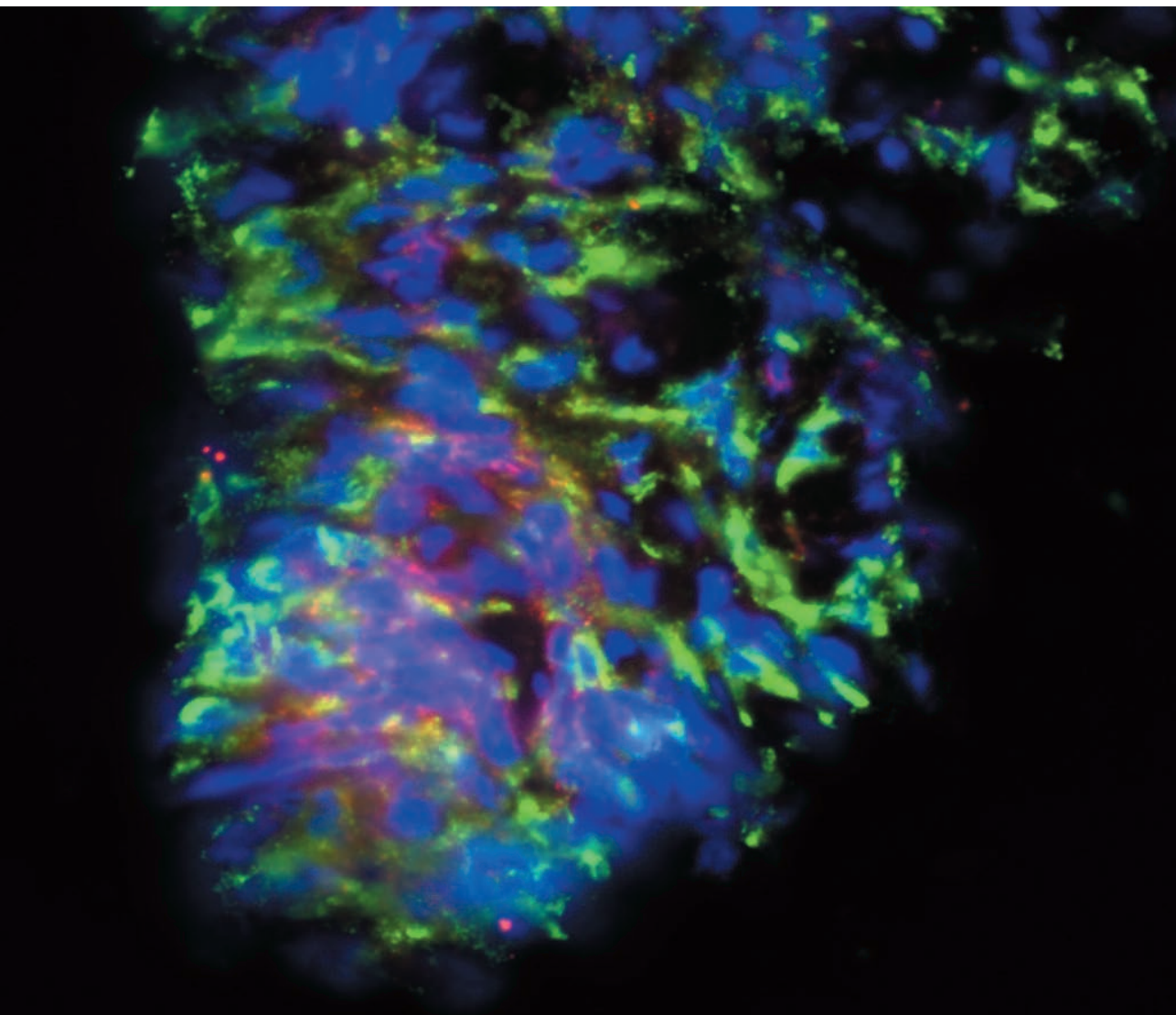


Prémio **Bêal** de Medicina Clínica 2008

Uma nova visão das doenças reumáticas inflamatórias: *um exemplo de interacção da biologia celular e molecular com a clínica*

JOÃO EURICO FONSECA, HELENA CANHÃO, MARIA JOSÉ SANTOS, ANA FILIPA MOURÃO, ELSA SOUSA,
JOANA CAETANO LOPES, RITA MOURA, PAMELA WEINMANN, JOSÉ ALBERTO PEREIRA DA SILVA,
JAIME BRANCO, MÁRIO VIANA QUEIROZ



João Eurico Fonseca, Helena Canhão, Maria José Santos, Ana Filipa Mourão, Elsa Sousa, Joana Caetano Lopes, Rita Moura, Pamela Weinmann, José Alberto Pereira da Silva, Jaime Branco, Mário Viana Queiroz

Uma nova visão das doenças
reumáticas inflamatórias:
*um exemplo de interacção da biologia
celular e molecular com a clinica*

O Livro "Uma nova visão das doenças reumáticas inflamatórias: um exemplo de interacção da biologia celular e molecular com a clínica" foi publicado em 1ª edição por Bial com uma tiragem 4650 exemplares.

Design Gráfico: 

Execução Gráfica: Eigal, Indústria Gráfica, SA

Depósito Legal N.º: 313 858/10

ISBN: 978-989-95520-8-1

© COPYRIGHT BIAL 2010. "Uma nova visão das doenças reumáticas inflamatórias: um exemplo de interacção da biologia celular e molecular com a clínica". Este trabalho está sujeito a Copyright. Todos os direitos estão reservados tanto no que diz respeito à totalidade como a qualquer das suas partes, especificamente os de tradução, reimpressão, transmissão por qualquer forma, reprodução por fotocopiadoras ou sistemas semelhantes e arquivo em sistemas de informática.

Biografia dos Autores

João Eurico Fonseca

Professor Auxiliar com agregação de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Director da Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Coordenador do Hospital de Dia e da Consulta de Artrite Reumatóide do Serviço de Reumatologia do Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte.

Relator do Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide (GEAR) da Sociedade Portuguesa de Reumatologia e Editor-Associado da Acta Reumatológica Portuguesa.

Helena Canhão

Professora Auxiliar de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Investigadora Principal na Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Reumatologista do Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte.

Membro da Direcção da Sociedade Portuguesa de Reumatologia e Editora-chefe da Acta Reumatológica Portuguesa.

Maria José Santos

Especialista em Reumatologia, responsável pelo Hospital de Dia e pela Consulta de Reumatologia Pediátrica do Hospital Garcia de Orta e em Almada.

Investigadora da Unidade de Investigação em Reumatologia do Instituto de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina de Lisboa.

Relatora do Grupo de Estudos de Doenças Reumáticas Sistémicas (GEDRESIS) da Sociedade Portuguesa de Reumatologia e Editora-Associada da Acta Reumatológica Portuguesa.

Ana Filipa Mourão

Assistente convidada da disciplina de Medicina I na Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

Interna de Reumatologia do Hospital de Egas Moniz.

Doutoranda no Programa de Doutoramento em Investigação Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa e investigadora na Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

Elsa Sousa

Assistente convidada de Bioquímica e de Reumatologia da Faculdade de Medicina de Lisboa.

Investigadora da Unidade de Investigação em Reumatologia do Instituto de Medicina Molecular.

Reumatologista do Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte.

Fellow do University of Glasgow/AMC-University of Amsterdam Inflammatory arthritis fellowship.

Joana Caetano-Lopes

Licenciada em Biologia em 2005, pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Estudante de doutoramento na Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Rita Moura

Licenciada em Biologia Microbiana e Genética em 2005, pela Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

Estudante de doutoramento na Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Pamela Weinmann

Licenciada em Biologia em 1993, pela Freie Universität Berlin, Alemanha. Doutoramento em 1997 no Max-Dellbrück-Centrum Berlin, Alemanha.

Investigadora na Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

José Alberto Pereira da Silva

Director do Serviço de Reumatologia do Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte.

Ex - presidente da Sociedade Portuguesa de Reumatologia.

Jaime Branco

Professor Associado com Agregação de Medicina/Reumatologia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade Nova de Lisboa (UNL).

Director do Serviço de Reumatologia do Centro Hospitalar Lisboa Ocidental (CHLO)/ EPE/ Hospital Egas Moniz.

Coordenador do Plano Nacional Contra Doenças Reumáticas. Ex - presidente da Sociedade Portuguesa de Reumatologia.

Investigador Principal do Centro de Estudos de Doenças Crónicas

(CEDOC) da FMC/UNL (Centro afiliado da Fundação da Ciência e Tecnologia - FCT). Pró-Reitor da UNL.

Mário Viana Queiroz

Professor Associado com agregação de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Ex - director do Serviço de Reumatologia do Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte. Ex - coordenador do Plano Nacional Contra Doenças Reumáticas. Ex - Presidente da Sociedade Portuguesa de Reumatologia.

Índice

Biografia dos Autores	3
Resumo	13
1. Introdução	19
2. Impacto epidemiológico das doenças reumáticas	23
2.1 Impacto epidemiológico das doenças reumáticas inflamatórias: o modelo da artrite reumatóide	27
3. Vias fisiopatológicas fundamentais reumáticas	33
3.1 Vias fisiológicas fundamentais das doenças reumáticas inflamatórias	35
3.2 Vias fisiopatológicas fundamentais da Artrite Reumatóide	35
3.3 Vias fisiopatológicas fundamentais das espondilartrites seronegativas: o exemplo da espondilite anquilosante	69
3.4 Vias fisiopatológicas fundamentais na artrite idiopática juvenil	71
3.5 Vias fisiopatológicas fundamentais no lúpus eritematoso sistêmico	72
3.6 Vias fisiopatológicas fundamentais nas vasculites	76
3.7 Vias fisiopatológicas fundamentais nas artrites microcristalinas	80
4. Impacto da biotecnologia nas novas estratégias terapêuticas	83
4.1 O modelo da Artrite Reumatóide	85
4.2 A realidade nas espondilartrites seronegativas, artrite idiopática juvenil, lúpus eritematoso sistêmico, vasculites e artrites microcristalinas	99
5. Novas exigências na organização dos cuidados de saúde	107
6. Conclusões	119
7. Referências	123

Resumo

Este trabalho visa documentar a extraordinária progressão do conhecimento científico no campo das doenças reumáticas inflamatórias e como a investigação médica de translação conseguiu traduzir os novos conceitos numa visão revolucionária destas doenças, condicionando de forma dramática o sucesso da terapêutica. Estes progressos influenciaram, indirectamente, a estratégia de seguimento e monitorização destas doenças e, em última análise, a própria organização dos cuidados de saúde dirigida aos doentes reumáticos.

As doenças reumáticas constituem o grupo de patologias crónicas com maior impacto na prática da clínica geral, nos países mais desenvolvidos: são as doenças mais frequentes, são o principal motivo de consulta médica e são a principal causa de incapacidade temporária e definitiva para o trabalho. As doenças reumáticas inflamatórias constituem o subgrupo das doenças reumáticas crónicas que compreendem a maioria dos doentes regularmente seguidos nos Serviços de Reumatologia e contribuem decisivamente para o impacto social das doenças reumáticas. A capacidade de alterar de forma inequívoca o curso das doenças reumáticas inflamatórias foi, até muito recentemente, limitado e, na prática, os doentes progrediam inexoravelmente para a incapacidade. Esta situação devia-se ao desconhecimento da etiopatogenia destas doenças e à falta de investimento na procura de novas soluções terapêuticas. Por outro lado, a inexistência de uma verdadeira capacidade de influenciar a história natural da doença condicionava também a atitude médica, centrada na noção de que era preciso gerir uma patologia crónica e não no controlo rápido de uma situação potencialmente aguda que urgia limitar e evitar que se gerassem mecanismos de perpetuação. O esclarecimento das principais vias fisiopatológicas destas doenças e o desenvolvimento de terapêuticas dirigidas contra alvos específicos elevaram a capacidade de controlar estas doenças a um patamar nunca antes imaginado e posicionaram o objectivo terapêutico na remissão.

A evolução dos conceitos médicos que aqui relatamos, e na qual inserimos as contribuições do nosso grupo, inicia-se com a caracterização dos mecanismos celulares e moleculares fundamentais para a compreensão das doenças reumáticas inflamatórias. Detalhamos, depois, como estes potenciais alvos críticos foram explorados e qual a mais-valia dos fármacos biotecnológicos desenvolvidos. Por fim, salientamos como estes progressos afectaram a nossa concepção clínica sobre estas doenças e como obrigaram os reumatologistas a redefinir os paradigmas de diagnóstico, tratamento e monitorização destes doentes. Relatamos como promovemos a avaliação rigorosa da eficácia e toxicidade dos fármacos biotecnológicos, a elaboração de recomendações nacionais para a utilização destas terapêuticas, a publicação de procedimentos médicos protocolados, o desenvolvimento de bases de dados que permitem actualmente o registo electrónico rigoroso a nível local e nacional, a indexação de uma revista de Reumatologia na *Medline/Pubmed* e na *Thomson Science Citation Index* e a criação de um Biobanco Nacional de Reumatologia.

Consideramos que este esforço global contribuirá decisivamente para uma melhor utilização dos recursos terapêuticos, para uma melhoria da prática médica e lançará as bases de uma investigação clínica baseada em grandes séries de doentes que poderá redefinir novas indicações terapêuticas e facilitar a investigação de translação.

Pensamos que este trabalho constitui um excelente paradigma da progressão do conhecimento e da prática médica de forma integrada, demonstrando como o investimento no conhecimento dos mecanismos de doença pode directa e indirectamente condicionar uma revolução na abordagem diagnóstica e terapêutica das doenças. Adicionalmente, este documento sugere um modelo de desenvolvimento de uma área médica, integrado na realidade do nosso país, que julgamos poder ser aplicável a outros campos do conhecimento médico para além da Reumatologia. Por fim, consideramos que os resultados aqui expostos provam que é

possível, em Portugal, o desenvolvimento de Centros Médicos Académicos que integram a investigação biomédica de translação e a investigação clínica, actuando como elementos catalíticos da melhoria da prestação dos cuidados de saúde.

1. Introdução

Este trabalho visa documentar a extraordinária progressão do conhecimento científico no campo das doenças reumáticas inflamatórias e como a investigação médica de translação conseguiu traduzir os novos conceitos numa visão revolucionária destas doenças, condicionando de forma dramática o sucesso da terapêutica. Estes progressos influenciaram, indirectamente, a estratégia de seguimento e monitorização destas doenças e, em última análise, a própria organização dos cuidados de saúde dirigida aos doentes reumáticos.

A complexa malha de contributos que gerou este enorme impacto da biotecnologia nesta área médica constituiu um esforço nacional e internacional. Neste trabalho são referidos os contributos internacionais, integrados com as contribuições originais que desenvolvemos nos últimos 15 anos.

A investigação médica é multidisciplinar e esta sempre foi a nossa visão. A integração da prática clínica, da investigação clínica e da investigação laboratorial pela mesma equipa é um desiderato difícil, mas que julgamos ter atingido num processo de evolução natural, para o qual foi fundamental a formação do *campus* que integra o Instituto de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa e o Hospital de Santa Maria.

As doenças reumáticas constituem o grupo de patologias crónicas com maior impacto na prática da clínica geral, nos países mais desenvolvidos: são as doenças mais frequentes, são o principal motivo de consulta médica e são a principal causa de incapacidade temporária e definitiva para o trabalho.

As doenças reumáticas inflamatórias constituem o subgrupo das doenças reumáticas crónicas que compreendem a maioria dos doentes regularmente seguidos nos Serviços de Reumatologia e contribuem decisivamente para o impacto social das doenças reumáticas. A capacidade de alterar de forma inequívoca o curso das doenças reumáticas inflamatórias foi, até muito recentemente, limitado e, na prática, os doentes progrediam inexoravelmente

para a incapacidade. Esta situação devia-se ao desconhecimento da etiopatogenia destas doenças e à falta de investimento na procura de novas soluções terapêuticas. Por outro lado, a inexistência de uma verdadeira capacidade de influenciar a história natural da doença condicionava também a atitude médica, centrada na noção de que era preciso gerir uma patologia crónica e não no controlo rápido de uma situação potencialmente aguda que urgia limitar e evitar que se gerassem mecanismos de perpetuação.

A evolução dos conceitos médicos que aqui relatamos inicia-se com a caracterização dos mecanismos celulares e moleculares fundamentais para a compreensão das doenças reumáticas inflamatórias, para a qual contribuímos pessoalmente. Como iremos descrever, estas patologias, ainda que clinicamente heterogêneas, partilham vias fundamentais comuns. Detalhamos, depois, como estes potenciais alvos críticos foram explorados e qual a mais-valia dos fármacos biotecnológicos desenvolvidos. Por fim, salientamos como estes progressos afectaram a nossa concepção clínica sobre estas doenças e como obrigaram os reumatologistas a redefinir os paradigmas de diagnóstico, tratamento e monitorização destes doentes. Relatamos como promovemos a avaliação rigorosa da eficácia e toxicidade dos fármacos biotecnológicos, a elaboração de recomendações nacionais para a utilização destas terapêuticas, a publicação de procedimentos médicos protocolados e coordenámos o desenvolvimento de bases de dados que permitem actualmente o registo electrónico rigoroso a nível local e nacional.

2. Impacto epidemiológico das doenças reumáticas

As doenças reumáticas têm um grande impacto na saúde global das populações e também na organização dos serviços de saúde e no apoio social em cada país. É por esse motivo que a Organização Mundial de Saúde lançou a Década do Osso e da Articulação em Janeiro de 2000 e a União Europeia promoveu um relatório sobre as doenças reumáticas e as suas consequências nos sistemas de saúde europeus e em cuja elaboração participámos activamente.¹ Na elaboração deste relatório europeu foi realizado um enorme esforço de compilação de dados dispersos em toda a Europa, que mostraram, de forma consistente, que as doenças reumáticas são as doenças crónicas mais frequentes (40 a 50% das doenças crónicas), as principais causadoras de incapacidade temporária de longa duração (cerca de 50% do tempo de incapacidade) e de curta duração (cerca de 25% do tempo de incapacidade), a principal causa de consulta médica (cerca de 20% das consultas) e a segunda causa de prescrição de fármacos (cerca de 25%).^{1,2} A prevalência das doenças reumáticas na população adulta varia, nos diversos estudos publicados, entre 10 a 40%, sendo a heterogeneidade dos resultados explicável por diferenças metodológicas, genéticas e culturais^{1,3}. Uma proporção significativa destes doentes corresponde a síndromes dolorosas crónicas como as cervicalgias (a prevalência de indivíduos com episódios de cervicalgia recorrentes é de cerca de 10 a 15%), lombalgias (prevalência de indivíduos com episódios de lombalgia recorrentes entre 58 a 84%) e fibromialgia (2 a 4% da população).¹ A estas situações devem ser adicionadas duas patologias com prevalência muito elevada, particularmente entre os indivíduos mais idosos: a osteoartrose (a prevalência de gonartrose, coxartrose e artrose das mãos com critérios clínicos e radiológicos na população adulta é de cerca de 5 a 10%) e a osteoporose (a prevalência de deformações vertebrais compatíveis com fracturas osteoporóticas em mulheres com mais de 50 anos é de cerca de 20%).¹ Embora as doenças referidas até agora sejam as mais frequentes, o grupo das doenças reumáticas inflamatórias

é aquele que mais impacto tem sobre a capacidade funcional, morbidade e mortalidade dos doentes reumáticos.⁴ As doenças reumáticas inflamatórias têm uma prevalência de cerca de 2% e uma incidência anual de cerca de 100/100 000 no adulto^{1,3,5} e englobam um conjunto heterogéneo de patologias inflamatórias imuno-mediadas que têm em comum o atingimento preferencial das estruturas articulares periféricas e/ou axiais. Neste conjunto de doenças englobam-se as doenças difusas do tecido conjuntivo (artrite reumatóide (AR), lúpus eritematoso sistémico (LES), síndrome de Sjögren (SS), dermatomiosite e esclerodermia), as espondilartrites seronegativas (espondilite anquilosante (EA), artrite psoriática (AP), artrite reactiva, artrite associada às doenças inflamatórias intestinais e espondilartrite indiferenciada), as artrites induzidas pela deposição de cristais (gota e artrite por deposição de cristais de pirofosfato de cálcio), a polimialgia reumática e as vasculites (um conjunto heterogéneo de doenças onde se destaca pela sua prevalência a arterite temporal e a doença de Behçet). As doenças reumáticas inflamatórias com maior prevalência são a artrite reumatóide (cerca de 0,5%), as espondilartrites seronegativas (cerca de 0,5%) e as artrites induzidas pela deposição de cristais (cerca de 0,5%).^{1,3} A este conjunto de doenças deve-se acrescentar ainda as doenças reumáticas inflamatórias com início na idade infantil com especial destaque para a artrite idiopática juvenil (AIJ) que apresenta uma prevalência na população com menos de 16 anos de cerca de 100/100 000 e uma incidência anual na população com menos de 16 anos de cerca de 10/100 000¹. No contexto da prática médica hospitalar da Reumatologia, concretamente na nossa experiência do Hospital de Santa Maria (HSM), a percentagem relativa das doenças inflamatórias articulares é obviamente muito maior e consiste na maior parte da actividade clínica. Neste contexto e de acordo com a nossa avaliação efectuada em 9943 doentes da consulta externa de Reumatologia do HSM, a artrite reumatóide corresponde a 9,8% dos doentes, as restantes doenças difusas do tecido conjuntivo a 7,0%,

as espondilartrites seronegativas a 6,7%, as artrites microcristalinas a 3,2%, as vasculites a 2,8% (doença de Behçet 0,8%) e a artrite idiopática juvenil a 1,6%.⁶

2.1 Impacto epidemiológico das doenças reumáticas inflamatórias: o modelo da artrite reumatóide

Pela sua relevância epidemiológica, a AR tem constituído um modelo para a avaliação do impacto das doenças reumáticas inflamatórias sobre a capacidade funcional e a saúde geral dos indivíduos afectados por este tipo de doenças. Para uma melhor compreensão do problema a nível nacional é relevante ter um conhecimento desta doença no contexto da realidade portuguesa. Embora em Portugal os dados sejam escassos, a informação mais fidedigna baseia-se num estudo epidemiológico que envolveu a observação directa por reumatologistas, incluindo alguns elementos desta equipa, dos indivíduos que apresentavam sintomas reumáticos e que determinou uma prevalência da AR de 0,36% no distrito de Setúbal.⁷ Baseado numa série de 964 doentes com AR seguidos no HSM determinámos adicionalmente uma idade média de início da doença de 46 anos, sendo 80% dos doentes do sexo feminino.⁸ Estes dados são semelhantes aos resultados obtidos noutros países do sul da Europa, existindo alguma evidência a favor de um gradiente decrescente Norte-Sul de prevalência da AR, como atestam as prevalências de 0,6% e 1% (respectivamente homem e mulher) na Finlândia⁹, de 0,32 e 0,86% em França¹⁰, de 0,13 e 0,51% na Itália¹¹ e de 0,2 e 0,48% na Grécia.¹² Este gradiente decrescente geográfico parece repetir-se também no curso clínico da AR. Com efeito, como verificámos na mesma série de 964 doentes portugueses, existia uma melhor capacidade funcional, menos erosões, menor frequência do factor reumatóide, menos manifestações sistémicas¹³ e menos amiloidose secundária¹⁴ do que noutros países do norte da Europa e da América do Norte. Quando se comparam séries de doentes

com AR utilizam-se habitualmente como parâmetros principais para validação da comparação a existência de uma idade média dos doentes e uma duração média da doença comparáveis. No entanto, tal como demonstrámos, esta avaliação da comparabilidade de duas populações de doentes com AR deve incluir uma proporção equivalente de doentes com mais de 60 anos e mais de 20 anos de doença, o subgrupo onde o impacto funcional da doença é maior.¹⁵ Outro aspecto relevante na comparação de séries de doentes é o tipo de tecnologia de determinação de factores reumatóides (FR), o qual deve ter uma razoável comparabilidade de sensibilidade e especificidade, como demonstrámos para os métodos convencionais de aglutinação, ELISA e ensaio multiplex (Quadro 1).¹⁶

	Sensitivity	Specificity
Rheumatoid factor		
FIDIS Rheuma human	73.9%	92.1%
FIDIS Rheuma animal	49.2%	97.2%
RA test	66.4%	97.2%
Waalser-Rose	55.9%	96.3%
ELISA human IgG	93.2%	95.5%
ELISA animal IgG	74.6%	91.3%
CCP-ELISA	72.3%	97.2%
Keratin-IIF	36.6%	100%

Quadro 1. Sensibilidade e especificidade de vários testes de detecção de factor reumatóide, anticorpos anti-péptidos cíclicos citrulinados (CCP) e imunofluorescência para queratina.

Retirado de Abreu I, Laroche P, Bastos A, Issert V, Cruz M, Nero P, Fonseca JE, Branco J, Machado Caetano JA. Multiplexed immunoassay for detection of rheumatoid factors by FIDISTM technology. *Ann NY Acad Sci* 2005; 1050:357-63.

Trabalhos tecnicamente comparáveis oriundos de países do Sul da Europa, bacia Mediterrânica e América do Sul^{17,18,19,20,21,22} confirmam a visão de que a AR é menos grave nestas regiões geográficas. Os motivos para estas discrepâncias geográficas não estão completamente esclarecidos, mas factores genéticos,

ambientais e/ou dietéticos poderão estar envolvidos. Embora os aspectos ambientais e dietéticos sejam difíceis de avaliar, a determinação da susceptibilidade genética à AR tem sido efectuada de forma comparativa e, de facto, parece existir, tal como demonstrámos, uma menor associação ao antigénio HLA-DR4²³ nos doentes portugueses com AR e também noutros países da bacia mediterrânica^{24,25,26} por comparação com a Europa do Norte. Mais recentemente, tivemos oportunidade de definir com maior rigor a susceptibilidade genética da população portuguesa à AR, determinando que esta susceptibilidade é conferida pelo HLADRB1*04, típico das populações do Norte da Europa e também pelo HLADRB1*10 (Quadro 2), encontrado essencialmente em populações mediterrânicas.²⁷

Genotype	RA number (%) n = 141	Control number (%) n = 150	Odds ratio (95% CI)	p Value
DRB1*0101/02	38 (14.9)	30 (11.3)	1.48 (0.9 to 2.6)	NS
DRB1*04	63 (25.2)	26 (9.7)		
*0401	24 (8.9)	4 (1.3)	7.5 (2.5 to 22.2)	<0.001
*0402	7 (2.5)	5 (1.7)		NS
*0403	4 (1.4)	2 (0.7)		NS
*0404	14 (5.0)	5 (1.7)	3.2 (1.1 to 9.1)	0.03
*0405	18 (6.4)	10 (3.3)		NS
*0406	0	1 (0.3)		NS
*0407	0	1 (0.3)		NS
*0408	2 (0.7)	0		NS
*0409	1 (0.3)	1 (0.3)		NS
DRB1*0401/4/5/8/9	56 (21.3)	18 (6.7)	4.8 (2.7 to 8.8)	<0.001
DRB1*0402/3/6/7	7 (3.9)	8 (3, 0)		NS
DRB1*1001	17 (6.0)	7 (2.3)	2.8 (1.1 to 7.0)	0.031

OR, odds ratio; RA, rheumatoid arthritis.

Quadro 2. Distribuição da frequência dos alelos HLA DRB1*04 e do epitopo compartilhado (HLA DRB1*0101/2, *0401/4/5/8/9, *1001) em doentes portugueses com artrite reumatóide e controlos.

Retirado de Ligeiro D, Fonseca JE, Abade O, Abreu I, Cruz M, Nero P, Cavaleiro J, Teles J, Trindade H, Caetano JM, Branco J. Influence of human leukocyte antigen-DRB1 on the susceptibility to rheumatoid arthritis and on the production of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in a Portuguese population. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 246-8.

Ambos os alelos estavam associados aos anticorpos anti-péptidos cíclicos citrulinados, reforçando que ambos são relevantes na gênese da doença (Quadro 3).²⁷

	Anti-CCP < 50 UI number (%), n = 40	Anti-CCP ≥ 50 UI number (%), n = 93	Odds ratio (95% CI)
DRB1*0101/02	13 (20.0)	23 (12.9)	0.7 (0.3 to 1.5)
DRB1*04	9 (11.3)	50 (31.2)	
*0401	2 (2.5)	21 (11.8)	5.5 (1.2 to 24.9)
*0402	2 (2.5)	4 (2.2)	
*0403	0	4 (2.2)	
*0404	3 (3.8)	10 (5.4)	
*0405	2 (2.5)	15 (8.1)	
*0406	0	0	
*0407	0	0	
*0408	0	2 (1.1)	
*0409	0	1 (0.5)	
DRB1*0401/4/5/8/9		45 (26.9)	4.4 (1.8 to 11.0)
DRB1*0402/03/06/07	2 (2.5)	5 (4.3)	
DRB1*1001	0	15 (16.1)	15.9 (1.4 to 82.7)

Quadro 3. Associação dos alelos HLA DRB1 em doentes portugueses com artrite reumatóide aos anticorpos anti-péptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP). Retirado de Ligeiro D, Fonseca JE, Abade O, Abreu I, Cruz M, Nero P, Cavaleiro J, Teles J, Trindade H, Caetano JM, Branco J. Influence of human leukocyte antigen-DRB1 on the susceptibility to rheumatoid arthritis and on the production of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in a Portuguese population. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 246-8.

Apesar desta aparente menor gravidade relativa, a AR é uma causa muito importante de incapacidade laboral e de mobilização dos recursos de saúde, tendo um forte impacto socio-económico em Portugal. Com efeito, verificámos que 42,2% dos doentes foram reformados por invalidez atribuível à AR, $11,5 \pm 9,9$ anos após o início da doença (Quadro 4).

Situação Laboral	Antes início AR (%)	Momento actual (%)
Tempo Inteiro	71,8	19,7
Reformado por limite idade	8,4	18,3
Reformado invalidez, atribuível à AR	0	42,2
Incapacidade temporária	0	8,4
Desempregado	4	2,8
Outras situações	15,8	8,6

Quadro 4. Situação laboral em doentes portugueses com artrite reumatóide antes do início da doença e $11,5 \pm 9,9$ anos após o início da doença.

Retirado de Duarte J, André M, Fonseca JE, Canhão H, Resende C, Castelão W, Pereira da Silva JA, Viana Queiroz M. Estudo transversal da artrite reumatóide: características clínicas, comorbilidade e impacto socio-económico. *Jornal do CIAR* 2002; 12: 54-7.

Estes dados são comparáveis aos cerca de 50% de doentes incapacitados para trabalhar, ao fim de 10 anos, descrito em vários trabalhos anglo-saxónicos.^{30,31,32} A repercussão da AR sobre o indivíduo e sobre a sociedade faz-se sentir, também, através da comorbilidade e mortalidade, que são mais elevadas do que na população geral, podendo afirmar-se que os doentes com AR têm as mesmas doenças e as mesmas causas de morte, só que mais precocemente.⁴ De facto, a patologia cardiovascular é a principal causa de comorbilidade e mortalidade nos doentes com AR (cerca de 40%³³ a 50%³⁴ das causas de morte), seguindo-se as doenças infecciosas, pulmonares, gastrointestinais e oncológicas (nomeadamente neoplasias linfoproliferativas).³⁵ Verificámos que as doenças cardiovasculares são também a principal causa de morbilidade (33,8%)²⁹ e mortalidade (29,4%)³⁶ nos doentes portugueses com AR.

Embora os custos indirectos relacionados com uma reforma precoce e maior dependência do sistema de segurança social sejam difíceis de avaliar é possível efectuar uma estimativa dos custos reais para o doente. Os custos globais anuais médios para o tratamento de um doente com AR em Portugal, em 1999, eram de 4373 euros, sendo este valor significativamente maior para os doentes com pior estado funcional.³⁷ Curiosamente, uma nova

avaliação destes custos em 2004 revelou custos globais médios inferiores (2999 euros).³⁸ Este facto pode reflectir a diminuição global dos indivíduos com doença mais activa e pior estado funcional, após a introdução das terapêuticas biotecnológicas no final da década de 1990 nas formas mais graves da doença, conforme é sugerido pela diminuição que documentámos nos internamentos destes doentes, no período compreendido entre 1999 e 2003.³⁹

3. Vias fisiopatológicas fundamentais das doenças reumáticas

3.1 Vias fisiológicas fundamentais das doenças reumáticas inflamatórias

As doenças reumáticas inflamatórias são um conjunto heterogéneo de doenças que comungam parcialmente algumas vias fisiopatológicas. Globalmente dependem de mecanismos inflamatórios imuno-mediados que são influenciáveis de forma semelhante por fármacos imunomoduladores. Para uma melhor compreensão do problema revemos as vias fisiopatológicas das principais doenças inflamatórias articulares, desenvolvendo mais a fisiopatologia da AR, que constitui um campo de exploração mais activo, em que os novos conhecimentos são frequentemente testados e aplicados numa segunda fase nas outras doenças reumáticas inflamatórias. Revemos também brevemente a fisiopatologia da espondilite anquilosante (como modelo das espondilartrites), artrite idiopática juvenil, lúpus eritematoso sistémico (como modelo das doenças difusas do tecido conjuntivo), vasculites e artrites microcristalinas.

3.2 Vias fisiopatológicas fundamentais da Artrite Reumatóide

A etiologia da AR é ainda desconhecida. No entanto, as vias fisiopatológicas que conduzem a um estado inflamatório crónico e sustentado encontram-se bem caracterizadas. O estudo da membrana sinovial contribuiu decisivamente para o conhecimento da fisiopatologia da AR e o nosso grupo deu uma importante contribuição. A avaliação histológica da membrana sinovial reumatóide, conjugada com a análise de modelos animais e com experimentação *in vitro* envolvendo as principais células do sistema imunitário sugere um papel crucial para os neutrófilos, linfócitos T e B na fisiopatologia da AR, em cooperação com os macrófagos, osteoclastos e fibroblastos, num processo caracterizado por uma perturbação funcional imunológica, proliferação e recrutamento celular e falência dos mecanismos de apoptose.⁴⁰

Histologia da membrana sinovial normal e reumatóide

A sinóvia é um tecido conjuntivo que reveste a cápsula articular, formando uma interface com o líquido sinovial. É geralmente subdividida histologicamente numa camada designada por íntima, com 20-40 µm de espessura e por outra conhecida por subíntima, que pode atingir 5 mm de espessura.⁴¹ A íntima, em contacto directo com o líquido sinovial, é composta por um conjunto de células que se distribuem de forma irregular, numa ou duas camadas, formando uma orla celular de revestimento.⁴¹ Estas células de revestimento são classificadas em dois tipos principais: sinoviócitos tipo A, derivados dos monócitos, funcionando como um tipo de macrófago; sinoviócitos tipo B, derivados das células mesenquimatosas, com características de fibroblasto.⁴¹ A maioria dos sinoviócitos (80%) é do tipo B, distribuindo-se preferencialmente nas zonas mais profundas da íntima.⁴¹ Embora em microscopia óptica convencional estas células sejam dificilmente distinguíveis, as suas diferenças são bem evidentes do ponto de vista ultra-estrutural.⁴² No entanto, no tecido inflamado existe maior sobreposição das características ultra-estruturais destes dois tipos de células, dificultando a sua correcta identificação.⁴³ Por este motivo, os sinoviócitos tipo A e B são actualmente identificados recorrendo a métodos histoquímicos ou imunohistoquímicos, que permitem detectar características peculiares destas células. O sinoviócito tipo B pode ser reconhecido pela actividade da enzima *uridine diphospho-glucose dehydrogenase* (UDGD)⁴⁴ ou pela presença do *complement decay-accelerating factor* (DAF, CD55, reconhecido pelo anticorpo monoclonal mab 67),⁴⁵ do *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1)⁴⁶, do *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1)⁴⁷ ou do CD44 (principal receptor do ácido hialurónico).⁴⁸ Os sinoviócitos tipo A, por seu lado, têm grande actividade da *nonspecific esterase* (NSE) e expressam os receptores FcγRIIIa (CD16), CD14 e CD68.^{49,50,51} No entanto, alguns sinoviócitos tipo B mais superficiais também podem expressar o CD68, o que

por vezes dificulta a correcta identificação destas células. Este é um problema fundamental para a correcta caracterização da membrana sinovial inflamada porque nestas condições um número ainda maior de sinoviócitos tipo B expressa CD68, dificultando a correcta interpretação das imagens. Contribuímos para a resolução deste problema ao termos caracterizado o CD163 (um *scavenger receptor*) como um marcador mais específico, embora um pouco menos sensível, de macrófagos terminalmente diferenciados nos gânglios linfáticos e na membrana sinovial normal e reumatóide, utilizando técnicas de imunohistoquímica e imunofluorescência indirecta (Figuras 1 e 2).⁵²

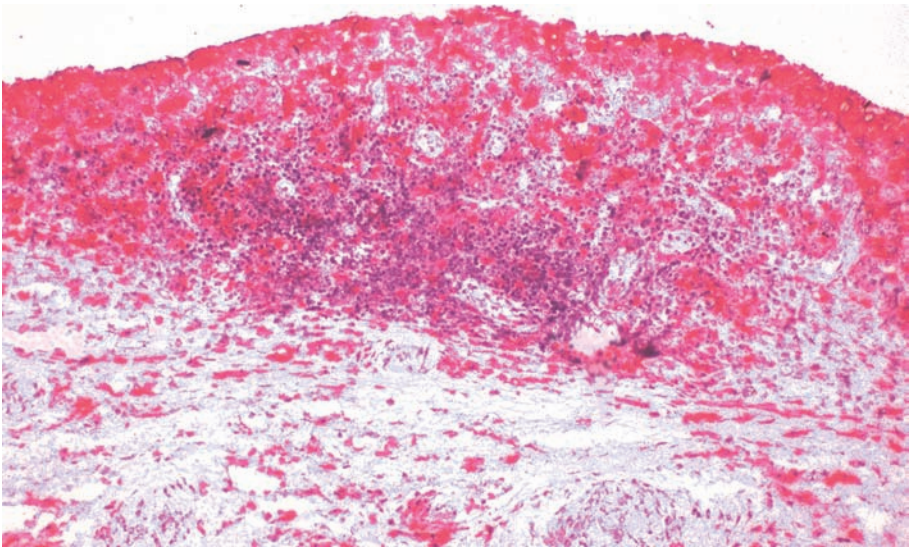


Figura 1. Marcação com anti-CD68 na membrana sinovial reumatóide. Método fosfatase alcalina-anti fosfatase alcalina, contrastado com hematoxilina (ampliação 200x).

Retirado de Fonseca JE, Edwards JCW, Blades S, Golding N. Macrophage subpopulations in rheumatoid synovium: reduced CD163 expression in CD4 positive T lymphocyte-rich microenvironments. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1210-6.

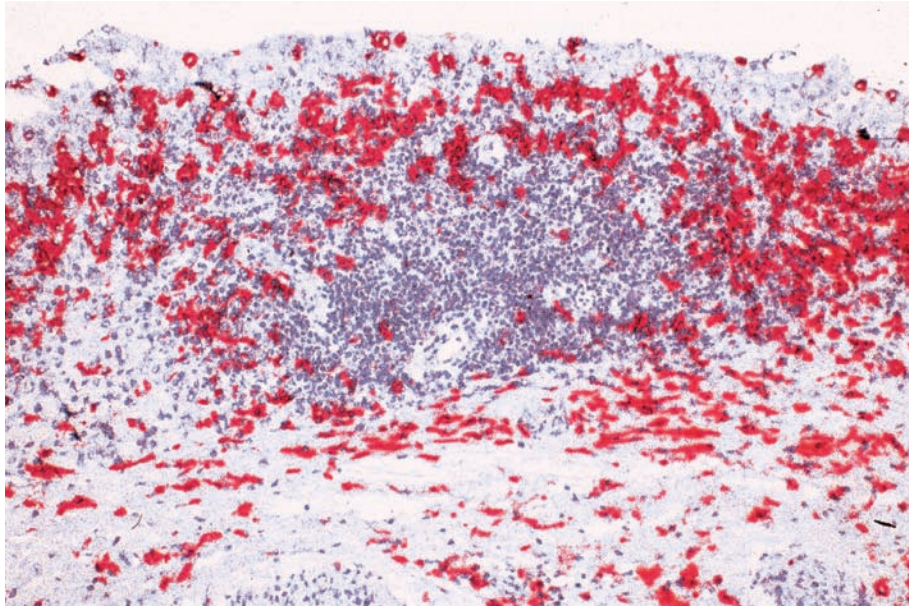


Figura 2. Marcação com anti-CD163 na membrana sinovial reumatóide (corte seriado com o da Figura 1). Método fosfatase alcalina- anti fosfatase alcalina, contrastado com hematoxilina (ampliação 200x).

Retirado de Fonseca JE, Edwards JCW, Blades S, Golding N. Macrophage subpopulations in rheumatoid synovium: reduced CD163 expression in CD4 positive T lymphocyte-rich microenvironments. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1210-6.

Para além destes elementos celulares preponderantes, são identificáveis na subíntima fibroblastos, macrófagos, mastócitos e linfócitos. A matriz extra-celular contém ácido hialurónico, colagénios III, IV, V e VI, laminina, fibronectina e condroitino-sulfato.⁴³ A vascularização exhibe uma rede de capilares próxima da íntima (alguns capilares estão presentes entre as células da íntima), sendo possível distinguir vénulas e arteríolas a cerca de 100µm de distância da íntima.⁴³ A inervação só é visualizável recorrendo a imunohistoquímica. Efectuámos a primeira avaliação extensa da inervação normal da membrana sinovial em modelo animal utilizando marcadores gerais do nervo (PGP 9.5, sinaptofisina, neurofilamentos

e contra células de Schwann -S100) e marcadores específicos da inervação sensitiva (SP e CGRP) e simpática (neuropéptido tirosina-NPY, o seu péptido C terminal- CPON e a enzima sintetizadora de catecolaminas, tirosina hidroxilase-TH).^{53,54} Recorrendo a técnicas de imunofluorescência indirecta distinguimos ramificações com diâmetro inferior a 5µm, as quais formam uma rede nervosa que envolve os vasos, encontrando-se também terminações livres intersticiais, algumas delas alcançando a íntima.^{53,54}

NaAR o aspecto da membrana sinovial altera-se profundamente. Numa fase precoce, verifica-se uma proliferação dos sinoviócitos, infiltrado inflamatório composto essencialmente por neutrófilos, linfócitos e monócitos, congestão vascular com obliteração do lúmen e extravasão de eritrócitos, podendo por vezes existir vasculite sem necrose fibrinóide.⁵⁵ Na nossa experiência, quer em modelo animal, quer em casos de biopsias sinoviais humanas obtidas nas primeiras semanas de evolução da AR, o infiltrado tem um predomínio de neutrófilos, que modifica as suas características, algumas semanas depois, para um padrão linfocitário (Figuras 3 e 4).^{54,56}

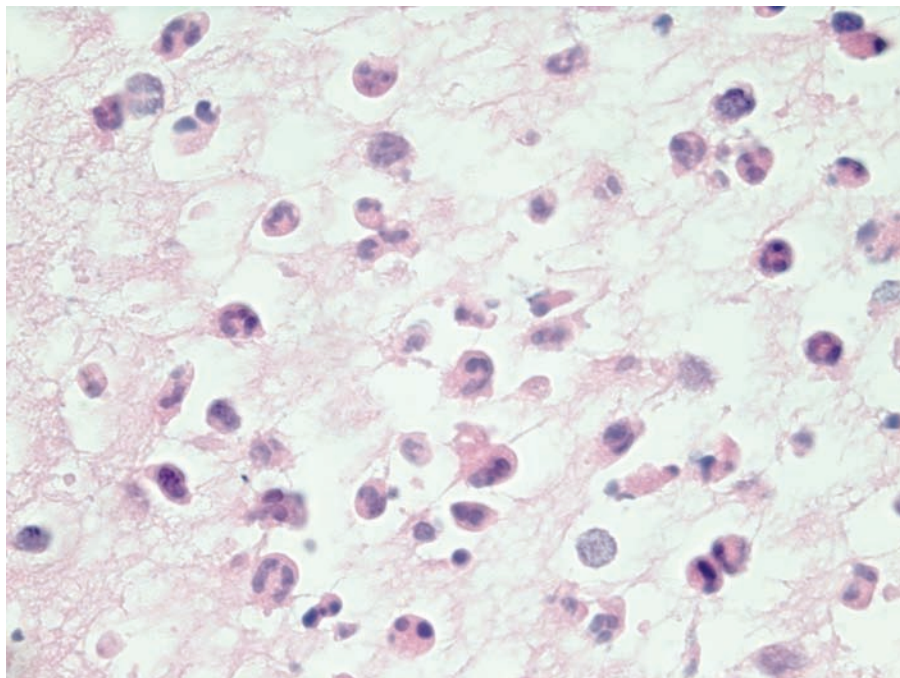


Figura 3. Biopsia sinovial efectuada nas primeiras 2 semanas de um caso de artrite reumatóide documentando um infiltrado inflamatório com predomínio de neutrófilos. Hematoxilina eosina (ampliação x1000).

Retirado de Mourão AF, Cascão R, Caetano-Lopes J, Canhão H, Queiroz M, Fonseca JE. Synovial tissue highly infiltrated by neutrophils in the very early phase of rheumatoid arthritis. (Submitted).

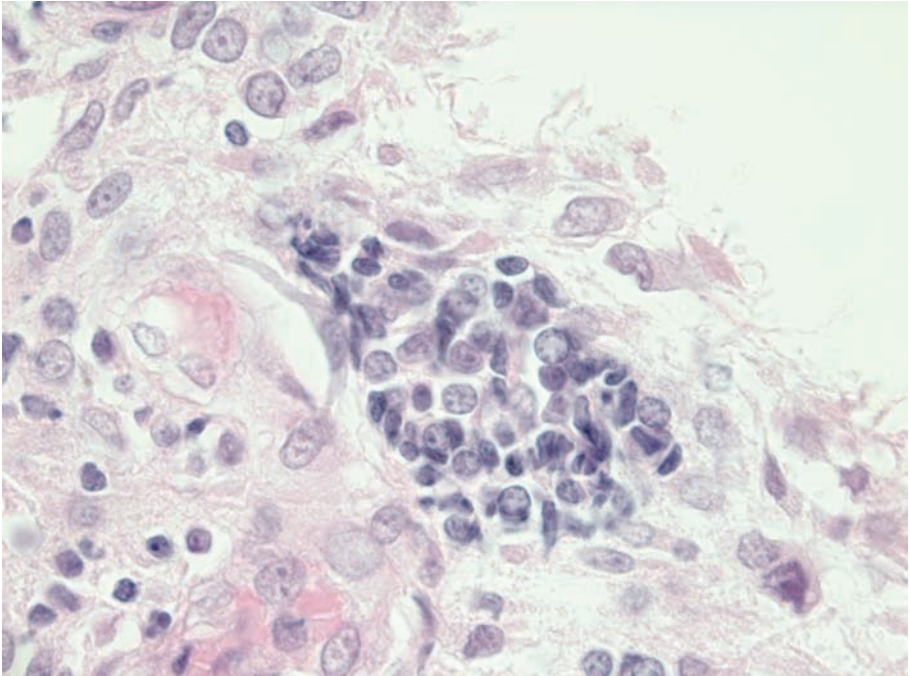


Figura 4. Biopsia sinovial efectuada 8 meses depois, no mesmo caso de artrite reumatóide documentando um infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Hematoxilina eosina (ampliação x1000).

Retirado de Mourão AF, Cascão R, Caetano-Lopes J, Canhão H, Queiroz M, Fonseca JE. Synovial tissue highly infiltrated by neutrophils in the very early phase of rheumatoid arthritis. (Submitted).

Na fase crónica, as alterações são mais exuberantes, destacando-se um maior número de vilosidades, associado ao aumento da espessura da íntima à custa da proliferação dos sinoviócitos e do infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e macrófágico.⁵⁵ Por vezes, este infiltrado organiza-se em agregados semelhantes aos folículos linfóides secundários dos gânglios linfáticos e são visíveis com muita frequência vénulas de endotélio alto, particularmente na proximidade destes agregados linfóides, associadas à diapedese das células inflamatórias.⁵⁷ Baseados na observação seriada de 72

biópsias sinoviais em histologia convencional verificámos que estes infiltrados inflamatórios são mais intensos na AR do que noutras doenças inflamatórias crónicas e que a presença de infiltrados linfocitários perivasculares estava associado à presença de doença erosiva na AR (Quadro 5).⁵⁸

Histological scores	Erosive RA (n = 15) mean ± SD (m-M)	Non-erosive RA (n = 15) mean ± SD (m-M)
Global	23 ± 10.5 (12 - 41)	14.6 ± 10.0 (0 - 27)
Lining layer	1.6 ± 1.7 (0 - 6)	1.7 ± 1.7 (0 - 4)
% Fibrosis sub-lining layer	7.7 ± 3.1 (0 - 10)	5.6 ± 4.2 (0 - 10)
Vessel density	3.5 ± 1.9 (1 - 6)	2.7 ± 2.3 (0 - 8)
% Vessels with infiltrate	4.5 ± 3.6 (0 - 10)	1.9 ± 2.3 (0 - 6)
Lymphocyte cluster diameter	2.8 ± 3.6 (0 - 10)	1 ± 2.1 (0 - 6)
% Lymphocytes in synovium	2.5 ± 2.5 (0 - 8)	1.6 ± 1.6 (0 - 4)

Quadro 5. Comparação do padrão histológico entre doentes com artrite reumatóide (RA) erosiva e não erosiva.

Retirado de Fonseca JE, Canhão H, Resende C, Saraiva F, Teixeira Costa JC, Bravo Pimentão J, Carmo-Fonseca M, Pereira da Silva JA, Viana de Queiroz M. Histology of the synovial tissue: value of semiquantitative analysis for the prediction of joint erosion in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 559-64.

Os linfócitos com localização perivascular são predominantemente CD4 e os de distribuição difusa são maioritariamente CD8⁵⁹, verificando-se uma relação CD4/CD8 superior à encontrada na circulação⁶⁰. Demonstrámos, na sinóvia reumatóide, a associação próxima entre os linfócitos T e os macrófagos, embora a produção de interferão (IFN)- γ pareça estar associada a uma menor expressão de CD163 pelos macrófagos (Figura 5).⁵²

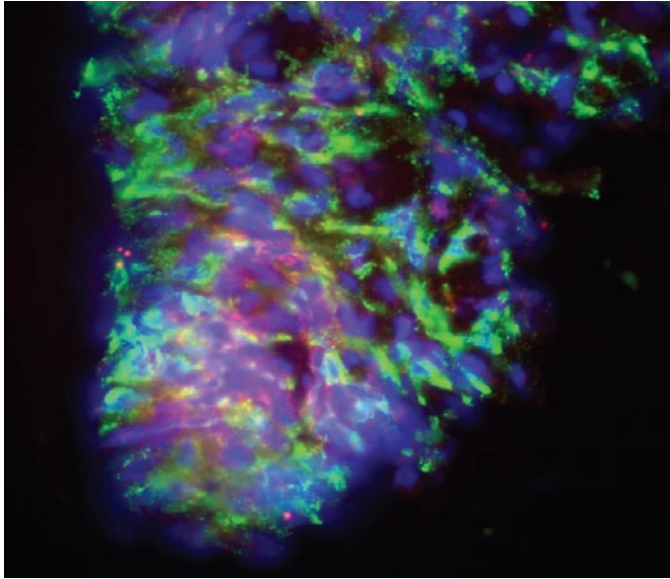


Figura 5. Imunofluorescência indirecta dupla na membrana sinovial reumatóide. Marcação com anti-CD163 (fluoresceína) e com anti-CD8 (texas red). Contrastado com 4,6-diamidino-2-phenylindole. (Ampliação 400x). Retirado de Fonseca JE, Edwards JCW, Blades S, Golding N. Macrophage subpopulations in rheumatoid synovium: reduced CD163 expression in CD4 positive T lymphocyte-rich microenvironments. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1210-6.

Adicionalmente, no seguimento prospectivo de 103 doentes submetidos a biopsia sinovial para esclarecimento diagnóstico verificámos que os doentes com AR apresentavam um infiltrado de linfócitos CD4, CD8 e CD19 significativamente superior aos doentes com outras doenças reumáticas inflamatórias e que o número de linfócitos CD4 e macrófagos estava correlacionado com a progressão radiológica na AR (Figura 6).⁶¹

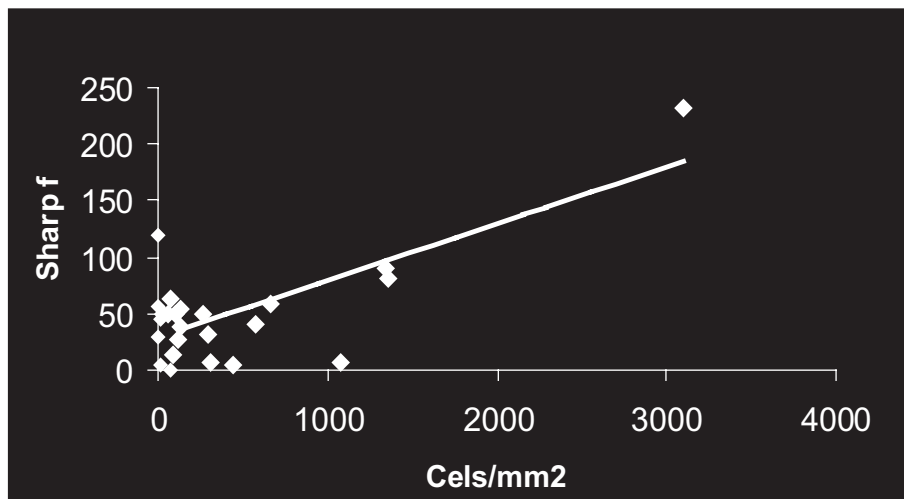


Figura 6. Correlação entre o número de macrófagos (cells/mm²) na membrana sinovial e a pontuação no score radiológico de Sharp na avaliação final do doente (Sharp f).

Retirado de Fonseca JE, Cortez-Dias N, Francisco A, Sobral M, Canhão H, Resende C, Castelão W, Macieira C, Sequeira G, Saraiva F, Pereira da Silva JA, Carmo-Fonseca M, Viana Queiroz M. Inflammatory cell infiltrate and RANKL/OPG expression in rheumatoid synovium- comparison with other inflammatory arthropaties and correlation with outcome. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 185-192.

A vascularização da sinóvia reumatóide tem sido objecto de controvérsia: alguns autores encontraram redução da densidade de vascularização⁶² e outros obtiveram resultados antagónicos.⁶³ Na nossa experiência, em histologia convencional, não são visíveis diferenças significativas no padrão de vascularização por comparação com outras doenças inflamatórias articulares, como as espondilartrites seronegativas.⁵⁸

Como já foi referido, na sinóvia reumatóide ocorre uma clara redução da densidade de inervação durante os períodos de maior actividade inflamatória, provavelmente por lesão directa das terminações nervosas e também por libertação dos neuropéptidos pró-inflamatórios. Nos períodos intercíticos, ocorre uma

regeneração das pequenas terminações sensitivas, criando-se condições para um novo surto inflamatório.⁵⁴

O único aspecto histológico verdadeiramente característico da AR é a formação do *pannus*, uma massa celular com comportamento invasivo, formada por células de aspecto mesenquimatoso, com núcleos pleomórficos.⁶⁴ Este achado é, no entanto, muito raro em biopsias, sendo geralmente apenas visível em peças de autópsia ou de cirurgia ortopédica.

Neutrófilos

Os neutrófilos desempenham um papel determinante nas artropatias inflamatórias agudas.⁶⁵ Em doenças crônicas como a AR a sua participação poderá ser também relevante. De facto, na AR os neutrófilos circulantes têm algumas características de activação, constituem 90% da celularidade do líquido sinovial e são responsáveis pela produção de muitas das interleucinas e enzimas destrutivas responsáveis pela fisiopatologia da AR.⁶⁶ Por outro lado, a produção de aniões superóxido pela NADPH oxidase e a produção do monóxido de azoto (NO) estão envolvidas na manutenção da inflamação e na destruição articular.^{67,68,69} e parte do efeito das terapêuticas bloqueadoras do TNF é exercido através de uma redução da actividade do neutrófilo.⁷⁰

Desconhece-se se a relevância dos neutrófilos é maior no início da AR, se se mantém de forma significativa ao longo da evolução da doença e/ou se condiciona períodos de agudização da artrite. Existem respostas parciais a estas questões com base no modelo animal de artrite K/BxN. Neste modelo a depleção dos neutrófilos por anticorpos específicos impede o desenvolvimento da artrite induzida pela inoculação do soro de um ratinho K/BxN, sendo que esta protecção pode ser prolongada através da repetição da administração dos anticorpos depletors de neutrófilos. Quando é suspensa a administração dos anticorpos anti-neutrófilo, e após

o reaparecimento dos neutrófilos, desencadeia-se a artrite. É também interessante salientar que este efeito protector só existe se a depleção de neutrófilos for efectuada até ao 3º dia após a inoculação do soro dos ratinhos K/BxN, sugerindo o envolvimento predominante de outros tipos celulares após a fase inicial da artrite.⁷¹ A capacidade do soro destes ratinhos transmitir artrite está dependente da existência de um anticorpo contra uma enzima ubiquitária a glicose 6-fosfato isomerase (GPI). Por este motivo admite-se que o mecanismo de desenvolvimento da artrite esteja dependente de um processo de formação de complexos imunes (anti-GPI) e activação celular, acompanhada pelo recrutamento de neutrófilos, inicialmente num número relativamente reduzido. Estes neutrófilos iniciais seriam activados, com consequente desgranulação (com actividade inflamatória e destrutiva dependentes da mieloperoxidase, elastase, colagenase e outras metaloproteases) e libertação concomitante de interleucinas pró-inflamatórias. Este efeito seria responsável por uma amplificação e manutenção do recrutamento de mais neutrófilos, que potenciarão o fenómeno inflamatório inicial.

Apesar dos dados preliminares em modelo animal sugerirem a participação dos neutrófilos em mecanismos fisiopatológicos relevantes na AR, integrados provavelmente com a actividade dos linfócitos B produtores de FR, a escassez de estudos sobre o papel dos neutrófilos nesta doença, particularmente na fase inicial da doença e sem exposição prévia a fármacos imunomoduladores, a variabilidade dos métodos utilizados e as pequenas e heterogéneas amostras de doentes estudados têm inviabilizado uma correcta valorização da relevância fisiopatológica destas células na fase inicial da AR. A fase inicial da AR poderá ter um perfil de activação celular e molecular diferente da AR estabelecida. Tal como na nossa experiência pessoal, anteriormente reportada, quer em modelo animal⁵⁴, quer no doente com AR em fase inicial⁵⁶, a avaliação de

biopsias sinoviais de artrites com menos de 4 a 6 semanas de duração, que mais tarde vieram a ser confirmadas clinicamente como AR, não demonstraram a presença de nódulos linfóides, nem de plasmócitos. No entanto, nesta altura existem abundantes neutrófilos e também já infiltrados perivasculares linfocitários B e T, hiperplasia da íntima, aumento da vascularização, expressão de moléculas de adesão e produção de proteases num padrão parcialmente semelhante ao encontrado em fases mais evoluídas da doença.⁷⁴ A apoptose é significativamente menor na fase inicial da AR do que nas fases iniciais de outras artropatias inflamatórias e do que nas fases mais tardias da AR, estando aumentada a expressão de proteínas inibidoras da apoptose como p53⁷⁴ e o *Fas-associated death domain-like interleukin-1beta-converting enzyme-inhibitory protein* (FLIP), que está associada à inibição da apoptose induzida pelo Fas (CD95, um dos principais receptores celulares indutores de apoptose, na sinóvia reumatóide) e à promoção do crescimento tumoral, constituindo mais outro estímulo para a sobrevivência celular.

Na nossa perspectiva pessoal, a fase inicial da AR constitui um momento em que uma resposta inflamatória aguda se converte num mecanismo auto-perpetuado de inflamação e destruição articular crónica. A evidência actualmente disponível sugere que a produção de interleucinas nas primeiras fases da inflamação contribui para a activação dos linfócitos B, estimulando, nos doentes com linfócitos B produtores de FR e/ou de anticorpos anti-peptídeos cíclicos citrulinados, a libertação de grandes quantidades de anticorpos, provavelmente numa fase inicial confinados aos espaços articulares. A formação de complexos imunes poderá ser um factor fundamental no recrutamento e activação dos neutrófilos, que participariam na amplificação e manutenção do fenómeno inflamatório inicial, criando condições para a manutenção de ciclos viciosos pró-inflamatórios envolvendo

também os macrófagos e os linfócitos, mediados principalmente pela produção de factor de necrose tumoral (TNF) e interleucina (IL)-18, desregulação das populações celulares e falência dos mecanismos apoptóticos. Para testar a hipótese dos neutrófilos constituírem células particularmente relevantes na fase inicial da AR estabelecemos uma coorte de doentes com poliartrite com menos de 6 semanas de evolução, sem qualquer exposição a terapêutica prévia e na qual estudámos o estado de actividade dos neutrófilos e a apoptose. O seguimento clínico dos doentes permitiu estabelecer o diagnóstico final e comparar doentes que evoluíram para AR com outros que evoluíram para outras doenças inflamatórias crónicas. Adicionalmente, analisámos o padrão de indivíduos que entraram em remissão espontânea e também o efeito da terapêutica com corticóides e, mais tarde, com metotrexato dos doentes que evoluíram para AR. Constatámos que os neutrófilos do sangue periférico dos doentes com AR e de outras doenças reumáticas inflamatórias apresentavam uma diminuição da apoptose, por comparação com controlos saudáveis e com doentes que mais tarde entraram em remissão espontânea. Esta perturbação da apoptose foi normalizada pela terapêutica com metotrexato, enquanto a exposição a corticóides em baixas doses não exerceu qualquer efeito (Figura 7).⁷⁸

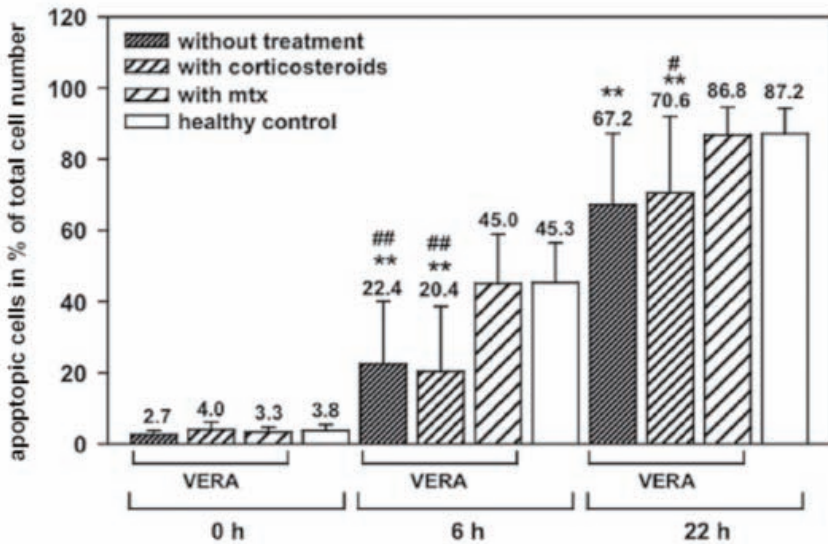


Figura 7. Atraso na apoptose dos neutrófilos circulantes em doentes com artrite reumatóide avaliados com menos de 6 semanas de evolução (VERA). ## ($p < 0,01$) e # ($p < 0,05$) representam a comparação de doentes VERA, antes e depois do tratamento com corticóides, com os doentes VERA tratados com metotrexato (MTX). **($p < 0,01$) representa a comparação de doentes VERA, antes e depois do tratamento com corticóides, com controlos saudáveis. Retirado de Weinmann P, Moura R, Caetano-Lopes J, Pereira P, Canhão H, Queiroz MV, Fonseca JE. Delayed neutrophil apoptosis in very early rheumatoid arthritis patients is abrogated by methotrexate therapy. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25: 885-7.

Por outro lado, as funções dos neutrófilos do sangue periférico, como a migração, a fagocitose e a capacidade de activação, não mostraram diferenças significativas entre doentes com poliartrite em fase inicial e controlos saudáveis. Pelo contrário, a produção de radicais de oxigénio pelos neutrófilos estava aumentada nos doentes com poliartrite sem tratamento em comparação com os controlos saudáveis e doentes tratados com corticóides (Figura 8).⁷⁹

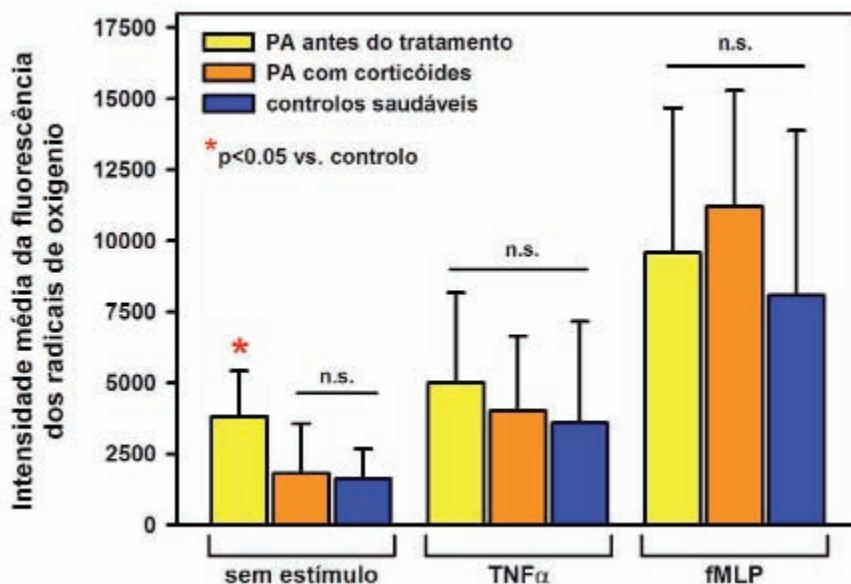


Figura 8. Aumento da produção de radicais de oxigénio em poliartrites (PA) com menos de 6 semanas de evolução não tratadas, por comparação com PA tratadas com doses baixas de corticóides e controlos saudáveis. Medição por citometria de fluxo. A produção é semelhante nos vários grupos após estimulação com TNF- α e fMLP.

Retirado de Weinmann P, Ferreira AC, Pereira P, Moura R, Mourão AF, Caetano-Lopes J, Cascão R, Canhão H, Queiroz MV, Fonseca JE. Caracterização da resposta funcional dos neutrófilos em doentes com poliartrite em fase inicial. *Acta Reumatol Port* 2008; 33 (supl): S126-7.

Embora as capacidades de migração e fagocitose dos neutrófilos não estejam afectadas nos neutrófilos em circulação, estas funções celulares estão diminuídas para valores inferiores ao controlo saudável pela exposição a corticosteróides, sugerindo que este possa ser um dos mecanismos para a rapidez de actuação dos corticóides na melhoria dos sintomas articulares.⁸⁰ Outro aspecto interessante é a observação de propriedades alteradas no líquido sinovial dos doentes com poliartrite em fase inicial que são um pouco surpreendentes. De facto, no líquido sinovial o estado de activação dos neutrófilos de doentes com poliartrite é elevado,

mas a fagocitose está diminuída em relação ao que é observado no sangue periférico.⁸¹ Este fenómeno poderá ser explicado por um estado de maturação avançado, pós-activação, da maioria dos neutrófilos avaliados no líquido sinovial, mas pode também revelar o efeito de um microambiente inflamatório contributivo para um défice de *clearance* do líquido sinovial, induzindo a persistência de complexos imunes e, conseqüentemente, influenciando a cronicidade do fenómeno inflamatório.

Linfócitos T

Como vimos atrás, as nossas observações na membrana sinovial mostraram um aumento significativo dos linfócitos T CD4 e CD8 na sinóvia reumatóide por comparação com outras patologias inflamatórias articulares e o número de linfócitos CD4 correlacionava-se com a progressão radiológica da doença.⁶¹ Reforçando esta visão centrada nos linfócitos T documentámos uma associação da AR ao HLADRB1*04 e HLADRB1*10.²⁷ De facto, existem numerosos argumentos a favor do envolvimento dos linfócitos T na patogenia da AR dos quais se destacam: 1) a presença de linfócitos T no líquido e na membrana sinoviais em maior quantidade; 2) a associação aos epitópos compartilhados dos antígenos HLA classe II; 3) os modelos animais essencialmente dependentes dos linfócitos T (artrite induzida pelo adjuvante de Freund, pelo colagénio, pela parede celular do estreptococos e modelo SKG); 4) a melhoria destes doentes quando submetidos a terapêuticas depletoras ou modeladoras de linfócitos T.⁸² Estes argumentos geraram o chamado “paradigma das células T” que considera que estas células têm o papel central na patogenia da AR. No entanto, a participação destas células isoladamente na fisiopatologia da AR não explica todos os fenómenos imunológicos que ocorrem na AR. De facto, um dos argumentos mais relevantes para um processo desencadeado pelos linfócitos T seria a detecção de um número limitado de clones

envolvidos na doença, facto que foi demonstrado no modelo animal, mas não no homem.⁸³ Por outro lado, os próprios argumentos a favor do papel crucial das células T contêm algumas falhas, nomeadamente o facto de existirem modelos animais claramente independentes dos linfócitos T (modelo de indução por antígenos de fibrina e albumina, os ratos transgênicos para o TNF e K/BxN e os modelos induzidos por tecido articular sinovial humano), a reduzida quantidade de interleucinas dependentes dos linfócitos T presentes no líquido e membrana sinoviais e o facto da terapêutica anti-CD4 ter uma eficácia limitada e não universal.⁸⁴ Assim, o linfócito T parece ser um elemento relevante na complexa teia de relações celulares da AR, mas outros elementos terão, também, uma participação importante.

O linfócito T presente na membrana sinovial reumatóide tem características peculiares. A maioria corresponde a um fenótipo caracterizado pela expressão de CD4, de CD45RO, do receptor 5 para quimocinas (CCR5), do receptor para a IL-18 e pela produção de IFN- γ , mas não de IL-4, correspondendo, por isso, a um subtipo de linfócitos de memória com um perfil de produção de interleucinas típico dos linfócitos auxiliares do subtipo 1 (Th1).⁸⁵ No entanto, verificámos, com uma técnica de marcação intracelular a presença de uma proporção de apenas cerca de 10% de linfócitos T CD4 produtores de IFN- γ , em agregados linfóides na membrana sinovial reumatóide (Figura 9).⁵² Posteriormente confirmámos que na membrana sinovial reumatóide existe um maior número de células produtoras de IFN- γ , por comparação com outras doenças articulares inflamatórias.⁶¹

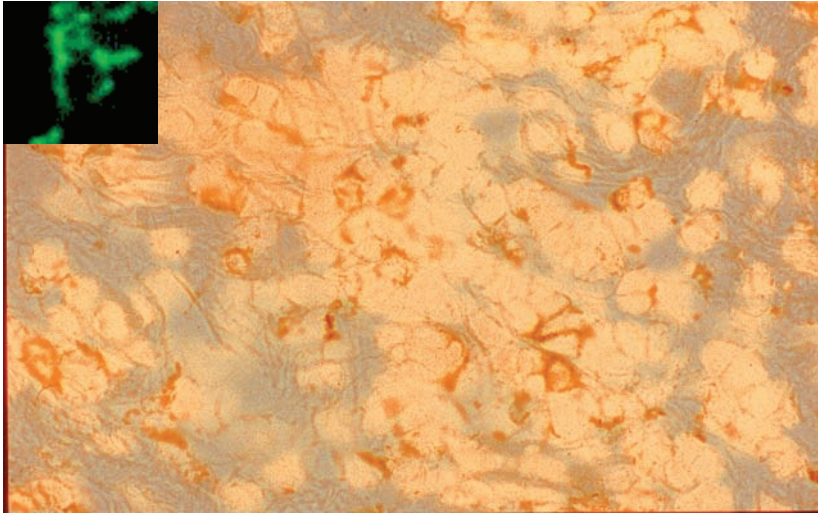


Figura 9. Marcação de linfócitos na membrana sinovial reumatóide com anti-IFN γ (avidina-biotina peroxidase) com técnica de dupla exposição com coloração nuclear com iodeto de propídio (ampliação 400x). Imagem incluída no canto superior esquerdo mostra imunofluorescência indirecta com anticorpos anti IFN γ (ampliação 1000x).

Retirado de Fonseca JE, Edwards JCW, Blades S, Golding N. Macrophage subpopulations in rheumatoid synovium: reduced CD163 expression in CD4 positive T lymphocyte-rich microenvironments. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1210-6.

Existem outros subtipos de linfócitos T que estão presentes na membrana sinovial da AR e que têm um papel relevante. Entre estes destaca-se o subtipo Th17, produtor de IL-17, uma interleucina fundamental na promoção da libertação da IL-1 e TNF macrofágicas e na diferenciação de osteoclastos em particular.^{86,87} A sua diferenciação está dependente da presença de IL-1, IL-6, IL-21 e IL-23.⁸⁶ Outro subtipo fundamental é o linfócito T regulador, reconhecido pela presença de CD4, CD25 e Foxp3.⁸⁶

No modelo animal de artrite induzida pelo colagénio, documentou-se que a resposta Th2 está associada à remissão e a resposta Th1 à fase de indução e de agudização.⁸⁸ De acordo com estes resultados, observou-se, também em modelo animal, a melhoria

da artrite com a administração do péptido vasoactivo intestinal (VIP), o qual promove a diferenciação Th2 e inibe a resposta Th1.⁸⁹ Curiosamente, a sinóvia reumatóide e a sinovite observada no modelo animal de adjuvante de Freund não apresentam VIP detectável por imunofluorescência.⁵⁴ Apesar destes argumentos coerentes, até agora, as terapêuticas direccionadas para um aumento da actividade Th2 ou mimetizadoras desta actividade (por exemplo administração de IL-4 e IL-10) não têm produzido melhoria clínica apreciável.⁹⁰ Este facto é de novo revelador da complexidade das relações celulares na sinóvia reumatóide.

Embora o IFN- γ e a IL-2 estimulem a activação macrofágica, esta é essencialmente dependente da inter-relação directa entre a membrana celular do linfócito T e do macrófago.⁸⁵ Na nossa experiência, esta observação é claramente evidente em imagens de imunofluorescência indirecta em que a inter-relação destas células é demonstrada (Figura 5).⁵² Desde que ocorra activação macrofágica, a produção de IL-18 e TNF é indutora de uma resposta Th1 e cria condições para a perpetuação da estimulação linfocitária e macrofágica, através de vários sistemas de retroacção positivos interligados, em que o TNF induz a expressão de IL-18 e IFN- γ e a IL-18 estimula a produção de TNF e IFN- γ , sustentando este último a activação macrofágica e garantido a libertação de mais TNF e IL-18.⁹¹ A manutenção deste ciclo vicioso é amplificada pela falência dos mecanismos de apoptose dos linfócitos da sinóvia reumatóide, parcialmente resultante do efeito do IFN- β produzido pelos fibroblastos sinoviais, os quais permitem a sobrevivência destas células durante muito tempo.⁹²

A origem da estimulação inicial dos linfócitos T permanece desconhecida, embora se tenha procurado identificar elementos sugestivos de uma resposta relativamente específica a um antigénio ou a alguns antigénios. De facto, foi possível documentar a presença predominante de três famílias de receptores antigénicos das células T: V β 3, V β 14 e V β 17.⁹³ Estes receptores estão

relacionados estruturalmente e são sensíveis à activação por superantígenos, suportando a hipótese dos linfócitos T serem activados especificamente por um agente infeccioso.⁹⁴ Outras explicações, para a activação inicial dos linfócitos T, poderiam ser, a selecção tímica de linfócitos T reconhedores de sequências do epitopo comum, a resposta a autoantígenos, defeitos da imunidade inata ou, ainda, o resultado de infecções intercorrentes.⁸⁴ No entanto, como foi referido anteriormente, a questão da oligoclonicidade da resposta T não está devidamente documentada, porque outros trabalhos têm sugerido que não há restrições do repertório dos receptores antigénicos dos linfócitos T e outros ainda propuseram expansões de outras famílias de receptores $V\beta$ e $V\alpha$.⁹⁴

Outro aspecto paradoxal das populações linfocitárias reumatóides é o facto dos linfócitos T, do líquido sinovial, serem predominantemente CD8, apresentando estes linfócitos um defeito funcional na resposta a mitogénios e antigénios, ao contrário do verificado na circulação sanguínea e na membrana sinovial.⁹⁵ Este efeito poderá ser explicado pela presença de inibidores da activação celular presentes no líquido sinovial, como o antagonista do receptor da IL-1 (IL1-Ra) e do *transforming growth factor* β (TGF- β).⁹⁶ É também possível que a produção de IL-16 por parte dos linfócitos T CD8 positivos tenha um efeito inibidor da produção de IFN- γ , TNF e IL-1, contribuindo para a redução da actividade celular.⁹⁷ Uma explicação adicional para este fenómeno é a presença de linfócitos T reguladores, no líquido sinovial de doentes com AR.⁹⁸ Estes linfócitos poderão estar envolvidos na produção de IL-10 e TGF- β , factores importantes na limitação da apresentação de antigénios e da actividade dos linfócitos T.⁹⁹ A actividade destes linfócitos não é, no entanto, muito elevada na AR, porque um dos principais sinais requeridos para a função imunoreguladora é a produção de IL-2¹⁰⁰, a qual é escassa nesta doença.¹⁰¹

Linfócitos B

Os linfócitos da membrana sinovial reumatóide têm, nalguns doentes com AR, um padrão de organização semelhante ao de um gânglio linfático. Existem zonas de predomínio de linfócitos T, próximas de áreas com linfócitos B, os quais se podem organizar em folículos linfóides e, após diferenciação em plasmócitos, migram para fora dos centros germinativos.¹⁰² As nossas observações na membrana sinovial reumatóide documentaram um menor número de linfócitos B em relação aos T, mas mesmo assim a quantidade destas células é estatisticamente superior à que se observa em outras doenças inflamatórias articulares e parece ter relevância fisiopatológica.⁶¹ De facto, a AR está associada à produção de autoanticorpos (entre os quais se destacam anticorpos anti-IgG-o FR), detectando-se imunocomplexos circulantes e no líquido sinovial.¹⁰³ Estes podem assumir a forma de dímeros de FR IgG, com capacidade de activação celular¹⁰⁴ e multímeros, que podem activar o complemento e gerar inflamação.¹⁰³ Um dos possíveis papéis dos linfócitos B na sinovite reumatóide será a apresentação de antígenos aos linfócitos T, existindo neste momento evidência de que sejam estas as células sinoviais mais eficazes nesta função, particularmente os linfócitos B produtores de FR, que interiorizam complexos imunes e apresentam os antígenos aos linfócitos T.¹⁰⁵ Mas, sem dúvida, o argumento principal para a relevância dos linfócitos B na fisiopatologia da AR advém dos resultados favoráveis da terapêutica com anticorpos monoclonais anti-CD20, depletors de linfócitos B.¹⁰⁶

Este conjunto de evidências gerou um modelo etiopatogénico da AR centrado no linfócito B.¹⁰⁷ Esta hipótese tenta explicar o cariz estocástico do início da AR através de clones de linfócitos B produtores de FR, originados por mutações somáticas nos genes das imunoglobulinas. A sobrevivência destes clones poderia ser sustentada por vários mecanismos.¹⁰⁸ Um dos mecanismos poderia ser a ligação das Ig de superfície (que são FR) a qualquer

imunocomplexo IgG-antigénio, que conduziria à interiorização do antigénio e apresentação aos linfócitos T, activando-os e fornecendo um sinal de sobrevivência ao clone produtor de FR. Outro mecanismo hipotético seria a formação de imunocomplexos de FR unidos ao C3d que, quando ligados aos receptores Ig dos clones de FR, sustentariam a sobrevivência dessas células.¹⁰⁹ Estes processos seriam mais eficazes em espaços fechados, como a articulação, onde concentrações mais elevadas de FR propagariam este efeito. Por fim, para a sobrevivência destes clones poderá também contribuir a produção pelos fibroblastos sinoviais de VCAM-1¹¹⁰, o qual está geralmente co-localizado com as zonas de linfócitos B¹¹¹ e é um elemento relevante na diferenciação e sobrevivência dos linfócitos B.¹¹²

Os FR tendencialmente formam imunocomplexos, potencialmente eliminados através do receptor de complemento 1 dos glóbulos vermelhos.¹¹³ No entanto, os FR podem formar pequenos dímeros que não fixam o complemento, escapando a este mecanismo. Foi demonstrado que os dímeros de FR têm grande afinidade para o receptor FcγRIIIa (CD16) presente nos macrófagos e quando se ligam a este receptor promovem a produção de TNF e IL-1, induzindo a cascata de fenómenos inflamatórios da AR.¹¹⁴ Curiosamente, a expressão do CD16 segue uma distribuição anatómica sobreponível aos locais de envolvimento da AR (sinóvia, fígado, pulmão, pericárdio, medula óssea, gânglios linfáticos, derme exposta a *stress*, glândulas salivares), explicando assim o padrão de envolvimento extra articular da AR.¹¹⁵ De facto, a expressão do CD16 nas células de Kupffer hepáticas poderia fundamentar o aparecimento de uma resposta de fase aguda (incluindo a produção de amilóide) e as alterações das enzimas hepáticas que surgem com alguma frequência na AR.¹⁰⁸ Por outro lado, a presença do CD16 nos macrófagos alveolares permitiria explicar a ocorrência de alveolite e fibrose pulmonar; nos macrófagos do pericárdio poderia induzir a pericardite; na medula óssea poderia justificar a supressão da eritropoiese e contribuir para a osteopénia e erosões

subcondrais; nos gânglios linfáticos explicaria as adenomegalias; na derme exposta ao *stress* constituiria uma excelente razão para a localização dos nódulos reumatóides; nas glândulas salivares seria um mecanismo complementar que justificaria a associação frequente com a síndrome de Sjögren.¹⁰⁸ Para além destas localizações, o CD16 está, ainda, presente nos neutrófilos e nos linfócitos característicos da síndrome de Felty (*large granular lymphocytes*- LGL, linfócitos T CD57 ou *natural killer* CD56).¹⁰⁸ A presença deste receptor nos neutrófilos, poderia explicar a neutropenia característica da síndrome de Felty, devido à ligação de imunocomplexos ao CD16, que induziriam a eliminação mais rápida destas células e, conseqüentemente, a redução da sua semi-vida.¹⁰⁸ Por outro lado, os imunocomplexos poderiam constituir, também, um estímulo medular sobre os LGL que expressam CD16, induzindo a sua proliferação.¹⁰⁸

A análise do papel dos linfócitos B na fase inicial da AR tem sido difícil e ainda não está esclarecida; o nosso grupo tem-se dedicado à investigação nesta área através do estudo da coorte de poliartrites com menos de 6 semanas de evolução. Sabe-se que na AR inicial, comparativamente a outras artrites em fase inicial (que evoluem para outros diagnósticos finais diferentes de AR) existe um maior número de linfócitos B na sinóvia reumatóide.¹¹⁶ Este facto é muito interessante, porque os dados de caracterização das subpopulações de linfócitos B circulantes em doentes com AR em fase inicial obtidos na nossa coorte mostram que ocorre uma redução dos linfócitos B de memória, particularmente dos *pre switch* (Figura 10).¹¹⁷

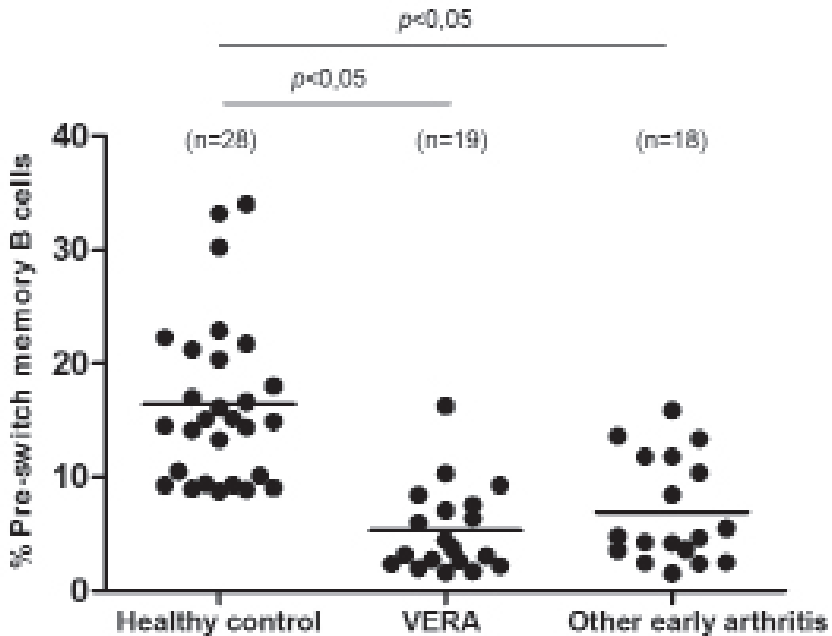


Figura 10. Doentes com artrite reumatóide de início muito recente (VERA) têm uma diminuição do número de linfócitos B de memória *pre-switch* (CD19+IgD-CD27+) circulantes. Análise por citometria de fluxo.

Retirado de Moura RA, Weinmann P, Pereira PA, Caetano-Lopes J, Canhão H, Sousa E, Mourão AF, Rodrigues AM, Queiroz MV, Souto-Carneiro MM, Graça L, Fonseca JE. Alterations on peripheral blood B cell subpopulations in very early arthritis patients. *Rheumatology* (Oxford). 2010 (Epub ahead of print).

Colocámos a hipótese de ocorrer um processo de migração activa para a membrana sinovial, onde secundariamente será produzida IgM de alta afinidade que reagirá com antígenos desconhecidos, gerando inflamação.

Macrófagos

Na membrana sinovial dos doentes com AR há uma quantidade aumentada de macrófagos. De facto, as nossas observações na membrana sinovial documentaram um extenso infiltrado na íntima

e subíntima e uma correlação entre o número de macrófagos e a progressão radiológica.^{52,61} Estes macrófagos estão activados, exibindo a expressão de moléculas da classe II do complexo major de histocompatibilidade, interleucinas pró-inflamatórias ou reguladoras (IL-1, IL-6, IL-10, IL-13, IL-15, IL-18 e TNF), factores de crescimento (GM-CSF), quimiocinas e metaloproteinases (MMPs).¹¹⁸ Independentemente da causa exacta da sinovite reumatóide, os macrófagos têm um papel central no processo fisiopatológico da AR. São argumentos a favor desta observação a correlação entre a infiltração macrofágica sinovial e a progressão da doença¹¹⁹, o efeito inibidor e depletor de macrófagos das terapêuticas usadas na AR¹²⁰ e o facto das terapêuticas biológicas dirigidas contra interleucinas macrofágicas serem eficazes.^{121,122}

Como foi descrito e também constatámos pessoalmente, existem várias subpopulações macrofágicas na sinóvia com diferentes capacidades de influenciar a sinovite reumatóide. A primeira subdivisão é entre monócitos recém imigrados e macrófagos maduros. Os primeiros localizam-se essencialmente na subíntima e os segundos são preferencialmente encontrados nas camadas mais profundas da íntima.¹¹⁹ Estes dois tipos de macrófagos apresentam marcadores de activação e moléculas de adesão diferentes, sugerindo funções diferentes, ainda não esclarecidas.¹²³ Uma segunda subdivisão é entre macrófagos que se diferenciam num fenótipo pró-inflamatório e outros que assumem um cariz imunoregulador. De facto, em modelos animais, os macrófagos imunoreguladores modulam a resposta dos linfócitos T a péptidos artritogénicos¹²⁴ e influenciam a melhoria clínica e histopatológica. Os macrófagos que expressam CD163 têm características potencialmente imunoreguladoras: a sua expressão é inibida *in vitro* pelo IFN- γ e estimulada por glucocorticóides e IL-10; são capazes de inibir *in vitro* a proliferação de linfócitos T CD4, admitindo-se, ainda, que possam estar envolvidos na produção de um factor anti-inflamatório ainda não identificado. As nossas observações *in*

vivo reforçam a ideia de que os macrófagos CD163 positivos são um fenótipo maduro que é inibido pelo IFN- γ (Figura 11).⁵² É possível que a existência de subpopulações macrofágicas esteja associada a uma produção diferencial de interleucinas pró-inflamatórias (por exemplo, TNF- α e IL-1) e de interleucinas imunoreguladoras (por exemplo, IL-10).¹¹⁸

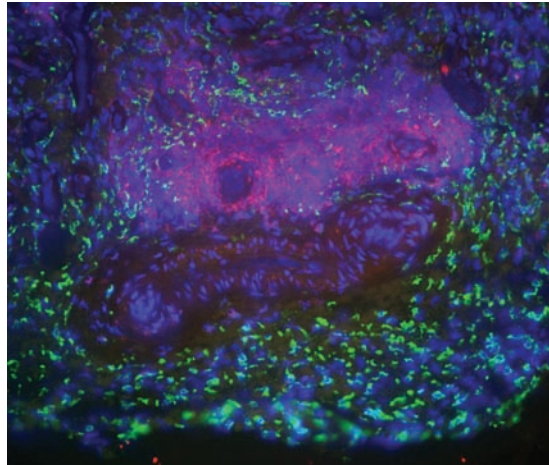


Figura 11. Imunofluorescência indirecta dupla na membrana sinovial reumatóide. Marcação com anti-CD163 (fluoresceína) e com anti-CD4 (texas red), mostrando a ausência de colocalização de linfócitos T CD4 e macrófagos CD163. Contrastado com 4,6-diamidino-2-phenylindole (ampliação 200x). Retirado de Fonseca JE, Edwards JCW, Blades S, Golding N. Macrophage subpopulations in rheumatoid synovium: reduced CD163 expression in CD4 positive T lymphocyte-rich microenvironments. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1210-6.

Os casos mais graves de AR apresentam células circulantes com um alto potencial de formação de colónias de macrófagos¹³⁰ e uma estimulação medular da linhagem mielóide, em particular da mielomonocítica, com uma diferenciação mais rápida em células CD14 e HLA-DR positivas¹³¹, sendo este efeito dependente dos níveis séricos de IL-1, IL-6, TNF e GM-CSF.¹³² Se tivermos, ainda, em consideração que os nódulos reumatóides, potenciais marcadores

de gravidade da AR, são estruturas em paliçada de macrófagos, e que a síndrome de activação macrofágica surge em formas graves de artrite idiopática juvenil, obtém-se um conjunto de evidências que sugere que o grau de activação e recrutamento macrofágico está correlacionado com a gravidade clínica da AR.¹¹⁸

Os macrófagos estão em contacto estreito com outras células relevantes na sinovite reumatóide. Efectivamente, estas células distribuem-se, na zona mais superficial da íntima, em contacto com uma camada adjacente de fibroblastos, enquanto, na subíntima, estão em redor de agregados de linfócitos T CD4, em relação com linfócitos T CD8 e fibroblastos de distribuição difusa.¹³³ Estas interligações celulares são seguramente importantes, porque uma parte significativa da comunicação do macrófago com outras células processa-se com base no contacto directo entre células, sem intervenção de sinalizadores extracelulares.¹³⁴ Já revimos como os linfócitos T e os macrófagos comunicam, através do contacto directo e da sinalização através do IFN- γ , IL-17, IL-18 e TNF, e descrevemos também como os linfócitos B actuam como estimulador macrofágico através do FR- Fc γ RIIIa (CD16). Também o fibroblasto estimula o macrófago, por contacto directo ou via IL-11.¹³⁵ De forma recíproca, o macrófago é capaz de activar os fibroblastos por um mecanismo essencialmente dependente do TNF e da IL-1.¹³⁶ Para além disso, o macrófago está envolvido em vários ciclos de retroacção positiva pró-inflamatória, já descritos, aos quais se deve adicionar os que envolvem a IL-15, a IL-8, o *monocyte chemoattractant protein* (MCP-1) e o NO. A IL-15, produzida pelo macrófago, quando actua sobre os linfócitos T, induz a criação de estímulos para a produção macrofágica de TNF, IL-1, IL-8 e MCP-1 e, eventualmente, também da própria IL-15.¹³⁷ A IL-8 está envolvida na angiogénese e, juntamente com o MCP-1, no recrutamento macrofágico, estando ambos implicados num ciclo de retroacção positivo autócrino, em que participam a IL-1 e o TNF, que estimula a produção de IL-8 e MCP-1.¹³⁸ O NO, produzido pelos macrófagos, é um contribuinte relevante da

inflamação, sendo ele próprio um factor estimulador dos macrófagos e indutor da libertação de TNF.¹³⁹ Outros factores estimuladores macrofágicos, com significado relevante na etiopatogenia da AR, são os estrogénios, os quais, através de um receptor específico, são capazes de induzir a produção de IL-1, mas, em concentrações muito elevadas, semelhantes às que ocorrem na gravidez, inibem a produção de IL-1.¹⁴⁰

O macrófago tem também mecanismos controladores da sua própria função, como por exemplo, a acção autócrina da IL-10 macrofágica, que reduz a expressão do HLA-DR, de interleucinas pró-inflamatórias, de GM-CSF e de receptores Fc γ , ou a acção inibidora da IL-13 (produzida por macrófagos e linfócitos T) sobre a libertação de TNF e IL-1 e a expressão de Fc γ RIIIa (CD16).¹⁴¹ Outro aspecto relevante é a produção do IL-1Ra, em resposta a estímulos pró-inflamatórios, incluindo a própria IL-1, criando um mecanismo de retroacção negativo, fundamental para a contenção do fenómeno inflamatório e que se encontra comprometido na AR, devido a um desequilíbrio IL-1/IL-1Ra, favorável à IL-1.¹⁴² A IL-6 e o TGF- β macrofágicos podem também limitar os potenciais danos induzidos pela inflamação articular. A IL-6, embora seja uma interleucina fundamental na indução da inflamação¹⁴³ e indutora da osteoclastogénese¹⁴⁴, tem também um papel protector da cartilagem na fase inicial da artrite e de promotor da osteogénese numa fase mais tardia.¹⁴⁵ O TGF- β induz a expressão do Fc γ RIIIa (CD16)¹⁴⁶, promove o recrutamento de linfócitos e monócitos¹⁴⁷ e aumenta a proliferação dos fibroblastos⁹⁶ mas, para além destas acções pró-inflamatórias, antagoniza algumas das acções da IL-1 (como, por exemplo, a produção de MMPs e a destruição do colagénio).¹⁴⁸

O equilíbrio entre os factores activadores e inibidores da actividade macrofágica regulam, em última análise, a libertação de duas interleucinas macrofágicas fundamentais: o TNF e a IL-1. O TNF é uma interleucina proximal na cascata inflamatória da sinovite reumatóide, condicionando a expressão de muitas

outras moléculas (nomeadamente a IL-1, a qual está envolvida na indução da degradação dos proteoglicanos, inibição da síntese dos proteoglicanos¹⁴⁹, aumento da síntese das MMPs¹⁴² e activação osteoclástica¹⁵⁰), activação dos sinoviócitos¹⁵¹, recrutamento e activação linfocitária, proliferação macrofágica e fibroblástica e osteoclastogénese.⁸⁴ Existe sob uma forma solúvel, que se liga essencialmente ao receptor de baixa afinidade P75 e sob uma forma integrada na membrana celular, que reconhece essencialmente o receptor P55, de alta afinidade.¹⁵² Os receptores do TNF podem existir sob a forma solúvel e, como tal, são passíveis de actuar como inibidores naturais desta interleucina.¹⁵³ Vários dados experimentais atestam a relevância do TNF na AR: a sua produção nos gânglios linfáticos precede a artrite em modelo animal¹⁵⁴; a sua administração exógena induz artrite¹⁵⁵; existe um modelo de ratinho transgénico com uma produção desregulada de TNF que desenvolve uma poliartrite crónica¹⁵⁶; os níveis de TNF no líquido sinovial estão correlacionados com as erosões ósseas.¹⁵⁷ Reforçando estes argumentos, numa série de 554 doentes portugueses com AR, que avaliámos do ponto de vista da actividade da doença, da capacidade funcional, da progressão radiológica e das variáveis laboratoriais mais relevantes (ver Quadro 6 para uma caracterização completa da amostra), verificámos, após sequenciação da região do promotor do TNF, que vários polimorfismos desta região (-238, -308 e -857) tinham influência no prognóstico da doença.¹⁵⁸

Characteristics	Total	Disease duration			Percentage of data missing
		<2 years	2–10 years	>10 years	
Number of patients (percentage)	491	70 (14)	174 (36)	236 (48)	--
Females/males, <i>n</i> (percentage)	417/74 (85/15)	50/10	150/24	206/30	--
Age at disease onset in years, mean (SD)	57.4 (13.3)	55.4 (16.8)	54.8 (14.0)	60.0 (11.0)	2%
Years of education, mean (SD)	5.8 (4.3)	6.0 (4.5)	7.0 (4.7)	4.8 (3.7)	7%
Family history of RA, <i>n</i> (percentage)*	67/400 (14/81)	8/62	18/152	41/183	5%
Disease duration in years, mean (SD)	12.7 (10.5)	-	-	-	2%
Number of previous DMARDs, mean (SD)	2.3 (1.6)	1.3 (1.1)	2.1 (1.4)	2.7 (1.8)	2%
Dose of prednisolone in milligrams, mean (SD)	5.9 (3.7)	6.1 (4.1)	5.8 (3.8)	5.8 (3.4)	3%
Biologics, <i>n</i> (percentage)*	150/339 (30/69)	4/65	53/121	150/85	1%
Health Assessment Questionnaire score, mean (SD)	1.18 (0.8)	0.97 (0.7)	1.04 (0.8)	1.36 (0.9)	6%
DAS28, mean (SD)	4.14 (1.5)	4.4 (1.7)	4.1 (1.5)	4.0 (1.5)	3%
Submitted to joint surgery, <i>n</i> (percentage)*	113/366 (23/74)	1/68	21/152	91/143	3%
Work disability, <i>n</i> (percentage)*	282/200 (57/41)	38/32	80/84	161/74	2%
Systemic manifestations, <i>n</i> (percentage)*	124/357 (25/73)	8/62	32/141	81/154	2%
Rheumatoid factor, <i>n</i> (percentage)*	319/124 (65/25)	44/22	106/52	166/48	10%
Sharp/van der Heijde score, mean (SD)	117.2 (77.8)	-	-	-	34%

*Values presented indicate yes/no. DAS28, disease activity score using 28 joint counts; DMARD, disease-modifying anti-rheumatic drug; RA, rheumatoid arthritis; SD, standard deviation.

Quadro 6. Caracterização da amostra de doentes portugueses com artrite reumatóide onde foi demonstrada a influência de polimorfismos da região do promotor do TNF- α (-238, -308 e -857) sobre o prognóstico.

Retirado de Fonseca JE, Cavaleiro J, Teles J, Sousa E, Andreozzi VL, Antunes M, Amaral-Turkman MA, Canhão H, Mourão AF, Lopes J, Caetano-Lopes J, Weinmann P, Sobral M, Nero P, Saavedra MJ, Malcata A, Cruz M, Melo R, Braña A, Miranda L, Patto JV, Barcelos A, Canas da Silva J, Santos LM, Figueiredo G, Rodrigues M, Jesus H, Quintal A, Carvalho T, Pereira da Silva JA, Branco J, Viana Queiroz M. Contribution for new genetic markers of rheumatoid arthritis activity and severity: sequencing of the tumor necrosis factor-alpha gene promoter. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(2):R37.

Independentemente destas evidências experimentais, o argumento mais relevante para o papel fundamental do TNF na AR foi dado pela excelente resposta que esta doença apresenta à terapêutica com anticorpos monoclonais Anti-TNF ou com receptores solúveis do TNF.^{159,160} Também neste caso, numa série de doentes portugueses tratados com o anticorpo monoclonal quimérico Anti-TNF, infliximab, detectámos que os polimorfismos na posição -308 da região do promotor do TNF influenciaram o padrão de resposta clínica dos doentes (Figura 12).¹⁶¹ A influência dos polimorfismos da região do promotor do TNF sobre a AR tem sido um foco importante de investigação e de discussão, existindo variabilidade geográfica muito acentuada, dificultando a aplicação

generalizada das observações obtidas por grupos isolados. Numa revisão detalhada sobre esta área de investigação, publicada em 2007, analisámos e discutimos 44 publicações originais diferentes.¹⁶²

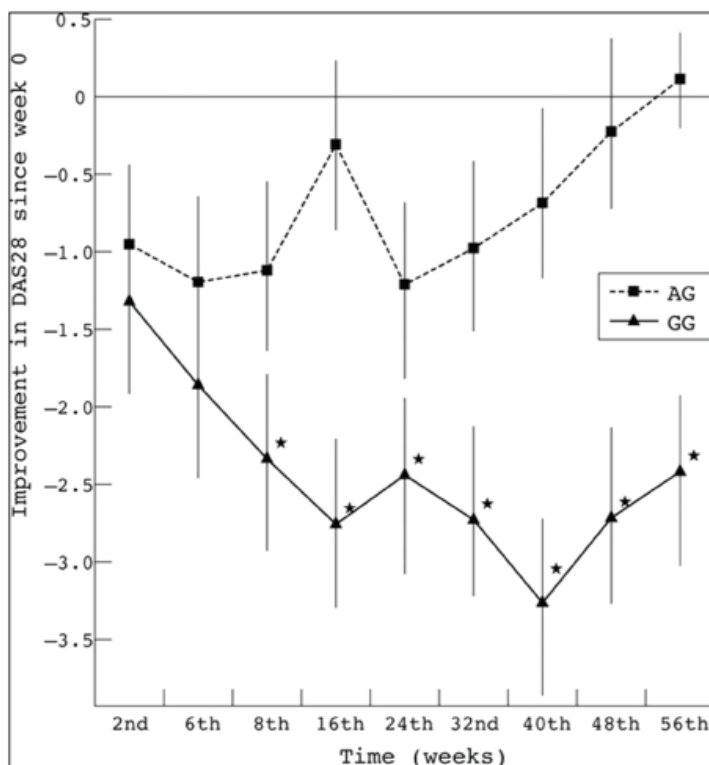


Figura 12. Os doentes com artrite reumatóide portadores do genótipo -308AG da região do promotor do gene do TNF α têm um padrão de resposta pior em relação aos que têm o genótipo -308GG.

Retirado de Fonseca JE, Carvalho T, Cruz M, Nero P, Sobral M, Mourão AF, Cavaleiro J, Abreu I, Carmo Fonseca M, Branco JC. Polymorphism at position -308 of the tumour necrosis factor alpha gene and rheumatoid arthritis pharmacogenetics. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 793-4.

Osteoclastos

O aumento do número de macrófagos na sinóvia da AR, reflecte uma estimulação da linhagem mielóide. No entanto, há outras

células desta linhagem que infiltram a membrana sinovial. Na AR, particularmente nas zonas de erosões ósseas, existem osteoclastos, diferenciados a partir de precursores mielóides e de macrófagos. A osteoclastogénese ocorre após a ligação do receptor celular *receptor activator of NFκB* (RANK), que se encontra à superfície de pré-osteoclastos, ao *receptor activator of NFκB ligand* (RANKL), produzido por osteoblastos, linfócitos T e fibroblastos activados.¹⁶³ Estas últimas células são importantes na destruição cartilaginosa por via directa, através da libertação de MMPs e catepsinas, mas a sua contribuição para a erosão óssea faz-se essencialmente por via indirecta, através da diferenciação e activação osteoclástica induzida pela produção de RANKL.¹⁶⁴ Há evidências de que os osteoclastos são os efectores finais do processo erosivo na AR. No interface *pannus*-osso existem células com todas as características de osteoclastos: células multinucleadas, produtoras de catepsina K, com receptores da calcitonina, *tartrate-resistant acid-phosphatase* (TRAP) positivas, indutoras de reabsorção óssea documentada por microscopia electrónica. Estes aspectos são observáveis na AR e em modelos animais de artrite, nos quais o bloqueio da acção do RANKL para a osteoclastogénese e previne as erosões.⁸⁴

A maior parte dos factores osteoclastogénicos presentes na sinovite reumatóide actuam através do aumento da produção de RANKL (TNF, IL-1, IL-6 e IL-17). No entanto, discute-se se o TNF poderá ter também um papel diferenciador directo dos osteoclastos (na presença de quantidades mínimas de RANKL)¹⁶⁵. Por outro lado o TNF é um indutor da libertação de IL-1, a qual constitui o principal sinal activador e de sobrevivência para os osteoclastos.⁸⁴ As células produtoras de IL-17 (Th17) expressam também na sua superfície RANKL. Paralelamente os osteoblastos e vários tipos celulares sinoviais, em resposta a vários estímulos (entre os quais o próprio TNF e a IL-1), libertam um receptor solúvel do RANKL, a osteoprotegerina (OPG), a qual se liga ao RANKL, bloqueando a osteoclastogénese.¹⁶⁶ A regulação da via sinalizadora RANKL-RANK não está, no entanto, exclusivamente dependente da OPG. De facto, a IL-4, a IL-10, o IFN-γ e as células T reguladoras são também inibidores da osteoclastogénese.¹⁶⁷ É interessante verificar que os

linfócitos T reumatóides expressam mRNA do RANKL, facto que não se verifica nos linfócitos T de indivíduos normais ou com osteoartrose (OA).¹⁶⁸ Por outro lado, no líquido sinovial dos doentes com AR existem concentrações elevadas de RANKL e relativamente menores concentrações de OPG.¹⁶⁹ Em concordância com estas observações documentámos um desequilíbrio da razão RANKL/OPG, favorável ao RANKL, na membrana sinovial de doentes com AR, em comparação com outras doença inflamatórias articulares.⁶¹ Posteriormente, num modelo animal de artrite, SKG¹⁷⁰, que desenvolve uma artrite crónica, em muitos aspectos semelhante à AR humana, documentámos que o osso destes ratinhos artríticos apresentava, por comparação com um controlo saudável, menor densidade, degradação das propriedades mecânicas (quer a nível vertebral, quer a nível dos fémures), diminuição da área trabecular, aumento da distância entre as trabéculas e alteração da proporção do colagénio polimerizado em relação ao colagénio fibrilhar, com formações nodulares de fibras de colagénio (Figura 13).^{171,172}

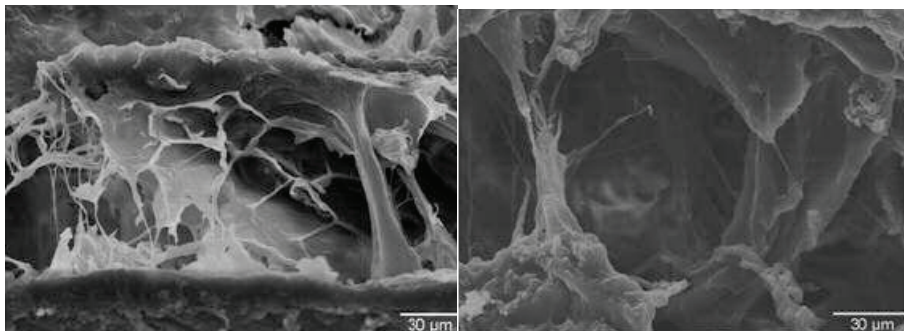


Figura 13. Diminuição da área trabecular e aumento do espaçamento entre trabéculas no osso de ratinhos SKG artríticos (fotografia da direita), por comparação com controlos (fotografia da esquerda). Microscopia electrónica de varrimento.

Retirado de Caetano-Lopes J, Nery AM, Canhao H, Duarte J, Cascao R, Rodrigues A, Perpetuo IP, Abdulghani S, Amaral PM, Sakaguchi S, Konttinen YT, Graca L, Vaz ME, Fonseca JE. Chronic arthritis leads to disturbances in the bone collagen network *Arthritis Res Ther.* 2010 Jan 15;12(1):R9.

Estas observações fornecem a base estrutural e biomecânica para a associação da inflamação articular e a produção de RANKL, não só às erosões articulares, mas também à osteoporose fracturária que se observa nas doenças reumáticas inflamatórias. Tendo por base estas observações, procurámos estabelecer se um desequilíbrio da razão RANKL/OPG poderia ocorrer a um nível clinicamente significativo também na osteoporose primária e se os níveis de TNF e os polimorfismos da região do promotor do TNF poderiam influenciar esta doença. Os resultados obtidos não revelaram diferenças entre indivíduos com osteoporose primária e os controlos, provando que estes mecanismos só são relevantes no contexto de inflamação concomitante.¹⁷³

3.3 Vias fisiopatológicas fundamentais das espondilartrites seronegativas: o exemplo da espondilite anquilosante

A associação entre a espondilite anquilosante (EA) e o HLAB27 constitui a mais forte associação imunogenética entre as doenças imunológicas humanas. Estão descritos 25 subtipos, com base na homologia das sequências de nucleótidos, que codificam 23 proteínas diferentes. Os subtipos B2705 e B2702 são os mais frequentes nos caucasianos e estão ambos associados à EA.¹⁷⁴ Embora esta associação seja claramente relevante, outros genes estão também envolvidos, conforme documentámos numa série de 360 doentes com EA em que a associação aos genes IL23R e ARTS1 também se verificava.¹⁷⁵

A análise da estrutura cristalina do HLAB27 é relevante para algumas das explicações para a fisiopatologia da EA. Na zona de ligação antigénica do HLAB27 existem bolsas (designadas de A a F) onde se localizam as cadeias laterais e as terminações amino e C dos péptidos que a ela se ligam. Verificou-se que a bolsa B, assinalada pela posição 45 da glutamina no apex da bolsa, está conservada em todos os subtipos HLAB27, mas é diferente das

outras moléculas HLAB.¹⁷⁶ Curiosamente, os subtipos B2709 e B2706, sem associação à EA, diferem do B2705 (associado à EA), na posição 116, localizada na bolsa F, sendo que esta diferença altera a especificidade de ligação do B27 e o reconhecimento por linfócitos T citotóxicos. Estas observações colocam a hipótese de que determinadas conformações da molécula B27, particularmente na região da bolsa B, poderão estar associadas à ligação de um péptido artrítico desconhecido.¹⁷⁷

A função principal das moléculas da classe I do HLA, como o B27, é a ligação a péptidos, derivados da proteólise intracelular de proteínas. Forma-se depois um complexo trimolecular com a β 2-microglobulina e estes péptidos são depois apresentados, por células apresentadoras de antígenos, às células T citotóxicas.¹⁷⁸ No contexto da EA, as células T citotóxicas autoreactivas, detectadas nesta doença, poderão ser produzidas durante a defesa contra bactérias, durante a qual seja apresentado também ao B27 um autoantígeno artrítico (derivado dos tecidos articulares ou das inserções ligamentares). Uma outra hipótese admite que os péptidos bacterianos apresentados possam ter uma antigenicidade cruzada com um tecido articular. Por outro lado, os péptidos derivados do próprio B27 poderão ser artríticos quando apresentados às células T citotóxicas.¹⁷⁹

Em ratos transgénicos para o B27 verificou-se que as manifestações clínicas só surgem quando os animais são expostos a um ambiente com bactérias.¹⁸⁰ Por outro lado, 60% dos doentes com EA apresentam envolvimento intestinal inflamatório, demonstrado por biopsia e histologia.¹⁸¹ Estas observações são concordantes com a demonstração de uma alteração da permeabilidade intestinal e um aumento dos linfócitos B CD45Ro⁺ circulantes, sugestivos da exposição a antígenos do lúmen intestinal, nos doentes com EA.¹⁸² Por fim, identificaram-se expansões de linfócitos T na membrana sinovial e no intestino e o aumento da IgA sérica contra várias bactérias (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis*).¹⁷⁸ Ao contrário das observações em doentes com artrite

reactiva, não há produtos bacterianos nas articulações sacroilíacas, nem foram observados linfócitos CD8 com especificidade para antígenos bacterianos na EA, continuando por esclarecer o papel exacto das infecções bacterianas na fisiopatologia desta doença.¹⁷⁸

Independentemente dos mecanismos envolvidos na interacção entre o HLAB27 e eventuais antígenos bacterianos, a avaliação da sinovite associada à EA revela a presença do mesmo tipo de infiltrado inflamatório descrito para a AR, embora na nossa série de doentes tenhamos detectado algumas particularidades por comparação com a AR, nomeadamente uma menor quantidade de linfócitos CD4, CD8 e CD19, menor expressão de RANKL e de IFN- γ e uma menor relação macrófagos CD68/CD163.⁶¹ Não é claro se estas diferenças traduzem processos patogénicos diferentes ou apenas um grau inferior de intensidade inflamatória. Um outro aspecto muito importante, perfeitamente paralelo ao que se verifica na AR, é o aumento da expressão do TNF e a eficácia do bloqueio desta molécula no tratamento desta doença. Motivados pela nossa experiência prévia na AR investigámos também em 115 doentes com EA qual a potencial relevância dos polimorfismos da região do promotor do TNF, tendo detectado que determinantes importantes da mobilidade axial são influenciados por variantes nas posições -238 e -308, o que reforça claramente a importância do TNF na fisiopatologia da EA.¹⁸³

3.4 Vias fisiopatológicas fundamentais na artrite idiopática juvenil

A fisiopatologia da artrite idiopática juvenil (AIJ) nas suas formas poliarticular com e sem factores reumatóides, na forma de início sistémico com manifestações essencialmente articulares, e na forma oligoarticular estendida é muito semelhante à AR.¹⁸⁴ Nas formas oligoarticulares, associadas à psoríase ou relacionadas com entesite a fisiopatologia comunga alguns aspectos com a fisiopatologia da

EA. De novo, um dos aspectos mais marcantes é a excelente resposta à terapêutica com antagonistas do TNF. Também neste caso, com a avaliação de um grupo de 114 crianças com AIJ, demonstrámos que polimorfismos na posição -308 da região do promotor do TNF influenciavam a actividade da doença (Figura 14).¹⁸⁵

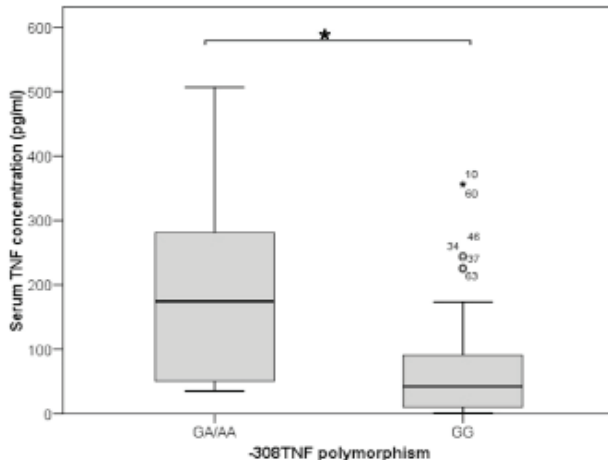


Figura 14. Os genótipos -308 GA eAA da região do promotor do TNF α apresentam níveis mais elevados de TNF α sérico (pg/ml) em crianças com artrite idiopática juvenil.

Retirado de Mourão AF, Caetano-Lopes J, Costa P, Canhão H, Santos MJ, Pinto P, Brito I, Nicola P, Cavaleiro J, Teles J, Sousa A, Gomes JM, Branco J, da Costa JT, Pedro JG, de Queiroz MV, Fonseca JE. Tumor necrosis factor-alpha -308 genotypes influence inflammatory activity and TNF-alpha serum concentrations in children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol.* 2009; 36: 837-42.

3.5 Vias fisiopatológicas fundamentais no lúpus eritematoso sistémico

A fisiopatologia do lúpus eritematoso sistémico (LES) continua pouco esclarecida. Os doentes com LES apresentam alterações histológicas caracterizadas por inflamação, vasculite, deposição de imunocomplexos e vasculopatia. Existe uma predisposição

genética, como sugere a concordância entre gémeos monozigóticos de 25 a 50% e entre gémeos dizigóticos de 5%.¹⁸⁶ A susceptibilidade à doença é multigénica, calculando-se que pelo menos 4 genes de susceptibilidade terão que estar presentes para que a doença se desenvolva¹⁸⁷. No entanto, a deficiência dos primeiros componentes do complemento (C1q, C1r/s e C2), são um factor de risco isolado para o LES e para doenças *lúpus-like*¹⁸⁸. Há uma associação clássica com o HLA DR2 e DR3, da classe II, mas nalguns grupos étnicos há também associação com alguns genes HLA classe III¹⁸⁹, aumentando o risco de ocorrência de LES em cerca de 2 a 5 vezes.¹⁸⁵ O nosso grupo esteve recentemente envolvido num estudo Europeu que determinou a associação do LES com um conjunto de 9 genes diferentes (STAT4, ITGAM, C8orf13-BLK, TYK2, 1q25.1, PXX, KIAA1542, MECP2, BANK1), cujas implicações futuras na investigação da etiopatogenia da doença ainda estão por definir.¹⁹⁰ Em tecidos com actividade inflamatória associada ao LES, como por exemplo no fígado (em hepatites autoimunes em doentes com LES, Figura 15) e no músculo (em miosites em doentes com diagnóstico de LES, Figura 16) documentámos a existência de um extenso infiltrado inflamatório linfoplasmocitário com expressão aumentada de IL-1 e TNF.¹⁹¹ Este aspecto sugere que em algumas manifestações o TNF é importante e isso mesmo foi confirmado recentemente pela eficácia de antagonistas desta molécula para o tratamento de artrite, doença cutânea e renal associadas ao LES. Tendo em conta os nossos estudos anteriores na AR, AIJ e EA estamos neste momento a avaliar a possível repercussão dos níveis de TNF e de polimorfismos da região do promotor do gene do TNF sobre a actividade da doença e prognóstico de uma população de 120 doentes com LES.

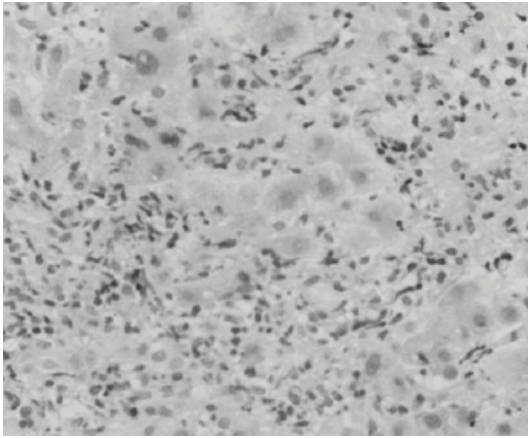


Figura 15. Hepatite autoimune em doente com lúpus eritematoso sistémico, mostrando um infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e necrose hepática. Hematoxilina-eosina.

Retirado de Fonseca JE, Reis P, Saraiva F, Crujo C, Baptista A, da Silva JA, Viana Queiroz M. A complex case of hepatitis in a patient with systemic lupus erythematosus. Clin Rheumatol 1999; 18:414-6.

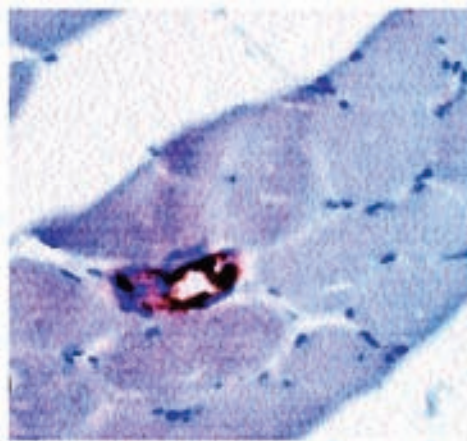


Figura 16. Imunomarcação para IL-1 com técnica de biotina-peroxidase. Contraste com hematoxilina. Ampliação 400x.

Retirado de Mackiewicz Z, Hukkanen M, Povilenaite D, Sukura A, Fonseca JE, Virtanen I, Konttinen YT. Dual effects of caspase-1, interleukin-1 beta, tumour necrosis factor-alpha and nerve growth factor receptor in inflammatory myopathies. Clin Exp Rheumatol 2003; 21: 41-8.

No LES ocorre um mosaico de alterações imunológicas que induzem a proliferação e activação policlonal dos linfócitos B, aumento da produção de anticorpos e formação de complexos imunes.¹⁷⁸ Paralelamente os linfócitos T mantêm um estímulo favorável à diferenciação e activação de linfócitos B produtores de autoanticorpos.¹⁷⁸ É desconhecido qual o factor desencadeante deste desequilíbrio imunológico. No entanto, conhecem-se alguns estímulos indutores da formação de anticorpos anti-DNA, nomeadamente alguns produtos químicos, DNA bacteriano, fosfolípidos da parede celular, antigénios virais e autoantigénios, como complexos de DNA ou RNA com proteínas.¹⁹⁴ Estes antigénios são fagocitados por células apresentadoras de antigénios ou são captados por anticorpos à superfície dos linfócitos B, que os processam em pequenos péptidos e os apresentam às células T. Por seu turno as células T activadas estimulam os linfócitos B, através do contacto directo, que requer moléculas co-estimuladoras, como os sistemas CD40/CD40L e B7/CD28/CTLA-4, e também através de interleucinas Th2, entre as quais se destaca a IL-10.¹⁸⁵ Estes doentes têm também um defeito das células CD8 supressoras e das células NK o que contribui para o processo de produção de autoanticorpos.¹⁹⁵ A produção destes autoanticorpos está associada à formação de complexos imunes que são eliminados por vários mecanismos, que estão deficitários no LES. De facto, nestes doentes há um baixo número de receptores CR1 para o complemento, ocorrem defeitos funcionais nos receptores celulares e a fagocitose dos complexos que contêm IgG2 e IgG3 é inadequada.¹⁸⁵

Nos doentes com LES ocorre um aumento da apoptose dos linfócitos, com redução da eliminação das células apoptóticas pelos macrófagos, o que aumenta a probabilidade do desenvolvimento de anticorpos contra nucleosomas e outros componentes do núcleo.¹⁹⁶ Num trabalho pioneiro verificámos que os anticorpos anti-SSA (La), encontrados frequentemente no LES e na síndrome

de Sjögren, reconhecem pequenas ribonucleoproteínas nucleares localizadas em agregados de grânulos de intercromatina, ancorados por actina.¹⁹⁷

Há factores ambientais que poderão estar envolvidos no desencadear das perturbações imunológicas que determinam o aparecimento do LES. Os agentes infecciosos podem perturbar a imunoregulação, factores dietéticos podem influenciar a produção de interleucinas, fármacos (procaïnâmica e hidralazina, por exemplo) e toxinas (corantes do cabelo, por exemplo) são capazes de alterar a resposta celular e a imunogenicidade de autoantígenos e alguns agentes químicos ou físicos (como a radiação ultravioleta) podem exercer efeitos pró-inflamatórios e indutores de apoptose.¹⁸⁵

3.6 Vias fisiopatológicas fundamentais nas vasculites

O termo vasculite designa um conjunto de doenças caracterizadas por inflamação e necrose dos vasos. Podem ser primárias ou secundárias a uma doença pré-existente (por exemplo a AR e o LES) ou a infecções (por exemplo as hepatites B e C, ou até a infecções estreptocócicas (Figura 17) ou por *Borrelia*¹⁹⁹, como recentemente documentámos). As manifestações clínicas são reflexo da dimensão, localização e número de vasos envolvidos. As artérias musculares podem apresentar lesões focais (indutoras aneurismas) ou segmentares (estenosantes e oclusivas). Podem ainda ocorrer lesões hemorrágicas ou necróticas.¹⁷⁸

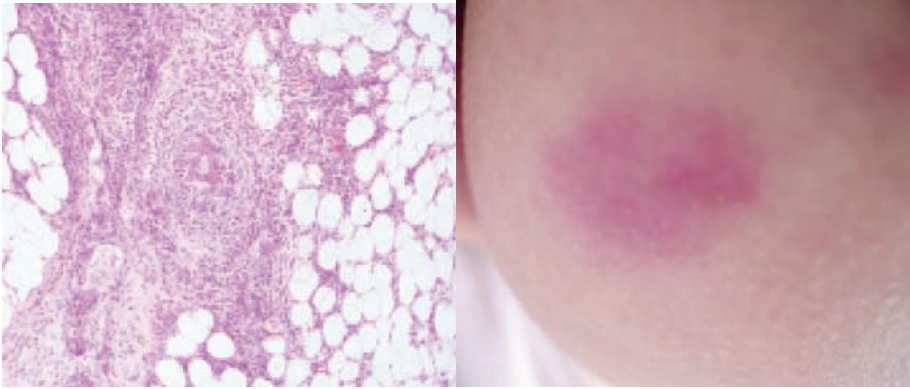


Figura 17. Vasculite necrosante da hipoderme desencadeado por infecção estreptocócica orofaríngea. Hematoxilina eosina (fotografia da esquerda). Nódulos cutâneos eritematosos correspondentes ao local da biopsia (fotografia da direita). Retirado de Ramos F, Figueira R, Fonseca JE, Canhão H, Mouzinho A, Valente P, Costa JT, Queiroz MV. Juvenile cutaneous polyarteritis nodosa associated with streptococcal infection. *Acta Reumatol Port*; 2006; 31:83-8.

As vasculites primárias, que têm um mecanismo melhor compreendido, são as vasculites associadas aos anticorpos anti-citoplasma do neutrófilo (ANCA).¹⁷⁸ Caracterizam-se por envolverem pequenos e médios vasos e apresentarem características clínicas comuns, com um predomínio de lesão glomerular (glomerulonefrite pauci-imune) e pulmonar (alveolite). Incluem-se neste grupo a granulomatose de Wegner, a poliangeíte microscópica e a síndrome de Churg-Strauss.¹⁷⁸ Os ANCA estão directamente envolvidos na fisiopatologia destas vasculites por causarem desgranulação dos neutrófilos e monócitos, com conseqüente lesão endotelial. Os ANCA são observáveis em imunofluorescência e podem ter dois padrões. Quando são dirigidos à mieloperoxidase (MPO), o padrão é perinuclear, designado por ANCA-p, o qual está mais associado à poliangeíte microscópica e à síndrome de Churg-Strauss. Quando são dirigidos para a protease 3 (PR3) surgem geralmente com um padrão citoplasmático (ANCA-c), mais associado à granulomatose de Wegner.¹⁷⁸ Para a ligação dos ANCA ao neutrófilo é necessário

um estímulo prévio ao leucócito de forma a este expressar PR3 ou MPO na sua superfície.¹⁷⁸ Este estímulo não está ainda perfeitamente identificado mas poderá ser químico (por exemplo, o propiltiouracilo pode aumentar a imunogenicidade da MPO) ou inflamatório, mediado por interleucinas. Os ANCA promovem a ligação do neutrófilo ao endotélio, com conseqüente lesão endotelial, que por sua vez gera a libertação de factores quimiotáticos para próprio neutrófilo, gerando um ciclo de retroacção positiva.²⁰⁰

Os ANCA poderão ser um factor desencadeador neste grupo de vasculites, mas estas doenças são depois sustentadas por outros mediadores. A resposta inflamatória é estimulada pelas células T e a produção de anticorpos está associada a um aumento do número de linfócitos B.¹⁷⁸ Estes linfócitos B produzem ANCA e também anticorpos anti-células endoteliais (os quais estão presentes noutras vasculites para além das 3 associadas aos ANCA), que podem causar lesão da célula endotelial através de mecanismos dependentes de citotoxicidade mediada por anticorpos, fixação do complemento, promoção da formação de trombos e recrutamento de neutrófilos para o local da lesão inicial.²⁰¹

Nas vasculites ocorre um aumento da produção de moléculas de adesão, nomeadamente VCAM-1, ICAM-1 e LFA-3, as quais estão envolvidas nos processos de adesão e migração dos leucócitos.²⁰² Ocorre também um aumento dos níveis séricos de TNF, IL-1 e IL-6, que explicam as manifestações sistémicas inflamatórias que ocorrem nas vasculites.²⁰³

A forma de envolvimento topográfico determina manifestações peculiares nos vários tipos de vasculites. Na poliartrite nodosa (PAN), a inflamação afecta maioritariamente vasos de médio calibre, condicionando lesões segmentares e focais, com inflamação e necrose, formação de aneurismas e necrose tecidual quando há obliteração de vasos.¹⁷⁸ Na arterite temporal o envolvimento é predominantemente das artérias musculares que emergem do arco aórtico. As lesões iniciais são segmentares e estão geralmente confinadas a infiltrados

nas lâminas elásticas interna e externa.¹⁷⁸ Com a progressão da lesão ocorre espessamento da íntima, fragmentação da lâmina elástica interna, inflamação transmural, granulomas e células gigantes multinucleadas.¹⁷⁸ Estas lesões são caracterizadas pela presença de linfócitos T com um padrão Th1 e macrófagos, produtores de IL-1 e TGF- β . A arterite de Takayasu envolve também grandes vasos, geralmente artérias elásticas, que sofrem uma inflamação transmural, crónica e granulomatosa.¹⁷⁸ Estas lesões condicionam o aparecimento de zonas de estenose arterial e de dilatação pós-estenótica.¹⁷⁸ A angéite leucocitoclástica cutânea é um processo de inflamação de pequenos vasos da pele, particularmente das vénulas pós-capilares, acompanhado por inflamação transmural, necrose fibrinóide e presença de detritos nucleares dos neutrófilos.¹⁷⁸ A angéite leucocitoclástica cutânea corresponde mais a um termo de patologia do que a um diagnóstico clínico. Embora possa de facto corresponder a uma vasculite puramente cutânea estes aspectos patológicos encontram-se também na púrpura de Henoch-Schönlein (onde ocorrem depósitos de IgA e pode coexistir envolvimento glomerular, articular e do tubo digestivo) e na crioglobulinémia mista (geralmente associada a depósitos de IgG e IgM e possível lesão glomerular).¹⁷⁸ A doença de Behçet tem uma imunopatologia um diferente das restantes vasculites. Nesta doença, as proteínas de choque térmico (*heat-shock proteins*, HSP) e os macrófagos desempenham um papel muito importante, para além de estarem igualmente envolvidos neutrófilos e interleucinas como a IL-1, o TNF e a IL-8.¹⁷⁸ Na doença de Behçet ocorrem reacções inflamatórias vasculares com infiltrados neutrofilicos. Este fenómeno causa disfunção endotelial com uma redução da produção de prostaciclina e uma perturbação dos mecanismos da coagulação.¹⁷⁸ A associação ao HLA-B51 e a relevância das HSPs, que partilham uma homologia com vários agentes infecciosos, coloca a hipótese da existência de um factor precipitante infeccioso, no contexto de uma predisposição genética.²⁰⁴

3.7 Vias fisiopatológicas fundamentais nas artrites microcristalinas.

A ideia clássica da fisiopatologia das artrites microcristalinas baseava-se no princípio da libertação de cristais de ácido úrico ou de pirofosfato de cálcio, provenientes dos vários tecidos articulares, no líquido sinovial, causando um processo inflamatório reactivo. Esta explicação revelou-se demasiado simplista, porque podem existir cristais de ácido úrico e de pirofosfato de cálcio em articulações assintomáticas, sujeitos a um intenso processo de fagocitose, mas gerando apenas uma discreta reacção inflamatória.²⁰⁵ De facto demonstrámos, numa série de 50 doentes com deposição de cristais de pirofosfato de cálcio na cartilagem e menisco (condrocalcinose, Figura 18), que 18% não tinham sinovite.²⁰⁶

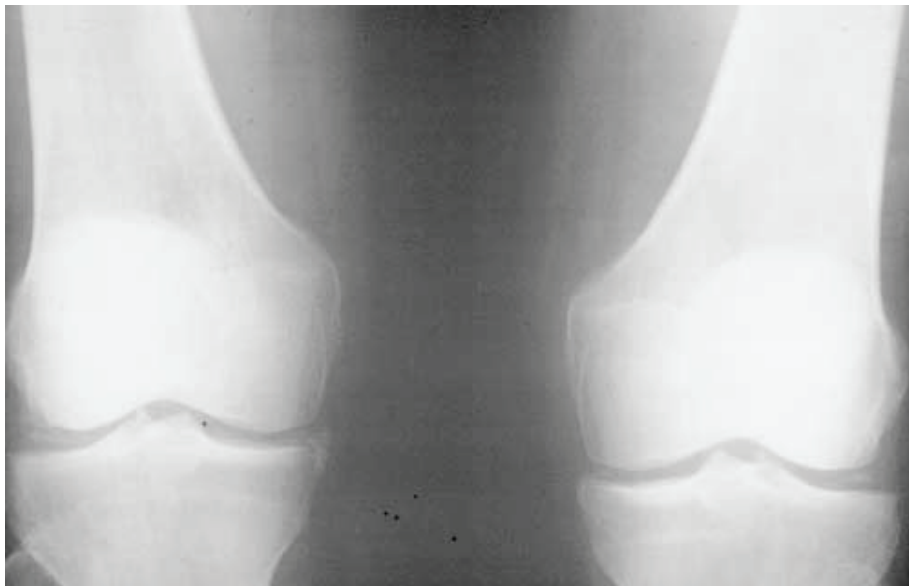


Figura 18. Calcificações dos meniscos em doente com condrocalcinose.

Retirado de Canhão H, Fonseca JE, Leandro MJ, Romeu JC, Pimentão JB, Costa JT, Queiroz MV. Cross-sectional study of 50 patients with calcium pyrophosphate dihydrate crystal arthropathy. *Clin Rheumatol* 2001;20:119-22.

As artrites microcristalinas podem comportar-se como uma doença inflamatória crónica, com uma fisiopatologia baseada na interacção entre as células e os cristais presentes no líquido, na membrana sinovial e nos tecidos circundantes.¹⁷⁸ Nos períodos intercríticos existe uma discreta inflamação articular, subclínica, que se torna sintomática nas crises de artrite. Esta fase assintomática poderá estar dependente da eliminação dos cristais por macrófagos maduros, que, ao contrário dos monócitos e de macrófagos mais imaturos, produzem menos TNF, IL-1 e IL-6 em resposta à presença dos cristais.²⁰⁷ O factor desencadeante das crises, contributivo para a perturbação deste equilíbrio existente nos períodos assintomáticos é desconhecido, mas poderá relacionar-se com perturbações nos mecanismos de controlo do inflamassoma. Quando um novo surto inflamatório tem início há vários mecanismos amplificadores da resposta, entre os quais a síntese *de novo* de ciclooxigenase-2²⁰⁸, a falência dos mecanismos de apoptose dos neutrófilos e a activação directa da cascata do complemento. No caso das artrites por deposição de pirofosfato de cálcio os mecanismos de cronicidade do processo inflamatório poderão ser semelhantes aos descritos no contexto de doenças como a AR. A nossa experiência de observação de biopsias sinoviais de artrites microcristalinas mostra que o padrão do infiltrado inflamatório é semelhante ao da AR, mas com menor quantidade de linfócitos T CD4 e B e menor expressão de RANKL.⁶¹ Este facto reforça o conceito das artrites microcristalinas poderem ser consideradas doenças inflamatórias articulares crónicas.

4. Impacto da biotecnologia nas novas estratégias terapêuticas das doenças reumáticas inflamatórias

4.1 O modelo da Artrite Reumatóide.

A evolução do conhecimento da fisiopatologia da artrite reumatóide (AR) permitiu clarificar quais os protagonistas fundamentais na sinovite reumatóide. Estes avanços permitiram a concepção de terapêuticas revolucionárias, dirigidas contra alvos específicos nos mecanismos celulares e moleculares de controlo da resposta imunitária e inflamatória, designadas por terapêuticas biotecnológicas (ou biológicas, como se popularizaram na comunidade médica). Estas terapêuticas estão em clara fase de expansão. Em 1999, começámos a utilizar em ambiente de ensaio clínico, os antagonistas do TNF num número muito reduzido de doentes e menos de dez anos depois, temos em seguimento crónico no Hospital de Dia do HSM, centenas de doentes tratados. Na prática clínica diária estão disponíveis três inibidores do TNF (o adalimumab, o etanercept e o infliximab), um antagonista da IL-1 (o anakinra), um depletor dos linfócitos B (o rituximab) e um modulador da co-estimulação dos linfócitos T (o abatacept). Para além disso, estão em várias fases de desenvolvimento novos inibidores do TNF e muitas outras moléculas que interferem com a sinalização intracelular das células imunitárias, modulam a função dos linfócitos B e inibem diversos receptores ou ligandos documentadamente relevantes na resposta imunitária. Por isso, a AR tem funcionado como o protótipo das doenças reumáticas inflamatórias para ensaio de novas opções terapêuticas biotecnológicas aplicáveis noutras doenças deste grupo, como o LES, EA, AIJ e as vasculites sistémicas.

Como se discutiu anteriormente, a AR é uma doença sistémica grave, com diminuição da esperança média de vida e com grande impacto funcional e socio-económico para o indivíduo e para a sociedade. Embora a AR seja uma doença crónica, existe neste momento evidência de que a destruição induzida pela inflamação ocorre de uma forma muito precoce e irreversível, sendo fundamental oferecer a estes doentes uma terapêutica correcta, agressiva e precoce. De facto, dois terços dos doentes desenvolvem

erosões no primeiro ano de doença²¹¹ e, muito antes disso, antes mesmo de surgir sinovite clínica, é possível detectar erosões através da ressonância magnética.²¹² No entanto, é provável que este comportamento rapidamente destrutivo possa ser modulado, tendo-se verificado que o início precoce da terapêutica de fundo contribui para uma menor progressão da doença, quer do ponto de vista funcional²¹³, quer do ponto de vista radiológico^{214,215}, podendo aumentar a probabilidade de indução de remissão²¹⁶ e reduzir a mortalidade da AR.²¹⁷ Numa série de 189 doentes verificámos que nos doentes em que a terapêutica com metotrexato (MTX) foi iniciada nos primeiros 2 anos de doença, 38,3% dos doentes entraram em remissão, enquanto nos doentes em que a terapêutica foi iniciada após os primeiros 2 anos, apenas 16,3% entraram em remissão (Figura 19).²¹⁸

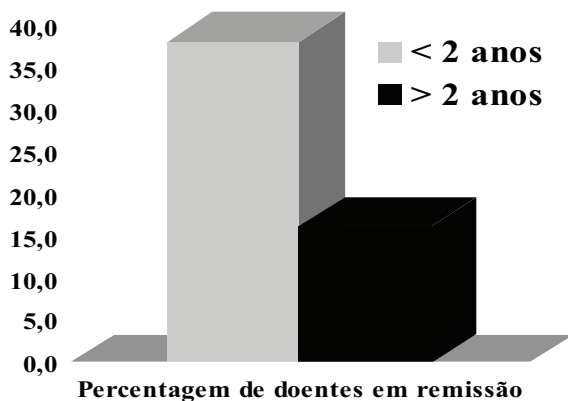


Figura 19. Doentes com artrite reumatóide com menos de 2 anos de evolução têm maior probabilidade de entrar em remissão com metotrexato do que doentes com maior tempo de duração da doença.

Retirado de Fonseca JE, Queiroz MV. Estudo da eficácia, tolerância e aceitabilidade da terapêutica da Artrite Reumatóide com metotrexato- experiência dos últimos 10 anos. Boletim CIAR 1999; 7: 83-8.

O objectivo actual da terapêutica da AR é a indução de remissão. Quando este desiderato não é alcançável procura-se aliviar a dor, reduzir o processo inflamatório, manter a função das articulações afectadas e prevenir as deformações.²¹⁹ A terapêutica da AR assenta num conjunto de medidas gerais e na utilização de fármacos que controlam o processo inflamatório. As medidas gerais incluem a educação do doente e dos familiares, apoio de medicina física e de reabilitação, apoio psicológico, prevenção e tratamento das doenças associadas e abordagem cirúrgica de articulações estruturalmente lesadas²¹⁹. A terapêutica farmacológica baseia-se nos fármacos modificadores da doença (*disease modifying anti-rheumatic drugs* - DMARD), corticosteróides em dose baixa, anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) e analgésicos.

O conceito clássico de DMARD pressupõe que o uso destes fármacos melhora, a longo prazo, a capacidade funcional e reduza os danos radiológicos, para além de diminuir as manifestações clínicas e laboratoriais de inflamação. Este conceito exclui os AINEs e os corticosteróides. No entanto, existem evidências recentes que sugerem que a prednisona, quando instituída em fase precoce, pode ter um efeito no atraso da progressão radiológica da doença²²⁰ e, como tal, possa ser candidata a ser classificada como DMARD.

O conjunto de fármacos de fundo passíveis de utilização na AR é vasto, podendo ser dividido de uma forma esquemática em dois grupos principais: DMARDs convencionais e terapêuticas biotecnológicas. Na avaliação da eficácia destes fármacos é importante considerar pelo menos dois parâmetros: a melhoria das manifestações inflamatórias e a capacidade de retardar a progressão estrutural da AR. Foram publicados numerosos ensaios clínicos comparativos da capacidade de controlar a actividade inflamatória dos DMARD clássicos e nem sempre os resultados foram consensuais. No entanto, uma meta-análise rigorosa da eficácia clínica destes fármacos documentou uma equivalência

do MTX, sais de ouro parentéricos, sulfassalazina (SZ) e d-penicilamina; sendo que estes fármacos aparentam superioridade em relação aos sais de ouro orais e aos anti-palúdicos.²²¹ Por outro lado, é possível inferir, a partir da interpretação de vários ensaios clínicos e meta-análises, uma provável equivalência no controlo da progressão radiológica entre o MTX, SZ, sais de ouro intramusculares, leflunomida e ciclosporina; sendo estes fármacos provavelmente superiores à azatioprina, sais de ouro orais e anti-palúdicos.^{222,223,224,225,226}

Para o tratamento de uma doença crónica, como a AR, não é suficiente que um DMARD seja eficaz, é necessário que seja igualmente bem tolerado. Este aspecto é muito relevante para explicar o sucesso relativo de cada DMARD porque, de facto, estes fármacos diferem significativamente no tipo e frequência de efeitos adversos, particularmente no perfil de efeitos adversos graves, que exigem a interrupção da terapêutica. Estudámos uma coorte de 423 doentes com AR, com um período médio de exposição a DMARDs de 3,6 anos, tendo verificado que 47,6% apresentaram efeitos adversos, motivando a interrupção do fármaco em 29,3%. Neste estudo o MTX e a SZ foram os 2 fármacos que causaram menos interrupções motivadas por efeitos adversos. Pelo contrário, fármacos como os sais de ouro parentéricos e a d-penicilamina apresentaram uma elevada frequência de efeitos adversos e, particularmente, uma elevada percentagem de efeitos adversos grave (Figura 20)²²⁷.

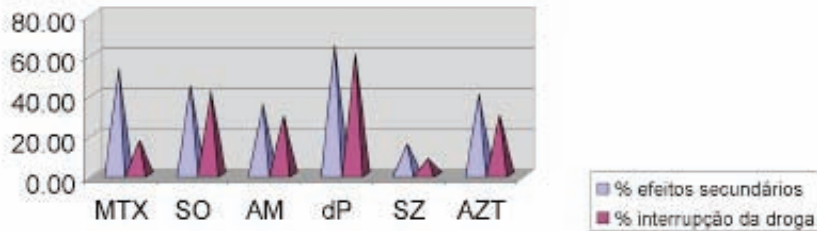


Figura 20. O metotrexato (MTX) e a sulfassalazina (SZ) são os fármacos com menor interrupção da terapêutica motivada por efeitos adversos. SO- sais de ouro injectáveis, AM- antimaláricos, dP- d-penicilamina, AZT- azatioprina.

Retirado de Fonseca JE, Queiroz MV. Efeitos adversos das drogas de acção lenta na terapêutica da artrite reumatóide - experiência dos últimos 20 anos (1977-1997). Boletim CIAR 1999; 9: 3-7.

Como se deduz deste conjunto de dados, o MTX é um fármaco com um excelente perfil toxicidade-eficácia, aliando esse factor à comodidade posológica (administração semanal, por via oral, subcutânea ou intramuscular), o que se traduz por ser o DMARD com o qual é possível manter uma terapêutica continuada durante mais tempo. Efectivamente, ao fim de 3 anos, mais de 60% dos doentes mantêm a terapêutica com MTX e aos 5 anos 50% dos doentes continuam a usar com eficácia e boa tolerância este DMARD²²⁸, enquanto menos de 20% das outras terapêuticas é mantida por mais de 5 anos.²²⁹ Uma meta-análise recente documentou que o MTX é o fármaco com maior probabilidade de induzir uma remissão rápida e de permitir uma terapêutica duradoura.²³⁰ O efeito do MTX pode ser potenciado com terapêuticas combinadas com a sulfassalazina e hidroxycloquina²³¹ e com a ciclosporina.²³² A sua associação com a leflunomida também aumenta a eficácia e é aparentemente segura²³³, mas receios de uma potenciação da toxicidade hepática têm restringido o seu uso. Como seria expectável, este efeito benéfico da terapêutica combinada com MTX foi também documentado na terapêutica precoce da AR.²¹⁵ Com base nestas sólidas evidências,

a terapêutica com MTX, iniciada precocemente, é considerada o *gold standard* contra o qual novas terapêuticas deverão ser comparadas.²³⁴ Dada a relevância da utilização deste fármaco foram emitidas recomendações internacionais para a sua utilização, na qual o nosso grupo colaborou activamente (Quadro 7).²³⁵

Recommendation	Level of Evidence
1. The work-up for patients starting MTX should include clinical assessment for risk factors of MTX toxicity (including alcohol intake), patient education, AST, ALT, albumin, CBC, creatinine, chest X-Ray (obtained within the previous year); consider serology for HIV, hepatitis B/C, blood fasting glucose, lipid profile and pregnancy test.	4
2. Oral MTX should be started at 10-15 mg/wk, with escalation of 5 mg every 2-4 weeks up to 20-30 mg/wk, depending on clinical response and tolerability; parenteral administration should be considered in case of inadequate clinical response or intolerance.	2b
3. Prescription of at least 5 mg folic acid per week with MTX therapy is strongly recommended.	1a-
4. When starting MTX or increasing the dose, ALT with or without AST, creatinine, and CBC, should be performed every 1 to 1.5 months until a stable dose is reached, and every 1 to 3 months thereafter; clinical assessment for side effects and risk factors should be performed at each visit.	4
5. MTX should be stopped if there is a confirmed increase in ALT/AST > 3 times the ULN, but may be reinstated at a lower dose following normalization. If the ALT/AST are persistently elevated up to 3 times the ULN, the dose of MTX should be adjusted; diagnostic procedures should be considered in case of persistent elevated ALT/AST more than 3 times the ULN after discontinuation.	2b
6. Based on its acceptable safety profile, MTX is appropriate for long term use.	2b
7. In DMARD naïve patients the balance of the efficacy/toxicity favours MTX monotherapy over combination with other conventional DMARDs; MTX should be considered as the anchor for combination therapy when MTX monotherapy does not achieve disease control.	1a-
8. MTX, as a steroid-sparing agent, is recommended in giant-cell arteritis and polymyalgia rheumatica and can be considered in patients with systemic lupus erythematosus or (juvenile) dermatomyositis.	1b
9. MTX can be safely continued in the peri-operative period in rheumatoid arthritis patients undergoing elective orthopaedic surgery.	1b
10. MTX should not be used for at least 3 months prior to planned pregnancy for males and females, and should not be used during pregnancy or breast feeding.	4

Quadro 7. Recomendações internacionais para o uso do metotrexato (MTX), ULN- upper limit of normal, CBC- cell blood count.

Retirado de Visser K, Katchamart W, Loza E, Martinez-Lopez JA, Salliot C, Trudeau J, Bombardier C, Carmona L, van der Heijde D, Bijlsma J, Boumpas DT, Canhao H, Edwards CJ, Hamuryudan V, Kvien TK, Leeb BF, Martín-Mola E, Mielants H, Müller-Ladner U, Murphy G, Østergaard M, Pereira IA, Ramos-Remus C, Valentini G, Zochling J, Dougados M. Multinational evidence-based recommendations for the use of methotrexate in rheumatic disorders: integrating systematic literature research and expert opinion of a broad international panel of rheumatologists in the 3E Initiative. *Ann Rheum Dis.* 2009; 68: 1086-93.

O infliximab²³⁶, o etanercept²³⁷, o anakinra²³⁸, o adalimumab²³⁹, o rituximab²⁴⁰ e o abatacept²⁴¹ são eficazes no controlo da sintomatologia inflamatória em associação com o MTX em doentes com resposta inadequada ao MTX. Está claramente documentado um efeito retardador da progressão radiológica com a utilização do infliximab²⁴², etanercept²⁴³, anakinra²⁴⁴, adalimumab²⁴⁵, rituximab²⁴⁶

e abatacept.²⁴⁷ Salienta-se que também na utilização destes fármacos biotecnológicos a terapêutica agressiva e precoce produz melhores resultados e aumenta significativamente a hipótese de indução de remissão.²⁴⁸ Os dois primeiros fármacos que entraram na prática clínica foram o etanercept e o infliximab, em 1999, tendo a nossa experiência clínica com fármacos de biotecnologia sido iniciada nesse ano. Os resultados que publicámos dos primeiros 41 doentes (25 sob etanercept e 16 sob infliximab)²⁴⁹ tratados num contexto de prática clínica diária (fora do ambiente controlado de ensaio clínico) demonstraram, ao fim de um tempo médio de seguimento de 3 anos, uma redução significativa da actividade da doença, da capacidade funcional e uma paragem da progressão radiológica. Consequentemente foi possível reduzir a dose de MTX e prednisona em ambos os grupos de doentes, bem como o número de doentes a tomar AINEs. Salientamos que estes primeiros doentes tratados constituíam um subgrupo com longa duração de doença (em média 10 anos), ausência de resposta a vários DMARDs prévios (em média 3) e doença erosiva avançada, mas mesmo assim a taxa de manutenção da terapêutica foi de 81,3% nos doentes tratados com etanercept e de 76% dos doentes tratados com infliximab, números claramente superiores ao que observávamos habitualmente com os DMARDs convencionais. Em 6 doentes tratados com infliximab (27,3%) a dose e/ou a frequência de infliximab foi aumentada para manter a eficácia e em 2 doentes teve que se mudar para etanercept para manter a resposta. É interessante salientar que mesmo em doentes que têm actividade residual inflamatória existe uma paragem da progressão das lesões estruturais como documentámos numa série de doentes tratados com infliximab e monitorizados por ressonância magnética (Figura 21).²⁵⁰

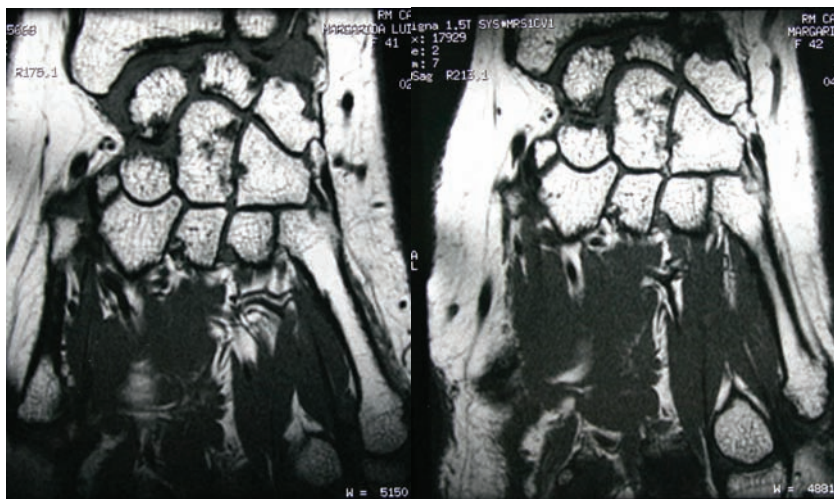


Figura 21. Duas imagens de ressonância magnética obtidas com um intervalo de 1 ano, ilustrando a paragem de progressão das lesões erosivas em doente com AR tratado com infliximab e que manteve actividade ligeira da doença.

Retirado de Fonseca JE, Canhão H, Jalles Tavares N, Cruz M, Branco J, Viana Queiroz M. Persistent low grade synovitis without erosive progression in magnetic resonance imaging of rheumatoid arthritis patients treated with infliximab over one year. *Clin Rheumatol.* 2009; 28: 1213-6.

Coordenámos, no contexto do Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide (GEAR) da Sociedade Portuguesa de Reumatologia (SPR), a análise dos primeiros 376 doentes com AR tratados com terapêuticas biotecnológicas em Portugal (infliximab - 135, etanercept - 121, adalimumab - 101, anakinra - 14, abatacept - 4, rituximab - 1), os quais apresentavam um perfil muito semelhante à experiência inicialmente reportada²⁴⁸, destacando-se a necessidade de troca entre regimes terapêuticos em 22 doentes, por ineficácia terapêutica.²⁵¹ Apesar da excelente eficácia desta classe terapêutica, na nossa experiência pessoal no Hospital de Dia de Reumatologia do HSM, onde mais de 150 doentes com AR são regularmente tratados com terapêuticas biotecnológicas, cerca de 30% não responde adequadamente ao tratamento iniciado e necessita de trocar para outra terapêutica deste grupo. Existe neste momento

um conhecimento razoável sobre a rentabilidade de mudança entre dois fármacos antagonistas do TNF, resultante essencialmente de dados observacionais de registos de doentes. Estes dados sugerem que em 50% dos casos esta mudança seja benéfica para o doente, mas em caso de falência do segundo antagonista do TNF a rentabilidade de uma segunda troca é muito reduzida.²⁵² Nestes casos a evidência produzida por ensaios aleatorizados e controlados em doentes que não responderam a antagonista do TNF e que foram posteriormente tratados com o rituximab²⁵³ e com o abatacept²⁵⁴ favorece claramente a utilização destes fármacos.

Apesar dos receios teóricos iniciais, estes fármacos têm revelado nos ensaios clínicos uma taxa de infecções graves e de neoplasias semelhante ao grupo controlo (placebo ou doentes sob MTX). No entanto, o seguimento dos doentes no dia-a-dia, fora do contexto de ensaios clínicos, tem revelado alguns problemas que sublinham o grande cuidado e vigilância que os doentes com AR sob terapêuticas biológicas exigem.²⁵⁵ Na nossa série inicial de doentes, registaram-se 2 eventos adversos graves nos doentes tratados com etanercept (neoplasia uterina e pneumonia) e 3 nos doentes tratados com infliximab (neoplasia cerebral, morte súbita de causa não apurada no período de tempo entre 2 infusões do fármaco e reacção de hipersensibilidade). É importante salientar que os casos de neoplasia cerebral e de neoplasia uterina tiveram o diagnóstico estabelecido semanas após o início da terapêutica, não sendo provável a associação ao uso dos fármacos. Em relação ao episódio de morte súbita, ele passou-se num indivíduo idoso de risco cardiovascular elevado e provavelmente também sem relação com o uso do fármaco.²⁴⁸ Um alerta da *Food and Drug Administration* (FDA) para a possibilidade do aumento do número de linfomas em doentes com AR sob terapêutica com antagonistas do TNF, lançou alguma discussão sobre o tema, porque o problema não é inteiramente claro, uma vez que a AR *per se*, particularmente quando é grave, está associada a uma maior incidência de linfomas.²⁵⁶

Outro problema completamente diferente é o aumento do risco de infecções graves, particularmente de casos de tuberculose. Este assunto é peculiarmente relevante no contexto de Portugal onde a incidência é elevada na população geral. Coordenámos uma caracterização de todos os casos de tuberculose observados no contexto da utilização de antagonistas do TNF em todos os Serviços de Reumatologia Portugueses, entre 1999 e 2005, correspondendo a 13 casos em 960 doentes expostos (1,3%), com a particularidade da maioria (7) terem sido extra-pulmonares, graves, tendo um deles sido fatal. Quatro dos casos foram registados antes do esquema de prevenção ter sido instituído em 2002, que consistia numa radiografia do tórax postero-anterior e uma prova tuberculínica (PT).²⁵⁷ Este esquema preventivo, apoiado na prática em curso para outras situações de rastreio, a nível nacional e internacional, determinava que caso a radiografia do tórax fosse sugestiva de alterações compatíveis com tuberculose antiga não tratada ou a PT fosse superior a 10mm se deveria fazer terapêutica com isoniazida 300mg, durante 9 meses, podendo o doente iniciar o antagonista do TNF 1 mês após o início da isoniazida. No entanto, os restantes 9 casos observaram-se em doentes em que as recomendações vigentes tinham sido aplicadas. Em 3 destes 9 casos o resultado da PT foi de 0mm e em 3 foi inferior a 10mm. Consequentemente estes 6 doentes não foram tratados com isoniazida. Os restantes 3 casos tinham sido tratados com isoniazida durante 9 meses por apresentarem PT de 14mm num caso e de 20mm em dois casos. Nos três casos em que o resultado foi superior a 10mm, foi prescrita isoniazida (IZN) 300mg durante 9 meses (Quadro 8).²⁵⁷

Quadro I – Caracterização dos doentes com TB

Doente	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Sexo	M	F	F	F	F	F	M	F	M	M	M	F	F
Idade (anos)	35	54	59	56	63	48	25	22	49	42	40	46	68
Doença reumática	EA	AR	AR	AR	AR	AP	EA	AR	AR	AR	AR	AR	EA
Duração da patologia (anos)	3	6	7	23	7	18	5	2	17	9	25	8	50
Biológico	INF	ADA	INF	ADA	INF	INF	INF	ADA	ETA	ADA	INF	INF	INF
Duração do biológico até TB (meses)	3	10	70	4	7	16	3	7	20	11	5	28	26
DMARD concomitante	MTX	não	MTX	MTX	MTX	MTX			MTX	MTX	MTX	MTX	SLZ
			7,5	10	12,5	15	não	não	20	15	20	10	2
									+SLZ 2				
PT	<10	14	*	20	*	20	0	0	*	<10	0	<10	*
IZN	N	S	N	S	N	S	N	N	N	N	N	N	N
Intervalo sintomas e diagnóstico TB (meses)		1	1,7	7	3	1	0,8	0,5	3,5	1	1	10	1
Localização TB	P+	P	P	Gg	Gg	P	Gg+esplen	P	P	Miliar	Peritoneal	Osteoart	P
Evolução TB	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Óbito	Boa	Boa

ADA – adalimumab; AP- artrite psoriática; AR – artrite reumatóide; DMARD – fármaco modificador de doença reumática; EA - espondilite anquilosante; ETA – etanercept; F – feminino; Gg – ganglionar; INF – infliximab; IZN – isoniazida; M – masculino; MTX – metotrexato; P – pulmonar; PT – prova tuberculínica; SLZ – sulfassalazina; TB- tuberculose; * Doente que iniciou anti-TNF antes de 2002.

Quadro 8. Caracterização dos casos de tuberculose em 960 doentes portugueses expostos a antagonistas do TNF α .

Retirado de Fonseca JE, Canhão H, Silva C, Miguel C, Mediavilla MJ, Teixeira A, Castelão W, Nero P, Bernardes M, Bernardo A, Mariz E, Godinho F, Santos MJ, Bogas M, Oliveira M, Saavedra MJ, Barcelos A, Cruz M, Santos RA, Maurício L, Rodrigues M, Figueiredo G, Quintal A, Patto JV, Malcata A, da Silva JC, Araújo D, Ventura F, Branco J, Queiroz MV; Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Tuberculosis in rheumatic patients treated with tumour necrosis factor alpha antagonists: the Portuguese experience. *Acta Reumatol Port.* 2006;31:247-53.

Estas observações geraram a necessidade de uma profunda reforma das recomendações nacionais. Este projecto foi coordenado por nós e foi um trabalho de consenso com a Sociedade Portuguesa de Reumatologia e Sociedade Portuguesa de Pneumologia que gerou uma redefinição das recomendações. Estas novas recomendações estabeleceram a necessidade de um inquérito rigoroso de factores de risco para tuberculose efectuado por um especialista em tuberculose (nos Centros de Diagnóstico Pneumológico), passaram

o *cut-off* da PT para 5mm e passou a ser necessário repetir no braço contra lateral a PT, quando o valor da primeira prova era inferior a 5mm.²⁶⁰ As recomendações foram actualizadas de novo em 2008, acrescentando que em doentes com uma exposição prolongada a imunossuppressores, se o especialista em tuberculose considerar que o risco de doença de novo ou de reactivação for superior ao risco da exposição à isoniazida, este fármaco deverá ser prescrito, mesmo que toda a avaliação anteriormente descrita tenha sido negativa (Figura 22).²⁶¹

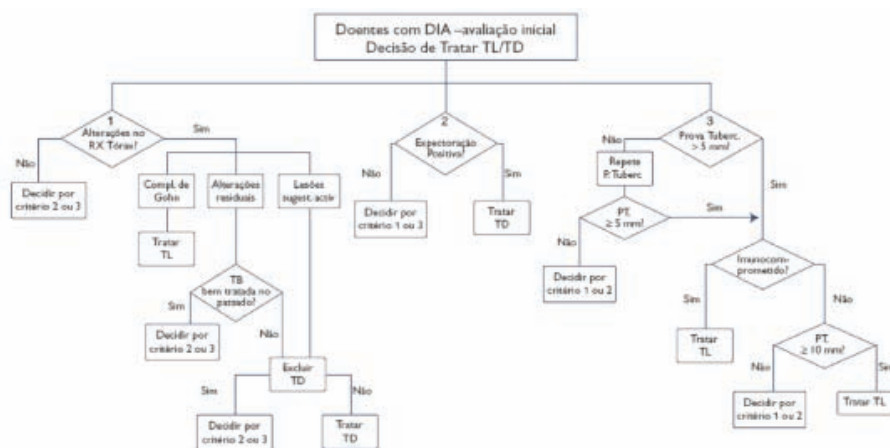


Figura 22. Fluxograma de decisão para tratar tuberculose (TB) latente (TL) ou tuberculose doença (TD) em doentes candidatos a terapêutica antagonista do TNF- α . A decisão de tratar TL num doente previamente imunocomprometido, sem critérios 1 ou 3, deve ser assumida após ponderar benefício/risco da exposição a antibacilares.

Retirado de Fonseca JE, Lucas H, Canhão H, Duarte R, Santos MJ, Villar M, Faustino A, Raymundo E. Recommendations for the diagnosis and treatment of latent and active tuberculosis in inflammatory joint diseases candidates for therapy with tumour necrosis factor alpha inhibitors: March 2008 update. *Acta Reumatol Port* 2008; 33: 77-85.

Na nossa experiência no Hospital de Dia de Reumatologia do HSM instruímos o doente de forma detalhada sobre a necessidade de interrupção do fármaco quando ocorrem intercorrências

infecciosas e de procurar imediatamente assistência médica no nosso Hospital de Dia. Adoptamos uma atitude activa e agressiva perante síndromes febris não esclarecidas ou tosse sem etiologia clara de forma a minimizar as hipóteses de não detectarmos um caso de tuberculose. Alguns doentes já efectuaram terapêutica antibacilar para tuberculose doença com base na elevada probabilidade de infecção tuberculosa, embora sem isolamento do agente. Os doentes têm também indicação para suspender o fármaco biotecnológico em média 5 semividas antes de uma cirurgia ou gravidez programadas. Seguimos também uma política proactiva de informação dos médicos de família dos riscos que estes doentes podem ter e quais as atitudes que devem seguir. Com esta atitude, a nossa experiência de utilização destes fármacos é excelente e modificou completamente a nossa visão do tratamento e prognóstico das doenças reumáticas e da Reumatologia em geral. Apesar destas terapêuticas acarretarem um custo directo elevado (superior a 1000 euros/mês/doente), este esforço económico do Sistema Nacional de Saúde deve ser avaliado no contexto do aumento da capacidade funcional e da prevenção da incapacidade que os doentes tratados com estes fármacos usufruem, que a médio/longo prazo se traduz por um benefício económico.²⁶² A este facto, deve adicionar-se a previsível redução dos custos deste grupo farmacológico, num futuro próximo, tendo em conta a introdução de múltiplas opções no mercado. Para além disso, a melhoria induzida em doentes adequadamente seleccionados é tão drástica e inequívoca, atingindo critérios de remissão clínica e laboratorial, que é eticamente muito discutível a utilização de argumentos financeiros para limitar o uso destes fármacos.

Para garantir que os doentes com AR com indicação para efectuar terapêuticas biotecnológicas tenham a elas acesso de uma forma clara e cientificamente inquestionável, em segurança e com garantias de vigilância médica de qualidade temos promovido e coordenado, desde o início da presente década, recomendações

nacionais, patrocinadas pela Sociedade Portuguesa de Reumatologia, para o uso de terapêuticas biotecnológicas na AR, as quais são actualizadas regularmente, à medida que o conhecimento médico nesta área progride. A última actualização, publicada no final de 2007, determina que para início de terapêutica biológica os doentes com AR devem ter um *disease activity score 28* (DAS28, variável numérica resultante de uma fórmula matemática que contempla o número de articulações dolorosas, o número de articulações tumefactas, a velocidade de sedimentação e a escala visual analógica de actividade da doença, segundo a opinião do doente) superior a 3,2, após pelo menos 3 meses de tratamento com MTX na dose de 20mg/semana, ou, na impossibilidade de tratamento com MTX nesta dose, após 6 meses de outro DMARD convencional ou associação terapêutica. Está previsto também o início de terapêutica biológica em doentes que, sob DMARDs convencionais, apresentem um DAS28 entre 2,6 e 3,2 e tenham uma significativa degradação funcional ou radiológica. A monitorização deve ser efectuada trimestralmente. São considerados critérios de resposta após os primeiros 3 meses de terapêutica, a verificação de uma redução do DAS28 superior a 0,6. A partir dos 6 meses de terapêutica considera-se a existência de resposta clínica se os doentes com um DAS28 inicial superior a 5,1, tiverem uma redução do DAS28 para níveis inferiores a 4 ou, se os doentes com um DAS28 inicial inferior a 5,1, apresentarem uma redução para menos de 3,2, desde que não ocorra degradação funcional ou radiológica significativa. Nos doentes considerados não respondedores o reumatologista assistente poderá optar por mudar para outro agente biológico (antagonista do factor de necrose tumoral alfa, rituximab ou abatacept). São consideradas contra-indicações absolutas para o início da terapêutica, a existência de infecções activas, administração concomitante de vacinas vivas, neoplasia há menos de 5 anos, insuficiência cardíaca classe III/IV e doença desmielinizante. Foram consideradas razões para adiar o início do tratamento ou suspendê-lo transitoriamente a infecção

activa, infecções recorrentes ou alto risco de infecção e cirurgia programada.²⁶³ Elaborámos também um conjunto de normas práticas para lidar com as reacções potenciais à infusão do infliximab.²⁶⁴

Na última década aumentámos muito a nossa exigência na terapêutica da AR e consideramos que a intervenção terapêutica deve ser iniciada o mais precoce e agressivamente possível, com o objectivo claro de atingir a remissão, utilizando baixas doses de prednisona (menos de 10mg/dia) e MTX 20mg/semana. Na experiência que temos em 20 doentes com terapêutica iniciada com dose baixa de corticóides e MTX 20mg/semana nas primeiras semanas da doença 85% estão, ao fim de 3 meses e de forma sustentada ao fim de um ano, com DAS28 inferior a 3,2 e os únicos 3 doentes que tiveram que fazer terapêutica combinada com sulfassalazina e hidroxicloroquina ficaram também com a doença controlada após 5 meses e até um ano.²⁶⁵ Nos doentes que falham esta abordagem inicial agressiva porque não tiveram acesso a um centro de Reumatologia, e por isso a terapêutica foi iniciada numa fase tardia da doença, com menos probabilidade de a controlar, ou porque têm uma doença verdadeiramente refractária à terapêutica convencional existe indicação formal para terapêutica biotecnológica.

4.2 A realidade nas espondilartrites seronegativas, artrite idiopática juvenil, lúpus eritematoso sistémico, vasculites e artrites microcristalinas.

Como vimos atrás a actividade clínica das espondilartrites seronegativas é condicionada claramente pelo TNF. Como expectável, os fármacos que antagonizam esta molécula (adalimumab, etanercept e infliximab) mudaram também completamente a história natural de doenças como a espondilite anquilosante (EA) e a artrite psoriática (AP). Na AP o MTX tem um papel importante e só deve ser iniciado um antagonista do TNF em

condições semelhantes ao que descrevemos para a AR, mas o mesmo não se passa no caso da EA. Aqui, particularmente nos casos em que o envolvimento é predominantemente do esqueleto axial, se os doentes não responderem a AINEs a única opção verdadeiramente eficaz é o uso de um antagonista do TNF. Coordenámos uma avaliação a nível nacional da eficácia dos primeiros doentes com EA tratados com antagonista do TNF nos Serviços de Reumatologia Portugueses.²⁶⁶ Avaliámos 113 doentes, 97 tratados com infliximab e 16 com etanercept. Os doentes foram avaliados utilizando os critérios principais de medida de actividade da doença (o questionário *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index* (BASDAI))²⁶⁷ e de capacidade funcional (o questionário *Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index* (BASFI)).²⁶⁸ Utilizou-se também os critérios de resposta *ASsessment of Ankylosing Spondylitis* (ASAS)²⁶⁹ 20 e 40, que constituem um índice composto de várias variáveis (incluindo escala visual analógica da actividade da doença, escala visual analógica da dor, BASFI, rigidez matinal). Este primeiro grupo de doentes tinha uma doença de longa duração ($13,7 \pm 9$ anos), eram refractários a múltiplos AINEs e nos casos em que existia também artrite periférica a vários DMARDs (67,3% dos doentes tinham sido medicados com SZ, 37,1% com MTX e 11% com outros DMARDs). A avaliação foi efectuada após uma duração média do tratamento de $13,4 \pm 9,9$ meses e mostrou que 66,1% dos doentes obteve uma melhoria do BASDAI superior a 50% e o ASAS 20 (critério mínimo de resposta) foi obtido em 76,8% dos doentes (Figura 23).²⁶⁵

6. Conclusões

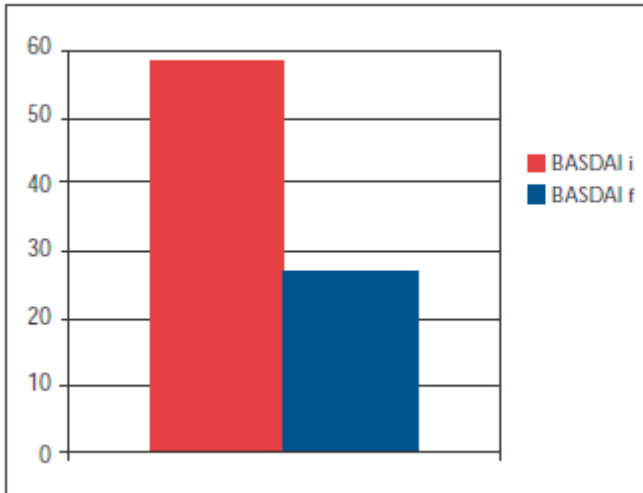


Figura 23. Melhoria da actividade da doença medida pelo índice BASDAI (*Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*) em doentes com espondilite anquilosante tratados com antagonista do TNF- α .

Retirado de Grupo de Consensos para as terapêuticas Biológicas na Espondilite Anquilosante da SPR. Análise de doentes com Espondilite Anquilosante submetidos a terapêutica biológica registados na base de dados de agentes biológicos da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. *Acta Reumatol Port* 2005; 30: 253-6.

Tendo em conta estas excelentes taxas de resposta, tal como para a AR, também na EA promovemos recomendações nacionais, sob a égide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia, de utilização destes fármacos de forma a garantir o acesso em condições adequadas e seguras para todos os doentes.²⁷⁰ Definiu-se que os antagonistas do TNF estão indicados em doentes espondilíticos que cumpram os critérios de classificação de Nova Iorque modificados mas em que é permitido que a documentação de sacro-ileíte seja efectuada através de tomografia computadorizada (TAC) ou ressonância magnética das articulações sacro-iliacas. Estes devem ter doença activa definida por um BASDAI ≥ 40 e refractária à terapêutica convencional, definida para o envolvimento articular axial (ausência de resposta a pelo menos dois AINEs diferentes, administrados durante um período

mínimo de 4 semanas), periférico (ausência de resposta também à SZ em dose mínima de 2g/dia) e entesopático (ausência de resposta também a pelo menos 2 infiltrações locais com corticosteróides). A monitorização deve ser efectuada trimestralmente sendo considerados critérios de resposta a verificação de BASDAI 50 ou ASAS 20. Se o doente não responder deverá ser efectuada a troca para outro antagonista do TNF. As contra-indicações são as que genericamente foram definidas para a AR e os cuidados relacionados com a prevenção da tuberculose são os mesmos. Na nossa experiência pessoal, no Hospital de Dia de Reumatologia do Hospital de Santa Maria, no qual mais de 100 doentes com espondilartrites seronegativas são regularmente tratados com antagonistas do TNF o balanço eficácia-segurança tem sido excelente, com uma taxa de manutenção dos fármacos superior à verificada na AR, sendo frequentemente possível diminuir a frequência de administração no caso do infliximab em doentes com EA em remissão.

A nossa experiência de utilização de terapêuticas biotecnológicas nas crianças com AIJ tem sido também notavelmente positiva. Estão neste momento 15 doentes (de acordo com a classificação de Durban para a AIJ: 7 doentes apresentavam uma forma poliarticular, 2 uma forma oligoarticular persistente, 1 uma forma oligoarticular estendida, 1 uma forma associada a entesite, 3 AIJ sistémicas e 1 caso de artrite psoriática) em seguimento no Hospital de Dia de Reumatologia do Hospital de Santa Maria. Onze doentes foram medicados inicialmente com etanercept, 3 com infliximab e 1 com anakinra. Apenas três doentes tiveram indicação para mudar para outro biológico, por perda de eficácia do primeiro. A mudança ocorreu, 11 meses, 2 anos e 5 anos, após o início da terapêutica biológica. As crianças encontram-se presentemente em remissão ou com actividade da doença mínima. Apenas um doente apresentou um efeito adverso major (celulite e fascíte necrosante extensa do antebraço) tendo reiniciado a terapêutica biológica

cerca de 1 ano após a infecção e não foram registados casos de tuberculose.²⁷¹ Com o mesmo princípio de garantir o acesso a estes fármacos com segurança às crianças que de facto necessitam deles coordenámos a elaboração de recomendações nacionais, sob a égide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia.²⁷² Recomenda-se a utilização de terapêuticas biológicas em crianças com AIJ com evolução poliarticular quando persiste doença activa (definida como mais de 5 articulações activas) e refractária a 15 mg/m²/semana de MTX por via subcutânea ou intramuscular durante 3 a 6 meses. No caso de toxicidade ou contra-indicação que impeça a utilização do MTX nesta dose, pode considerar-se a introdução de terapêutica biotecnológica como primeira opção, ou de outro DMARD convencional em monoterapia ou em combinação com o MTX. O etanercept é a única terapêutica biológica aprovada em Portugal para o tratamento da AIJ. Admite-se, tendo em conta a evidência preliminar já publicada, o uso do infliximab nos casos refractários ao etanercept. Na presença de manifestações sistémicas da AIJ refractárias à terapêutica convencional pode ser considerada a terapêutica com anakinra. As contra-indicações são as que genericamente foram definidas para a AR e os cuidados relacionados com a prevenção da tuberculose são os mesmos (Figura 24).

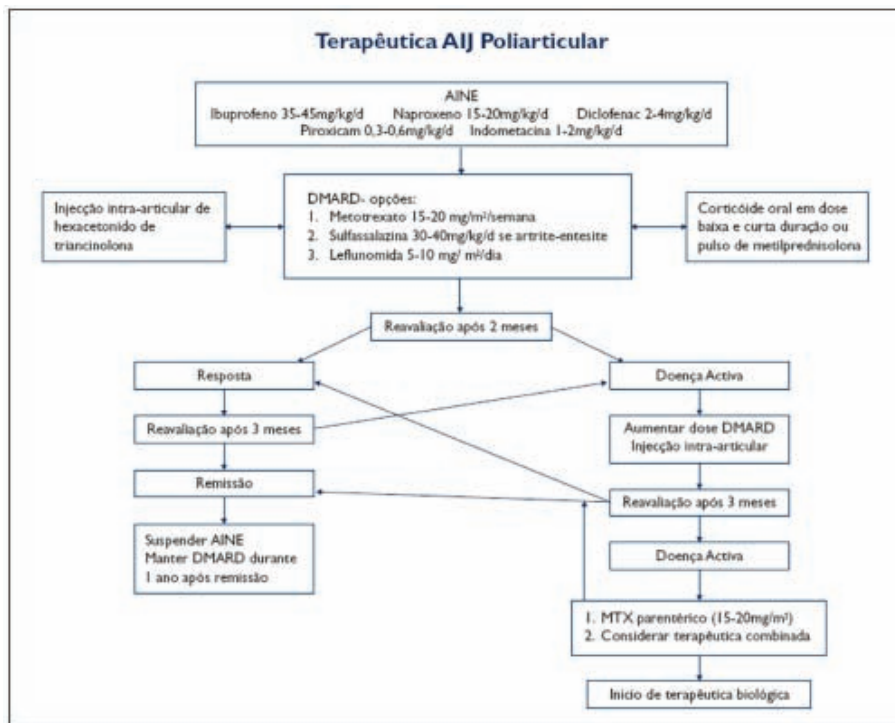


Figura 24. Fluxograma da terapêutica da artrite idiopática juvenil.

Retirado de Santos MJ, Fonseca JE, Canhão H, Conde M, José Vieira M, Costa L, Costa M, Salgado M, Melo Gomes JA; pelo Grupo de Trabalho de Reumatologia Pediátrica da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Guidelines for prescribing and monitoring biologic therapies in juvenile idiopathic arthritis. *Acta Reumatol Port* 2007; 32: 43-7.

A dependência das células B na fisiopatologia do LES tornou rapidamente previsível o potencial sucesso do uso do rituximab nesta doença. A depleção das células B é particularmente eficaz nas manifestações hematológicas, mas também é aplicável no controlo da actividade global e da nefrite lúpica refractária à imunossupressão convencional.²⁷³ Os resultados obtidos com o bloqueio da co-estimulação com o abatacept são também promissores, mas o nível de evidência é menor.²⁷⁴ Adicionalmente existem também algumas observações que sugerem que os antagonistas do TNF possam

ser eficazes para o tratamento de artrite, doença cutânea e renal associadas ao LES¹⁹² e de que o antagonismo da IL-1 (anakinra) possa ser eficaz no controlo da doença articular no LES.²⁷⁵ No caso desta doença a nossa experiência está centrada no uso do rituximab em 4 trombocitopénias refractárias às terapêuticas convencionais, uma púrpura trombótica trombocitopénica, uma síndrome de Evans, uma poliartrite refractária e uma nefrite refractária. Os resultados foram globalmente muito positivos. O único efeito adverso grave foi uma neutropénia febril tardia (3 meses após a administração do fármaco) que reverteu sem complicações com medidas de suporte. Outra opção terapêutica bem estabelecida é o uso de gamaglobulina em altas doses (2g/kg de peso, distribuído entre 2 a 5 dias) para a terapêutica das trombocitopénias no LES, da qual temos experiência de uso em várias dezenas de doentes e que é utilizada de forma generalizada em todo o mundo.²⁷⁶

As vasculites são doenças raras e por isso a progressão da introdução de novos medicamentos é normalmente mais lenta e com maior dificuldade de obtenção de evidência sólida baseada em ensaios clínicos. Os antagonistas do TNF têm sido particularmente testados nas vasculites granulomatosas e na doença de Behçet e o rituximab tem sido utilizado em vasculites mais dependentes da produção de auto-anticorpos.²⁷⁷ Os resultados são ainda difíceis de avaliar de forma conclusiva, mas aparentam ser muito promissores. A nossa experiência tem sido centrada no uso do infliximab na doença de Behçet com uveíte posterior grave refractária à terapêutica convencional (5 casos) com enorme sucesso. Tratámos uma arterite temporal refractária à imunossupressão convencional com infliximab mas a doente faleceu com um quadro séptico e não foi possível avaliar a eficácia. Fomos também pioneiros no uso de gamaglobulina endovenosa em altas doses para o tratamento de vasculites, na sequência do sucesso terapêutico de uma vasculite do sistema nervoso central secundária à síndrome de Sjögren.²⁷⁸

De uma forma geral as artrites microcristalinas são controláveis com as terapêuticas convencionais disponíveis. No entanto, em casos refractários muito seleccionados, tem sido usado com bons resultados o anakinra²⁷⁹ e os antagonistas do TNE.²⁸⁰ Não temos experiência da utilização de terapêuticas biotecnológicas neste grupo de patologias.

5. Novas exigências na organização dos cuidados de saúde

Como vimos, a revolução no conhecimento das vias fisiopatológicas das doenças reumáticas inflamatórias permitiu mudar completamente a abordagem terapêutica nestas doenças e colocar a remissão como objectivo terapêutico. Mas para o sucesso desta estratégia é fundamental um diagnóstico precoce, uma terapêutica agressiva e precoce e um acompanhamento clínico especializado, com uma monitorização da actividade da doença e das complicações das terapêuticas frequente e exigente. Para que isto seja possível é crítico que exista uma rede nacional de Serviços e Unidades de Reumatologia e um plano de referenciação nacional a esta especialidade que permita que no espaço máximo de algumas semanas qualquer patologia reumática inflamatória seja correctamente diagnosticada e tratada.²⁸¹ Este plano, designado por Programa Nacional Contra as Doenças Reumáticas, tem sido liderado por dois elementos desta equipa (MVQ e JB) e visa responder a esta necessidade. Foi constituído um grupo de trabalho de 10 reumatologistas, que sob os auspícios da Direcção Geral de Saúde (DGS), identificaram os principais grupos de doenças reumáticas (artrite reumatóide, espondilartrites, osteoartrose, osteoporose, lesões músculo-esqueléticas relacionadas com o trabalho, artrite idiopática juvenil, doenças reumáticas sistémicas, artropatias microcristalinas, raquialgias, doenças reumáticas periarticulares e fibromialgia) e para cada um deles, foi elaborado um documento em que constavam a definição, dados epidemiológicos, dados sobre absentismo e incapacidade, recomendações para o diagnóstico e terapêutica, recomendações sobre a referenciação e ainda sobre a terapêutica e a monitorização a nível dos cuidados de saúde primários. O conjunto destes elementos resultou na redacção do Programa Nacional Contra as Doenças Reumáticas que tem como objectivo final a melhoria dos cuidados de saúde para os doentes reumáticos e como consequência a melhoria do prognóstico. Este Programa

pressupõe um diagnóstico mais precoce e uma referenciação atempada e adequada aos Serviços de Reumatologia pelo que foi desenvolvido também um documento denominado “Rede Nacional de Referenciação de Reumatologia”. Neste documento foram estimadas as necessidades de especialistas em Reumatologia, o número e a localização necessária dos Centros de Reumatologia, nomeadamente com indicações governamentais para que fossem abertas vagas em hospitais de cidades do interior de Portugal, onde a Reumatologia ainda não está presente. Este projecto, que está integrado na “Década do Osso e da Articulação 2000-2010” promovida pela OMS, foi iniciado em 2002. Os documentos foram produzidos de acordo com os objectivos e encontra-se actualmente em fase de implementação, pelo que será expectável que os seus objectivos sejam atingidos a médio prazo. Para receber estes doentes na Rede de Serviços de Reumatologia dispomos já das ferramentas adequadas a um seguimento protocolado, adequado à apertada monitorização que o acompanhamento destes doentes exige. De facto, nos últimos anos temos coordenado a elaboração e publicação de protocolos de actuação e fichas de seguimento para as principais doenças reumáticas inflamatórias. Definimos para a AR um Protocolo de Monitorização da Artrite Reumatóide (PMAR, Figura 25)²⁸², para a EA um Protocolo de Monitorização da Espondilite Anquilosante (PMEA)²⁸³, para a AIJ um Protocolo de Monitorização da Artrite Idiopática Juvenil (PMAIJ)²⁸⁴ e para o LES um Protocolo de Avaliação e Monitorização do Lúpus Eritematoso Sistémico (PAMLES, Figura 26).²⁸⁵ Como ferramentas adicionais para possibilitar a mais correcta monitorização possível das doenças reumáticas inflamatórias validámos o *Childhood Health Assessment Questionnaire* (CHAQ) e o *Child Health Questionnaire* (CHQ) para Português²⁸⁶, criámos um questionário para a identificação de factores de risco de osteoporose, recomendações para o diagnóstico e tratamento da osteoporose

e dados normativos para a população portuguesa da avaliação do osso por ultrasons. Todas estas acções têm sido desenvolvidas enquanto coordenadores e membros de Grupos de Trabalho e da Direcção da Sociedade Portuguesa de Reumatologia e têm constituído um esforço nacional de homogeneizar e protocolar normas de actuação, envolvendo sempre todos os Centros de Reumatologia do Continente e Ilhas.

Figura 5. PMAR Follow-up Data: ___/___/___

Nome _____

1 Situação laboral **actual**: a tempo Inteiro _____; a tempo parcial _____; trabalho em casa _____; reformado(a) _____; reformado(a) por invalidez _____; de baixa _____; Outra _____

2 Houve alguma Intercorrência? _____

3 Terapêutica de fundo actual (DMARD) e respectiva dose:

Sais de ouro	Metotrexato	Hidroxicloroquina	Ciclosporina
Leflunomida	Sulfasalazina	Infliximab	Etanercept
Azatioprina	Anakinra	Adalimumab	Rituximab

Outros _____

Efeitos adversos? _____

4 Consumo actual de AINE (nome e dose) _____

5 Consumo actual de corticosteróides (nome e dose) _____

6 Rigidez matinal (minutos): _____

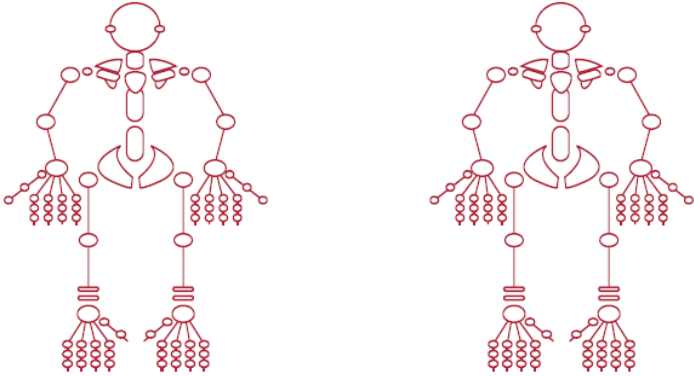
7 Escala visual analógica da actividade geral da doença, segundo a opinião do doente (100mm).
(S/ actividade) 0 _____ 10 (Max. actividade)

8 Escala visual analógica da dor (100mm).
(S/ Dor) 0 _____ 10 (Max. Dor)

9 Escala visual analógica da actividade, segundo a opinião do médico (100mm).
(S/ actividade) 0 _____ 10 (Max. actividade)

10 VS (mm/1^h): _____ PCR (mg/dl): _____

11 Articulações dolorosas, assinalar no homúnculo 12 Articulações tumefactas, assinalar no homúnculo



13 Classe funcional ACR _____ 14 DAS28 _____ 15 HAQ _____

16 Outros diagnósticos/problemas clínicos surgidos de novo _____

17 Exame objectivo geral _____

18 **HAQ (Health Assessment Questionnaire)**

Figura 25. Folha de monitorização da artrite reumatóide.

Retirado de Fonseca JE, Canhão H, Reis P, Jesus H, Silva JA, Branco J, Queiroz MV. Protocolo de Monitorização da Artrite Reumatóide (PMAR) - actualização de 2007. Acta Reumatol Port 2007; 32: 367-74.

Nome: _____

Situação profissional actual: Activo Trabalho a tempo parcial Desempregado Baixa prolongada
 Reforma por doença Reforma por idade

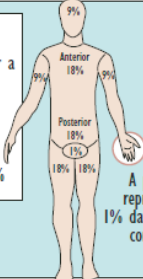
Queixas actuais/de novo _____
 Houve alguma Intercorrência? _____
 Terapêutica actual: (nome, dose, data de início) _____

Efeitos adversos? _____

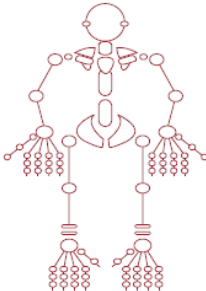
Peso _____ Altura _____ IMC _____ TA _____ FC _____ Temp axilar _____

Adenomegalias S N Alopecia S N Úlceras orais/nasofaríngeas S N Raynaud S N
 Lesões cutâneas S N Artrite S N

Regra dos 9:
Para determinar a área afectada a superfície corporal é dividida em múltiplos de 9%



A palma representa 1% da superfície corporal



Dor muscular S N Fraqueza muscular S N Edemas periféricos S N
 Alt cardíacas S N _____
 Alt pulmonares S N _____
 Alt abdominais S N _____
 Alt neuropsiquiátricas S N _____

Laboratório:
 Hemoglobina _____ Leucócitos _____ Linfócitos _____ Plaquetas _____
 VS _____ PCR _____
 Creatinina _____ CK _____ (valor ref _____)
 Proteinúria _____ Eritrocitúria _____ Cilindrúria _____
 ANA(título e padrão) _____
 Anti-DNA(título) _____ (valor ref _____)
 C3 _____ (valor ref _____) C4 _____ (valor ref _____) CH 50 _____ (valor ref _____)

Outros exames auxiliares:
 Radiografia tórax _____
 ECG _____
 Ecocardiograma modo M e 2D _____

Valor do SLEDAI (escala em anexo) _____
 Valor do SLICC (escala em anexo) _____
 SF36 (questionário em anexo)

Plano: _____

Figura 26. Folha de monitorização do lúpus eritematoso sistémico.
 Retirado de Silva C, Canhão H, Barcelos A, Miranda L, Pinto P, Santos MJ. Protocolo de Avaliação e Monitorização do Lúpus Eritematoso Sistémico (PAMLES). Acta Reumatol Port 2008; 33: 210-8.

Estes protocolos têm exercido um forte impacto na organização dos Hospitais de Dia de Reumatologia em Portugal, os quais se caracterizam por terem um processo clínico estruturado e protocolado, em dossiers próprios, onde todos os dados são colhidos sistematicamente, permitindo as avaliações nacionais que já anteriormente referimos. Mas o passo final de elevação da qualidade da prestação dos cuidados de saúde na área das doenças inflamatórias articulares é a utilização de interfaces informáticas que funcionam simultaneamente como processos clínicos electrónicos e registos nacionais destas doenças. Temos coordenado, sob a égide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia (SPR) o desenvolvimento e implementação a nível nacional destas ferramentas informáticas para a AR (BioReportAR, Figuras 27 e 28), EA (BioReportEA, Figura 29) e AIJ (BioReportAIJ).

Mão Esquerda

Mão Direita

Pé Esquerdo

Pé Direito

Classificação:

- 0 - Normal
- 1 - Discreta
- 2 - Maior, entre 1 e 3
- 3 - Grande, estendendo-se até à linha média da superfície articular
- 4 - Grande, estendendo-se para além da linha média da superfície articular
- 5 - Colapso completo do osso

Score (Mão Esquerda): 16

Score (Mão Direita): 32

Score (Mãos): 48

Score Total (Erosões Articulares): 66

Score (Global): 129

Score (Pé Esquerdo): 6

Score (Pé Direito): 12

Score (Pés): 18

Guardar

Figura 27. Exemplo de campo da BioReportAR, onde é possível proceder ao cálculo automático da pontuação de erosões de Sharp, na radiografia convencional das mãos e dos pés (reproduzido com autorização da Sociedade Portuguesa de Reumatologia).

Todos os Serviços e Unidades de Reumatologia Portuguesas têm um computador reservado para esta ferramenta. O registo funciona como um processo clínico electrónico a nível local e actualiza por via web (sem identificação do doente) a base de dados nacional. Todos estes procedimentos foram autorizados pelas comissões de ética locais e pela Comissão Nacional de Protecção de Dados.

História Clínica

Sim Não

Sintomas actuais sugestivos de tuberculose (doença)

Factores de risco para a tuberculose:

- Antecedentes de tuberculose
- Imigrantes de países com elevada incidência de tuberculose
- Contactos recentes com doentes bacilíferos
- Profissionais de saúde
- Diabetes, infecção HIV, leucemia, linfoma, neoplasias da cabeça, pescoço ou pulmão

Doente foi referenciado a consulta de tuberculose?

Sim Não

Serviço:

Data: Ano Mês Dia

Prova de Mantoux

Data de realização: Ano Mês Dia

Resultado: mm

Realizou repetição? Sim Não

Data de realização: Ano Mês Dia

Resultado: mm

Rx Tórax PA

Data de realização: Ano Mês Dia

Resultado:

Notas:

Terapêutica Anti-Bacilar

Sim Não

Regime terapêutico usado:

Data de início: Ano Mês Dia

Término: Ano Mês Dia

Quanto tempo de terapêutica anti-bacilar antes do biológico: (meses)

Guardar

Figura 28. Exemplo de campo da BioReportAR. Avaliação de risco de tuberculose latente (reproduzido com autorização da Sociedade Portuguesa de Reumatologia).

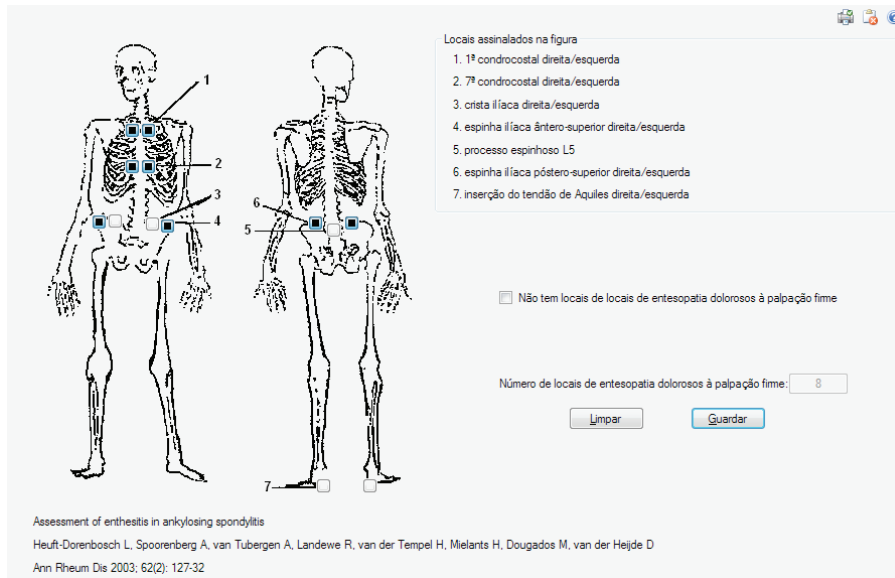


Figura 29. Exemplo de campo da BioReportEA. Registo de entesopatias (reproduzido com autorização da Sociedade Portuguesa de Reumatologia).

Estas bases de dados que contêm os registos nacionais de todos os doentes com doenças reumáticas medicados com terapêuticas biotecnológicas são fundamentais para aumentar o conhecimento de novos fármacos quando utilizados na prática clínica diária, fora do ambiente seleccionado dos ensaios clínicos; fornecem dados adicionais sobre eficácia e segurança; contribuem para a homogeneidade da monitorização e das normas de actuação dos diversos Centros de Reumatologia; facilitam a prática médica, agilizando processos de registo e arquivo e produzindo *outputs* que avaliam de forma automática a evolução do doente individual e de grupos de doentes ao longo do tempo.

É nosso objectivo prosseguir o trabalho de desenvolvimento de Registos Nacionais, alargando-os a doentes que não estão submetidos a terapêuticas biotecnológicas e também a outras patologias. A aplicação adequada de tecnologias de informação é

crucial para colaborações nacionais e internacionais, que constituem a única forma de integrarmos a comunidade médica internacional em parceria real.

O processo de evolução dos conhecimentos biomédicos na área da Reumatologia tornou fundamental a partilha de conhecimentos e experiência prática, veiculados por artigos de revisão, artigos originais, casos clínicos, recomendações de prática clínica com impacto educativo e científico. Para que isso fosse possível considerámos que só existiria uma via: disponibilizar à comunidade médica portuguesa uma revista de Reumatologia indexada na *Medline/Pubmed* e na base de dados de factor de impacto da *Thomson*. Este foi um projecto de sucesso em que este grupo se empenhou a fundo e que teve um efeito catalítico sobre o desenvolvimento de Reumatologia portuguesa e sobre a sua visibilidade externa. Como corolário das necessidades de desenvolvimento científico desta área médica, promovemos a criação do Biobanco da SPR, que armazena amostras biológicas de doenças reumáticas, provenientes de todos os Centros de Reumatologia clínicos e de investigação e que permite facilitar a investigação de translação.

O esclarecimento das principais vias fisiopatológicas das doenças reumáticas inflamatórias que ocorreu nas últimas décadas, aliado ao desenvolvimento de novos fármacos biotecnológicos, modificou de forma definitiva a abordagem destas doenças e toda a prática clínica em Reumatologia.

O diagnóstico das doenças reumáticas inflamatórias deve ser feito com a maior brevidade possível porque existe evidência inequívoca de que uma intervenção terapêutica precoce e agressiva muda claramente o prognóstico. Estes doentes devem ser monitorizados em centros especializados e quando a actividade da doença não está adequadamente controlada a utilização de fármacos biotecnológicos deve ser ponderada. Nessa eventualidade o rigor da monitorização, com registos electrónicos locais, integrados em redes nacionais, é fundamental. A garantia de uma vigilância adequada dos efeitos adversos e uma correcta interpretação da evolução da actividade da doença, que poderá condicionar a mudança para outros fármacos biotecnológicos, deverá ser garantida. Consideramos que a existência de registos nacionais contribuirá decisivamente para uma melhor utilização dos recursos terapêuticos, para uma melhoria da prática médica e lançará as bases de uma investigação clínica baseada em grandes séries de doentes que poderá redefinir novas indicações terapêuticas e facilitará a investigação de translação.

Pensamos que este trabalho constitui um excelente paradigma da progressão do conhecimento e da prática médica de forma integrada, demonstrando como o investimento no conhecimento dos mecanismos de doença pode directa e indirectamente condicionar uma revolução na abordagem diagnóstica e terapêutica das doenças. Adicionalmente, este documento sugere um modelo de desenvolvimento de uma área médica, integrado na realidade do nosso país, que julgamos poder ser aplicável a outros campos do conhecimento médico para além da Reumatologia. Por fim, consideramos que os resultados aqui expostos provam que é possível, em Portugal, o desenvolvimento de Centros Médicos

Académicos que integram a investigação biomédica de translação e a investigação clínica, actuando como elementos catalíticos da melhoria da prestação dos cuidados de saúde.

7. Referências

1 Bruusgaard D, Cimmino M, Heliovaara M, Hazes M, Dreinhofer K, Rainer F, Reginster JY, Bruyere O, Aptel M, Aublet-Cuvelier A, Connolly E, Fonseca JE, Lidgren L, Woolf A, Picavet S, Drosos A. Musculoskeletal problems and function limitation. The great public health challenge for the 21st century. European Commission, Directorate General Health and Consumer Protection, Directorate General Public Health, Grant agreement S12297217. 2003

2 Andrianakos A A, Miyakis S, Trontzas P, Kaziolas G, Christoyannis F, Karamitsos D, Karanikolas G and Dantis P, for the ESORDIG study group. The burden of the rheumatic diseases in the general adult population of Greece: the ESORDIG study. *Rheumatology*, 2005; 44: 932-8.

3 Andrianakos A, Trontzas P, Christoyannis F, Dantis P, Voudouris C, Georgountzos A, Kaziolas G, Vafiadou E, Pantelidou K, Karamitsos D, Kontelis L, Krachtis P, Nikolia Z, Kaskani E, Tavaniotou E, Antoniadis C, Karanikolas G, Kontoyanni A; ESORDIG Study. Prevalence of rheumatic diseases in Greece: a cross-sectional population based epidemiological study. *The ESORDIG Study. J Rheumatol* 2003; 30:1589-601.

4 Canhão H, Fonseca JE, Viana Queiroz M. Co-morbilidade e mortalidade da artrite reumatóide. *Arquivos do CIAR* 2000; 10: 97-9.

5 Söderlin MK, Börjesson O, Kautiainen H, Skogh T, Leirisalo-Repo M. Annual incidence of inflammatory joint diseases in a population based study in southern Sweden. *Ann Rheum Dis*. 2002; 61:911-5.

6 Fonseca JE, Canhão H, Dias FC, Leandro MJ, Resende C, Teixeira Costa J, Pereira Silva JA, Viana Queiroz M. Analysis of a rheumatology clinic population. *Rheumatology in Europe* 1998; suppl n°2, 27: 98.

7 Matos AA, Branco JC, Canas Silva J, Viana Queiroz M, Pádua F. Inquérito epidemiológico de doenças reumáticas numa amostra da população portuguesa (resultados preliminares). *Acta Reuma Port* 1991; supl 1: 98.

8 Fonseca JE, Canhão H, Costa Dias F, Leandro MJ, Resende C, Teixeira da Costa JC, JA Pereira da Silva, M Viana Queiroz. Análise da gravidade da Artrite Reumatóide em doentes Portugueses: Manifestações extra-articulares e classes funcionais. *Rev Port Reumatol*. 1998; 9: 2356-61.

9 Hakala M, Pollanen R, Nieminen P. The ARA 1987 revised criteria select patients with clinical rheumatoid arthritis from a population based cohort of subjects with chronic rheumatic diseases registered for drug reimbursement. *J Rheumatol* 1993; 20: 1674-8.

10 Saraux A, Guedes C, Allain J, Devauchelle V, Valls I, Lamour A et al. Prevalence of rheumatoid arthritis and spondyloarthritis in Brittany, France. *Societe de Rhumatologie de l'Ouest. J Rheumatol* 1999; 26: 2622-7.

11 Cimmino MA, Parisi M, Moggiana G, Mela GS, Accardo S. Prevalence of rheumatoid arthritis in Italy: the Chiavari Study. *Ann Rheum Dis* 1998; 57: 315-8.

12 Drosos AA, Alamanos I, Voulgari PV, Psychos DN, Katsaraki A, Papadopoulos I et al. Epidemiology of Adult Rheumatoid Arthritis in Northwest Greece 1987-1995. *J Rheumatol* 1997; 24: 2129-32.

13 Fonseca JE, Canhão H, Dias FC, Leandro MJ, Resende C, Teixeira da Costa JC, JA Pereira da Silva, M Viana Queiroz. Severity of rheumatoid arthritis in Portuguese patients: comment on the article by Drosos et al and on the letter by Ronda et al. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 470-1.

14 Fonseca JE, Canhao H, Costa Dias F, Leandro MJ, Resende C, Teixeira Da Costa JC, JA Pereira da Silva, M Viana Queiroz. Amyloidosis in a series of 964 Portuguese rheumatoid arthritis patients: comment on the article by Myllykangas-Luosujarvi et al. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40: 944-5.

15 Fonseca JE, Canhão H, Teixeira da CJ, Pereira da SJ, Queiroz MV. Global functional status in rheumatoid arthritis: disease duration and patient age. *Clin Rheumatol* 2002; 21:32-4.

16 Abreu I, Laroche P, Bastos A, Issert V, Cruz M, Nero P, Fonseca JE, Branco J, Machado Caetano JA. Multiplexed immunoassay for detection of rheumatoid factors by FIDISTM technology. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050:357-63.

17 Drosos AA, Lanchbury JS, Panayi GS, Moutsopoulos HM: Rheumatoid Arthritis in Greek and British Patients. A comparative clinical, radiologic and serologic study. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 745-8.

18 Mercier P, Dallest R, Roux H: HLA-DR et polyarthrite rhumatoïde de l'adulte. Etude dans le Sud de la France. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1980; 47: 465-70.

19 Jajic Z, Jajic I: Antigens of HLA-DR locus in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1988; (suppl II) 27: 139-40.

20 Benamour S, Zeroual B, Fares L, el Kabli H, Bettal S. Polyarthrite rhumatoïde au Maroc. A propos de 404 observations. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1992; 59: 801-7.

- 21 Salvarani C, Macchioni P, Mantovani W, Rossi F, Veneziani M, Boiardi L et al. Extraarticular manifestations of rheumatoid arthritis and HLA antigens in Northern Italy. *J Rheumatol* 1992; 19: 242-6.
- 22 Massardo L, Aguirre V, Garcia ME, Cervila V, Nicovani S, Gonzalez A et al. Clinical expression of rheumatoid arthritis in Chilean patients. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 25: 203-13.
- 23 Queiroz MV, Sancho MRH, Caetano M. HLA-DR4 antigen and IgM rheumatoid factors. *J Rheumatol*. 1982; 9: 370-3.
- 24 Brautbar C, Naparstek Y, Yaron M, Amar A, Ehrenfeld M, Eliakim M et al. Immunogenetics of rheumatoid arthritis in Israel. *Tissue Antigens* 1986; 28: 8-14.
- 25 Papasteriades CA, Kappou ID, Skopouli FN, Barla MN, Fostiropoulos GA, Moutsopoulos HM et al. Lack of HLA-antigen association in Greek rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int* 1985; 5: 201-3.
- 26 Boki KA, Drosos AA, Tzioufas AG, Lanchbury JS, Panayi GS, Moutsopoulos HM. Examination of HLA-DR4 as a severity marker for rheumatoid arthritis in Greek patients. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 517-9.
- 27 Ligeiro D, Fonseca JE, Abade O, Abreu I, Cruz M, Nero P, Cavaleiro J, Teles J, Trindade H, Caetano JM, Branco J. Influence of human leukocyte antigen-DRB1 on the susceptibility to rheumatoid arthritis and on the production of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in a Portuguese population. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 246-8.
- 28 Fonseca JE. Artrite Reumatóide em Portugal. *Arquivos do CIAR* 2001; 11: 1-2.
- 29 Duarte J, André M, Fonseca JE, Canhão H, Resende C, Castelão W, JA Pereira da Silva, M Viana Queiroz. Estudo transversal da artrite reumatóide: características clínicas, co-morbilidade e impacto socio-económico. *Jornal do CIAR* 2002; 12: 54-7.
- 30 Pincus T, Callahan LF, Sale WG, Brooks AL, Payne LE, Vaughn WK. Severe functional declines, work disability and increased mortality in seventy-five rheumatoid arthritis patients studied over nine years. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 864-72.
- 31 Yelin E, Meenan R, Nevitt M, Epstein W. Work disability in rheumatoid arthritis: effects of disease, social and work factors. *Ann Intern Med* 1980; 93: 551-6.

32 Meenan RF, Yelin E, Nevitt M, Epstein W. The impact of chronic disease: a sociomedical profile of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1981; 24: 544-9.

33 Pincus T, Callahan LF. Reassessment of 12 traditional paradigms concerning the diagnosis, prevalence, morbidity and mortality of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1989; 79 (suppl): 67-95.

34 Wallberg-Jonsson S, Öhman ML, Dahlqvist SR. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with seropositive rheumatoid arthritis in Northern Sweden. *J Rheumatol* 1997; 24: 445-51.

35 Pincus T, Callahan LF. Taking mortality in rheumatoid arthritis seriously- predictive markers, socioeconomic status and comorbidity. *J Rheumatol* 1986; 13: 841-5.

36 Fonseca JE, Canhão H, Leandro MJ, Pereira da Silva JA, Queiroz MV. Motivos de internamento e morbilidade associada na artrite reumatóide. *Acta Reumat Port* 1997; 21 (supl): 81.

37 Branco JC, Nero P, Cruz M, Ribeiro S, Amado Silva J. Assistance cost of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 (supp 1): 476.

38 Félix J, Soares M, Nero P, Mourão F, Araújo D, Malcata A, Coelho PC, Barcelos A, Braña A, Bravo T, Maurício L, Melo R, Santos RA, Alvarenga F, Falcão S, Branco JC e Grupo de Estudo CURAR. Custos de Utilização de Recursos na Artrite Reumatóide (CURAR). *Acta Reuma Port* 2006; 31:51.

39 Cruz M, Mateus M, Fonseca JE, Branco J. Agentes biológicos na terapêutica da artrite reumatóide refractária: melhor controlo da doença. *Acta Reuma Port* 2004; 29:89-95.

40 Boissier MC. Pistes pathogéniques de la polyarthrite rhumatóide. *Rev Rhum (Ed Fr)* 2002; 69 Suppl 5: 172-81.

41 Fonseca JE. Histologia da sinóvia normal e reumatóide: perspectivas diagnósticas e prognósticas. *Arquivos do CIAR* 2000; 10: 53-56.

42 Barland P, Novikoff AB, Hamerman D. Electron microscopy of the human synovial membrane. *J Cell Biol* 1962; 14: 207-16.

43 Edwards JCW. Rheumatoid Arthritis: The Synovium. In: Klippel JH and Dieppe PA, eds. *Rheumatology*, 2nd edition. London: Mosby; 1998: 5, 6.1-6.8.

44 Wilkinson LS, Pitsillides AA, Worrall JG, Edwards JCW. Light microscopic characterization of the fibroblast-like synovial intimal cell (synoviocyte). *Arthritis Rheum* 1992; 35: 1179-84.

- 45 Stevens CR, Mapp PI, Revell PA. A monoclonal antibody (Mab 67) marks type B synoviocytes. *Rheumatol Int* 1990; 10: 103-6.
- 46 Morales-Ducret J, Wayner E, Elices MJ, Alvaro-Gracia JM, Zvaifler NJ, Firestein GS.. Alpha 4/beta 1 integrin (VLA-4) ligands in arthritis: Vascular cell adhesion molecule-1 in synovium and on fibroblast-like synoviocytes. *J Immunol* 1992; 149: 1424-31.
- 47 Edwards JCW. Synovial intimal fibroblasts. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 395-7.
- 48 Henderson KJ, Edwards JCW, Worrall JG. Expression of CD44 in normal and rheumatoid synovium and cultured synovial fibroblast. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 729-34.
- 49 Hogg N, Palmer DG, Revell PA. Mononuclear phagocytes of normal and rheumatoid synovial membrane identified by monoclonal antibodies. *Immunology* 1985; 56: 673-81.
- 50 Athanasou NA, Quinn J, Heryet A, Puddle B, Woods CG, McGee JO'D. The Immunohistology of synovial lining cells in normal and inflamed synovium. *J Pathol* 1988; 155: 133-42.
- 51 Athanasou NA, Quinn J. Immunocytochemical analysis of human synovial lining cells: phenotypic relation to other marrow-derived cells. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 311-5.
- 52 Fonseca JE, Edwards JCW, Blades S, Golding N. Macrophage subpopulations in rheumatoid synovium: reduced CD163 expression in CD4 positive t lymphocyte-rich microenvironments. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1210-6.
- 53 Fonseca JE, Abreu F, M Carmo-Fonseca, Pereira da Silva JA. Innervation of knee and ankle joints in normal and arthritic rats. *European J Neurosci* 1993; supplement 6: 101.
- 54 Pereira da Silva JA, Fonseca JE, Moita L, Graça L, Carmo-Fonseca M. Reinnervation of post-arthritic joints in the rat. *Clinical and Exp Rheumatol* 1996; 14: 43-51.
- 55 Gardner DL. Rheumatoid Arthritis: cell and tissue pathology. In Gardner DL, ed. *Pathological basis of the connective tissue diseases*. Philadelphia, Lea and Febiger. 1992; 446-526.
- 56 Mourão AF, Cascão R, Caetano-Lopes J, Canhão H, Queiroz M, Fonseca JE. Synovial tissue highly infiltrated by neutrophils in the very early phase of rheumatoid arthritis. 2008. Submitted.

57 Girard JP, Springer TA. High endothelial venules: specialized endothelium for lymphocyte migration. *Immunology Today* 1995; 16: 449-57.

58 Fonseca JE, Canhão H, Resende C, Saraiva F, Teixeira Costa JC, Bravo Pimentão J, Carmo-Fonseca M, Pereira da Silva JA, Viana de Queiroz M. Histology of the synovial tissue: value of semiquantitative analysis for the prediction of joint erosion in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 559-64.

59 Cush JJ, Lipsky PE. Phenotypic analysis of synovial tissue and peripheral blood lymphocytes isolated from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 1230-8.

60 Matthews N, Emory P, Pilling D et al. Subpopulations of primed T Helper cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 603-7.

61 Fonseca JE, Cortez-Dias N, Francisco A, Sobral M, Canhão H, Resende C, Castelhão W, Macieira C, Sequeira G, Saraiva F, Pereira da Silva JA, Carmo-Fonseca M, Viana Queiroz M. Inflammatory cell infiltrate and RANKL/OPG expression in rheumatoid synovium- comparison with other inflammatory arthropathies and correlation with outcome. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 185-192.

62 Stevens CR, Blake DR, Merry P. A comparative study by morphometry of the microvasculature in normal and rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum* 1991; 50: 1508-13.

63 Fitzgerald O, Soden M, Yanni G, Robinson R, Bresnihan B. Morphometric analysis of blood vessels in synovial membranes obtained from clinically affected and unaffected knee joints of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 792-6.

64 Firestein GS. Rheumatoid Arthritis: Rheumatoid synovitis and pannus. In: Klippel JH and Dieppe PA, eds. *Rheumatology*, 2nd edition. London: Mosby; 1998: 5, 13.1-13.24.

65 Ryckman C, Gilbert C, de Medicis R, Lussier A, Vandal K, Tessier PA. Monosodium urate monohydrate crystals induce the release of the proinflammatory protein S100A8/A9 from neutrophils. *J Leukoc Biol* 2004; 76 (2): 433-40

66 Pillinger MH, Abramson SB. The neutrophil in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1995; 21: 691-714.

67 Badolato R, Oppenheim JJ. Role of cytokines, acute phase proteins, and chemokines in the progression of rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1996; 26: 526-38.

- 68 St Clair EW, Wilkinson WE, Lang T et al. Increased expression of blood mononuclear cell nitric oxide synthase type 2 in rheumatoid arthritis patients. *J Exp Med* 1996; 184: 1173-8
- 69 Novaes GS, Mello SBV, Laurindo IMM, Palacios FAS, Cossermelli W. Intraarticular nitric oxide levels in patients with rheumatoid arthritis. *Rev Hosp Clin Fac Med SP* 1997; 52: 55-9
- 70 Foell D, Wittkowski H, Hammerschmidt I, Wulffraat N, et al. Monitoring Neutrophil Activation in Juvenile Rheumatoid Arthritis by S100A12 serum concentrations. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1286-95.
- 71 Wipke BT, Allen PM. Essential role of neutrophils in the initiation and progression of a murine model of rheumatoid arthritis. *J Immunol* 2001; 167: 1601-8.
- 72 Matsumoto I, Staub A, Benoist C, Mathis D. Arthritis provoked by linked T and B cell recognition of a glycolytic enzyme. *Science* 1999; 286: 1732-5.
- 73 Hartman P, Franzen C, Rubbert A, Rogowski J, et al. Blockade of TNF does not alter oxygen burst and phagocytosis of human neutrophils in patients with rheumatoid arthritis. *Immunobiology* 2005; 209: 669-79.
- 74 Hitchon CA, El-Gabalawy HS. The histopathology of early synovitis. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21 (Suppl. 31):S28-S36.
- 75 Schumacher HR, Kitridou RC. Synovitis of recent onset. A clinicopathologic study during the first month of disease. *Arthritis Rheum* 1972; 15: 465-85.
- 76 Catrina AI, Ulfgren AK, Lindblad S, Grondal L, Klareskog L. Low levels of apoptosis and high FLIP expression in early rheumatoid arthritis synovium. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 934-6.
- 77 Leung BP, Culshaw S, Gracie JA, Hunter D, Canetti CA, Campbell C, et al. A role for IL-18 in neutrophil activation. *J Immunol* 2001; 167: 2879-86.
- 78 Weinmann P, Moura R, Caetano-Lopes J, Pereira P, Canhão H, Queiroz MV, Fonseca JE. Delayed neutrophil apoptosis in very early rheumatoid arthritis patients is abrogated by methotrexate therapy. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25: 885-7.
- 79 Weinmann P, Ferreira AC, Pereira P, Moura R, Mourão AF, Caetano-Lopes J, Cascão R, Canhão H, Queiroz MV, Fonseca JE. Caracterização da resposta funcional dos neutrófilos em doentes com poliartrite em fase inicial. *Acta Reum Port* 2008; 33 (Supl): S126-7.

80 Ferreira AC, Weinmann P, Pereira P, Cascão R, Nery AM, Sousa E, Rodrigues AM, Mourão AF, Pereira J, Canhão H, Queiroz MV, Fonseca JE. Characterisation of functional response of blood neutrophils from patients with early arthritis. Third European Workshop on Immune-mediated Inflammatory Diseases, London, 8-10 October, 2008.

81 Ferreira AC, Weinmann P, Pereira P, Cascão R, Nery AM, Sousa E, Rodrigues AM, Canhão H, Queiroz MV, Fonseca JE. Characterization of phagocytic capacity of neutrophils from peripheral blood and synovial fluid of patients with a polyarthritis. Autoimmunity Congress, Porto, 10-14 September, 2008.

82 Fox DA. The role of T cells in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 598-609.

83 Bläb S, Engel JM, Burmester. The immunologic homon culus in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2499-506.

84 Fonseca JE. Artrite Reumatóide: Contribuição da imunohistologia da membrana sinovial para o diagnóstico, terapêutica e avaliação do prognóstico da doença. Tese Doutorado. 2003.

85 McInnes IB, Leung BP, Liew FY. Cell-cell interactions in synovitis. Interactions between T lymphocytes and synovial cells. *Arthritis Res* 2000; 2: 374-8.

86 Anderson A, Isaacs J. Tregs and rheumatoid arthritis. *Acta Reuma Port* 2008; 33: 17-33.

87 Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Zhang M et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. *J Immunol* 1998; 160: 3513-21.

88 Doncarli A, Stasiuk LM, Fournier C, Abelsira-Amar O. Conversion in vivo from an early dominant Th0/Th1 response to a Th2 phenotype during the development of collagen-induced arthritis. *Eur J Immunol*. 1997; 27: 1451-8.

89 Delgado M, Abad C, Martinez C, Leceta J, Gomariz RP. Vasoactive intestinal peptide prevents experimental arthritis by downregulating both autoimmune and inflammatory components of the disease. *Nat Med* 2001; 7: 563-8.

90 van Roon JA, Lafeber FP, Bijlsma JW. Synergistic activity of interleukin-4 and interleukin-10 in suppression of inflammation and joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 3-12.

- 91 Romas E, Gillespie MT, Martin TJ. Involvement of receptor activator of NFkappaB ligand and tumor necrosis factor-alpha in bone destruction in rheumatoid arthritis. *Bone* 2002; 30: 340-6.
- 92 Pilling D, Akbar AN, Girdlestone J, Orteu CH, Borthwick NJ, Amft N et al. Interferon-beta mediates stromal cell rescue of T cells from apoptosis. *Eur J Immunol* 1999; 29: 1041-50.
- 93 Alam A, Lule J, Coppin H, Lambert N, Mazieres B, De Preval C et al. T-cell receptor variable region of the beta-chain gene use in peripheral blood and multiple synovial membranes during rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* 1995; 42: 331-9.
- 94 Firenstein GS. Etiology and pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, eds. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p. 921-66.
- 95 Nouri AM, Panayi GS. Cytokines and the chronic inflammation of rheumatic disease. III. Deficient interleukin-2 production in rheumatoid arthritis is not due to suppressor mechanisms. *J Rheumatol* 1987; 14: 902-6.
- 96 Wahl SM, Allen JB, Wong HL, Dougherty SF, Ellingsworth LR. Antagonistic and agonistic effects of transforming growth factor-beta and IL-1 in rheumatoid synovium. *J Immunol* 1990; 145: 2514-9.
- 97 Klimiuk PA, Goronzy JJ, Weyand CM. IL-16 as an anti-inflammatory cytokine in rheumatoid synovitis. *J Immunol* 1999; 162: 4293-9.
- 98 Cao D, Malmstrom V, Baecher-Allan C, Hafler D, Klareskog L, Trollmo C. Isolation and functional characterization of regulatory CD25^{bright}CD4⁺T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 2003; 33: 215-23.
- 99 Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. CD4⁽⁺⁾ regulatory T cells in autoimmunity and allergy. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 771-8.
- 100 Furtado GC, Curotto de Lafaille MA, Kutchukhidze N, Lafaille JJ. Interleukin 2 signaling is required for CD4⁽⁺⁾ regulatory T cell function. *Exp Med* 2002; 196: 851-7.
- 101 Miossec P, Naviliat M, Dupuy d'Angeac A, Sany J, Banchereau J. Low levels of interleukin-4 and high levels of transforming growth factor beta in rheumatoid synovitis. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1180-7.
- 102 Berek C, Schroder AE. A germinal center-like reaction in the nonlymphoid tissue of the synovial membrane. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 815: 211-7.

103 Winchester RJ, Agnello V, Kunkel HG. Gamma globulin complexes in synovial fluids of patients with rheumatoid arthritis. Partial characterization and relationship to lowered complement levels. *Clin Exp Immunol* 1970; 6: 689-706.

104 Hendrich C, Kuipers JG, Kolanus W, Hammer M, Schmidt RE. Activation of CD16+ effector cells by rheumatoid factor complex. Role of natural killer cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 423-31.

105 Takemura S, Klimiuk PA, Braun A, Goronzy JJ, Weyand CM. T cell activation in rheumatoid synovium is B cell dependent. *J Immunol* 2001; 167: 4710-8.

106 Edwards JC, Cambridge G. Sustained improvement in rheumatoid arthritis following a protocol designed to deplete B lymphocytes. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40: 205-11.

107 Edwards JC, Cambridge G, Abrahams VM. Do self-perpetuating B lymphocytes drive human autoimmune disease? *Immunology* 1999; 97: 188-96.

108 Edwards JC. Is rheumatoid factor relevant? In: Bird HA, Snaith ML, editors. *Challenges in Rheumatoid Arthritis*. Oxford: Blackwell Science; 1999. p. 3-24.

109 Borretzen M, Randen I, Natvig JB, Thompson KM. Structural restriction in the heavy chain CDR3 of human rheumatoid factors. *J Immunol*; 155: 3630-7.

110 Edwards JC, Leigh RD, Cambridge G. Expression of molecules involved in B lymphocyte survival and differentiation by synovial fibroblasts. *Clin Exp Immunol* 1997; 108: 407-14.

111 Edwards JC, Wilkinson LS, Speight P, Isenberg DA. Vascular cell adhesion molecule 1 and alpha 4 and beta 1 integrins in lymphocyte aggregates in Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 806-11.

112 Lampert IA, Schofield JB, Amlot P, Van Noorden S. Protection of germinal centres from complement attack: decay-accelerating factor (DAF) is a constitutive protein on follicular dendritic cells. A study in reactive and neoplastic follicles. *J Pathol* 1993; 170: 115-20.

113 Davies KA, Hird V, Stewart S, Sivolapenko GB, Jose P, Epenetos AA et al. A study of in vivo immune complex formation and clearance in man. *J Immunol* 1990; 144: 4613-20.

114 Abrahams VM, Cambridge G, Lydyard PM, Edwards JC. Induction of tumor necrosis factor alpha production by adhered human monocytes: a key role for Fc gamma receptor type IIIa in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 608-16.

115 Bhatia A, Blades S, Cambridge G, Edwards JC. Differential distribution of Fc gamma RIIIa in normal human tissues and colocalization with DAF and fibrillin-1: implications for immunological microenvironments. *Immunology* 1998; 94: 56-63.

116 Kraan MC, Haringman JJ, Post WJ, Versendal J, Breedveld FC, Tak PP: Immunohistological analysis of synovial tissue for differential diagnosis in early arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 1999; 38: 1074-80.

117 Moura RA, Weinmann P, Pereira PA, Caetano-Lopes J, Canhão H, Sousa E, Mourão AF, Rodrigues AM, Queiroz MV, Souto-Carneiro MM, Graça L, Fonseca JE. Alterations on peripheral blood B-cell subpopulations in very early arthritis patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 (epub ahead of print).

118 Kinne RW, Brauer R, Stuhlmuller B, Palombo-Kinne E, Burmester GR. Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2000; 2: 189-202.

119 Mulherin D, Fitzgerald O, Bresnihan B. Synovial tissue macrophage populations and articular damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 115-24.

120 Bondeson J. The mechanisms of action of disease-modifying antirheumatic drugs: a review with emphasis on macrophage signal transduction and the induction of proinflammatory cytokines. *Gen Pharmacol* 1997; 29: 127-50.

121 Feldmann M, Bondeson J, Brennan FM, Foxwell BM, Maini RN. The rationale for the current boom in anti-TNFalpha treatment. Is there an effective means to define therapeutic targets for drugs that provide all the benefits of anti-TNFalpha and minimise hazards? *Ann Rheum Dis* 1999; 58 Suppl 1 :i27-31.

122 Bresnihan B, Alvaro-Gracia JM, Cobby M, Doherty M, Domljan Z, Emery P et al. Treatment of rheumatoid arthritis with recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 2196-204.

123 Pirila L, Heino J. Altered integrin expression in rheumatoid synovial lining type B cells: in vitro cytokine regulation of alpha 1 beta 1, alpha 6 beta 1, and alpha v beta 5 integrins. *J Rheumatol* 1996; 23: 1691-8.

124 van den Berg TK, van Die I, de Lavalette CR, Dopp EA, Smit LD, van der Meide PH et al. Regulation of sialoadhesin expression on rat

macrophages. Induction by glucocorticoids and enhancement by IFN-beta, IFN-gamma, IL-4, and lipopolysaccharide. *J Immunol* 1996; 157: 3130-8.

125 Kinne RW, Schmidt-Weber CB, Hoppe R, Buchner E, Palombo-Kinne E, Nurnberg E et al. Long-term amelioration of rat adjuvant arthritis following systemic elimination of macrophages by clodronate-containing liposomes. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 1777-90.

126 Zwadlo G, Voegeli R, Osthoff KS, Sorg C. A monoclonal antibody to a novel differentiation antigen on human macrophages associated with the down-regulatory phase of the inflammatory process. *Exp Cell Biol* 1987; 55: 295-304.

127 Hogger P, Dreier J, Droste A, Buck F, Sorg C. Identification of the integral membrane protein RM3/1 on human monocytes as a glucocorticoid-inducible member of the scavenger receptor cysteine-rich family (CD163). *J Immunol* 1998; 161: 1883-90.

128 Schebesch C, Kodelja V, Muller C, Hakij N, Bisson S, Orfanos CE et al. Alternatively activated macrophages actively inhibit proliferation of peripheral blood lymphocytes and CD4+ T cells in vitro. *Immunology* 1997; 92: 478-86.

129 Hamann W, Floter A, Schmutzler W, Zwadlo-Klarwasser G. Characterization of a novel anti-inflammatory factor produced by RM3/1 macrophages derived from glucocorticoid treated human monocytes. *Inflamm Res* 1995; 44: 535-40.

130 Horie S, Nakada K, Masuyama J, Yoshio T, Minota S, Wakabayashi Y et al. Detection of large macrophage colony forming cells in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1997; 24: 1517-21.

131 Hirohata S, Yanagida T, Itoh K, Nakamura H, Yoshino S, Tomita T et al. Accelerated generation of CD14+ monocyte-lineage cells from the bone marrow of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 836-43.

132 Stuhlmuller B, Ungethum U, Scholze S, Martinez L, Backhaus M, Kraetsch HG et al. Identification of known and novel genes in activated monocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 775-90.

133 Iguchi T, Kurosaka M, Ziff M. Electron microscopic study of HLA-DR and monocyte/macrophage staining cells in the rheumatoid synovial membrane. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 600-13.

- 134 Stout RD, Suttles J. T cell signaling of macrophage function in inflammatory disease. *Front Biosci* 1997; 2: d197-206.
- 135 Chomarat P, Rissoan MC, Pin JJ, Banchereau J, Miossec P. Contribution of IL-1, CD14, and CD13 in the increased IL-6 production induced by in vitro monocyte-synoviocyte interactions. *J Immunol* 1995; 155: 3645-52.
- 136 Scott BB, Weisbrot LM, Greenwood JD, Bogoch ER, Paige CJ, Keystone EC. Rheumatoid arthritis synovial fibroblast and U937 macrophage/monocyte cell line interaction in cartilage degradation. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 490-8.
- 137 McInnes IB, Leung BP, Sturrock RD, Field M, Liew FY. Interleukin-15 mediates T cell-dependent regulation of tumor necrosis factor-alpha production in rheumatoid arthritis. *Nature Med* 1997; 3: 189-195.
- 138 Bedard PA, Golds EE. Cytokine-induced expression of mRNAs for chemotactic factors in human synovial cells and fibroblasts. *J Cell Physiol* 1993; 154: 433-41.
- 139 McInnes IB, Leung BP, Field M, Wei XQ, Huang FP, Sturrock RD et al. Production of nitric oxide in the synovial membrane of rheumatoid and osteoarthritis patients. *J Exp Med* 1996; 184: 1519-24.
- 140 Cutolo M. Do sex hormones modulate the synovial macrophages in rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis* 1997; 56: 281-4.
- 141 Isomaki P, Luukkainen R, Toivanen P, Punnonen J. The presence of interleukin-13 in rheumatoid synovium and its anti-inflammatory effects on synovial fluid macrophages from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1693-702.
- 142 Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, Gabay C. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 27-55.
- 143 Houssiau FA, Devogelaer JP, Van Damme J, de Deuxchaisnes CN, Van Snick J. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 784-8.
- 144 Kotake S, Sato K, Kim KJ, Takahashi N, Udagawa N, Nakamura I et al. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptors in the synovial fluids from rheumatoid arthritis patients are responsible for osteoclast-like cell formation. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 88-95.
- 145 van de Loo FA, Kuiper S, van Enckevort FH, Arntz OJ, van den Berg WB. Interleukin-6 reduces cartilage destruction during experimental

arthritis. A study in interleukin-6-deficient mice. *Am J Pathol* 1997; 151: 177-91.

146 Wahl SM, Allen JB, Welch GR, Wong HL. Transforming growth factor-beta in synovial fluids modulates Fc gamma RII (CD16) expression on mononuclear phagocytes. *J Immunol* 1992; 148: 485-90.

147 Wahl SM, Allen JB, Weeks BS, Wong HL, Klotman PE. Transforming growth factor beta enhances integrin expression and type IV collagenase secretion in human monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 4577-81.

148 Edwards DR, Murphy G, Reynolds JJ, Whitham SE, Docherty AJ, Angel P et al. Transforming growth factor beta modulates the expression of collagenase and metalloproteinase inhibitor. *EMBO J* 1987; 6: 1899-904.

149 von den Hoff H, de Koning M, van Kampen J, van der Korst J. Interleukin-1 reversibly inhibits the synthesis of biglycan and decorin in intact articular cartilage in culture. *J Rheumatol* 1995; 22: 1520-6.

150 Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, Okahashi N, Kobayashi K, Udagawa N et al. Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. *Immunol* 1999; 163: 434-42.

151 Dayer JM, Fenner H. The role of cytokines and their inhibitors in arthritis. *Baillieres Clin Rheumatol* 1992; 6: 485-516.

152 Grell M, Douni E, Wajant H, Lohden M, Clauss M, Maxeiner B et al. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1995; 83: 793-802.

153 Su X, Zhou T, Yang P, Edwards CK 3rd, Mountz JD. Reduction of arthritis and pneumonitis in motheaten mice by soluble tumor necrosis factor receptor. *Arthritis Rheum*; 41: 139-49.

154 Mussener A, Klareskog L, Lorentzen JC, Kleinau S. TNF-alpha dominates cytokine mRNA expression in lymphoid tissues of rats developing collagen- and oil-induced arthritis. *Scand J Immunol* 1995; 42: 128-34.

155 Henderson B, Pettipher ER. Arthritogenic actions of recombinant IL-1 and tumour necrosis factor alpha in the rabbit: evidence for synergistic interactions between cytokines in vivo. *Clin Exp Immunol* 1989; 75: 306-10.

156 Probert L, Plows D, Kontogeorgos G, Kollias G. The type I interleukin-1 receptor acts in series with tumor necrosis factor (TNF) to induce arthritis in TNF-transgenic mice. *Eur J Immunol* 1995; 25: 1794-7.

157 Neidel J, Schulze M, Lindschau J. Association between degree of bone-erosion and synovial fluid-levels of tumor necrosis factor alpha in the knee-joints of patients with rheumatoid arthritis. *Inflamm Res* 1995; 44: 217-21.

158 Fonseca JE, Cavaleiro J, Teles J, Sousa E, Andreozzi VL, Antunes M, Amaral-Turkman MA, Canhão H, Mourão AF, Lopes J, Caetano-Lopes J, Weinmann P, Sobral M, Nero P, Saavedra MJ, Malcata A, Cruz M, Melo R, Braña A, Miranda L, Patto JV, Barcelos A, Canas da Silva J, Santos LM, Figueiredo G, Rodrigues M, Jesus H, Quintal A, Carvalho T, Pereira da Silva JA, Branco J, Viana Queiroz M. Contribution for new genetic markers of rheumatoid arthritis activity and severity: sequencing of the tumor necrosis factor-alpha gene promoter. *Arthritis Res Ther*. 2007;9(2):R37.

159 Lipsky PE, van der Heijde DM, St Clair EW, Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR et al; Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1594-602.

160 Culy CR, Keating GM. Etanercept: an updated review of its use in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Drugs* 2002; 62: 2495-539.

161 Fonseca JE, Carvalho T, Cruz M, Nero P, Sobral M, Mourão AF, Cavaleiro J, Abreu I, Carmo Fonseca M, Branco JC. Polymorphism at position -308 of the tumor necrosis factor alpha gene and rheumatoid arthritis pharmacogenetics. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 793-4.

162 Fonseca JE, Teles J, Viana Queiroz M. Tumour Necrosis Factor α Gene Promoter and its Role in Rheumatoid Arthritis Outcome and Pharmacogenetics. *Current Pharmacogenomics* 2007; 4: 275-279

163 Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000; 289: 1504-8.

164 Takayanagi H, Iizuka H, Juji T, Nakagawa T, Yamamoto A, Miyazaki T et al. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 259-69.

165 Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of

macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest* 2000; 106: 1481-8.

166 Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999; 25: 255-9.

167 Horwood NJ, Udagawa N, Elliott J, Grail D, Okamura H, Kurimoto M et al. Interleukin 18 inhibits osteoclast formation via T cell production of granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *J Clin Invest* 1998; 101: 595-603.

168 Gravallese EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, Amento E et al. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 250-8.

169 Kotake S, Udagawa N, Hakoda M, Mogi M, Yano K, Tsuda E et al. Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1003-12.

170 Sakaguchi N, Takahashi T, Hata H, Nomura T, et al. Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice. *Nature* 2003; 426: 454-60.

171 Caetano-Lopes J, Canhão H, Fonseca JE. Osteoimmunology - The hidden immune regulation of bone. *Autoimmun Rev* 2009; 8: 250-255.

172 Caetano-Lopes J, Nery AM, Henriques R, Canhão H, Duarte J, Amaral PM, Vale M, Moura RA, Pereira PA, Weinmann P, Abdulghani S, Souto-Carneiro M, Rego P, Monteiro J, Sakagushi S, Queiroz MV, Kontinen YT, Graça L, Vaz MF, Fonseca JE. Chronic arthritis directly induces quantitative and qualitative bone disturbances leading to compromised biomechanical properties. *Clin Exp Rheumatol.* 2009; 27: 475-82.

173 Canhao H, Fonseca JE, Caetano-Lopes J, Saldanha C, Queiroz MV. Assessment of laboratory measurements and -308 TNF alpha gene promoter polymorphisms in normal bone mineral density. *Clin Rheumatol* 2008; 27: 301-7

174 Gonzalez-Roces S, Alvarez MV, Gonzalez S, Dieye A, Makni H, Woodfield DG, et al. HLA-B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 1997; 49: 116-23.

175 Pimentel-Santos FM, Ligeiro D, Matos M, Mourão AF, Sousa E, Pinto P, Ribeiro A, Sousa M, Barcelos A, Godinho F, Cruz M, Fonseca

JE, Guedes-Pinto H, Trindade H, Evans DM, Brown MA, Branco JC. Association of IL23R and ERAP1 genes with ankylosing spondylitis in a Portuguese population. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27: 800-6.

176 Bjorkman PJ, Parham P. Structure, function, and diversity of class I major histocompatibility complex molecules. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 253-88.

177 Jardetzky TS, Lane WS, Robinson RA, Madden DR, Wiley DC. Identification of self peptides bound to purified HLA-B27. *Nature* 1991; 353: 326-9.

178 Fonseca JE. Fisiopatologia das doenças reumáticas. In: Mário Viana Queiroz (eds) *Doenças Reumáticas em 12 lições*. Lidel. Lisboa 2005 p.169-192.

179 Maksymowych W. Etiology and pathogenesis of ankylosing spondylitis. In: Hochberg M, Silman AJ, Smolen JS, Weinblat ME, Weisman MH, editors. *Rheumatology*. London: Elsevier Ltd; 2003. p. 1183-92.

180 Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, Simmons WA, Zhou M, Fernandez-Sueiro JL, et al. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J Exp Med* 1994; 180: 2359-64.

181 Ikawa T, Ikeda M, Yamaguchi A, Tsai WC, Tamura N, Seta N, et al. Expression of arthritis-causing HLA-B27 on Hela cells promotes induction of c-fos in response to in vitro invasion by *Salmonella typhimurium*. *J Clin Invest* 1998; 101: 263-72.

182 Mielants H, Veys EM, Goemaere S, Goethals K, Cuvelier C, De Vos M. Gut inflammation in the spondyloarthropathies: clinical, radiologic, biologic and genetic features in relation to the type of histology. A prospective study. *J Rheumatol* 1991; 18: 1542-51.

183 Sousa E, Caetano-Lopes J, Pinto P, Pimentel F, Teles J, Canhã H, Rodrigues A, Resende C, Mourão AF, Ribeiro C, Pinto TL, Rosa CM, da Silva JA, Branco J, Ventura F, Queiroz MV, Fonseca JE. Ankylosing spondylitis susceptibility and severity - contribution of TNF gene promoter polymorphisms at positions -238 and -308. *Ann NY Acad Sci* 2009; 1173: 581-8.

184 Sullivan KE. Inflammation in juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Clin North Am* 2005; 52: 335-57

185 Mourão AF, Caetano-Lopes J, Costa P, Canhã H, Santos MJ, Pinto P, Brito I, Nicola P, Cavaleiro J, Teles J, Sousa A, Gomes JM, Branco J, da Costa

JT, Pedro JG, de Queiroz MV, Fonseca JE. Tumour necrosis factor-alpha-308 genotypes influence inflammatory activity and TNF-alpha serum concentrations in children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol*, 2009; 36:837-42.

186 Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lúpus erythematosus. *J Clin Pathol* 2003; 56: 481-90.

187 Schur PH. Genetics of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1995; 4: 425-37.

188 Walport MJ, Davies KA, Botto M. C1q and systemic lupus erythematosus. *Immunobiology* 1998; 199: 265-85.

189 Atkinson JP. Complement activation and complement receptors in systemic lupus erythematosus. *Springer Semin Immunopathol*. 1986;9(2-3):179-94.

190 Suarez-Gestal M, Calaza M, Endreffy E, Kovacs A, Pullmann R, Ros JO, Sebastiani GD, Ruzickova S, Santos MJ, Papasteriades C, Marchini M, Skopouli FN, Suarez A, Blanco FJ, D'Alfonso S, Bijl M, Carreira P, Witte T, Migliaresi S, Gomez-Reino JJ, Gonzalez A. European Consortium Of SLE DNA Collections. Replication of recently identified systemic lupus erythematosus genetic associations: a case control study. *Arthritis Res Ther*. 2009 May 14;11(3):R69.

191 Fonseca JE, Reis P, Saraiva F, Crujo C, Baptista A, da Silva JA, Viana Queiroz M. A complex case of hepatitis in a patient with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 1999; 18:414-6.

192 Mackiewicz Z, Hukkanen M, Povilenaite D, Sukura A, Fonseca JE, Virtanen I, Kontinen YT. Dual effects of caspase-1, interleukin-1 beta, tumour necrosis factor-alpha and nerve growth factor receptor in inflammatory myopathies. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21: 41-8.

193 Aringer M, Smolen JS. Efficacy and safety of TNF-blocker therapy in systemic lupus erythematosus. *Expert Opin Drug Saf*. 2008; 7: 411-9.

194 Hahn BH. Antibodies to DNA. *N Engl J Med* 1998; 338: 1359-68.

195 Mohan C, Adams S, Stanik V, Datta SK. Nucleosome: a major immunogen for pathogenic autoantibody-inducing T cells of lupus. *J Exp Med* 1993; 177: 1367-81.

196 Herrmann M, Voll RE, Zoller OM, Hagenhofer M, Ponner BB, Kalden JR. Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1241-50.

- 197 Carmo-Fonseca M, Pfeifer K, Schröder HC, Vaz MF, Fonseca JE, Müller WE, Bachmann M. Identification of La ribonucleoproteins as a component of interchromatin granules. *Exp Cell Res* 1989; 185:73-85.
- 198 Ramos F, Figueira R, Fonseca JE, Canhão H, Mouzinho A, Valente P, Costa JT, Queiroz MV. Juvenile cutaneous polyarteritis nodosa associated with streptococcal infection. *Acta Reumatol Port.* 2006; 31:83-8.
- 199 Lopes de Carvalho I, Fonseca JE, Marques JG, Ullmann A, Hojgaard A, Zeidner N, Nuncio MS. Vasculitis-like syndrome associated with *Borrelia lusitaniae* infection. *Clin Rheumatol.* 2008; 27: 1587-91.
- 200 Seo P, Stone JH. The ANCA associated vasculitis. *Am J Med* 2004; 117: 39-50.
- 201 Del Papa N, Conforti G, Gambini D, et al. Characterization of the endothelial surface proteins recognized by anti-endothelial antibodies in primary and secondary autoimmune vasculitis. *Clin Immunol Immunopathol.* 1994; 70: 211-6.
- 202 Stegeman CA, Tervaert JW, Huitema MG, de Jong PE, Kallenberg CG. Serum levels of soluble adhesion molecules intercellular adhesion molecule 1, vascular cell adhesion molecule 1, and E-selectin in patients with Wegener's granulomatosis. Relationship to disease activity and relevance during followup. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1228-35.
- 203 Noronha IL, Kruger C, Andrassy K, Ritz E, Waldherr R. In situ production of TNF-alpha, IL-1 beta and IL-2R in ANCA-positive glomerulonephritis. *Kidney Int* 1993; 43: 682-92.
- 204 Harris ED, Budd RC, Firestein GS, Genovese MC, Sargent JS, Ruddy S, Sledge SB. Kelley's Textbook of Rheumatology. Philadelphia: Saunders, 2004: 1344-1398.
- 205 Pascual E, Jovani V. A quantitative study of the phagocytosis of urate crystals in the synovial fluid of asymptomatic joints of patients with gout. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 724-6.
- 206 Canhão H, Fonseca JE, Leandro MJ, Romeu JC, Pimentão JB, Costa JT, Queiroz MV. Cross-sectional study of 50 patients with calcium pyrophosphate dihydrate crystal arthropathy. *Clin Rheumatol* 2001; 20:119-22.
- 207 Yagnik DR, Hillyer P, Marshall D, Smythe CD, Krausz T, Haskard DO, Landis RC. Noninflammatory phagocytosis of monosodium urate monohydrate crystals by mouse macrophages. Implications for the control of joint inflammation in gout. *Arthritis Rheum* 2000 ; 43: 1779-89.

208 Pouliot M, James MJ, McColl SR, Naccache PH, Cleland LG. Monosodium urate microcrystals induce cyclooxygenase-2 in human monocytes. *Blood* 1998;91: 1769-76.

209 Tudan C, Fong D, Duronio V, Burt HM, Jackson JK. The inhibition of spontaneous and tumor necrosis factor-alpha induced neutrophil apoptosis by crystals of calcium pyrophosphate dihydrate and monosodium urate monohydrate. *J Rheumatol* 2000; 27: 2463-72.

210 Viana Queiroz M, Fonseca JE. Terapêuticas inovadoras das doenças reumáticas auto-imunes. *Boletim CIAR* 1999; 9: 105-14.

211 van der Heijde DM, van Riel PL, van Leeuwen MA, van 't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB. Prognostic factors for radiographic damage and physical disability in early rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1992; 31: 519-25.

212 McGonagle D, Conaghan PG, Wakefield R, Emery P. Imaging the joints in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2001; 15: 91-104.

213 Tsakonas E, Fitzgerald AA, Fitzcharles MA, Cividino A, Thorne JC, M'Seffar A et al. Consequences of delayed therapy with second-line agents in rheumatoid arthritis: a 3 year followup on the hydroxychloroquine in early rheumatoid arthritis (HERA) study. *J Rheumatol* 2000; 27: 623-9.

214 Rich E, Moreland LW, Alarcon GS. Paucity of radiographic progression in rheumatoid arthritis treated with methotrexate. *J Rheumatol* 1999; 26: 259-61.

215 Maravic M, Bologna C, Daures JP, Jorgensen C, Combe B, Sany J. Radiologic progression in early rheumatoid arthritis treated with methotrexate. *J Rheumatol* 1999; 26: 262-7.

216 Mottonen T, Hannonen P, Leirisalo-Repo M, Nissila M, Kautiainen H, Korpela M et al. Comparison of combination therapy with single-drug therapy in early rheumatoid arthritis: a randomised trial. FIN-RACo trial group. *Lancet* 1999; 353: 1568-73.

217 Krause D, Schleusser B, Herborn G, Rau R. Response to methotrexate treatment associated with reduced mortality in patients with severe rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 14-21.

218 Fonseca JE, Queiroz MV. Estudo da eficácia, tolerância e aceitabilidade da terapêutica da Artrite Reumatóide com metotrexato-experiência dos últimos 10 anos. *Boletim CIAR* 1999; 7: 83-8.

- 219 Viana Queiroz M. Tratamento convencional da AR. In: Viana Queiroz M, ed. Reumatologia. Lisboa: Lidel; 2002. vol II, p. 22-28.
- 220 Kirwan JR. Systemic low-dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001; 27: 389-403, ix-x.
- 221 Felson DT, Anderson JJ, Meenan RF. The comparative efficacy and toxicity of second-line drugs in rheumatoid arthritis. Results of two metaanalyses. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1449-61.
- 222 Wendt T, Eidner T, Braunig E, Hein G. Influence of methotrexate and azathioprine on radiologic progression in rheumatoid arthritis. *Eur J Med Res* 1999; 4: 442-8.
- 223 van der Heijde DM, van Riel PL, Nuver-Zwart IH, van de Putte LB. Alternative methods for analysis of radiographic damage in a randomized, double blind, parallel group clinical trial comparing hydroxychloroquine and sulfasalazine. *J Rheumatol* 2000; 27: 535-8.
- 224 Sharp JT, Strand V, Leung H, Hurley F, Loew-Friedrich I. Treatment with leflunomide slows radiographic progression of rheumatoid arthritis: results from three randomized controlled trials of leflunomide in patients with active rheumatoid arthritis. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 495-505.
- 225 Drosos AA, Voulgari PV, Papadopoulos IA, Politi EN, Georgiou PE, Zikou AK. Cyclosporine A in the treatment of early rheumatoid arthritis. A prospective, randomized 24-month study. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 695-701.
- 226 Pincus T, Ferraccioli G, Sokka T, Larsen A, Rau R, Kushner I, Wolfe F. Evidence from clinical trials and long-term observational studies that disease-modifying anti-rheumatic drugs slow radiographic progression in rheumatoid arthritis: updating a 1983 review. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41:1346-56.
- 227 Fonseca JE, Queiroz MV. Efeitos adversos das drogas de acção lenta na terapêutica da artrite reumatóide - experiência dos últimos 20 anos (1977-1997). *Boletim CIAR* 1999; 9: 3-7.
- 228 Weinblatt ME, Maier AL, Fraser PA, Coblyn JS. Longterm prospective study of methotrexate in rheumatoid arthritis: conclusion after 132 months of therapy. *J Rheumatol* 1998; 25: 238-42.
- 229 Pincus T, Marcum SB, Callahan LF. Longterm drug therapy for rheumatoid arthritis in seven rheumatology private practices: II. Second line drugs and prednisone. *J Rheumatol* 1992; 19: 1885-94.

230 Albert DA, Aksentijevich S, Hurst S, Fries JF, Wolfe F. Modeling therapeutic strategies in rheumatoid arthritis: use of decision analysis and Markov models. *J Rheumatol* 2000; 27: 644-52.

231 O'Dell JR, Leff R, Paulsen G, Haire C, Mallek J, Eckhoff PJ et al. Treatment of rheumatoid arthritis with methotrexate and hydroxychloroquine, methotrexate and sulfasalazine, or a combination of the three medications: results of a two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1164-70.

232 Stein CM, Pincus T, Yocum D, Tugwell P, Wells G, Gluck O et al. Combination treatment of severe rheumatoid arthritis with cyclosporine and methotrexate for forty-eight weeks: an open-label extension study. The Methotrexate-Cyclosporine Combination Study Group. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1843-51.

233 Kremer JM, Genovese MC, Cannon GW, Caldwell JR, Cush JJ, Furst DE et al. Concomitant leflunomide therapy in patients with active rheumatoid arthritis despite stable doses of methotrexate. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2002; 137: 726-33.

234 O'Dell JR, Scott DL. Rheumatoid arthritis: new developments in the use of existing therapies. *Rheumatology* 1999; 38 (supp 2): 24-6.

235 Visser K, Katchamart W, Loza E, Martinez-Lopez JA, Salliot C, Trudeau J, Bombardier C, Carmona L, van der Heijde D, Bijlsma J, Boumpas DT, Canhao H, Edwards CJ, Hamuryudan V, Kvien TK, Leeb BF, Martín-Mola E, Mielants H, Müller-Ladner U, Murphy G, Østergaard M, Pereira IA, Ramos-Remus C, Valentini G, Zochling J, Dougados M. Multinational evidence-based recommendations for the use of methotrexate in rheumatic disorders: integrating systematic literature research and expert opinion of a broad international panel of rheumatologists in the 3E Initiative. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 1086-93.

236 Maini R, St Clair EW, Breedveld F, Furst D, Kalden J, Weisman M et al. Infliximab (chimeric anti-tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. ATTRACT Study Group; *Lancet* 1999; 354: 1932-9.

237 Weinblatt ME, Kremer JM, Bankhurst AD, Bulpitt KJ, Fleischmann RM, Fox RI 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: 253-9.

- 238 Bresnihan B. Effects of anakinra on clinical and radiological outcomes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 Suppl 2: ii74-7.
- 239 Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, Moreland LW, Weisman MH, Birbara CA 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 trial. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 35-45.
- 240 Edwards JCW, Szczepanski L, Szechinski J, Filipowicz-Sosnowska A, Close D, Stevens RM, Shaw TM. Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2004; 350: 2572-81.
- 241 Kremer J, Westhovens R, Leon M, Di Giorgio E, Alten R, Steinfeld S et al. Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4Ig. *N Engl J Med* 2003; 349:1907-15.
- 242 Blumenauer B, Judd M, Wells G, Burls A, Cranney A, Hochberg M et al. Infliximab for the treatment of rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;(3):CD003785.
- 243 Genovese MC, Bathon JM, Martin RW, Fleischmann RM, Tesser JR, Schiff MH et al. Etanercept versus methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis: two-year radiographic and clinical outcomes. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1443-50.
- 244 Hallegua DS, Weisman MH. Potential therapeutic uses of interleukin 1 receptor antagonists in human diseases. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:960-7.
- 245 Keystone E, Kavanaugh AF, Sharp J, Hua Y, Teoh L, Fischkoff S, Chartash EK. Radiographic, clinical, and functional outcomes of treatment with adalimumab (a human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody) in patients with active rheumatoid arthritis receiving concomitant methotrexate therapy: a randomized, placebo-controlled, 52-week trial. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1400-11.
- 246 Keystone EC, Emery P, Peterfy CG, Tak PP, Cohen S, Genovese MC, Dougados M, Burmester GR, Greenwald M, Kvien TK, Williams S, Hagerty D, Cravets MW, Shaw T. Rituximab inhibits structural joint damage in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to tumour necrosis factor inhibitor therapies. *Ann Rheum Dis*. 2009; 68: 216-21.
- 247 Genant HK, Peterfy CG, Westhovens R, Becker JC, Aranda R, Vratsanos G, Teng J, Kremer JM. Abatacept inhibits progression of structural

damage in rheumatoid arthritis: results from the long-term extension of the AIM trial. *Ann Rheum Dis* 2008; 67:1084-9.

248 Castro-Rueda H, Kavanaugh A. Biologic therapy for early rheumatoid arthritis: the latest evidence. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 314-9.

249 Cruz M, Fonseca JE, Branco J. Três anos de administração de etanercept e infliximab a doentes com artrite reumatóide refractária. *Acta Reum Port* 2004; 29: 21-32.

250 Fonseca JE, Canhão H, Jalles Tavares N, Cruz M, Branco J, Viana Queiroz M. Persistent low grade synovitis without erosive progression in magnetic resonance imaging of rheumatoid arthritis patients treated with infliximab over one year. *Clin Rheumatol* 2009; 28: 1213-6.

251 Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Análise de 376 doentes com artrite reumatóide submetidos a terapêutica biológica registados na base de dados de agentes biológicos da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. *Acta Reum Port* 2005; 30: 63-71.

252 Cohen G, Courvoisier N, Cohen JD, Zaltni S, Sany J, Combe B. The efficiency of switching from infliximab to etanercept and vice-versa in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23:795-800.

253 Cohen SB, Emery P, Greenwald MW, Dougados M, Furie RA, Genovese MC, Keystone EC, Loveless JE, Burmester GR, Cravets MW, Hessey EW, Shaw T, Totoritis MC; REFLEX Trial Group. Rituximab for rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor therapy: Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial evaluating primary efficacy and safety at twenty-four weeks. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2793-806.

254 Sherrer Y. Abatacept in biologic-naïve patients and TNF inadequate responders: clinical data in focus. *Curr Med Res Opin* 2008; 24:2283-94.

255 Fonseca JE, Canhão H, Cruz M, Valério B, Castelão W, Mesquita T, C Resende, C Macieira, JA Pereira Silva, J Branco, M Viana Queiroz. Weight Gain Associated with the Administration of Tumor Necrosis Factor Alpha Antagonists in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46 (suppl 9): S170.

256 Brown SL, Greene MH, Gershon SK, Edwards ET, Braun MM. Tumor necrosis factor antagonist therapy and lymphoma development:

twenty-six cases reported to the Food and Drug Administration. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 3151-8.

257 Winthrop KL. Risk and prevention of tuberculosis and other serious opportunistic infections associated with the inhibition of tumor necrosis factor. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2006; 2:602-10.

258 Fonseca JE, Canhão H, Silva C, Miguel C, Mediavilla MJ, Teixeira A, Castelão W, Nero P, Bernardes M, Bernardo A, Mariz E, Godinho F, Santos MJ, Bogas M, Oliveira M, Saavedra MJ, Barcelos A, Cruz M, Santos RA, Maurício L, Rodrigues M, Figueiredo G, Quintal A, Patto JV, Malcata A, da Silva JC, Araújo D, Ventura F, Branco J, Queiroz MV; Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Tuberculosis in rheumatic patients treated with tumour necrosis factor alpha antagonists: the Portuguese experience. *Acta Reumatol Port*. 2006; 31:247-53.

259 Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Consensus GEAR/SPR para utilização de DMARD biológicos. *Acta Reum Port* 2003; 28: 187-189.

260 Fonseca JE, Lucas H, Canhão H, Duarte R, Santos MJ, Villar M, Faustino A, Raymundo E; Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia; Comissão de Tuberculose da Sociedade Portuguesa de Pneumologia. Recommendations for the diagnosis and treatment of latent and active tuberculosis in patients with inflammatory joint diseases treated with tumour necrosis factor alpha inhibitors. *Acta Reumatol Port* 2006; 31:237-45.

261 Fonseca JE, Lucas H, Canhão H, Duarte R, Santos MJ, Villar M, Faustino A, Raymundo E. Recommendations for the diagnosis and treatment of latent and active tuberculosis in inflammatory joint diseases candidates for therapy with tumor necrosis factor alpha inhibitors: March 2008 update. *Acta Reumatol Port* 2008; 33: 77-85.

262 Wong JB, Singh G, Kavanaugh A. Estimating the cost-effectiveness of 54 weeks of infliximab for rheumatoid arthritis. *Am J Med* 2002; 113: 400-8.

263 Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Portuguese guidelines for the use of biological agents in rheumatoid arthritis—December 2007 update. *Acta Reumatol Port* 2007; 32: 363-6.

264 Grupo de Estudos de Artrite Reumatóide da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Protocolo de actuação em caso de reacção à infusão de infliximab. *Acta Reumatol Port* 2005; 30: 355-9.

265 Mourão AF, Canhão H, Moura R, Weinmann P, Pereira P, Resende C, Pereira da Silva JA, Queiroz MV, Fonseca JE. Caracterização da resposta funcional dos neutrófilos em doentes com poliartrite em fase inicial. *Acta Reum Port* 2008; 33: 120.

266 Grupo de Consensos para as terapêuticas Biológicas na Espondilite Anquilosante da SPR. Análise de doentes com Espondilite Anquilosante submetidos a terapêutica biológica registados na base de dados de agentes biológicos da Sociedade Portuguesa de Reumatologia *Acta Reumatol Port* 2005; 30: 253-6.

267 Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG et al. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath ankylosing spondylitis disease activity index. *J Rheumatol* 1994; 21: 2286-91.

268 Calin A, Garrett S, Whitelock H et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath ankylosing spondylitis functional index. *J Rheumatol* 1994; 21: 2281-5.

269 van der Heijde D, Bellamy N, Calin A et al. Preliminary core sets for endpoints in ankylosing spondylitis: assessments in ankylosing spondylitis working group. *J Rheumatol* 1997; 24: 2225-9

270 Grupo de Consensos para as terapêuticas Biológicas na Espondilite Anquilosante da SPR. Consensos sobre a Utilização de Antagonistas do TNF - alfa na terapêutica da espondilite anquilosante. *Acta Reum Port* 2005; 30: 155-9.

271 Rodrigues A, Sousa E, Ramos F, Neto A, Costa JT, Canhão H, Gomes Pedro J, Viana Queiroz M. Avaliação da eficácia e segurança da terapêutica anti-TNF-alfa em doentes com artrite idiopática juvenil no Hospital de Santa Maria. *Jornadas Internacionais de Reumatologia Pediátrica, Lisboa, 2008.*

272 Santos MJ, Fonseca JE, Canhão H, Conde M, José Vieira M, Costa L, Costa M, Salgado M, Melo Gomes JA; Pelo Grupo de Trabalho de Reumatologia Pediátrica da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Guidelines for prescribing and monitoring biologic therapies in juvenile idiopathic arthritis. *Acta Reumatol Port* 2007; 32: 43-7.

273 Ding C, Foote S, Jones G. B-cell-targeted therapy for systemic lupus erythematosus: an update. *BioDrugs* 2008; 22: 239-49.

274 Davidson A, Diamond B, Wofsy D, Daikh D. Block and tackle: CTLA4Ig takes on lupus. *Lupus* 2005; 14: 197-203.

275 Ostendorf B, Iking-Konert C, Kurz K, Jung G, Sander O, Schneider M. Preliminary results of safety and efficacy of the interleukin 1 receptor

antagonist anakinra in patients with severe lupus arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64:630-3.

276 Psaila B, Bussel JB. Refractory immune thrombocytopenic purpura: current strategies for investigation and management. *Br J Haematol* 2008; 143: 16-26.

277 Coca A, Anolik JH. Targeted biologic approaches to the treatment of systemic vasculitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2008; 35: 79-87.

278 Canhão H, Fonseca JE, Rosa A. Intravenous gammaglobulin in the treatment of central nervous system vasculitis associated with Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 2000; 27: 1102-3.

279 McGonagle D, Tan AL, Shankaranarayana S, Madden J, Emery P, McDermott MF. Management of treatment resistant inflammation of acute on chronic tophaceous gout with anakinra. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:1683-4.

280 Tausche AK, Richter K, Grässler A, Hänsel S, Roch B, Schröder HE. Severe gouty arthritis refractory to anti-inflammatory drugs: treatment with anti-tumour necrosis factor alpha as a new therapeutic option. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1351-2.

281 Branco JC, Diniz A, Viana Queiroz M. Programa Nacional Contra as Doenças Reumáticas. *Acta Reumatol Port* 2007; 32: 43-7.

282 Fonseca JE, Canhão H, Reis P, Jesus H, Silva JA, Branco J, Queiroz MV. Protocolo de Monitorização da Artrite Reumatóide (PMAR)-atualização de 2007. *Acta Reumatol Port* 2007; 32: 367-74.

283 Canhão H, Fonseca JE, Castelão W, Viana Queiroz M. Protocolo de Monitorização da Espondilite Anquilosante (PMEA). *Acta Reuma Port* 2003; 28: 93-7.

284 Canhão H, Fonseca JE, Santos MJ, Gomes JA. Protocolo de Monitorização da Artrite Idiopática Juvenil (PMAIJ). *Acta Reumatol Port* 2007; 32: 277-81.

285 Silva C, Canhão H, Barcelos A, Miranda L, Pinto P, Santos MJ. Protocolo de Avaliação e Monitorização do Lúpus Eritematoso Sistémico (PAMLES). *Acta Reumatol Port* 2008; 33: 210-8.

286 Melo-Gomes JA, Ruperto N, Canhao H, Fonseca JE, Quintal A, Salgado M, Santos MJ; Paediatric Rheumatology International Trials Organisation. The Portuguese version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ). *Clin Exp Rheumatol*. 2001; 19: S126-30.

287 H Canhão, JE Fonseca, M Viana Queiroz. Questionário para identificação de factores de risco de osteoporose. *Acta Reumatol Port* 2004; 29: 63-9.

288 Tavares V, Canhão H, Gomes JA, Simões E, Romeu JC, Coelho P, Santos RA, Malcata A, Araújo D, Vaz C, Branco J; Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Recommendations for the diagnosis and management of osteoporosis. *Acta Reumatol Port* 2007; 32: 49-59.

289 Canhão H, Lucas R, Fonseca JE, Costa L, Romeu JC, Branco J, Barros H. Factors influencing calcaneus quantitative ultrasound measurements in an urban population. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26: 67-72.

Prémio Bial de Medicina Clínica 2008

Instituído em 1984, o PRÉMIO BIAL tem vindo a premiar conceituados profissionais de saúde de vários países, reconhecendo e distinguindo a investigação básica e clínica na área da medicina. Promovido pela FUNDAÇÃO BIAL, com periodicidade bienal, é considerado um dos maiores prémios na área da Saúde em toda a Europa.

O júri da edição PRÉMIO BIAL 2008 foi constituído por João Lobo Antunes, que presidiu, e por António Sousa Guerreiro, Henrique Barros, Joaquim Alexandre Ribeiro, José Cunha Vaz, José Manuel Calheiros, Maria de Sousa e Nuno Sousa.

A obra "A vision for medical research in the new era of complexity: a new multimodal integrative paradigm" de autoria de Miguel Castelo Branco do Instituto Biomédico de Investigação da Luz e Imagem - Faculdade de Medicina de Coimbra foi galardoada com o GRANDE PRÉMIO BIAL DE MEDICINA.

O PRÉMIO BIAL DE MEDICINA CLÍNICA foi entregue ao trabalho "Uma nova visão das doenças reumáticas inflamatórias: um exemplo de interacção da biologia celular e molecular com a clínica" de autoria de um grupo coordenado por João Eurico Fonseca da Unidade de Investigação em Reumatologia do Instituto de Medicina Molecular - Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa e composto por Helena Canhão, Maria José Santos, Ana Filipa Mourão, Elsa Sousa, Joana Caetano Lopes, Rita Moura, Pamela Weinmann, José Alberto Pereira da Silva, Jaime Branco e Mário Viana Queiroz.

Na décima terceira edição do PRÉMIO BIAL foram também distinguidas três obras com Menções Honrosas.

O PRÉMIO BIAL conta com os altos patrocínios do Senhor Presidente da República, do Conselho de Reitores das Universidades Portuguesas e da Ordem dos Médicos.

Com o objectivo de continuar a divulgar obras de grande repercussão na pesquisa médica e acompanhar a evolução da investigação na área da medicina, a FUNDAÇÃO BIAL vai organizar a edição do PRÉMIO BIAL 2010 envolvendo o GRANDE PRÉMIO BIAL DE MEDICINA, o PRÉMIO BIAL DE MEDICINA CLÍNICA e ainda quatro Menções Honrosas.