La utilidad de la terapia anticitoquina ha sido demostrada en ARJ, variante poliarticular<sup>91</sup>. La inhibición a largo plazo del TNF- $\alpha$  por estas moléculas, ha generado preocupación por la emergencia de infecciones oportunistas, más notablemente la reactivación de infecciones latentes por *Mycobacterium tuberculosis* y el potencial de oncogénesis. De tal manera que la terapia anticitoquina se encuentra desde hace algunos años en el horizonte con resultados muy alentadores, en vista que los DMARD reducían sólo, discretamente, el componente destructivo de la enfermedad y con resultados modestos e inconsistentes<sup>92</sup>. Su uso se viene preconizando últimamente en casos de AR temprana, agresiva con resultados muy favorables en la detención del curso progresivo de la enfermedad al compararlo con metotrexate y revelando gran utilidad como monoterapia<sup>93</sup>. La complejidad de interrelación entre los diferentes factores que participan en el proceso inflamatorio de la enfermedad se ha visto reflejado con la terapia anti-TNF en la cual también se han demostrado cambios en los niveles de su receptor soluble, del TRAIL, (ligando inductor de apoptosis relacionado al TNF) y de la osteoprotegerina luego del tratamiento<sup>94</sup> y lo recíproco, inhibición del daño tisular mediado por TNF al utilizar osteoprotegerina<sup>95</sup>. Con la terapia anticitoquina se han dado pasos de gigante, pero a pesar de estos avances los bloqueadores de TNF  $\alpha$  rara vez inducen completa remisión en los pacientes. Lo anterior ha planteado la posibilidad de usar terapia biológica combinada, que al menos teóricamente luce atractiva<sup>96</sup>. De tal manera que alguna actividad inflamatoria persiste y es aquí donde se resal-

ta el papel de otras citoquinas como la IL-1, la IL-6 entre otras. Esta última es la responsable de las manifestaciones sistémicas de la enfermedad, induce el crecimiento de linfocitos T, activa macrófagos y osteoclastos y participa en la sinovitis y el daño articular. Se han informado efectos benéficos con anticuerpos anti-IL-6<sup>97, 98</sup>. En un futuro se plantea también la utilización de citoquinas antiinflamatorias como IL-10 recombinante, IL-4 o IL-11; las primeras inhiben la liberación y estimulación de la IL-1 y del TNF  $\alpha$ ; igualmente, es probable que inhiban la producción de metaloproteinasas de matriz y aumenten la secreción de inhibidores naturales de citoquinas como el IL1Rs, y receptores solubles del TNF. La IL-11 es también antiinflamatoria y reduce la producción de TNF  $\alpha$ , de IL-1, de IL-12, de IL-6 y de óxido nítrico. Hay ensayos en animales con anticuerpos monoclonales contra la IL-12. Existe la posibilidad de inicio en el uso de terapias anticheмоquinas y antiangiogénicas con agentes antirreumáticos, inhibidores específicos o agentes inmunomoduladores. Los tratamientos con infliximab han demostrado disminución en la expresión de moléculas de adhesión, E-selectina, VCAM-1, ICAM-1) y de chemoquinas como la IL-8 y la MCP-1. También se reduce la expresión de MMP-1 y MMP-3. La modulación del proceso inflamatorio y del proceso de reclutamiento celular redundan en control efectivo de la enfermedad<sup>99, 100</sup>. Se podría trabajar sobre moléculas de adhesión, sobre las células T o B, macrófagos o células dendríticas, complejo trimolecular, moléculas coestimuladoras, chemoquinas, citoquinas, angiogénesis, sinoviocitos y enzimas lisosomales. Otro punto importante es trabajar antagonizando las moléculas coestimuladoras, las cuales trabajan con señales intracelulares estimulando las células T en el reconocimiento de los péptidos antigénicos, la principal molécula es la CD 28 que se une a la B7-1, (CD 80) y a la B7-2, (CD86); estas se unen a CTLA-4, esta unión inhibe la activación de la célula T. Se está trabajando en diseñar formas solubles de CTLA 4 Ig, que es una proteína quimérica soluble que frenaría la estimulación celular<sup>101</sup>. Esta terapéutica ya se ha utilizado en humanos con resultados satisfactorios, al usar igualmente LEA29Y, (es una molécula de segunda generación derivada de la CTLA-4Ig, que muta dos residuos de aminoácidos), que bloquean la segunda señal requerida para la activación de la célula T<sup>102</sup>. Se piensa que podría utilizarse terapia de tolerancia inmune antigénica con productos celulares

de cartílago y sinoviocitos como la glicoproteína humana del cartílago 39, (HC gp-39, que se considera un autoantígeno y podría desarrollar tolerancia inmune aminorando la enfermedad<sup>103</sup>. También se ha considerado que complejos inmunes y acción de la célula B participarían en la génesis de la enfermedad, aunque en menor escala. El colágeno tipo II del cartílago articular es considerado un autoantígeno en la enfermedad, pero los tratamientos de tolerancia oral con colágeno de Bovino han demostrado sólo discreta mejoría<sup>104-105</sup>. Este conocimiento profundo de la célula y su mecanismo de acción permitirá trabajar en un futuro con agentes mediadores de apoptosis, de proteínas kinasas activadas de mitógenos, (MAP) diseñando inhibidores selectivos que bloqueen la síntesis de citoquinas o de enzimas convertidoras de citoquinas, como la p38 MAP kinasa y la SB 242235. Se ha utilizado también pequeñas moléculas inhibitoras de citoquinas como las TACE, (Enzima convertidora de TNF), que bloquea la metaloproteínasa que procesa al pro-TNF al componente soluble. La vía final de destrucción articular es mediada por estas metaloproteinasas, que degradan el colágeno y la matriz del cartílago articular con acción sin resistencia de los inhibidores tisulares. (TIMP)<sup>106, 107</sup>. Se trabaja igualmente con la regulación de la expresión del TNF  $\alpha$  por proteínas de unión del mRNA, por vía transcripcional y postranscripcional. Un elemento rico en adenina y uridina, (ARE), controla los procesos postranscripcionales. TIA-1 y TIAR actúan como silenciadores de la transcripción y se convertirían en blancos terapéuticos como bloqueadores de segunda línea de los TNF<sup>108, 109</sup>. Los tres componentes patogénicos de la AR incluyen la activación primaria de la célula T por los autoantígenos, la reacción mesenquimal y el proceso erosivo y de daño articular. Muchas de las acciones de las citoquinas son mediadas por vías de transducción intracelular por NFkB, la inhibición de esta vía sería de utilidad terapéutica y explica algunas de las acciones de la leflunomida<sup>110-113</sup>. La apoptosis del sinoviocito sería otra modalidad terapéutica en la cual se intentaría bloquear la proteína inhibitoria FLICE, (FLIP) que ejerce una actividad antiapoptótica a través de la inhibición de Fas.; esto redundaría en disminución de la hiperplasia sinovial, como se ha demostrado al tratar de inhibir otra molécula antiapoptótica como la sentrina<sup>114, 115</sup>. Con la importancia reconocida cada día más del linfocito T en los pasos iniciales de la enfermedad, se han renovado terapias para depletarlos como

transplantes de stem cell hemopoyéticas con subpoblación CD34 seleccionada con resultados interesantes.<sup>116, 117</sup>. El papel de la célula B en la AR ha sido más cuestionado, probablemente también participe en el desarrollo de sinovitis crónica y ya se han desarrollado algunos intentos terapéuticos con rituzimab, (anticuerpo monoclonal anti CD-20) con resultados adecuados, esta célula participa en el daño mediado por complejos inmunes y en una correcta presentación antigénica, igualmente participa en la estimulación de células T proinflamatorias<sup>118-123</sup>. El papel de los factores de transcripción nuclear son definitivos en el proceso patogénico de la enfermedad y se considera que el bloqueo de la vía mediada por NF-kB, a través de adenovirus sugiere resultados promisorios. Se actúa a través de la I $\kappa$ B kinasa 2, (IKK 2). El bloqueo de NF-kB afecta la función de la célula presentadora de antígeno, interfiere en el reconocimiento mediado por el receptor del linfocito T, inhibe la expresión de moléculas coestimuladoras como CD80, 86 y 40, inhibe la producción de IL-12 y de quemoquinas.<sup>124-125</sup>. La idea es que esta inhibición sea local en el sinovium porque su inhibición sistémica afecta hígado, SNC y causa severa inmunosupresión con riesgo de infección. La regulación de citoquinas y el balance entre las Th1 y Th2 es clave y aparentemente pueden ser mediadas a través de antígenos tales como la hsps, (proteínas de Shock caliente), que al regular a la célula T tienen la capacidad de suprimir fenómenos de autoinmunidad. Esto se ha logrado con el uso de hsp70, 10 y 60, en lo que se ha denominado inmunointervención<sup>126-127</sup>. Otro punto de investigación en terapéutica de la AR es el papel de la integrina  $\alpha$  V  $\beta_3$ , que participa en la activación del macrófago, en el desarrollo del osteoclasto, en la migración celular, resorción ósea y angiogénesis. La vitaxin o MEDI 522 es un anticuerpo monoclonal IgG1 humanizado que bloquea la subunidad  $\beta_3$  de la integrina al igual que a otros ligandos como la osteopontina y vitronectina y podría jugar un papel terapéutico en la enfermedad<sup>128, 129</sup>.

En los esquemas terapéuticos considerados se piensa en alterar el umbral de reactivación inmune, (bloqueando moléculas coestimuladoras, citoquinas y antagonistas, uso de pequeñas moléculas inhibitorias), en modular la respuesta del antígeno-específico, (inducción de células reguladoras, vacunas de células T, desviación de la respuesta inmune de Tipo 1 a Tipo 2), en reconstituir el sistema inmune con stem cells alogénicas o autólogas

y preservar los órganos blanco (con antagonista del complemento, de quemoquinas, de uso de AINES, inhibidores de metaloproteinasas y de sintasa de O. nítrico)<sup>130, 131</sup>. El alefacept es una proteína recombinante de fusión que tiene LFA 3, (molécula de adhesión que une a CD2 en las células de memoria) y la región constante de la IgG, actúa al inhibir la unión de CD2 a LFA 3 y elimina las células T, su uso ha sido presentado en las placas cutáneas de pacientes con psoriasis<sup>132-134</sup>. De tal manera que se inhibe la activación del linfocito T de manera similar a los trabajos con anticuerpos monoclonales humanizados contra CD11a, (hu 1124), que inhibe la unión de la LFA1 con moléculas de adhesión intercelular 1, (CD54)<sup>135</sup>. Otras terapias anti-integrina se han utilizado con éxito en enfermedades inflamatorias autoinmunes como el natalizumab en la enfermedad de Crohn y en la esclerosis múltiple donde se trabaja contra la  $\alpha_4$  integrina, ( $\alpha_4\beta_1$  integrin) demostrando buena eficacia terapéutica similar a la lograda con infliximab<sup>136-138</sup>. Apparently inhiben la activación de linfocitos o eliminan su población autoreactiva. Estas son moléculas de adhesión que además se conoce como antígeno muy tardío 4 o CD49d-CD29.

## Implicaciones Prácticas-Problemas

### Enfermedad Cardiovascular, neoplasias, infecciones: ¿Precio por pagar?

La utilidad de anti-TNF se ha expandido a otras enfermedades autoinmunes inflamatorias como la enfermedad de Crohn y la Espondilitis Anquilosante, con impresionantes resultados<sup>139-141</sup>. El conocimiento del TNF como responsable o mediador de enfermedades malignas ha permitido igualmente el uso de agentes bloqueadores orales de este como la talidomida en casos de mieloma múltiple<sup>142, 143</sup>.

En la artritis reumatoide es clave seleccionar el paciente apropiado para terapia agresiva, como reconocerlo es un verdadero arte. No existe buen pronóstico en la enfermedad, hay pacientes de curso progresivo lento versus progresivo rápido<sup>144</sup>. La experiencia de agentes biológicos en enfermedades autoinmunes ha residido en el conocimiento de las acciones del linfocito T, algunos anticuerpos se han diseñado que depletan la célula T, (Anti-CD 7, CD5, CD4 murino y quimérico, Campath 1h y otros que no lo hacen: DAB 486/389 IL 2, OKTcd4a entre otros. Se ha trabajado también

con antagonistas del TNF, con citoquinas antiinflamatorias y con inhibidores de las metaloproteinasas de matriz como el batimastat, (MB94). Marimastat, (BB 2516) y el CG 270323 A. Todos estos agentes han permitido avanzar en el conocimiento de la inmunobiología de la enfermedad<sup>145, 146</sup>. En la práctica clínica diaria hay que conjugar los estudios en ciencias básicas con la clínica, en AR es importante investigar condiciones comórbidas asociadas en los pacientes como enfermedad cardio-vascular que aumentan la mortalidad, enfermedad gastrointestinal, osteoporosis, neoplasias, (linfoma: 4 a 10 veces, el riesgo de cáncer es 20 a 30 veces mayor, si toman DMARD 10 veces más). Se ha discutido la incidencia aumentada de enfermedades linfoproliferativas con la terapia biológica, especialmente con etanercept y del tipo linfoma no Hodking pero los resultados no son concluyentes<sup>147</sup>. Es bien sabido que los pacientes con AR mueren de enfermedad cardiovascular y hoy conocemos que la inflamación juega un papel en la enfermedad cardiovascular, (PCR es un factor de riesgo independiente y la actividad de la enfermedad también, igual las cifras de VSG)<sup>148, 149</sup>. El papel de la inflamación en procesos autoinmunes, desarrollo de aterogénesis y susceptibilidad a infecciones, es una interrelación compleja que apenas se dilucida y se discute en terrenos de mutaciones de genes como Toll-Like receptor<sup>150</sup>. Esto tiene importantes implicaciones terapéuticas. Los tratamientos con AINES y glucocorticoides aumentan la TA, los segundos afectan el perfil de lípidos, el metotrexate y la sulfazalacina aumentan los niveles de homocisteína. Se debe investigar si las nuevas terapias disminuyen el riesgo cardiovascular. En la AR se ha visto alteración en fenómenos de coagulación y se ha demostrado gran depósito de fibrina a nivel de la membrana sinovial, es posible que un imbalance entre la plasmina y sus inhibidores de su activación, mediados por citoquinas participen en su génesis y en el desarrollo de morbilidad cardiovascular en los pacientes, por lo cual se podría considerar esta vía como blanco terapéutico novedoso<sup>151</sup>. También se ha discutido sobre el papel de TGF  $\beta$  como inmunomodulador y sus efectos inhibitorios de la proliferación y migración de las células de músculo liso y células endoteliales que promueven la arteriosclerosis<sup>152</sup>. Otro concepto que refuerza la naturaleza inflamatoria de la enfermedad coronaria es la reciente evidencia de elevación del ligando soluble del CD40 en enfermedad coronaria inestable que predice aumento del riesgo

cardiovascular y define al grupo de pacientes que se benefician de tratamiento antiplaquetario con abciximab, este ligando participa en la progresión de arteriosclerosis y desestabilización de la placa; este ligando del CD40, (llamado también CD154) es una proteína transmembrana de la familia del TNF y podría estar en relación con AR y complicaciones cardiovasculares<sup>153, 154</sup>. La PCR es un mejor marcador para inflamación y aterogénesis y ligando CD40 de proceso trombótico agudo. Los efectos del TNF a nivel local pueden ser benéficos, como la activación y adhesión plaquetaria que ocluye vasos sanguíneos y contiene la infección, pero sus acciones a nivel sistémico pueden ser desastrosas conllevando a síndromes clínicos como el shock séptico y la CID. Sus cantidades determinan beneficio o perjuicio en malaria y TBC<sup>155</sup>. La preocupación de los antagonistas del TNF y el incremento en infecciones por TBC es real y motivo de preocupación, parece que existe mayor riesgo con infliximab, lo que se explica por su mecanismo intracelular de acción y bloqueo del TNF a diferencia del etanercept<sup>156-159</sup>. El TNF media la apoptosis del macrófago después de la infección bacilar. (Si se bloquea hay una respuesta inmune aberrante a la infección donde no se mata a la bacteria, se altera la formación del granuloma y la prevención de la diseminación de la infección a otros sitios). Otras infecciones como por aspergillus, por histoplasma y por listeria se han descrito igualmente con incidencia aumentada en pacientes que reciben infliximab<sup>160-162</sup>. El otro punto que se ha discutido son reacciones locales a nivel del sitio de aplicación, infecciones respiratorias superiores leves, ocasionalmente pancitopenia, anemia aplásica fatal y síndromes desmielinizantes, ya que al inhibir TNF se empeora la esclerosis múltiple<sup>163, 164</sup>. Parece que esto ocurre porque los anti-TNF no cruzan la barrera HE y en cambio exacerban autoinmunidad por alterar la función de la APC, aumentar las señales intracelulares y disminuir la apoptosis de células T autorreactivas (específicas de mielina)<sup>165</sup>.

### Tratamiento Actual

Es bien sabido que la destrucción articular demuestra Rx ocurre temprano en la enfermedad y llega a su máximo en los primeros años. (En los dos primeros años el 90% de los pacientes tienen algún grado de incapacidad con el 50% del daño visto a los seis años). Los pa-

cientes que reciben placebo desarrollan de una a cinco veces más cambios Rx que los que usan DMARD y éstos se observan en los primeros seis meses. Los DMARD son mandatorios para retardar la progresión de la enfermedad, además mejoran el status funcional de los pacientes con AR<sup>166</sup>. Lo ideal es retardar indefinidamente la enfermedad induciendo remisión antes que el daño articular haya ocurrido. En estadios tempranos de la enfermedad aún no hay mayor destrucción. Es racional enlentecer la progresión de la enfermedad. (El tiempo del inicio de los síntomas a la destrucción articular visible, el tiempo de la destrucción articular a su deterioro funcional y por último a su pérdida total). Se recomienda tratar a los pacientes muy temprano, (terapia temprana los beneficia), reconocer la enfermedad y aquellos de mal pronóstico, y referirlos temprano al especialista. (Temprano: arriba de 5 años o menos de tres meses). Probablemente síntomas menos de seis meses, erosiones se ven en el 75% de los pacientes a los dos años de su inicio versus menos del 10% si se detectan antes de tres meses. Se han diseñado clínicas de artritis temprana, ven pacientes con síntomas de al menos tres meses. Su objetivo es identificar tempranamente pacientes con AR; su diagnóstico inicialmente es difícil y hay casos atípicos, fundamental el diagnóstico temprano y el reconocer pacientes a riesgo para desarrollar enfermedad severa, (edad y sexo masculino, factor reumatoide, signos radiológicos y alta actividad). Se debe iniciar terapia temprana. Éxito: Referencia temprana, reconocimiento temprano y tratamiento temprano<sup>167-172</sup>.

Esta experiencia igualmente arrojó que en un 70% de los casos el Reumatólogo diagnostica la AR dentro de las dos semanas siguientes de la primera visita de los pacientes, incluso en aquellos casos bizarros o atípicos<sup>173</sup>. Probablemente con base en la experiencia del manejo de estos pacientes se puedan identificar aquellos con factores de riesgo de mal pronóstico<sup>174</sup>. La enfermedad debe considerarse una emergencia médica, que requiere pronto diagnóstico y remisión al Reumatólogo. (Enfermedad progresiva que ocasiona muerte prematura)<sup>175</sup>. Dentro de las manifestaciones de la enfermedad probablemente la presencia y duración de la rigidez matinal y la fatiga son signos muy precoces de la enfermedad y la ausencia de marcadores serológicos al inicio de ésta, convierten al Reumatólogo en el profesional idóneo para su identificación temprana. El Test "Squeeze o de compresión en pequeñas articulaciones de las manos y pies es una medida útil y valiosa en su reconocimiento (identifica más

de tres articulaciones inflamadas)<sup>176</sup>. Hoy hay tratamientos adecuados que se pueden utilizar si no hay respuesta adecuada al metotrexate, y que han demostrado ser costo efectivas como la terapia triple en pacientes resistentes a la monoterapia con metotrexate<sup>177-181</sup>. Los tratamientos actuales indican iniciar tratamiento de entrada lo cual redundará en mejoría en costo-beneficio, el nivel de actividad guía la terapéutica<sup>182</sup>. Se piensa que existe una breve y pequeña oportunidad para iniciar los DMARD a tiempo y frenar el curso inexorable de tan devastadora enfermedad. Así que hoy podemos hablar de una manera más optimista planteando que la AR es una enfermedad tratable.

### Futuro

De manera esperanzadora se piensa que los nuevos tratamientos más potentes para la enfermedad tengan,

igualmente, un impacto benéfico sobre la morbilidad cardiovascular y que por fin tengamos ahora la oportunidad de cambiar la historia natural de la AR, incluso en niños<sup>183-186</sup>. Sin embargo, es bueno puntualizar que la terapia biológica sigue siendo paliativa más que curativa porque el reostato de citoquinas no es borrado<sup>187</sup>. Definitivamente tenemos una nueva era en el tratamiento de la AR<sup>188</sup>, que actúa de gran manera pero su efecto dura sólo mientras se recibe<sup>189</sup>. Estos tratamientos, como monoterapia o combinados detienen el curso progresivo de la enfermedad, manifestados desde el punto de vista clínico y radiológico a pesar de que a veces existan discordancias entre éstas<sup>190-93</sup>. Existen varias estrategias para inmunomodulación que son aplicables en artritis reumatoide como se ha descrito en la psoriasis<sup>194</sup>. (Figura 1). Estas incluyen reducción del linfocito T, inhibición de la activación del linfocito T, desviación de la respuesta inmune y el bloqueo de la actividad de las

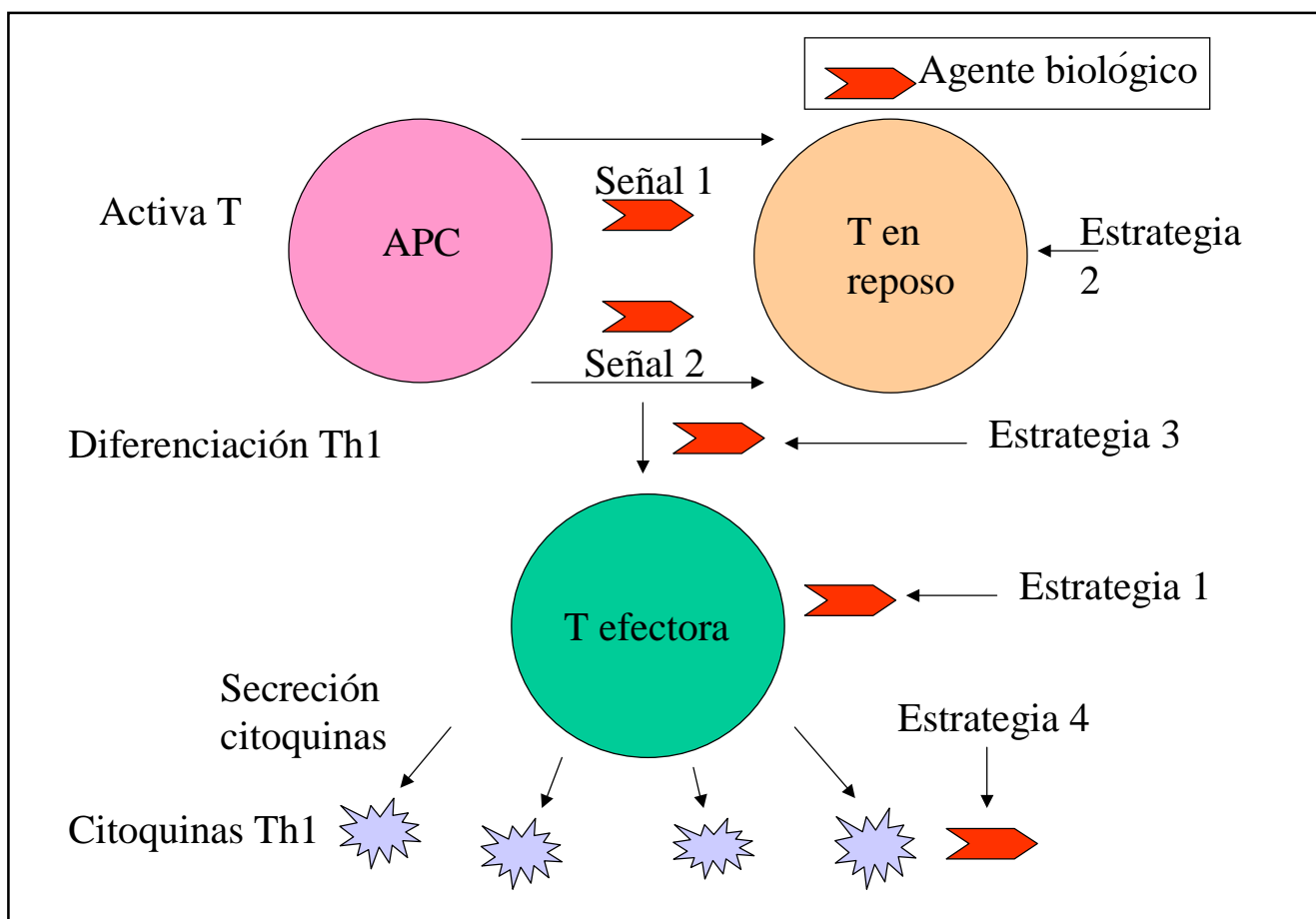


Figura 1. Inmunomodulación con terapia biológica

citoquinas inflamatorias. Existen varios agentes que actuarían en cada uno de estos niveles. (Tabla 1). En la primera estarían el alefacept y el denileukin diftotox, (DAB386 IL-2), es una proteína de fusión que combina IL-2 con una subunidad de la toxina de difteria, trabajaría exclusivamente en el linfocito T activado. En la segunda etapa se incluye el efalizumab, anticuerpo monoclonal humanizado que se une al CD11 de la célula T. Es un componente de LFA-1 que al unirse con la molécula de adhesión intracelular 1, (ICAM-1) se convierte en importante señal coestimuladora vital para la adhesión celular del linfocito T a la célula endotelial. (Por esta vía se bloquea la activación y migración celular de la célula T. El IDEC-114, es un anticuerpo monoclonal humanizado que bloquea la vía coestimuladora entre la APC CD80, (B7-1) y CD28. El daclizumab, (anti-CD25) se une al receptor del IL-2 y bloquea la proliferación celular. El Siplizumab se dirige contra el CD2 de células T activadas, inhibiendo la unión de CD2-LFA-3. En la tercera etapa el oprelvekin, (rhIL-11), y la IL-10 humana recombinante se han postulado como probables agentes terapéuticos y entre los agentes que actúan al último nivel se encuentra ABX-IL-8 y SMART-anti-IFN  $\gamma$ <sup>195, 196</sup>. Los tratamientos en artritis reumatoide con IL-10 recombinante y con IL-4 han sido desalentadores, quizás por su corta vida media<sup>197, 198</sup>.

Los bloqueadores del TNF son un gran avance en el tratamiento de la AR, han demostrado una respuesta substancial, rápida y sostenida. A nivel mundial se han generado guías para uso, incluso en nuestro país, que permiten utilizarlas más racionalmente<sup>199-201</sup>. No cura la enfermedad, son tratamientos paliativos, se pueden usar en enfermedad rápidamente agresiva por un corto tiempo y luego se deja combinación con otros DMARD. Es prematuro por ahora considerarlos de entrada en pacientes con AR temprana pero el peso de la evidencia se inclina a considerarlos seriamente en este grupo de pacientes. Cuando las ciencias básicas van de la mano con la clínica, los progresos son extraordinarios, pero no debemos encefalearnos con estos importantes avances en el área de la biología molecular, debemos recordar que nuestros pacientes deben permanecer como los actores principales de nuestros conocimientos para que los avances en las ciencias básicas conlleve a verdaderos beneficios para éstos.

Conocemos hoy en día, gracias a la profundización del terreno inmunológico, una serie de pasos etiopatológicos

de la Artritis Reumatoide que nos permiten vislumbrar nuevas sustancias con importante potencial terapéutico. Estamos realmente, después de muchos años en la oscuridad, avizorando una luz de esperanza real para nuestros pacientes afectados de la Enfermedad Reumatoide, exultantes esperamos estos adelantos.

**Tabla 1.** Estrategias de Inmunomodulación en Enfermedades Autoinmunes (aplicable a la Artritis Reumatoide)

Estrategia 1 .....	Reducir número de Linfocitos: LFA-3TIP, DAB386IL-2.
Estrategia 2 .....	Inhibir activación del Linfocito T: Bloqueo señal coestimuladora.
Estrategia 3 .....	Desvío equilibrio inmune. (Th1/Th2): IL-10, IL-11, IL-4.
Estrategia 4 .....	Terapia anticitoquina. ABXIL-8. SMART Anti-IFN $\gamma$ .

## Referencias

1. Choy EHS., Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2001; 344: 907-1176.
2. Merkesdal S., Ruof J., Schoffski O., et al. Indirect medical cost in early Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 528-534.
3. Matterson EL. Current treatment strategie for Rheumatoid Arthritis. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 69-74.
4. Keystone EC. New treatment in development for RA. *Clinical Update on new therapies in rheumatic diseases. ACR Syllabus, Philadelphia* 2000.
5. Anderson GL. Perspectives on anti TNF therapy in RA. *Clinical Update on new therapies in rheumatic diseases. ACR Syllabus, Philadelphia* 2000.
6. Bendor R. Arthritis and Immunology. *Ann Intern Med* 1999; 131: 150-152.
7. Guzmán RA. Artritis Reumatoide. *Nuntius* 1992; 2: 55-62.
8. Harris E.D., Jr. Etiology and pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. In Kelley, Harris, Ruddy, Sledge. *Textbook of Rheumatology*. 4<sup>th</sup> Ed. W.B. Saunders. Philadelphia 1993; 833-873.
9. Morrow J., Nelson L., Watts R., et al. Rheumatoid Arthritis. In Morrow, Nelson, Watts, Isenberg. *In Autoimmune Rheumatic Disease*. 2th Ed. Oxford University press. New York. 1999; 104-146.
10. Harris E.D., Jr. Rheumatoid Arthritis. Pathophysiology and implication for therapy. *N Engl J Med* 1990; 322: 1277-1289.
11. Reparón- Schuijt CC., Van Esch WJE., Van Kooten C., et al. Regulation of synovial B cell survival in Rheumatoid arthritis by vascular cell adhesion molecule 1 (CD106)

- expressed on fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1115-1121.
12. Carlo TM., Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994; 84: 2068-2101.
  13. Butcher E. Leukocyte-endothelial recognition: Three steps to specificity and diversity. *Cell* 1991; 67: 1033-1036.
  14. Carter RA., Wicks IP. Vascular cell adhesion molecule 1. (CD106). *Arthritis Rheum* 2001; 44: 985-994.
  15. Strieter R. Chemokines. In *ACR Review Course*, Boston 1999.
  16. Frenette PS., Wagner DD. Adhesion Molecules. *N Engl J Med* 1996; 334: 1526-1529.
  17. Szekanecz Z., Koch AE. Chemokines and angiogenesis. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13: 202-208.
  18. Harris ED.Jr. Rheumatoid Arthritis: Etiology and pathogenesis of rheumatoid Arthritis. In Kelley, Harris, Ruddy, Sledge. In *Textbook of Rheumatology*, 4<sup>th</sup> Ed, WB Saunders Philadelphia 1993; 833-873.
  19. Loetscher P., Uguccioni M., Bordoli L., et al. CCR5 is characteristic of th1 lymphocytes. *Nature* 1998; 391: 344-345.
  20. Kaplan D. Autocrine secretion and the physiological concentration of cytokines. *Immunol Today* 1996; 17: 303-304.
  21. Panayi GS. The pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. In *ACR, State of the Art. Syllabus*, San Diego 1998.
  22. Dougados M. Biological approach to Rheumatoid Arthritis treatment: Targeted interleukin-1 inhibition. *J Clin Rheumatol* 2001; 7: (suppl 3): s1-s2.
  23. Dayer JM. Regulation of IL-1/TNF, their natural inhibitors, and other cytokines in chronic inflammation. *Immunologist* 1997; 5: 192-201.
  24. Fox DA. Etiology and pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. In Koopman WJ. In *Arthritis and allied condition*, 14<sup>th</sup> Ed. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia 2001; 1085-1102.
  25. Bazzoni F., Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996; 334: 1717-1725.
  26. Hale LP., Haynes BF. Pathology of Rheumatoid Arthritis and associates disorders. In *Arthritis and allied condition*, 14<sup>th</sup> Ed. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia 2001; 1103-1127.
  27. Luster AD. Chemokines. Chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998; 338: 436-445.
  28. Gravalles EM. Bone destruction in Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II) : ii84-ii86.
  29. Gay S., Kuchen S., Gay RE., et al. Cartilage destruction in Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II); ii87-ii88.
  30. Liew FY., McInnes IB. Role of interleukin 15 and interleukin 18 in inflammatory response. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II); ii100-ii102.
  31. Taylor PC. Anti-tumor necrosis factor therapies. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13: 164-169.
  32. Kaplan G. TNF- $\alpha$  in Health and disease. In *ACR Review Course, Syllabus*. San Diego 1998.
  33. Kotake S., Udagawa N., Hakoda M., et al. Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1003-1012.
  34. Van Den Berg W. Cytokines in bone and cartilage destruction and repair. *J Clin Rheumatol* 2001; 7; (suppl): s8-s11.
  35. Goldring SR., Gravalles E: Pathogenesis of bone erosion in Rheumatoid Arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 195-199.
  36. Gravalles EM., Manning C., Tsay A., et al. Synovial tissue in Rheumatoid Arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 250-258.
  37. Goldring SR. Why joint space narrowing and bone erosions are different biologic processes. *Clinical Symposium Syllabus. ACR*. San Francisco 2001.
  38. Keystone EC. Current and future trends in the treatment of Rheumatoid Arthritis. *ACR Review course*. San Francisco. 2001.
  39. Arend WP. Mediators of Inflammation. Growth factor and cytokines. In Klippel JH., Crofford LH., Stone JH., Weyand CM. In *Primer on the Rheumatic diseases*. Arthritis Foundation, 12<sup>th</sup> Ed. Atlanta. 2001; 51-57.
  40. Goronzi JJ., Weyand CM. Rheumatoid Arthritis. Epidemiology, pathology and pathogenesis. In Klippel JH., Crofford LH., Stone JH., Weyand CM. In *Primer on the Rheumatic diseases*. Arthritis Foundation, 12<sup>th</sup> Ed. Atlanta. 2001; 208-217.
  41. Matteson EL. Rheumatoid Arthritis. Treatment. In *Primer on the Rheumatic diseases*. Arthritis Foundation, 12<sup>th</sup> Ed. Atlanta. 2001; 225-232.
  42. Breedveld F. New tumor necrosis factor-alpha biologic therapies for Rheumatoid Arthritis. *Eur Cytokine Netw* 1998; 9: 233-238.
  43. Matteson EL. Recent clinical trials in the rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 1997; 9: 95-101.
  44. Koetz B., Bryl E., Spickschen K., et al. T cell homeostasis in patients with Rheumatoid Arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9203-9208.
  45. Tsuda E., Goto M., Mochizuki S., et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblast that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 234: 137-142.
  46. Simonet WS., Lacey DL., Dunstan CR., et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89: 309-319.
  47. Kotate S., Udagawa N., Acoda M., et al. Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1003-1012.
  48. Whyte MP., Obrecht SE., Finnegan PM., et al. Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget, s disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 175-184.
  49. Wuyts W., Van Weesenmbeck L., Morales.Piga LA., et al. Evaluation of the role of RANK in Paget disease of Bone. *Bone* 2001; 28: 104-107.
  50. Krane SM. Genetic control of bone remodeling.- insight from a rare disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 210-212.
  51. Wagner EF., Karsenty G. Genetic control of skeletal development. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 527-532.
  52. Yasuda H., Shima N., Nakagawa N., et al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998; 139: 1329-1337.
  53. Arron JR., Choi Y. Bone versus immune system. *Nature* 2002; 408: 535-536.
  54. Holstead Jones D., Kong YY., Penninger JM. Role of RANK and RANKL in bone loss and arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II); ii32-ii39.

55. Recommendations for Rheumatoid Arthritis therapy: a blind spot for osteoporosis prevention and treatment. *J Rheumatol* 2002; 9: 108-117.
56. Van Staa TP., Leufkens HGM., Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced Osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporosis Int* 2002; 13: 777-787.
57. Miossec P. Are T cells in rheumatoid Synovium aggressors or Bystanders?. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 181-185.
58. Muller-Ladner U., Gay RE., Gay S. Activation of synoviocytes. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 186-194.
59. Corr M., Zvaifler NJ. Mesenchymal precursors Cells. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 3-5.
60. Boyden LM., Mao J., Belsky J., et al. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 2002; 346: 1513-1521.
61. Patel MS., Karsenty G. Regulation of bone formation and vision by LRP5. *N Engl J Med* 2002; 346: 1572-1573.
62. Firestein GS. Invasive fibroblasto-like synoviocyte in Rheumatoid Arthritis. Passive responders or transformed aggressors. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1781-1790.
63. Li TF., Mandelin J., Hukkanem M., et al. Dendritic cells in Rheumatid synovial membrane after total removal of the hyaline articular cartilage. *Rheumatology* 2002; 41: 319-323.
64. Dougados M. Biological approach to Rheumatoid Arthritis treatment: Targeted interleukin-1 inhibition. *J Clin Rheumatol* 2001; 7; (suppl): s1-s2.
65. Dayer JM. Role of proinflammatory cytokine inhibition in Rheumatoid Arthritis. *J Clin Rheumatol* 2001; 7; (suppl): s3-s7.
66. Bresnihan B., Alvaro-García JM., Cobby M., et al. Treatment of Rheumatoid Arthritis with recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. (Anakinra). *Arthritis Rheum* 1998; 41: 2196-2204.
67. Cunnane G., Madigan A., Murphy E., et al. The effects of treatment with interleukin-1 receptor antagonist on the inflamed synovial membrane in rheumatoid Arthritis. *Rheumatology* 2001; 40: 62-69.
68. Schiff MH. Role of interleukin1 and interleukin 1 receptor antagonist in the mediation of Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59; (suppl 1): i103.i108.
69. Dayer JM., Feige U., Edwards CK., et al. Anti-interleukin-1 therapy in rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13: 170-176.
70. Cohen S., Hurd E., Cush JJ. Treatment of Interleukin-1 receptor antagonist in combination with methotrexate in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 1999; 42: s273.
71. Dayer JM. Evidence for the biological modulation of IL-1 activity: the role of IL1.Ra. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20; (suppl 27): s14-20.
72. Van den Berg WM. Is there a rationale for combined TNF and IL-1 blocking in Arthritis?. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20; (suppl 27): s21-s25.
73. Cutolo M. Effects of DMARDs on IILRa levels in Rheumatoid Arthritis: is there any evidence?. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20; (suppl 27): s26-31.
74. Bresnihan B. Anakinra as a new therapeutic option in Rheumatoid Arthritis: clinical results and perspectives. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20; (suppl 27): s32-34.
75. Fleischman RM. Safety of anakinra, a recombinant interleukin-1 receptor antagonist, (r-metHuIL-1ra) in patients with rheumatoid arthritis and comparison to antiTNF alpha agents. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20; (suppl 27): s35-s41.
76. Bresnihan B. Clinical experience with interleukin-1 receptor antagonist in rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol* 2001; 7; (suppl): s12-s16.
77. Bresnihan B. Effects of ankinra on clinical and radiological outcomes in Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II); ii74-77.
78. Maini R., St Clair EW., Breedveld F., et al. Infliximab versus placebo in Rheumatoid Arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomized phase III trial. *Lancet* 1999; 354: 1932-1939.
79. Lipsky PE., Van Der Heide DMFM., et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1594-1602.
80. St Clair EW. Infliximab treatment for Rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (Suppl II); ii67-69.
81. Moreland LW., Baumgartner SW., Schiff MH., et al. Treatment of Rheumatoid Arthritis with a recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *N Engl J Med* 1997; 337: 141-147.
82. Moreland LW., Schiff MH., Baumgartner SW., et al. Etanercept therapy in Rheumatoid Arthritis.: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1999; 130: 478-486.
83. Weinblatt ME., Kremer JM., Bankhurst AD., et al. A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein, in patients with Rheumatoid Arthritis receiving methotrexate. *N Engl J Med* 1999; 340: 253-259.
84. Bathon J., Martin R., Fleischmann R., et al. A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1586-1593.
85. Feldmann M., Maini RM. Anti-TNF  $\alpha$  therapy of Rheumatoid Arthritis: what have we learned?. *Ann Rev Immunol* 2001; 19: 163-196.
86. Criscione LG., St.Clair W. Tumor necrosis  $\alpha$  antagonist for the treatment on the rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 204-211.
87. Matsuno H., Yudoh K., Katayama R., et al. The role of TNF alpha in the patogénesis of inflammation and joint destruction in Rheumatoid Arthritis: a study using a human RA/SCID mouse chimera. *Rheumatology* 2002; 41: 329-337.
88. Van de Pute LBA., Atkins C., Malaise M., et al. Adalimumab monotherapy in the treatment of patients with severely active Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46; (suppl 9): 467: s205.
89. Keystone E., Kavanaugh AF., Sharp J., et al. Adalimumab, a fully human anti-TNF alpha monoclonal antibody, inhibits the progression of structural joint damage in patients with active RA despite concomitant methotrexate therapy. *Arthritis Rheum* 2002; 46; (suppl 9): 468: s205.
90. Rau R. Adalimumab in the treatment of active Rheumatoid Arthritis: The initial results of five trials. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II); ii70-ii73.
91. Lovell DJ., Giannini EH., Reiff A., et al. Etanercept in children with polyarticular juvenile Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2000; 342: 763-769.
92. Koopman WJ., Moreland LW. Rheumatoid Arthritis: anticytokine therapies on the horizon. *Ann Intern Med* 1998; 128: 231-233.
93. Genovese MC., Bathon JM., Martin RW., et al. Etanercept versus methotrexate in patients with early Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1443-1450.

94. Ziolkowska M., Kurowska M., Radzikowska A., Et al. High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kB ligand in serum of Rheumatoid Arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor  $\alpha$  treatment. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1744-1753.
95. Redlich K., Hayer S., Maier A., et al. Tumor necrosis factor alpha-mediated joint destruction is inhibited by targeting osteoclasts with osteoprotegerin. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 785-792.
96. Edwards CK. Combination cytokine therapy in Rheumatoid Arthritis: The next generation. *J Clin Rheumatol* 2001; 7; (suppl): s17-24.
97. Nishimoto M., Kischimoto T., Yoshizaki K. Anti-interleukin-6 receptor antibody treatment in the rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2000; 59; (suppl): 121-127.
98. Graninger WB., Smolen JS. One-year inhibition of tumor necrosis factor-alpha: a major success or a larger puzzle?. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13: 209-213.
99. Robinson DR. Clinical therapeutics. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13: 157-158.
100. Taylor PC. Anti-tumor necrosis factor therapies. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13: 164-169.
101. Elliott JR., O, Dell J. Rheumatoid Arthritis. In *West S. Rheumatology secrets*. 2th Ed, Hanley & Belfus, Philadelphia 2002; 117-127.
102. Moreland LW., Alten R., Van den Bosch P., et al. Costimulatory blockade in patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1470-1479.
103. Verheijden GFM., Rijnders AWM., Bos E., et al. Human cartilage glycoprotein-39 as a candidate autoantigen in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1115-1125.
104. Staines NA. Oral tolerance and Collagen arthritis. *Br J Rheumatol* 1991; 30: 40-43.
105. Choy EHS., Scott DL., Kingsley GH., et al. Control of Rheumatoid Arthritis by oral tolerance. *Arthritis Rheum* 2001; 9: 1993-1997.
106. Cawston T. Matrix metalloproteinases and TIMPs: Properties and implications for the rheumatic diseases. *Molecular Medicine Today* 1998; 4: 130-137.
107. Stevens RM. New drug targets: Signal transduction and matrix metalloproteinases. In *ACR Clinical Symposium*. Philadelphia. Syllabus. 2000.
108. Kedersha NL., Gupta M., Li W., et al. RNA-binding protein TIA-1 and TIAR link the phosphorylation of eIF2 $\alpha$  to the assembly of mammalian stress granules. *J Cell Biol* 1999; 147: 1431-1436.
109. Anderson P. Regulation of TNF- $\alpha$  expression by mRNA binding proteins. In *ACR basic Science Symposium*. Philadelphia. Syllabus 2000.
110. Arend WP. Immune basis of new and future therapies for Rheumatoid Arthritis. in *ACR clinical Review Course*, Syllabus. Boston 1999.
111. Carson DA. Rheumatoid Arthritis: pathogenesis and future therapies. In *ACR Special lectures*. Syllabus, Boston 1999.
112. O, Shea JJ., Ma A., Lipsky P. Cytokines and autoimmunity. *Nature Review Immunology* 2002; 2: 37-45.
113. Barnes PJ., Karin M. Nuclear factor kB. A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336: 1066-1071.
114. Franz JK., Pap T., Hummel KM., et al. Expression of sentrin, a novel antiapoptotic molecule, at sites of synovial invasion in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 599-607.
115. Shedel J., Gay RE., Kuenzler P., et al. FLICE-Inhibitory protein expression in synovial fibroblast and at sites of cartilage and bone erosion in rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1512-1518.
116. Burt RK., Georganas C., Schroeder J., et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in refractory Rheumatoid Arthritis: sustained response in two of four patients. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 228-285.
117. Moore J., Brooks P., Milliken S., et al. A pilot randomized trial comparing CD34-selected versus unmanipulated hemopoietic stem cell transplantation for severe, refractory Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2301-2309.
118. Zhang Z., Bridges SL Jr. Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. Role of B lymphocytes. *Rheum Dis Clin North Am* 2001; 27: 335-353.
119. Kim HJ., Berck C. B Cells in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Res* 2000; 2: 126-131.
120. De Vita S., Zaja F., Sacco S., et al. Efficacy of selective B cell blockade in the treatment of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2029-2033.
121. Patel DD. B Cell-ablative therapy for the treatment of autoimmune diseases. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1984-1985.
122. Leandro MJ., Edwards JCW., Cambridge G. Clinical outcome in 22 patients with Rheumatoid Arthritis treated with B lymphocyte depletion. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 883-888.
123. Looney RJ. Treating human autoimmune diseases by depleting B cells. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 863-866.
124. Yoshimura S., Bondeson J., Foxwell BM., et al. Effective antigen presentation by dendritic cells is NF-kB dependent: Coordinate regulation of MHC, co-stimulatory molecules and cytokines. *Int Immunol* 2001; 13: 675-683.
125. Feldman M., Andreaskos E., Smith C., et al. is NF-kB a useful therapeutic target in Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: (suppl II) : ii13-ii18.
126. Bonnin D., Albani S. Mucosal modulation of immune responses to heat shock protein in autoimmune arthritis. *Biotherapy* 1998; 10: 213-215.
127. Van Eden W., Van Der Zee R., Van Kooten P., et al. Balancing the immune system: Th1 and Th2. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II): ii25-ii28.
128. Miller WH., Keenan RM., Willette RN., et al. Identification and in vivo efficacy of small-molecules antagonist of integrin  $\alpha$  V beta 3. *Drug Discov today* 2000; 5: 397-408.
129. Wilder RL. Integrin  $\alpha$  V beta 3 as a target for treatment of rheumatoid Arthritis and related rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II); ii96-ii99.
130. Von Adrian UH., Mackay CR. T-cell function and migration. Two sides of the same coin. *N Engl J Med* 2000; 343: 1020-1035.
131. Davidson A., Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001; 345: 340-350.
132. Ellis CN., Krueger GG. Treatment of chronic plaque psoriasis by selective targeting of memory effector T Lymphocytes. *N Engl J Med* 2001; 348: 248-255.
133. Granstein RD. New treatment for psoriasis. *N Engl J Med* 2001; 345: 284-287.
134. Schwartz RS. Diversity of the immune repertoire and Immunoregulation. *N Engl J Med* 2003; 348: 1017-1026.
135. Gottlieb A., Krueger JE., Bright R., et al. effects of administration of a single doses of a humanized monoclonal antibody

- to CD11a on the immunobiology and clinical activity of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 428-435.
136. Miller DH., Khan OA., Sheremata WA., et al. A controlled trial of Natalizumab for relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2003; 348: 15-23.
  137. Ghosh S., Goldin E., Gordon FH., et al. Natalizumab for active Crohn, s disease. *N Engl J Med* 2003; 348: 24-32.
  138. Von Adrian UH., Engelhardt B. Alpa 4 integrins as therapeutic targets in autoimmune disease. *N Engl J Med* 2003; 348: 68-72.
  139. Present DH., Rutgeerts P., Targan S., et al. Infliximab for the treatment of fistulas in patients with crohn, s disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1398-1405.
  140. Gorman JD., Sack KE., Davis JC Jr. Treatment of Ankylosing Spondylitis by inhibition of tumor necrosis factor  $\alpha$ . *N Engl J Med* 2002; 346: 1349-1358.
  141. Dayer JM., Krane SM. AntiTNF  $\alpha$  therapy for Ankylosing Spondylitis. A specific or nonspecific treatment. *N Engl J Med* 2002; 346: 1399-1400.
  142. Singhal S., Mehta J., Desikan R., et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 1999; 341: 1565-1571.
  143. Raje N., Anderson K. Thalidomide. A revival story. *N Engl J Med* 1999; 341: 1606-1608.
  144. Guzmán RA. Artritis Reumatoide. En Guías de Manejo. Saludcoop EPS. MD II., Salus Holos, Santa fe de Bogotá 2001; 89-92.
  145. Keystone EC. Rheumatoid Arthritis: Tumor necrosis factor-alpha blockade in the treatment of Rheumatoid Arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001; 27: 40-64.
  146. Keystone E. Treatment no longer in the development for Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II): ii43-ii45.
  147. Brown SL., Greene MH., Gershon SK., et al. TNF-alpha antagonist therapy and lymphoma development.: Twenty six cases reported for the FDA. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 3151-3158.
  148. Ridker PM., Henneken CH., Buring JE., et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular diseases in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836-843.
  149. Jacobson LTH., Turensosn C., Hanson RL., et al. Joint swelling as a predictor of death from cardiovascular diseases in a population study of pima indians. *Arthritis Rheum* 2000; 44: 1170-1176.
  150. Kiechl S., Lorenz E., Reindl M., et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N Engl J Med* 2002; 347: 185-192.
  151. Busso N., Hamilton JA. Extravascular coagulation and the plasminogen activator/plasmin system in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2268-2279.
  152. Blobel GC., Schieman WP., Lodish HF. Role of transforming growth factor B in human disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1350-1359.
  153. Heeschen C., Dimmeler S., Hamm CW., et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003; 348: 1104-1111.
  154. Freedman JE. CD40 ligand. Assessing risk instead of damage?. *N Engl J Med* 2003; 348: 1163-1165.a
  155. O, Dell JR. Anticytokine therapy. A New era in the treatment of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 1999; 340: 310-312.
  156. Kaufmann SHE. Protection against tuberculosis. Cytokines, T cells and macrophages. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II); ii54-ii58.
  157. Furst DE., Cush J., Kaufman S., et al. Preliminary guides for diagnosing and treating tuberculosis in patients with rheumatoid arthritis in immunosuppressive trials or being treated with biological agents. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II); ii62-63.
  158. Keane J., Gershon S., Pharm D., et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001; 345: 1098-1104.
  159. Gardam MA., Keystone EC., Menzies R., et al. Antitumor necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanism of action and clinical management. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 148-155.
  160. Warris A., Bjorneklet A., Gaustad P. Invasive pulmonary aspergillosis associated with infliximab therapy. *N Engl J Med* 2001; 344: 1099-1100.
  161. Lee JH., Slifman RR., Gershon SK., et al. Life-threatening Histoplasmosis complicating immunotherapy with TNF-alpha antagonist infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2565-2570.
  162. Slifman RR., Gershon SK., Lee JH., et al. Listeria Monocytogenes infection as a complication of treatment with TNF alpha neutralizing agent. *Arthritis Rheum* 2002; 48: 319-329.
  163. The lenercept multiple sclerosis study group and the university of british Columbia MS/MRI analysis group. TNF neutralization in MS.: results of a randomized, placebo-controlled multicenter study. *Neurology* 1999; 53: 457-465.
  164. Robinson WH., Genovese MC., Moreland LW. Demyelinating and neurologic events reported in association with tumor necrosis factor  $\alpha$  antagonism. *Arthritis Rheum* 2002; 44: 1977-1983.
  165. Liu J., Marino MW., Wong G., et al. TNF is a potent anti-inflammatory cytokine in autoimmune-mediated demyelination. *Nat Med* 1998; 4: 78-83.
  166. Cash JM., Klippel JH. Second-line drug therapy for Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 1994; 330: 1368-1375.
  167. Smolen J. Early Rheumatoid Arthritis. ACR. State of Art. Philadelphia. 2000.
  168. Anderson JJ., Wells G., Verhoeven AC., et al. Factors predicting response to treatment in Rheumatoid Arthritis.. The importance of disease duration. *Arthritis Rheum* 2000; 43(1): 22-29.
  169. Eberhardt K., Fex E. Clinical course and remission rate in patients with early Rheumatoid Arthritis: relationship to outcome after 5 years. *Br J Rheumatol* 1998; 37(12): 1324-1329.
  170. Sundry JS., St.Clair W. Early DMARD therapy for RA. *J Muskuloskel Med* 2002; 19: 395-406.
  171. Guzmán RA., Restrepo JF. Artritis Reumatoide Temprana. *Rev Colomb Reumatol* 2002; 9: 171-175.
  172. Huizinga TWJ., Machold KP., Breedveld F., et al. Criteria for early Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1155-1159.
  173. O, Dell JR. Rheumatoid Arthritis. The clinical picture. In Koopman WJ. Arthritis and allied condition. 14<sup>th</sup> Ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia 2001; 1153-1186.
  174. Lard LR., Visser H., Speyer I., et al. Early versus delayed treatment in patients with recent-onset Rheumatoid

- Arthritis: Comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med* 2001; 111: 446-451.
175. Mc Gonagle D., Conaghan PJ., O, Connors P., et al. The relationship between synovitis and bone changes in early untreated rheumatoid arthritis: a controlled magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1706-1711.
  176. Kraan MC., Verseendaal H., Janker M., et al. Asymptomatic synovitis precedes clinically manifest Arthritis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1481-1488.
  177. Moreland L., Bridges L.Jr. Early Rheumatoid Arthritis: A medical emergency?. *Am J Med* 2001; 111: 498-500.
  178. Tsakonas E., Fitzgerald AA., Fitzcharles MA., et al. Consequences of delayed therapy with second-line agents in Rheumatoid Arthritis: A 3 years follow-up on the hydroxychloroquine in early Rheumatoid Arthritis (HERA) study. *J Rheumatol* 2000; 27: 623-629.
  179. Kim J., Weisman M. When does Rheumatoid Arthritis begin and why do we need to know?. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 473-484.
  180. Visser H., Le Cessie S., Vos K., et al. How to diagnose Rheumatoid Arthritis early: The development of diagnostic criteria. *Arthritis Rheum* 2000; 43; (Suppl 9): s154.
  181. Emery P., Breedveld FC., Dougados M., et al. Early referral recommendation for newly diagnosed rheumatoid arthritis: Evidence based development of a clinical guide. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 290-297.
  182. Choi HK., Seeger JD., Kuntz KM. A Cost effectiveness of treatment options for patients with methotrexate-resistant Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2316-2327.
  183. Pisetsky DS., William St.Clair E. Progress in the treatment of Rheumatoid Arthritis. *JAMA* 2001; 286: 2787-2790.
  184. Weisman MH. Newly diagnosed rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 287-289.
  185. Weimblatt ME., Keystone EC., Furst DE., et al. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody for the treatment of Rheumatoid Arthritis in patients taking concomitant methotrexate, The ARMADA study. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 35-45.
  186. Lovell DJ., Giannini EH., Reiff A., et al. Long-term efficacy and safety of etanercept in children with polyarticular-course Juvenile Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 218-226.
  187. Firestein GS., Zvaifler NJ. Anticytokine therapy in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 1997; 337: 195-196.
  188. Pisetsky DS. Tumor necrosis factor blockers in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2000; 342: 810-811.
  189. Klippel JH. Biologic therapy for Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1640-1641.
  190. Cohen S., Hurd E., Cush J., et al. Treatment of Rheumatoid Arthritis with Anakinra, a recombinant human Interleukin-1 receptor antagonist, in combination with methotrexate. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 614-624.
  191. Strand V., Lassere M., Van Der Heide D., et al. Recent Rheumatoid Arthritis clinical trials using radiographic endpoints. Update research agenda. *J Rheumatol* 2001; 28: 887-889.
  192. Wright V. Quoted in: Smith T. Question on clinical trials. *Br Med J* 1983; 287: 569-571.
  193. Strand V., Sharp JT. Radiographic data from recent randomized controlled trials in Rheumatoid Arthritis. What have we learned?. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 21-34.
  194. Singri P., West DP., Gordon KB. Biologic Therapy for Psoriasis. *Arch Dermatol* 2002; 138: 657-663.
  195. Seifert M., Sterry W., Effenberger E., et al. The antipsoriatic activity of IL-10 is rather caused by effects on perispherical blood cells than by a direct effect on human keratinocytes. *Arch Dermatol Res* 2000; 292: 164-172.
  196. Adorini L., Trembleau S. Immune deviation toward Th2 inhibits Th1-mediated autoimmune Diabetes. *Biochem Soc Trans* 1997; 25: 625-629.
  197. Maini RN., Paulus H., Breedveld FC., et al. rHUIL-10 in subjects with active Rheumatoid Arthritis: a phase I and cytokine response study. *Arthritis Rheum* 1997; 40; suppl; s224. Abstract.
  198. Van de Bosch F., Russel A., Keystone EC., et al. RHUIL-4 in subjects with active Rheumatoid Arthritis: a phase I dose escalating safety study. *Arthritis Rheum* 1998; 41; suppl; s56. Abstract.
  199. Caballero CV., Chalem P., Londoño JD., Guzmán RA., et al. (Grupo de expertos de la ACR). Primer Consenso Colombiano sobre el tratamiento de la Artritis Reumatoide Temprana. *Rev Colomb Reumatol* 2002; 9: 323-331.
  200. Furst DE., Breedveld FC., Kalden JR., et al. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2002; 61; (suppl II): ii2-ii7.
  201. Caballero CV., Ramírez La., Guzmán RA., et al. Colombian guidelines for the treatment of Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; Book Abstract; EULAR 2003. ABO218. (scientific Abstract).