

Farmaci anti-citochine ed infezioni nei pazienti affetti da artrite reumatoide: meccanismi biologici ed aspetti clinici

Infections in patients with rheumatoid arthritis receiving anti-cytokine therapy: biological mechanisms and clinical aspects

C. Botsios¹, P. Ostuni¹, P. Sfriso¹, A. Furlan¹, U. Fiocco¹, D. Sgarabotto², S. Todesco¹

¹Cattedra e Divisione di Reumatologia, Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi, Padova;

²Divisione Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera di Padova

SUMMARY

Different animal studies show that several proinflammatory cytokines are essential for natural resistance to specific infections, particularly versus intracellular organisms. However, uncontrolled overproduction of some proinflammatory cytokines, in diseases such as rheumatoid arthritis, can be just as dangerous to the host as the absence of the same cytokines. Reduction in the production and/or activities of proinflammatory cytokines in rheumatoid arthritis remains a therapeutic objective for many patients. The tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) blockers infliximab, etanercept and adalimumab and the recombinant interleukin 1 (IL-1) receptor antagonist anakinra are effective in patients with active rheumatoid arthritis. However, there is a growing body of clinical evidence that neutralization of TNF- α is associated with an increased risk of opportunistic infections, including mycobacterial diseases. Blockade of IL-1 activity with the IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) appears, at present, to be relatively safe. Postmarketing experience and pharmacovigilance programs are necessary to determine the overall safety profile of the new agents. At this time, treating physicians must weigh carefully the benefits of biologics against their safety, particularly in patients at risk of infection.

Reumatismo, 2003; 55(4):224-235

INTRODUZIONE

Negli ultimi 40 anni è stata riportata un'elevata frequenza di infezioni in corso di artrite reumatoide (AR). In particolare, sono stati descritti numerosi casi di artrite settica ed infezioni polmonari (1, 2). Le segnalazioni presenti in letteratura suggerivano, anche nell'era pre-steroidica, una maggiore suscettibilità alle infezioni da parte dei pazienti con AR (3). Inoltre, come ulteriore supporto alla teoria dell'aumentato rischio infettivo, si può osservare che fino al 40% dei pazienti con artriti settiche è affetto da AR (4). I pazienti con

AR presentano un'aumentata mortalità rispetto alla popolazione generale, e almeno una parte di questo incremento sembra dovuto a patologie infettive, in particolare genitourinarie e broncopolmonari (5-8). In uno studio recente su 609 pazienti con AR e 609 controlli non affetti da AR, seguiti rispettivamente per un periodo medio di 12,7 anni e 15 anni, è stato riscontrato che i casi con AR presentavano una frequenza di infezioni quasi doppia rispetto ai controlli e che questo aumentato rischio era relativo alle infezioni confermate obiettivamente, a quelle che avevano richiesto il ricovero e a qualsiasi infezione comunque documentata (rischio relativo rispettivamente 1,70 [95% CI 1,42-2,03]; 1,83 [95% CI 1,52-2,21]; e 1,45 [95% CI 1,29-1,64]) (9). La maggior frequenza di infezioni nei pazienti con AR può essere imputata alla malattia stessa, sia a causa di un'alterata funzione immunologica che per altri fattori come la ridotta mobilitazione o la presenza di lesioni cu-

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Costantino Botsios

Cattedra e Divisione di Reumatologia

Via Giustiniani 2, 35128 Padova, Italy

E-mail: constantin.botsios@unipd.it

tanee. I focolai infettivi a più elevato rischio sono stati identificati soprattutto a livello di ossa, articolazioni, cute, tessuti molli e tratto respiratorio. Gli indici di severità di malattia (positività del fattore reumatoide, presenza di noduli reumatoidi, manifestazioni extraarticolari, aumento della VES, ridotto stadio funzionale), la comorbidità (per esempio con il diabete mellito), la leucopenia, l'età avanzata e la terapia cortisonica rappresentavano fattori tutti fortemente predittivi di rischio infettivo (9).

Alcuni studi hanno valutato il rischio infettivo nei pazienti con AR in trattamento con steroidi. Uno studio ha confrontato 112 pazienti con AR in trattamento steroideo con un gruppo comparabile di pazienti non trattati, dimostrando un notevole aumento del rischio infettivo nel gruppo con steroidi (odds ratio 8,0 [95% CI 1,0-64], $P < 0,05$) (10). Un secondo studio ha dimostrato che i pazienti con AR in trattamento cortisonico sviluppano un numero significativamente maggiore di infezioni rispetto ai pazienti con AR non trattati (38% contro 21%; $P < 0,05$) (11). Analogamente, uno studio che analizzava i fattori di rischio di infezione nei pazienti affetti da lupus eritematoso sistemico, ha dimostrato un aumento della frequenza di infezioni cinque volte superiore nei pazienti in trattamento con prednisone a dosaggi medi ≥ 40 mg/die rispetto a pazienti non trattati con steroidi (12). Non è nota tuttavia la dose di steroide potenzialmente associata ad un aumentato rischio infettivo. Una meta-analisi sul trattamento di breve durata con corticosteroidi in pazienti con patologie di diverso tipo ha dimostrato l'assenza di rischio infettivo ad un dosaggio di prednisone < 10 mg/die o con una dose cumulativa < 700 mg (13).

Tra i DMARDs comunemente prescritti ai pazienti con AR, il methotrexate (MTX) è quello più ampiamente studiato. Il farmaco ha un'attività immunosoppressiva comprovata agli alti dosaggi utilizzati nella chemioterapia oncologica, tuttavia, gli effetti delle dosi utilizzate nell'AR sono meno chiari. In uno studio prospettico di coorte su 228 pazienti con AR, il rischio relativo per infezioni nei pazienti in trattamento con MTX era 1,52 (95% CI 1,04-2,22) (14). Uno studio che confrontava il profilo tossicologico di 7 DMARDs, ha dimostrato un maggior numero di infezioni nei pazienti trattati con MTX o ciclosporina (CYC) piuttosto che in quelli trattati con azatioprina, idrossiclorochina (HCQ), D-penicillamina o sali d'oro (15). Un altro studio che confrontava MTX e sali d'oro ha evidenziato un aumentato rischio infettivo nel

gruppo in trattamento con MTX (16). In contrasto con questi lavori, altri studi non hanno dimostrato un'associazione tra utilizzo del MTX e rischio infettivo nei pazienti con AR (17, 18).

È stato ipotizzato che l'AR sia associata ad un deficit immunologico che predispone i pazienti alle infezioni. Questa teoria è sostenuta da dati di laboratorio che indicano che i pazienti affetti da AR presentano un ridotto repertorio di recettori delle cellule T, la cui diversità è necessaria per il riconoscimento di un'ampia gamma di antigeni (19). È stato altresì dimostrato che le funzioni delle cellule T sono profondamente alterate nell'AR, al punto da compromettere la capacità di questi pazienti di reagire alle infezioni (20). D'altra parte, il trattamento con corticosteroidi ed altri farmaci immunosoppressori può predisporre i pazienti con AR allo sviluppo di sepsi (21).

FARMACI BIOLOGICI NELL'ARTRITE REUMATOIDE

Il processo infiammatorio è solitamente regolato con precisione e coinvolge sia i mediatori che iniziano e mantengono l'infiammazione, sia quelli che la "spengono". Negli stati di infiammazione cronica, uno squilibrio tra i diversi mediatori rende l'infiammazione non controllata e determina un danno cellulare. Nel caso dell'AR, questo danno si manifesta con la distruzione della cartilagine e dell'osso. Gli sforzi intrapresi per sviluppare trattamenti più sicuri ed efficaci per l'AR e basati su una migliore comprensione del ruolo dei mediatori dell'infiammazione, iniziano ora a fruttare (22). Farmaci come l'etanercept, una proteina solubile di fusione IgG1-recettore di tipo II del tumor necrosis factor α (TNF- α), l'infliximab, un anticorpo monoclonale chimerico (umano e murino) contro il TNF- α , l'anakinra, un antagonista ricombinante del recettore dell'interleuchina-1, e l'adalimumab, un anticorpo umano contro il TNF- α , sono stati approvati dalla Food and Drug Administration (FDA) e dalla European Medicine Evaluation Agency (EMA) per il trattamento dell'AR. Queste terapie sembrano in grado di modificare sostanzialmente il trattamento e la prognosi della malattia (23-26).

La somministrazione cronica della terapia anticitochinica nei pazienti con AR obbliga ad uno stretto controllo su un eventuale aumento del numero e della gravità delle infezioni, soprattutto di quelle causate da microrganismi poco frequenti. Indipen-

dentemente dagli studi sugli animali, il gran numero di pazienti in trattamento con etanercept o infliximab suggerisce che l'inibizione del TNF- α renda il paziente più vulnerabile a specifiche infezioni opportunistiche (27). Come per tutte le malattie infettive, i fattori ambientali, la virulenza del microrganismo, ed un'eventuale progressa esposizione, rappresentano fattori contribuenti. Nonostante l'infezione da *M. tuberculosis* rappresenti la maggior preoccupazione nei pazienti in trattamento con anticorpi anti TNF- α , anche le infezioni opportunistiche o persino quelle causate da batteri comuni possono essere gravi o letali (28). In generale, si devono considerare due fattori per valutare l'effetto della terapia anticitochinica nei riguardi della suscettibilità alle infezioni: il bersaglio specifico e la farmacodinamica della somministrazione del trattamento (28, 29).

Dai numerosi studi condotti sui roditori si possono trarre le seguenti conclusioni:

1. la neutralizzazione del TNF- α è frequentemente associata a riduzione delle difese dell'ospite nei modelli di infezione in vivo da Gram-positivi e Gram-negativi;
2. anche la riduzione di attività dell'IL-1 può determinare un calo di resistenza nei confronti degli stessi agenti infettivi, anche se probabilmente di grado inferiore;
3. TNF α , IL-1, IL-6, IL-12 ed INF γ sono necessari nella difesa dalle infezioni causate da *M. tuberculosis*.

Deve essere comunque sottolineato che l'effetto determinato dalla inattivazione o dalla riduzione di qualsiasi particolare citochina o combinazione di citochine nei modelli animali di infezione non predice necessariamente l'esperienza nell'uomo (28, 30). Nel considerare l'indebolimento dei meccanismi di difesa nei pazienti con AR trattati con farmaci biologici, dobbiamo tenere presente che molti pazienti assumono contemporaneamente altri farmaci potenzialmente immunosoppressori, come il methotrexate e basse dosi di steroide.

LE CITOCHINE PROINFIAMMATORIE NELLA SEPSI E NELLA POLMONITE BATTERICA

Nei pazienti critici con sepsi o shock settico, una transitoria iperproduzione di citochine proinfiammatorie sembra contribuire alle manifestazioni della risposta infiammatoria sistemica, allo sviluppo dell'insufficienza d'organo e persino alla morte.

Per studiare il ruolo delle citochine nella sepsi so-

no state utilizzate iniezioni di endotossine ed endotossine purificate per mimare rispettivamente le infezioni da Gram-negativi e quelle da Gram-positivi. Nei modelli animali di endotossiemia ed esotossiemia, il blocco della produzione e/o dell'attività delle citochine proinfiammatorie come IL-1, TNF- α , IL-12, o INF γ ha ridotto la mortalità, migliorato la performance emodinamica e fornito sufficienti dati a dimostrare gli effetti nocivi di una sovrapproduzione di citochine. Questi studi hanno inoltre fornito la giustificazione razionale al blocco di queste citochine nei pazienti settici ad alto rischio (31-33). Nonostante si trattasse di una strategia logica, il tentativo di ridurre significativamente la mortalità globale a 28 giorni, utilizzando tutti i possibili farmaci per neutralizzare il TNF- α o per bloccare il recettore dell'IL-1, è fallito e ciò ha sollevato la questione se i modelli animali di endotossiemia fossero appropriati nell'uomo a rischio di morte per sepsi (34). Per questo motivo, alcuni ricercatori hanno confrontato i modelli di infezione in vivo con quelli di endotossiemia non infettiva ed hanno dimostrato differenze sostanziali nell'intervento delle citochine in questi modelli (35, 36).

Nei topi sottoposti a peritonite non letale indotta da legatura e perforazione del cieco, il blocco del TNF- α determina una peritonite letale (37).

Questi studi hanno dimostrato che la risposta del TNF- α endogeno è essenziale per la formazione di un ascesso in grado di sequestrare l'agente infettivo. In studi successivi si è dimostrato che una risposta indotta dal TNF- α endogeno e la trasmissione del segnale attraverso il TNF-RI sono indispensabili per la formazione dei depositi di fibrina e la funzione dei granulociti (38, 39). I mastociti e il TNF- α di origine mastocitaria sembrano giocare un ruolo centrale per questo effetto protettivo (38). La somministrazione di IL-1Ra ricombinante sia da sola (40) che con PEG sTNF-RI (41), aumenta notevolmente la sopravvivenza nei modelli di roditori con legatura e perforazione del cieco. Un possibile meccanismo per spiegare i migliori risultati sulla sopravvivenza con IL-1Ra, può essere rappresentata dalla riduzione della componente infiammatoria, in assenza di un deficit della risposta antimicrobica alla peritonite. Questi studi hanno sollevato la questione se nella specie umana il blocco del TNF- α possa indebolire i naturali meccanismi di difesa dell'ospite deputati a combattere e prevenire le complicazioni letali di un'infezione, enfatizzando inoltre l'osservazione che la mancanza di una data citochina

può essere tanto dannosa quanto il suo eccesso (29).

In un modello di polmonite batterica, lo *Streptococcus pneumoniae* vivo viene infuso nel polmone (42). Per determinare il numero di batteri cresciuti nel tessuto polmonare vengono calcolate le unità formanti colonie (CFU) da omogeneizzati di polmone; possono essere misurate le citochine e la migrazione cellulare. Il modello ha il vantaggio di mimare un'infezione rilevante in vivo tra le polmoniti acquisite in comunità e che epidemiologicamente rappresenta una causa comune di morte. Fino ad oggi, sia utilizzando antagonisti del TNF- α , sia in topi TNF- α knockout, si è costantemente osservato un aumento del numero di batteri ed una mortalità più elevata (42, 43).

È stata inoltre studiata la polmonite da *Pseudomonas*: nei topi IL-1RI knockout, inoculati per via nasale con *P.aeruginosa* viva si osservava un dimezzamento del numero di batteri vivi isolati dai polmoni dopo 24 e 48 ore in rapporto ai topi di controllo che esprimevano il gene del recettore per l'IL-1 (44). In questo studio, l'afflusso dei neutrofili nel liquido di lavaggio broncoalveolare era ridotto nei topi knockout in rapporto ai topi wild-type. Analogamente, i livelli di citochine (TNF- α , IL-6) e chemochine (MIP-2) nel polmone risultavano più bassi nei topi knockout 24 ore dopo l'inoculazione. In accordo con questi risultati, anche il trattamento dei topi wild-type con IL-1Ra ricombinante induceva un dimezzamento del numero di batteri nel polmone infetto. Questi risultati dimostrano che l'assenza o la riduzione dell'attività dell'IL-1 endogena migliora le difese dell'ospite nei riguardi della polmonite da *Pseudomonas* sopprimendo la risposta infiammatoria.

LE CITOCINE PROINFIAMMATORIE NELL'UCCISIONE DI MICRORGANISMI INTRACELLULARI

La *Listeria monocytogenes* (un batterio Gram-positivo, intracellulare obbligato) vive e si moltiplica nei macrofagi e il tentativo della cellula ospite di contenere l'infezione risulta alquanto modesto. Nonostante questa rara infezione colpisca solitamente in età infantile, in età avanzata o in pazienti immunosoppressi, è spesso utilizzata dai biologi per dimostrare la necessità dell'intervento di citochine specifiche nei meccanismi di morte intracellulare. L'infezione da *Listeria* peggiora e la sopravvivenza si riduce nei topi trattati con anticor-

pi diretti contro IL-1 α and IL-1 β , anticorpi contro IL-1RI o anticorpi contro il TNF- α (45-47). Anche i topi che sovraesprimono IL-1Ra sono più vulnerabili alla morte da *Listeria* poiché viene inibita l'attività dell'IL-1.

Nonostante il notevole numero di infezioni alimentari da *Salmonella* segnalate ogni anno negli Stati Uniti e in Europa, non viene riportata un' aumentata suscettibilità a queste infezioni da parte dei pazienti con AR in trattamento con terapie anticitochiniche. Vi sono numerosi studi su animali che dimostrano come una deficienza di TNF- α (48) o dei recettori del TNF (49) o la neutralizzazione del TNF- α (50, 51) possano causare un aumento della mortalità da *Salmonellosi* nei modelli murini. Il meccanismo che spiega l'aumentata infettività e il calo di sopravvivenza associati alla riduzione dell'attività del TNF- α riguarda la sopravvivenza intracellulare del batterio, dovuta all'incapacità di uccidere il microorganismo nel fagolisosoma. Ciò è parzialmente, ma non esclusivamente secondario alla riduzione della produzione di NO. Anche la ridotta attività dell'IL-12 rappresenta un fattore di rischio per le infezioni da *Salmonella* secondarie alla ridotta produzione di INF γ (52).

Il TNF- α ha un ruolo centrale sia nella risposta dell'ospite nei confronti dell'infezione da *M.tuberculosis* sia nell'immunopatologia della tubercolosi (TBC). Il TNF- α è una citochina proinfiammatoria prodotta principalmente dai monociti/macrofagi attivati in risposta a vari stimoli, inclusi il lipopolisaccaride, le infezioni virali ed i patogeni Gram-negativi e Gram-positivi (53,54). Il TNF- α può anche essere espresso dalle cellule T attivate, dai linfociti B, dalle cellule Natural Killer e da alcune cellule tumorali (53). Il TNF- α esiste sia in forma solubile che transmembrana. I suoi effetti biologici includono attività antitumorali, antivirali, di mediazione nello shock e nella cachessia. Il principale meccanismo d'azione è quello di un ligando stimolante l'apoptosi. La risposta al TNF- α è mediata dai suoi recettori TNF-RI (55kDa; p55) e TNF-RII (75 KDa; p75) (53). Il TNF- α solubile si lega principalmente al TNF RI; la forma associata alla membrana è il principale ligando attivatore del TNF-RII (22). Esperimenti su animali hanno dimostrato che il TNF-RI è importante nella formazione del granuloma in corso di infezione da *M.tuberculosis* (55) e nella suscettibilità ai patogeni intracellulari (56).

Insieme alla produzione di NO mediata dalle citochine e ai radicali liberi, la formazione del gra-

nuloma rappresenta la strategia primaria di difesa dell'ospite contro la diffusione del *M.tuberculosis*, il quale infetta i macrofagi alveolari e prolifera in sede intracellulare. I prodotti del micobatterio attivano la funzione macrofagica in quanto cellula presentante l'antigene alle cellule T CD4+. Vi è un quindi un rilascio di IL-1, TNF- α , IL-6, IL-12, IL-18 e di altre citochine. Le cellule T, stimulate dall'IL-12 e dall'IL-18, producono INF γ il quale assieme alle citochine proinfiammatorie come il TNF- α conduce ad un'umentata produzione di NO da parte del gene inducibile la NO-sintetasi. L'aumento della produzione intracellulare di NO potenzia l'attività microbica del macrofago infetto. Attratti dalle citochine, altri macrofagi affluiscono nel parenchima polmonare e si differenziano in macrofagi epitelioidi, murando il macrofago infetto e formando il granuloma iniziale. Anche le cellule T partecipano alla formazione ed al mantenimento del granuloma secernendo citochine come il TNF- α . Un granuloma ben formato richiede a sua volta la presenza di citochine per mantenere la propria integrità ed evitare la disseminazione del *M.tuberculosis*. Ridurre l'attività di una particolare citochina può determinare la dissoluzione del granuloma, l'aumento della carica batterica e la disseminazione sistemica della malattia. In ogni caso, nell'infezione da *M.tuberculosis*, il macrofago del granuloma rimane vitale per molti anni (29, 57).

Vi sono sempre più evidenze che l'inibizione dell'apoptosi mediata dagli anticorpi anti-TNF- α possa determinare un'umentata sopravvivenza del *M.tuberculosis*. A differenza dell'IL-1, il TNF- α induce la morte cellulare attraverso meccanismi ben noti che coinvolgono le cistein-proteasi intracellulari chiamate caspasi. I macrofagi vanno incontro ad apoptosi dopo esposizione al *M.tuberculosis* vivo e virulento e la morte del macrofago infetto è correlata con la produzione di NO (58). Infatti, l'inibizione del TNF- α o del NO determina una ridotta apoptosi cellulare. Inoltre, anche gli anticorpi anti-TNF- α inducono un calo della produzione di NO.

Nei topi IL-1RI knockout è stato isolato un maggior numero di batteri a livello polmonare e in altri organi e sono stati osservati granulomi difettosi (59). La ridotta risposta dell'ospite in questi topi è stata attribuita ad una minor infiltrazione di linfociti nei tessuti infetti. I topi IL-1 knockout sviluppano granulomi polmonari di maggiori dimensioni. La produzione di INF γ ed IL-12 nelle cellule spleniche, come anche la produzione di NO da

parte dei macrofagi alveolari dei topi knockout, erano invece simili a quelle dei topi wild-type.

Anche l'IL-6 gioca un ruolo nella TBC clinica. Data la sua azione sugli epatociti, aumenta la sintesi della PCR e della VES, entrambi notoriamente correlati all'attività della TBC clinica. Inoltre, l'IL-6 è un pirogeno endogeno e contribuisce al decorso febbrile nei pazienti con tubercolosi attiva. Tuttavia, vi è anche un ruolo dell'IL-6 nella resistenza alla tubercolosi: le cellule spleniche di topi IL-6 knockout infettati con *M.tuberculosis* rilasciano minori quantità di INF γ rispetto ai controlli (60).

ASPETTI CLINICI

Studi clinici hanno dimostrato che etanercept, infliximab, adalimumab ed anakinra trovano indicazione nel trattamento dei pazienti con AR. Tutti questi agenti si sono dimostrati efficaci nei pazienti con AR persistentemente attiva nonostante il trattamento con altri DMARDs, ma tuttavia sono stati anche associati ad un certo numero di eventi avversi poco frequenti, ma severi. La maggior parte di questi eventi avversi è stata evidenziata durante il programma di sorveglianza passiva post-marketing.

La FDA ha recentemente rivisto i dati di "safety" relativa al secondo anno dello studio ATTRACT (61). Nei pazienti in trattamento con infliximab, le infezioni più frequenti rispetto a quelle verificatisi nei controlli comprendevano sinusiti, infezioni urinarie, faringiti, infezioni non altrimenti specificate, polmoniti e celluliti. Tuttavia in questi pazienti non si era verificata alcuna specifica infezione grave con una frequenza più elevata che nei controlli. Un totale di 3 pazienti in terapia con infliximab ha presentato una TBC negli studi sponsorizzati da Centocor e condotti fino al 31 maggio 2002. A causa del limitato numero di pazienti seguiti nello studio ATTRACT, non si possono trarre conclusioni definitive sull'associazione tra trattamento con infliximab ed aumento delle infezioni gravi.

Diverse infezioni opportunistiche sono state osservate con etanercept (al dicembre 2002 si stimava approssimativamente un'esposizione mondiale di 150.000 individui), inclusi herpes zoster, varie infezioni fungine, herpes simplex e candida. Venivano rilevati altresì pochi casi di TBC, polmonite da pneumocystis carini (PCP), aspergillosi e cryptococcosi.

Nell'esperienza post-marketing è stato riportato un numero maggiore di casi di TBC disseminata rispetto alle attese nei pazienti a 6 mesi di trattamento con infliximab. Ciò suggerisce che il trattamento con infliximab possa aumentare il rischio di riattivare una TBC latente. Sono stati riportati dati osservazionali di "safety" su base cumulativa relativi ai casi di TBC nei pazienti che avevano assunto infliximab dal momento dell'approvazione negli USA, nell'agosto 1998, fino all'agosto 2002. Durante questo periodo vi sono stati 86 casi cumulativi di TBC riportati negli USA (su 233.547 pazienti in trattamento con infliximab) e 191 casi al di fuori degli USA (su 132.000 pazienti). Il tasso cumulativo di TBC negli USA è di 0,2 per 1000 pazienti per anno di esposizione. I paesi della Unione Europea con il maggior numero di segnalazioni di TBC sono Spagna (52), Francia (41), Italia (14), Germania (11) e Belgio (10). In base all'esperienza cumulativa sono stati riportati 156 casi di TBC nell'Unione Europea, con un tasso cumulativo di 1,4 segnalazioni per 1000 pazienti per anno di esposizione (61, 62).

In una ricerca su "Medwatch data base" della FDA relativa agli eventi avversi riportati fino al marzo 2002, Manadan e coll. hanno individuato 25 casi di TBC insorti durante o in seguito a terapia con etanercept (63). Poco più del 50% dei pazienti presentavano una patologia extrapolmonare, similmente a quanto accadeva per i casi trattati con infliximab. A differenza di infliximab, lo sviluppo della TBC nei soggetti trattati con etanercept avveniva però più tardivamente rispetto all'inizio del trattamento; il tempo medio trascorso tra prima dose di farmaco e diagnosi di TBC era di 11,5 mesi (range 1-20).

Il confronto tra i tassi di TBC riportati durante trattamento con infliximab e con etanercept richiede cautela interpretativa per diverse ragioni. Le popolazioni in studio con i due trattamenti sono differenti: una cospicua parte dei pazienti trattati con infliximab era affetta da morbo di Crohn; infliximab, rispetto ad etanercept, è stato usato più frequentemente in Europa, dove il tasso di TBC è maggiore rispetto agli USA; i tassi non sono stati differenziati in base alla durata del trattamento nel singolo paziente (ai pazienti affetti da morbo di Crohn vengono somministrate terapie più brevi); i fattori di rischio per TBC non erano stati chiaramente definiti per ciascuna popolazione; le segnalazioni riguardanti etanercept includono pazienti che hanno sviluppato TBC dopo la fine del trattamento, il che potrebbe essere causato da

un'infezione recente; la posologia dell'infliximab è variabile (64).

Di conseguenza, i dati esistenti suggeriscono che entrambi i farmaci aumentano il rischio di TBC attiva. La maggior parte dei casi di TBC attiva vengono considerati il risultato della riattivazione di un'infezione latente, ma il contributo delle infezioni recenti al numero globale di casi con malattia attiva nella popolazione è sconosciuto (64). Il rischio di riattivazione causata dalla terapia con anti-TNF- α dipende da due variabili: l'effetto immunomodulante della terapia e il sottostante tasso di infezioni tubercolari latenti, ovvero il rischio di infezioni pregresse nella popolazione. Il tasso di infezioni latenti dipende a sua volta da molte variabili, inclusa l'età, il paese di origine, lo stato socio-economico, l'origine etnica, la storia di viaggi in paesi ad elevata prevalenza di TBC e l'occupazione (per esempio il fatto di lavorare all'interno del sistema sanitario o in una struttura di accoglienza per senzatetto). I gruppi a più elevato rischio di progressione verso la malattia attiva, una volta instauratasi l'infezione, sono i pazienti in terapia immunosoppressiva o con determinate patologie (diabete, nefropatia severa, silicosi, alcune neoplasie, alcune patologie intestinali, malnutrizione [$<90\%$ dal peso ideale]) (65). Nei pazienti con AR, l'uso dei corticosteroidi è da tempo riconosciuto aumentare il rischio di TBC, presumibilmente attraverso un'azione sull'immunità cellulo-mediata (66).

Anche se infliximab ed etanercept interagiscono con il TNF- α secondo varie modalità, vi sono sottili differenze nel loro meccanismo d'azione. In particolare, l'apoptosi farmaco-mediata e la monocitopenia sembrano essere esclusive di infliximab. Inoltre, l'infliximab sembra legarsi più avidamente a forme diverse del TNF- α . Sulla base di queste differenze si può dire che infliximab può avere un effetto più marcato sulla capacità dell'ospite di sopprimere l'infezione da *M.tuberculosis*. Anche l'effetto della somministrazione (in boli) di infliximab rispetto al sistema di dosaggio più continuo con etanercept può influenzare la capacità dell'ospite di controllare l'infezione da *M.tuberculosis*, anche se questa questione non è stata ancora studiata. A differenza di infliximab, etanercept forma complessi stabili con la linfo-tossina α , che sembra essere coinvolta nella risposta Th1 contro il *M.bovis*, nell'infezione da BCG e nella formazione del granuloma splenico (67).

In un caso di TBC polmonare in seguito a terapia

con infliximab, l'esame istopatologico della biopsia polmonare a cielo aperto ha dimostrato una fibrosi polmonare idiopatica con infiltrazione linfocitaria; non erano presenti granulomi, mentre si rilevava un'apoptosi di modesta entità. Alcuni granulomi caseosi sono peraltro stati descritti nelle biopsie di altri pazienti (27). Si ritiene che il TNF- α medi una risposta efficace contro il micobatterio attraverso la regolare induzione dell'apoptosi macrofagica in seguito all'infezione bacillare (68). L'apoptosi dei macrofagi è un fenomeno importante nella formazione dei granulomi associati alla tubercolosi (69, 70) e può intervenire nel mantenerne l'integrità. Esistono probabilmente numerosi meccanismi che portano all'apoptosi in corso di TBC e infliximab può influenzarne uno o più. Viste nel loro insieme, queste osservazioni suggeriscono che un'interruzione dell'attività del TNF- α possa permettere una risposta immunitaria aberrante ad un piccolo numero di bacilli tubercolari, ma questa risposta abnorme può avere importanti effetti patologici (27).

Nella nostra esperienza di oltre 160 casi di artrite reumatoide trattati con infliximab, abbiamo riscontrato solo un caso di TBC polmonare ad esordio acuto febbrile dopo 16 mesi di trattamento con infliximab. Le figure 1 e 2 mostrano l'evoluzione del quadro radiologico.

Il Reumatologo deve essere edotto dell'aumentato rischio di riattivazione tubercolare nei pazienti in trattamento con infliximab, etanercept, adalimumab o altri agenti immunosoppressivi e della possibilità che l'infezione si presenti con manifestazioni cliniche inusuali. Quando si sospetta un'infezione attiva da tubercolosi, il trattamento

con anti-TNF- α dovrebbe essere sospeso fino all'esclusione di tale diagnosi o fino alla remissione dopo trattamento antitubercolare. Prima di iniziare la terapia con anti-TNF- α , bisognerebbe attuare ogni sforzo per determinare se il paziente presenta un'infezione tubercolare latente. Dato che il test alla tubercolina può presentare dei falsi negativi, nei malati con malattia sistemica o in terapia con immunosoppressori dovrebbe essere condotta in ogni caso una valutazione dettagliata del rischio tubercolare. I pazienti con infezione latente devono ricevere un trattamento profilattico per prevenire la malattia attiva prima di iniziare la somministrazione dell'anti-TNF- α . I pazienti dovrebbero inoltre essere avvertiti di rivolgersi al medico in caso di sintomi suggestivi di tubercolosi (per esempio tosse persistente, perdita di peso, febbre) insorti durante la terapia. Gli sforzi di prevenzione effettuati negli Stati Uniti e in Europa sono stati premiati con un recente calo delle segnalazioni di tubercolosi in corso di terapia con biologici.

Sono stati osservati casi di istoplasmosi grave in molte condizioni di immunosoppressione inclusa l'infezione da HIV, la chemioterapia citotossica per neoplasie e l'immunosoppressione dopo trapianto d'organo. I tassi d'incidenza di istoplasmosi nell'AR e nel morbo di Crohn non sono stati stimati e non si sa nemmeno se l'AR o il Crohn rappresentino fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo di istoplasmosi. Fino al giugno 2001 erano stati segnalati alla FDA 10 casi di istoplasmosi in pazienti trattati con infliximab (9 casi) o etanercept (1 caso) (62).

I 9 pazienti in trattamento con infliximab (5 con

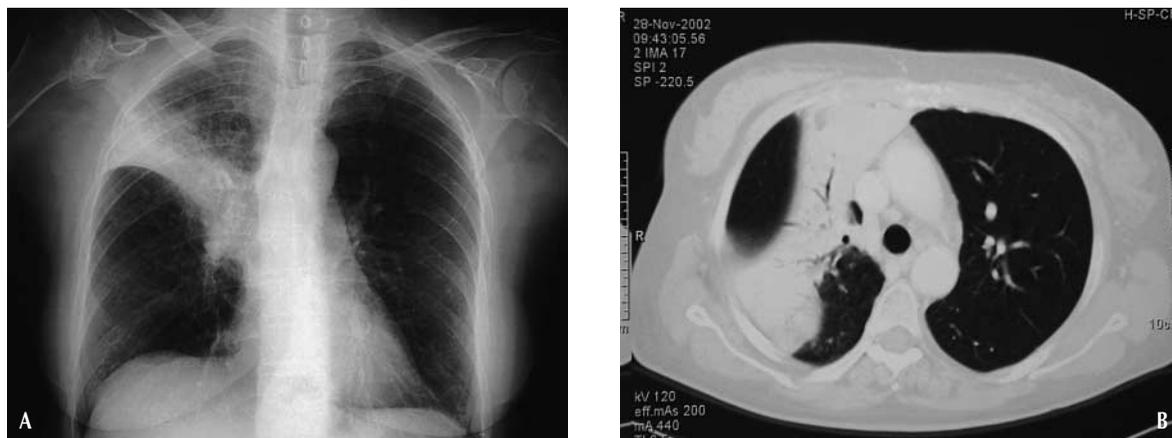


Figura 1 - A) Radiografia standard del torace all'esordio della tubercolosi: esteso addensamento parenchimale nel lobo superiore destro. B) Tomografia assiale computerizzata (TC) indicante l'estensione dell'addensamento parenchimale dalla parete toracica anteriore a quella posteriore.



Figura 2 - Radiografia standard del torace dopo 4 mesi di terapia anti-tubercolare: l'addensamento polmonare destro è in gran parte regredito. Permane stria opaca a livello della scissura interlobare.

AR e 4 con morbo di Crohn) presentavano tipicamente febbre, malessere, tosse, dispnea e un quadro di pneumopatia interstiziale alla radiografia del torace, insorti da una settimana a 6 mesi dalla prima (e talora unica) infusione di infliximab. Tutti i pazienti presentavano preesistenti fattori di rischio immunosoppressivo, come l'assunzione concomitante di prednisone e/o methotrexate. I 9 pazienti risiedevano tutti in aree endemiche per istoplasmosi. Otto pazienti hanno dovuto ricorrere a trattamenti aggressivi in terapia intensiva, mentre un paziente è stato trattato ambulatorialmente. La diagnosi definitiva di istoplasmosi è stata confermata da colture cellulari o biopsie tissutali da polmone, fegato e/o midollo osseo. La terapia antifungina (soprattutto amfotericina B endovena) ha portato a guarigione 8 pazienti, mentre un paziente è deceduto. In tutti i 9 casi, la patologia primaria (AR o morbo di Crohn) era migliorata significativamente in seguito al trattamento con infliximab. Nel contesto della letteratura esistente sulla patogenesi dell'istoplasmosi, questa serie di casi suggerisce che, fino a prova contraria, l'immunoterapia con antagonisti del TNF- α dovrebbe essere considerata un fattore di rischio per lo sviluppo di istoplasmosi (62).

Le infezioni da *Listeria monocytogenes* sono state precedentemente osservate in corso di gravidanza, diabete, neoplasie, alcolismo, insufficienza epatica ed altre condizioni di compromissione dell'immunità cellulo mediata. Anche i pazienti più anziani o quelli che assumono carne in scatola, possono correre un rischio maggiore. Recenti osservazioni di laboratorio suggeriscono che il

TNF- α abbia un ruolo nella difesa dell'ospite contro la *Listeria* ed altri batteri. Topi trattati con anticorpi anti-TNF- α sopravvivono all'infezione subletale da *Listeria*, quando l'anticorpo viene somministrato nelle fasi iniziali dell'infezione. Come atteso, anche altre citochine come INF γ , IL-1, IL-6, ed il "macrophage colony stimulating factor", risultano importanti. Non è noto il meccanismo preciso attraverso il quale il TNF α e le altre citochine esercitano il loro effetto contro l'infezione da *Listeria*. Dodici casi di listeriosi sono stati riportati alla FDA in associazione ad infliximab (11 pazienti) o etanercept (un paziente) (62). Caratteristicamente, si trattava di anziani, che assumevano almeno un altro farmaco immunosoppressivo oltre ad infliximab o etanercept, e presentavano febbre, letargia, cefalea e confusione mentale. Cinque dei 12 pazienti sono deceduti per sepsi da *Listeria*.

La Polmonite da *Pneumocystis carini* (PCP) è una complicanza frequente in corso di infezione da HIV e viene osservata anche in molti altri disordini della funzione immunitaria, inclusi l'AR, il morbo di Crohn, la colite ulcerosa, la granulomatosi di Wegener, il LES e in corso di neoplasie. La PCP in corso di infezione da HIV può avere un decorso più prolungato e meno severo, con una mortalità minore rispetto ad altri stati di immunocompromissione. Fino al 21 giugno 2001, la FDA ha ricevuto 15 segnalazioni di PCP durante trattamento con antagonisti del TNF- α , 10 con infliximab e 5 con etanercept. Patogeneticamente, è noto che i macrofagi alveolari, il TNF- α e l'immunità cellulo-mediata sono importanti nella difesa dell'ospite contro la PCP (62).

Tredici casi di TBC, inclusa la forma miliare, linfatica, peritoneale e polmonare, sono stati riportati negli studi clinici con adalimumab. La maggior parte dei casi di TBC è comparsa durante i primi 8 mesi di trattamento e ciò può riflettere una riattivazione di una patologia latente. Tuttavia, anche altre variabili possono aver contribuito alla più bassa incidenza di TBC riscontrata più tardivamente negli studi clinici, come una minor esposizione alle dosi più elevate di adalimumab e probabilmente un reclutamento di un minor numero di pazienti ad elevato rischio di TBC. Mentre i casi di TBC si sono osservati a qualsiasi dosaggio, l'incidenza delle riattivazioni tubercolari aumentava di molto con dosi di adalimumab maggiori di quella raccomandata. Non si sono registrati decessi da tubercolosi durante i trials clinici. Oltre alla TBC, negli studi clinici con adalimumab sono stati altresì riportati

6 casi di infezioni opportunistiche di tipo invasivo causate da istoplasma, aspergillo e nocardia e infezioni gravi come polmoniti, artriti settiche, infezioni post-chirurgiche o postprotesiche, erisipela, celluliti, diverticoliti e pielonefriti (61).

Complessivamente, negli studi randomizzati e controllati contro placebo, l'incidenza di infezioni di qualsiasi tipo nel gruppo trattato con anakinra risultava simile a quella del gruppo con placebo. Infezioni severe si sono verificate nel 2,5% di tutti i soggetti in trattamento con anakinra, contro l'1,4% dei soggetti con placebo, mentre quelle gravi nell'1,7% di tutti i soggetti trattati con anakinra, e nello 0,7% dei soggetti con placebo; l'incidenza di sospensioni dovute ad infezione è risultata bassa in entrambi i gruppi (1% anakinra, 0,8% placebo) (61). L'analisi "post-hoc" dei potenziali fattori di rischio di infezione indica che il rischio di presentare un'infezione severa può essere lievemente superiore nei soggetti trattati con anakinra, se contemporaneamente assumevano steroidi o se avevano una storia di asma o polmonite.

Va sottolineato tuttavia che il numero di pazienti in trattamento con anakinra o adalimumab è ancora

oggi troppo ridotto per poter fare dei confronti con i casi trattati con infliximab o etanercept.

La sicurezza della terapia anticitochinica non è stata ancora stabilita nelle infezioni virali croniche comprese le infezioni da virus HIV e virus dell'epatite B e C. È stato da noi riportato il caso di un paziente con AR e positività HBsAg, il quale ha sviluppato un'epatite acuta dopo 16 mesi di trattamento con infliximab e basse dosi di methotrexate (71).

CONCLUSIONI

Sono giustificate ulteriori indagini sul ruolo delle citochine nei meccanismi di difesa dell'ospite nei confronti delle infezioni, dato che fino ad oggi circa 550.000 pazienti sono stati trattati con terapie anti-citochiniche specifiche.

Questi dati migliorano la nostra comprensione sulle relazioni tra infezioni ed AR e nel contempo ci possono aiutare nell'identificare i pazienti a rischio più elevato, utilizzando per questi casi una vigilanza ulteriore ed implementando strategie preventive.

RIASSUNTO

Numerosi studi su animali dimostrano che diverse citochine proinfiammatorie sono essenziali per la resistenza naturale a infezioni specifiche, soprattutto quelle causate da microrganismi intracellulari. Tuttavia, una produzione incontrollata ed eccessiva di citochine proinfiammatorie, come avviene in patologie quali l'artrite reumatoide, può risultare tanto pericolosa per l'ospite quanto l'assenza delle stesse citochine. Nell'artrite reumatoide una ridotta produzione e/o attività delle citochine proinfiammatorie rimane comunque un obiettivo terapeutico valido. Ciò solleva tuttavia la questione di quale sia il rischio accettabile nell'utilizzo di queste terapie. In particolare, infliximab ed etanercept, i due farmaci anti-TNF- α più utilizzati, sono stati associati, soprattutto durante il programma di sorveglianza post-marketing, ad un discreto numero di eventi avversi talora severi, specie di tipo infettivo. Infezioni di tipo opportunistico ed infezioni gravi sono state riportate anche con adalimumab, mentre non sembra, per il momento, che anakinra, un antagonista ricombinante del recettore dell'IL-1, aumenti il rischio di infezioni. In questa review discutiamo il ruolo giocato dalla terapia con biologici nelle infezioni in corso di artrite reumatoide.

Parole chiave - Artrite reumatoide, infezioni, infliximab, etanercept, adalimumab, anakinra.

Key words - Rheumatoid arthritis, infections, infliximab, etanercept, adalimumab, anakinra.

BIBLIOGRAFIA

- Mitchell WS, Brooks PM, Stevenson RD, Buchanan WW. Septic arthritis in patients with rheumatoid disease: a still underdiagnosed complication. *J Rheumatol* 1976; 3: 124-33.
- Rimoin DL, Wennberg JE. Acute septic arthritis complicating chronic rheumatoid arthritis. *JAMA* 1966; 196: 617-21.
- Baum J. Infection in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1971; 14: 135-7.
- Goldenberg DL. Infectious arthritis complicating rheumatoid arthritis and other chronic rheumatic disorders. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 496-502.
- Mutru O, Laakso M, Isomaki H, Koota K. Ten year mortality and causes of death in patients with rheumatoid arthritis. *BMJ* 1985; 290: 1797-9.
- Prior P, Symmons DP, Scott DL, Brown R, Hawkins

- CF. Cause of death in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1984; 23: 92-9.
7. Myllykangas-Luosujarvi R, Aho K, Kautiainen H, Iso-maki H. Shortening of life span and causes of excess mortality in a population-based series of subjects with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13: 149-53.
 8. Reilly PA, Cosh JA, Maddison PJ, Rasker JJ, Silman AJ. Mortality and survival in rheumatoid arthritis: a 25 year prospective study of 100 patients. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 363-9.
 9. Doran MF, Crowson CS, Pond GR, O'Fallon WM, Gabriel SE. Frequency of infection in patients with rheumatoid arthritis compared with controls: a population-based study. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 87-93.
 10. Saag KG, Koehnke R, Caldwell JR, Brasington R, Burmeister LF, Zimmerman B, et al. Low dose long-term corticosteroid therapy in rheumatoid arthritis: an analysis of serious adverse events. *Am J Med* 1994; 96: 115-23.
 11. van Albada-Kuipers GA, Linthorst J, Peeters EA, Breedveld FC, Dijkmans BA, Hermans J, et al. Frequency of infection among patients with rheumatoid arthritis versus patients with osteoarthritis or soft tissue rheumatism. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 667-71.
 12. Ginzler E, Diamond H, Kaplan D, Weiner M, Schlesinger M, Seleznick M. Computer analysis of factors influencing frequency of infection in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1978; 21: 37-44.
 13. Stuck AE, Minder CE, Frey FJ. Risk of infectious complications in patients taking glucocorticosteroids. *Rev Infect Dis* 1989; 11: 954-63.
 14. Van der Veen MJ, van der Heide A, Kruize AA, Bijlsma JW. Infection rate and use of antibiotics in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 224-8.
 15. Singh G, Fries JF, Williams CA, Zatarain E, Spitz P, Bloch DA. Toxicity profiles of disease modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1991; 18: 188-94.
 16. Andersen PA, West SG, Nordstrom DM. Toxicity of chronic therapy with pulse methotrexate in rheumatoid arthritis: potential increased risk of infection [abstract]. *Arthritis Rheum* 1987; 30 Suppl 4: S60.
 17. Doran MF, Crowson CS, Pond GR, O'Fallon WM, Gabriel SE. Predictors of infection in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2294-300.
 18. Boerbooms AM, Kerstens PJ, van Loenhout JW, Mulder J, van de Putte LB. Infections during low-dose methotrexate treatment in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24: 411-21.
 19. Wagner UG, Koetz K, Weyand CM, Goronzy JJ. Perturbation of the T cell repertoire in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 14447-52.
 20. Koetz K, Bryl E, Spickschen K, O'Fallon WM, Goronzy JJ, Weyand CM. T cell homeostasis in patients with rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9203-8.
 21. Segal BH, Sneller MC. Infectious complications of immunosuppressive therapy in patients with rheumatic diseases. *Rheum Dis Clin North Am* 1997; 23: 219-37.
 22. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2001; 344: 907-16.
 23. Moreland LW, Schiff MH, Baumgartner SW, Tindall EA, Fleischmann RM, Bulpitt KJ, et al. Etanercept therapy in rheumatoid arthritis. A randomised controlled trial. *Ann Int Med* 1999; 130: 478-86.
 24. Lipsky PE, van der Heijde D, St Clair EW, Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, et al. 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.
 25. Cohen S, Hurd E, Cush J, Schiff M, Weinblatt ME, Moreland LW, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist, in combination with methotrexate: results of a twenty-four-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 614-24.
 26. 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 AR-MADA trial. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 5-45.
 27. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwiertman WD, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor- α neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001; 345: 98-104.
 28. Dinarello CA. Anti-cytokine therapeutics and infectious. *Vaccine* 2003; 21 (Suppl 2): 24-34.
 29. Dinarello C, Moldawer L. The role of cytokines in host defence against infection. In: Dinarello C, Moldawer L. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. A primer for Clinicians. 3th ed. Amgen Inc., 2002; 25-52.
 30. Weisman MH. What are the risks of biologic therapy in rheumatoid arthritis? An update on safety. *J Rheumatol* 2002; 65 (suppl): 3-8.
 31. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, et al. Anti-cachetin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*, 1987; 330: 62-4.
 32. Berger DP, Nanche D, Crowley MT, Koni PA, Flavell RA, Oldstone MB. Lymphotoxin-beta-deficient mice show defective antiviral immunity. *Virology* 1999; 260: 36-47.
 33. Heremans H, Van Damme J, Dillen C, Dijkmans R, Billiau A. Interferon gamma, a mediator of lethal lipopolysaccharide-induced Schwartzman-like shock reactions in mice. *J Exp Med* 1990; 171: 853-69.
 34. Deitch EA. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 1998; 9: 1-11.
 35. Remick DG, Newcomb DE, Bolgos GL, Call DR. Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: lipopolysaccharide vs. cecal ligation and puncture. *Shock* 2000; 3: 10-6.
 36. Remick D, Manohar P, Bolgos G, Rodriguez J, Mol-

- dawer L, Wollenberg G. Blockade of tumor factor reduces lipopolysaccharide lethality, but not the lethality of cecal ligation and puncture. *Shock* 1995; 4: 9-95.
37. Echtenacher B, Falk W, Mannel DN, Krammer PH. Requirement of endogenous tumor necrosis factor/cachectin for recovery from experimental peritonitis. *J Immunol* 1990; 145: 3762-6.
38. Echtenacher B, Hultner L, Mannel DN. Cellular and molecular mechanisms of TNF production in septic peritonitis. *J Inflamm* 1995; 47: 85-9.
39. Echtenacher B, Weigl K, Lehn N, Mannel DN. Tumor necrosis factor-dependent adhesions as a major protective mechanism early in septic peritonitis in mice. *Infect Immun* 2001; 69: 3550-5.
40. Alexander HR, Doherty GM, Venzon DJ, Merino MJ, Fraker DL, Norton JA. Recombinant interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra): effective therapy against gram-negative sepsis in rats. *Surgery* 1992; 112: 188-93.
41. Remick DG, Call DR, Ebong SJ, Newcomb DE, Nybom P, Nemzek JA, et al. Combination immunotherapy with soluble tumor necrosis factor receptors plus interleukin 1 receptor antagonists decreases sepsis mortality. *Crit Care Med* 2001; 9: 73-81.
42. van der Poll T, Keogh CV, Buurman WA, Lowry SF. Passive immunization against tumor necrosis factor-alpha impairs host defense during pneumococcal pneumonia in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 3-8.
43. O'Brien DP, Briles DE, Szalai AJ, Tu AH, Sanz I, Nahm MH. Tumor necrosis factor alpha receptor I is important for survival from *Streptococcus pneumoniae* infections. *Infect Immun* 1999; 7: 95-601.
44. Schultz MJ, Rijneveld AW, Florquin S, Edwards CK, Dinarello CA, van der Poll T. Role of interleukin-1 in the pulmonary immune response during *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: 85-90.
45. Rogers HW, Sheehan KC, Brunt LM, Dower SK, Unanue ER, Schreiber RD. Interleukin 1 participates in the development of anti-*Listeria* responses in normal and SCID mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 1011-15.
46. Havell EA, Moldawer LL, Helfgott D, Kilian PL, Sehgal PB. Type I IL-1 receptor blockade exacerbates murine listeriosis. *J Immunol* 1992; 148: 1486-92.
47. Hirsch E, Irikura VM, Paul SM, Hirsh D. Functions of interleukin-1 receptor antagonist in gene knockout and overproducing mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11008-13.
48. Yamamoto T, Sashinami H, Takaya A, Tomoyasu T, Matsui H, Kikuchi Y, et al. Disruption of the genes for ClpXP protease in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium results in persistent infection in mice, and development of persistence requires endogenous gamma interferon and tumor necrosis factor alpha. *Infect Immun* 2001; 69: 164-74.
49. Vazquez-Torres A, Fantuzzi G, Edwards CK, Dinarello CA, Fang FC. Defective localization of the NADPH phagocyte oxidase to *Salmonella* containing phagosomes in tumor necrosis factor p55 receptor-deficient macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 2561-65.
50. Mastroeni P, Arena A, Costa GB, Libero MC, Bonina L, Hormaeche CE. Serum TNF alpha in mouse typhoid and enhancement of a *Salmonella* infection by anti-TNF-alpha antibodies. *Microb Pathog* 1991; 11: 3-8.
51. Nauciel C, Espinasse-Maes F. Role of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha in resistance to *Salmonella typhimurium* infection. *Infect Immun* 1992; 60: 450-4.
52. Kincy-Cain T, Clements JD, Bost KL. Endogenous and exogenous interleukin-12 augment the protective immune response in mice orally challenged with *Salmonella dublin*. *Infect Immun* 1996; 64: 1437-40.
53. Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: biology and therapeutic implications. *Gastroenterology* 2000; 119: 1148-57.
54. Giacomini E, Iona E, Ferroni L, Miettinen M, Fattorini L, Orefici G, et al. Infection of human macrophages and dendritic cells with *Mycobacterium tuberculosis* induces a differential cytokine gene expression that modulates T cell response. *J Immunol* 2001; 166: 7033-41.
55. Bean AG, Roach DR, Briscoe H, France MP, Korner H, Sedgwick JD, et al. Structural deficiencies in granuloma formation in TNF gene-targeted mice underlie the heightened susceptibility to aerosol *Mycobacterium tuberculosis* infection, which is not compensated for by lymphotoxin. *J Immunol* 1999; 162: 3504-11.
56. Pfeffer K, Matsuyama T, Kunding TM, Wakeham A, Kishihara K, Shahinian A, et al. Mice deficient for the 55Kd tumor necrosis factor are resistant to endotoxic shock, yet succumb to *L monocytogenes* infection. *Cell* 1993; 73: 457-67.
57. Kaufmann S. How can immunology contribute to the control of tuberculosis? *Nat Rev Immunol* 2001; 1: 20-30.
58. Flynn JL, Goldstein MM, Chan J, Triebold KJ, Pfeffer K, Lowenstein CJ, et al. Tumor necrosis factor-alpha is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Immunity* 1995; 2: 561-72.
59. Juffermans NP, Florquin S, Camoglio L, Verbon A, Kolk AH, Speelman P, et al. Interleukin-1 signaling is essential for host defence during murine pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 2000, 182: 902-8.
60. Ladel CH, Blum C, Dreher A, Reifenberg K, Kopf M, Kaufmann SH. Lethal tuberculosis in interleukin -6 deficient mutant mice. *Infect Immun* 1997; 65: 4843-9.
61. Food and Drug Administration, Arthritis Advisory Committee Briefing Document, March 4; 2003. Food and Drug Administration Web site: www.fda.gov.
62. Food and Drug Administration, Arthritis Advisory Committee Briefing Document, August 17; 2001. Food and Drug Administration Web site: www.fda.gov.
63. Manadan AM, Mahan AK, Cote TR, Siegel JN, Sequeira W, Block JA. Tuberculosis and etanercept. *Proceedings of American College of Rheumatology Con-*

- ference; October 2002; abst 356.
64. Gardam M, Keystone E, Menzies R, Manners S, Skamene E, Long R, Vinh D. Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 148-55.
 65. Long R, ed. *Canadian Tuberculosis Standards*, 5th edn. Canadian Lung Association, Health Canada, 2000.
 66. Cisneros JR, Murray KM. Corticosteroids in tuberculosis. *Ann Pharmacother* 1996; 30: 1298-303.
 67. Lucas R, Tacchini-Cottier F, Guler R, Vesin D, Jemelín S, Olleros ML, et al. A role for lymphotoxin beta receptor in host defense against *Mycobacterium Bovis BCG* infection. *Eur J Immunol* 1999; 29: 4002-10.
 68. Cree IA, Nurbhai S, Milne G, Beck JS. Cell death in granulomata: the role of apoptosis. *J Clin Pathol* 1987; 40: 1314-9.
 69. Klingler K, Tchou-Wong KM, Brandli O, Aston C, Kim R, Chi C, et al. Effects of mycobacteria on regulation of apoptosis in mononuclear phagocytes. *Infect Immun* 1997; 65: 5272-8.
 70. Fayyazi A, Eichmeyer B, Soruri A, Schweyer S, Herms J, Schwarz P, et al. Apoptosis of macrophages and T cells in tuberculosis associated caseous necrosis. *J Pathol* 2000; 191: 417-25.
 71. Ostuni P, Botsios C, Punzi L, Sfriso P, Todesco S. Hepatitis B reactivation in a chronic hepatitis B surface antigen carrier with rheumatoid arthritis treated with infliximab and low dose methotrexate. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 686-7.