

## Biopsia de Grasa Subcutánea para el Diagnóstico de Amiloidosis Secundaria en Artritis Reumatoide

MARIANO CUCHO<sup>1</sup>, EDUARDO ACEVEDO<sup>1</sup>, CÉSAR SÁNCHEZ<sup>1</sup>, CÉSAR PASTOR<sup>1</sup>, JOSÉ ALFARO<sup>1</sup>,  
ALFREDO SÁNCHEZ<sup>1</sup> y WILLIAM ANICAMA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Reumatología y <sup>2</sup>Servicio de Patología, Hospital Nacional  
Guillermo Almenara Irigoyen Es Salud - Lima Perú.

### RESUMEN

**OBJETIVO:** Investigar la presencia de amiloidosis secundaria (AA) en pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide (AR). **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se evaluó tiempo de enfermedad (TE), presencia de manifestaciones extraarticulares, capacidad funcional y estadio de progresión anatómica, hemograma, velocidad de sedimentación globular, factor reumatoide (FR) (Test de Látex), albúmina sérica y examen completo de orina. Se realizó aspirado de grasa subcutánea periumbilical. El tejido se coloreó con rojo Congo y observó por microscopía óptica y luz polarizada, siendo positiva la birrefringencia verde manzana. **RESULTADOS:** Se estudió 81 pacientes con diagnóstico de AR (criterios del ACR), 71 fueron mujeres y 10 varones, con rango de edad 31 a 80 años. 75/81 fueron FR (+), 3/81 AA (+). El TE promedio fue 14,74 años para los AA (-) y 20,3 para los AA (+). Sólo en un paciente se halló amiloide en biopsia renal. **CONCLUSIONES:** En nuestra serie la frecuencia fue menor a lo reportado. Los pacientes con amiloidosis tuvieron títulos altos de FR y TE más prolongado.

*Palabras claves:* Amiloidosis; Artritis Reumatoide; Biopsia con Aguja.

### SUBCUTANEOUS FAT BIOPSY TO DIAGNOSE SECONDARY AMYLOIDOSIS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS SUMMARY

**OBJECTIVE:** To detect secondary amyloidosis (AA) in patients with rheumatoid arthritis (RA). **MATERIAL AND METHODS:** We assayed length of disease, extraarticular involvement, functional ability, anatomical compromise, white cell count, erythrocyte sedimentation rate, rheumatoid factor (RF) (latex test), serum albumin, and urine analysis. All of patients underwent periumbilical aspirate of subcutaneous fat. Samples were stained with Congo red, and light microscopy and polarized microscopy were used. Green-apple birefringence was taken as AA (+). **RESULTS:** We studied 81 patients with RA (ACR criteria), 71 of them were females. The ages were between 31 and 80 years. 75/81 patients were RF (+), 3/81 were AA (+). Average length of disease was 14,74 years in AA (-) patients and 20,3 years in AA (+). Just one patient showed renal deposits of amyloid. **CONCLUSION:** Our occurrence of amyloidosis in patients with AR was lower. Patients with secondary amyloidosis and AR had higher RF levels and larger length of disease.

*Key words:* Amyloidosis; Arthritis, Rheumatoid; Biopsy, Needle.

### Correspondencia:

Dr. Mariano Cucho Venegas  
Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen  
Servicio de Reumatología  
Av. Grau 800. Lima 1. Perú  
E-mail: hngaireuma@sigloxxi.com.pe

## INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica de causa desconocida cuya característica es sinovitis inflamatoria persistente que usualmente compromete articulaciones periféricas de manera simétrica.

La amiloidosis es un grupo heterogéneo de enfermedades con diferentes manifestaciones clínicas, que se distinguen por el hallazgo histológico de depósitos de amiloide (<sup>1</sup>). La amiloidosis reactiva (AA), asociada con enfermedades inflamatorias crónicas, es producto de la degradación de las proteínas plasmáticas reactantes de fase aguda (<sup>2</sup>) y se presenta en diversas enfermedades inflamatorias e infecciosas de curso crónico (<sup>3-7</sup>). En AR se reporta una prevalencia de 5-20% (<sup>1</sup>), aunque es diferente si los estudios fueron hechos en necropsia o durante la vida, y de acuerdo a los procedimientos utilizados en el diagnóstico. Husby reporta una prevalencia de 5-11% en pacientes con AR vivos (<sup>8</sup>). Estudios postmortem han encontrado 14%, siendo considerado por Mutru como la principal causa de muerte (<sup>9</sup>). Recientes reportes consideran una prevalencia de 27,2% (<sup>10</sup>), y en 1993 Barile y col. en México encontraron amiloide positivo en 78% de sus pacientes (<sup>11</sup>). Se reconoce que la amiloidosis en AR puede ser asintomática, pero se ha reportado una mayor frecuencia cuando se asocian factores como mayor tiempo de enfermedad, clásicamente de 10 años o más (<sup>12,13</sup>), pero se han reportado casos inusuales de presentación temprana (<sup>14</sup>), lo cual indica que diferentes factores todavía desconocidos participan en su formación; otros factores son actividad de enfermedad persistente, seropositividad, reactantes de fase aguda elevados, capacidad funcional (Clase III-IV) y un probable fondo genético (<sup>15,16</sup>).

El diagnóstico clínico de amiloidosis reactiva se sospecha cuando se presenta proteinuria, dolor abdominal y diarrea, síndrome nefrótico franco o hipertensión. La proteinuria es descubierta a menudo en el análisis rutinario de orina. El diagnóstico es confirmado mediante biopsia, ya sea del órgano comprometido o del tejido más fácilmente accesible; en el último caso, la biopsia rectal y el aspirado de grasa subcutánea son los procedimientos de elección. También es útil la biopsia de glándula salival menor (<sup>17</sup>), de tracto digestivo alto, específicamente estómago, y duodeno en sus primeras porciones (<sup>18</sup>).

Existen trabajos publicados que comparan sensibilidad y especificidad de los diferentes métodos, siendo la biopsia de grasa subcutánea periumbilical un método fácil y bien tolerado descrito por Westermarck y Stenkhurst en 1973 (<sup>19</sup>). Es seguro, mínimamente invasivo (<sup>20</sup>) comparable a la biopsia renal y rectal (<sup>21</sup>) con sensibilidad y especificidad de 60% y 100%, respectivamente (<sup>22</sup>); sin embargo, otros trabajos hallan lo contrario. Libbey y col. reportaron 20% de resultados falsos negativos. En la Tabla N° 1 se muestra comparativamente la frecuencia de amiloidosis en AR con diferentes métodos.

La amiloidosis produce complicaciones importantes, sobre todo cuando se compromete el riñón, afectando la tasa de supervivencia y la mortalidad (<sup>23,24</sup>). En nuestro medio, se reporta en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen el estudio de amiloidosis secundaria con el mismo método en diferentes enfermedades incluyendo algunos casos de AR (<sup>25</sup>) con una sensibilidad de 54%. En el Perú, hasta donde conocemos, no se ha realizado estudios previos en este campo por lo que el presente trabajo tiene el propósito de determinar la presencia de amiloidosis secundaria en AR de un grupo de pacientes que se atendieron en nuestro hospital, en forma colateral describir el tiempo en que se presenta la amiloidosis; asimismo describir las diferencias entre las manifestaciones clínicas y serológicas en los grupos con y sin amiloidosis.

**Tabla N° 1.- Amiloidosis reactiva (AA) en pacientes con artritis reumatoide.\***

País	Año	Tejido	n	%
RU	1956	Autopsia	181	14
RU	1963	Biopsia rectal	115	5
EEUU	1960	Autopsia consecutiva	42	26
EEUU	1965	Biopsia gingival	192	5
Israel	1972	Autopsia + biopsia	54	17
Suecia	1974	Biopsia rectal + Aspirado grasa subcutánea	47	4
Japón	1991	Autopsia	81	21
Japón	1991	Biopsia gastroduodenal	107	13
Estonia	1993	Aspirado grasa subcut.	47	23
México	1993	Aspirado grasa subcut.	50	78

\* Modificado de Buxbaum. *The Amyloidoses*. En: Klippel, Dieppe PA. editores 1998 (<sup>27</sup>).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal de 81 pacientes con diagnóstico de AR que se atendieron en el Servicio de Reumatología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen entre marzo y agosto de 1998. Se incluyó pacientes con diagnóstico de AR según los criterios del Colegio Americano de Reumatología, 1987. Se excluyó pacientes en quienes se tuviera evidencia de algunos desórdenes comúnmente asociados con amiloidosis secundaria: infecciones (tuberculosis, osteomielitis, pielonefritis crónica, bronquiectasia, sífilis), neoplasias (como enfermedad de Hodgkin, melanoma o cánceres a nivel gastro-intestinal, genitourinario y de pulmón).

Los datos se obtuvieron mediante la revisión de historias clínicas y encuesta directa a los pacientes; se evaluó edad, sexo, tiempo de enfermedad y severidad, esta última según los criterios de Steinbrocker<sup>(28)</sup>; estadio de progresión anatómica y de clase funcional, manifestaciones extraarticulares (nódulos subcutáneos, fibrosis pulmonar, vasculitis). Los parámetros de laboratorio incluyeron hemograma, hemoglobina (g/dL), dosaje de urea y creatinina, velocidad de sedimentación globular (VSG) [Westergreen, VN: varones <20 mm/h y mujeres <25 mm/h], dosaje de albúmina [VN: 3,5-5,0 g/dL], factor reumatoide (látex) [positivo >6 UI/mL]. Se evaluó además la existencia de insuficiencia orgánica: renal (creatinina >180  $\mu$ mol/L, proteinuria), digestiva (diarrea crónica), cardiovascular (disnea, insuficiencia cardíaca congestiva).

Para evaluar la presencia de amiloidosis se tomó muestra de grasa periumbilical siguiendo el procedimiento descrito por Westermarck<sup>(19,20)</sup>: biopsia aspiración con aguja N° 18 en el área periumbilical, desde la sínfisis del pubis hasta el apéndice xifoides, previa asepsia con alcohol y/o soluciones yodadas y la infiltración con lidocaína 2% utilizando jeringa estéril.

Las muestras se remitieron al Servicio de Patología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen para su procesamiento. Se fijaron en formol al 10% durante 10 minutos; luego se lavaron con agua destilada por 10 minutos. Posteriormente se colorearon con rojo Congo alcalino al 1% fresco por 15 minutos.

Se consideró lectura positiva cuando en la microscopia óptica se observó que las células grasas teñían delicadamente con el rojo Congo a nivel

intercelular; dejando el interior de la célula sin colorear, dándole el aspecto de fina malla. Los casos negativos no presentan este patrón de fina malla. Se descartó amiloidosis primaria utilizando solución de permanganato de potasio.

Todas las muestras se estudiaron además mediante microscopía de luz polarizada con birrefringencia verde-manzana para depósito de amiloide positivo. Se llevó a cabo usando el microscopio de la Facultad de Ingeniería Geológica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La lectura se realizó por un sólo médico patólogo entrenado en esta materia.

En el análisis estadístico se utilizó la prueba *t* de Student para la diferencia entre los promedios de cada grupo.

## RESULTADOS

De 81 pacientes, 71 fueron mujeres y 10 varones. Fueron amiloide positivo 3/81 pacientes (3,70%, dos mujeres y un varón), amiloide negativo 78/81 (69 mujeres y nueve varones). La edad promedio en los pacientes con amiloidosis fue 49 años (rango 48-74 años), mientras que en los sin amiloidosis fue 56,1 años (rango 31-80 años). En los pacientes con amiloidosis el tiempo promedio de enfermedad fue mayor: 20,3 años en comparación con 14,7 años en los pacientes sin amiloidosis. Sólo un paciente con amiloidosis tenía manifestaciones extraarticulares, a diferencia de siete en el grupo sin amiloidosis. Todas estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Se encontró síndrome nefrótico en 1 paciente. Todos los pacientes con amiloidosis estuvieron en la clase III y IV de estadio de progresión anatómica (Tabla N° 2) y la capacidad funcional se encontró distribuida entre las clases 2 y 3 (Tabla N° 3). Los tres pacientes con amiloidosis fueron seropositivos para factor reumatoide (látex), a diferencia del grupo sin amiloidosis en el que se encontraron 5/77 (6,5%) seronegativos. Se halló valores elevados para factor reumatoide en ambos grupos, pero más elevados en los positivos para amiloidosis que en los amiloide negativo (promedios 874 UI/mL contra 100,12 UI/mL), la misma tendencia tuvo la VSG (promedios 92,6 mm/h contra 50,12 mm/h, respectivamente). La albúmina sérica se encontró normal en el grupo sin amiloidosis y disminuida en el grupo con amiloidosis (3,73 g/L contra 2,92 g/L). Los valores de hemoglobina en ambos grupos estaban disminuidos, pero no difirieron significativamente

**Tabla N° 2.-** Estadio de progresión anatómico en pacientes con artritis reumatoide con o sin amiloidosis.

Estadio anatómico	Sin amiloidosis (n = 75)	Con amiloidosis (n = 3)
I	4	0
II	13	0
III	33	2
IV	25	1

(10,03 g/dL contra 11,87 g/dL, respectivamente). No se halló diferencias en los valores de urea y creatinina, ni tampoco en datos adicionales de compromiso de otros órganos (gastrointestinal, cardiovascular) [datos no mostrados]. En la Figura N° 1 se muestra tejido graso subcutáneo positivo a rojo Congo para depósitos de amiloide; en la Figura N° 2, rojo Congo negativo.

## DISCUSIÓN

Las biopsias de grasas subcutánea y rectal ofrecen sensibilidad elevada, siempre que se realicen de forma adecuada, es decir, obteniendo cantidad suficiente en la primera, y mucosa y submucosa en la segunda. Existen buenos resultados obtenidos con biopsias gastro-duodenales por endoscopia alta (18). El empleo de la biopsia de grasa abdominal para el diagnóstico de amiloidosis sistémica data de 1973 (19), su uso está probado y contrastado por diversos autores de muchas nacionalidades. Su sensibilidad es elevada oscilando entre 54 y 94%, correspondiendo las cifras menos elevadas a las amiloidosis secundarias, esencialmente a enfermedades reumáticas crónicas. Su valor predictivo y especificidad son muy elevados y para algunos autores no existen falsos-positivos cuando la técnica es correcta.

Se eligió este procedimiento basado en las series que comparan la sensibilidad en los diversos tipos de biopsia: la de grasa abdominal es superior a la gingival y discretamente inferior a la rectal; pero dada la inocuidad del procedimiento y que prácticamente no existen contraindicaciones, parece ser el mejor método, asequible y barato, para investigar la presencia de

**Tabla N° 3.-** Capacidad funcional en pacientes con artritis reumatoide con o sin amiloidosis.

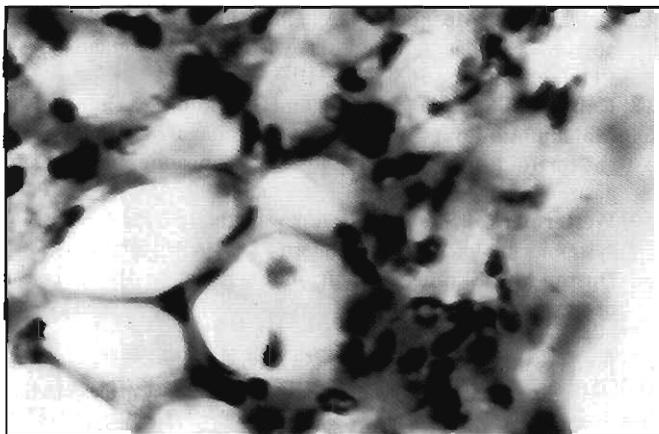
Capacidad Funcional	Sin amiloidosis (n = 77)	Con amiloidosis (n = 3)
1	5	0
2	46	1
3	24	2
4	2	0

amiloide, siendo además seguro, poco doloroso y mínimamente invasivo, para establecer el diagnóstico de amiloidosis primaria y secundaria (19,20).

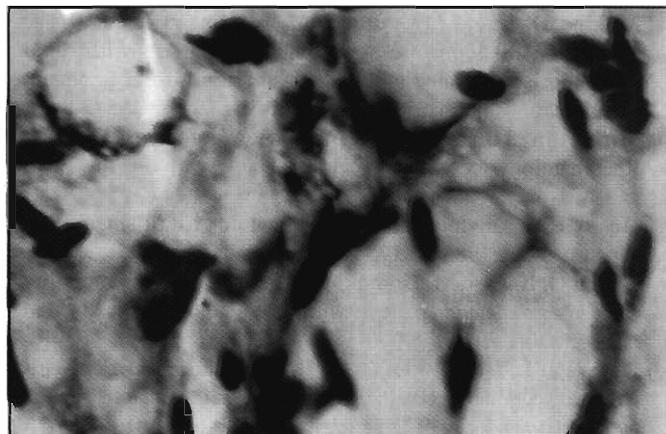
En nuestros pacientes no tuvimos complicaciones, salvo equimosis de pared en un paciente, por lo que ratificamos los conceptos mencionados respecto a su seguridad, así como a la cantidad de muestra obtenida, siendo en su mayoría suficiente para el diagnóstico. Tres décadas antes se creía que la asociación de amiloidosis y AR era un evento raro, solamente observado en casos de larga evolución (11). La frecuencia de 3,70%, si bien es cierto es baja en relación con otras series (8-11), debemos señalar que nuestro hospital es centro de referencia, por lo que no hubo previa selección de los pacientes para incluir un mayor tiempo de enfermedad, ingresando al estudio pacientes con enfermedad de menos de 10 años. Todos los pacientes positivos para amiloide se encontraban en estadio de progresión III-IV, reflejando el deterioro y severidad de la enfermedad, coincidiendo este hallazgo con otros estudios (15,16).

La duración de la enfermedad fue en ambos grupos mayor de 10 años, no alcanzando significación estadística, pero con una tendencia mayor en el grupo con amiloide positivo. En los parámetros de laboratorio no hubo diferencias significativas, notándose tendencia a velocidad de sedimentación más incrementada y valores disminuidos de albúmina y hemoglobina.

Estudios previos han ligado la presencia de amiloidosis en AR seronegativa (26). En nuestro caso todos los pacientes con amiloide fueron seropositivos. Nos llamó notoriamente la atención que la presencia de títulos de factor reumatoide elevados no alcanzaron



**Fig. N° 1.-** Tejido graso subcutáneo de paciente AA(+), rojo Congo (+). Se observa a nivel de las uniones intercelulares un aspecto de malla fina (40X).



**Fig. N° 2.-** Biopsia de tejido graso subcutáneo perteneciente a un paciente AA (-) en la que se observa rojo Congo negativo (40X).

significación en el análisis estadístico realizado, probablemente por el pequeño número de pacientes; sin embargo, Barile (11) también encuentra una correlación directa entre intensidad en la coloración de amiloide y títulos de factor reumatoide.

El síndrome nefrótico es la presentación más común de la amiloidosis reactiva, esto ocurre en pacientes que tienen AR con por lo menos 10 años de evolución y es más frecuente con más de 20 años (12). El compromiso renal es importante dada las altas tasas de morbilidad y mortalidad cuando esta complicación coexiste, describiéndose hasta 59% de mortalidad en una serie de 34 casos (24) con un intervalo entre el diagnóstico y la muerte de  $25,7 \pm 25,1$  meses. En el presente trabajo hubo un paciente con afectación renal que cursó con síndrome nefrótico, que lo llevó a la insuficiencia renal crónica en un lapso de 24 meses después del diagnóstico. En los pacientes restantes no se encontró compromiso orgánico por evaluación clínica ni de laboratorio.

En todos los pacientes positivos para amiloide hubo correlación entre los hallazgos de la microscopía óptica convencional y los de luz polarizada, lo cual sirvió como método confirmatorio.

### CONCLUSIONES

En nuestra serie se confirma la presencia de amiloidosis en 3,70% de los pacientes estudiados, que

es menor en relación con otros estudios. Los pacientes con amiloide positivo tuvieron títulos altos de factor reumatoide y tiempo de enfermedad prolongado, por lo que se recomienda en pacientes con estas características vigilancia y la búsqueda de amiloide. En nuestro grupo se determinó síndrome nefrótico como la complicación más frecuente de amiloidosis. No hubo diferencias en otros parámetros clínicos o de laboratorio (estadio de progresión, clase funcional, compromiso sistémico, hemoglobina y velocidad de sedimentación globular).

Se determina el carácter confirmatorio de la microscopía de luz polarizada para el diagnóstico específico de amiloidosis.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1) Dhillon V, Woo P, Isenberg D. Amyloidosis in the rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 1989; 48: 696-701.
- 2) Yakar S, Livneh A, Kaplan B, Pras M. The molecular basis of reactive Amyloidosis. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24: 255-61.
- 3) Escalante A, Weaver WJ, Beardmore TD. An estimate of the prevalence of reactive systemic amyloidosis in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1995; 22: 2192-3.
- 4) Pettersson T, Tornroth T, Totterman KJ, Fortelius P, Maury P. AA amyloidosis in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1987; 14: 835-8.
- 5) David J, Vouyiouka O, Ansell BM. Amyloidosis in juvenile chronic arthritis: a morbidity and mortality study. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 1: 85-90.

- 6) Makino H, Nagake Y, Murakami K, Hirakawa S, Ota Z. Remission of nephrotic syndrome in a patient with renal amyloidosis associated with Takayasu arteritis after treatment with dimethylsulphoxide. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 842-3.
- 7) Singleton JD. Amyloidosis. En: West SG, editores. *Rheumatology secrets*. Philadelphia: Hanley&Belfus Inc 1996; pág. 431-6.
- 8) Husby RA. Amyloidosis and Rheumatoid Arthritis. *Clin Exp Rheumatology* 1985; 3: 173-80.
- 9) Mutru O, Laakso M, Isomaki H, Koota K. Ten year mortality and causes of death in patients with rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1985; 290: 1797-9.
- 10) Pai S, Pai L, Isomaki H, Helin H, Shevchuk O, Birkenfeldt R. The detection of secondary amyloidosis in rheumatoid arthritis by aspiration biopsy of the subcutaneous fatty tissue. *Ter Arkh* 1995; 67: 73-5.
- 11) Barile L, Ariza R, Muci H. Tru-cut needle biopsy of subcutaneous fat in the diagnosis of secondary amyloidosis in rheumatoid arthritis. *Arch Med Res* 1993; 24: 189-92.
- 12) Benson MD. Amyloidosis. En: Koopman WJ, editores. *Arthritis and allied conditions. A text book of Rheumatology*. 13ra ed. Baltimore. Williams & Wilkins 1996; pág. 1661-87.
- 13) Okuda A, Takasugi K, Oyama Y. Amyloidosis in rheumatoid arthritis. Clinical study of 124 histologically proven cases. *Ryumachi* 1994; 34: 939-46.
- 14) Tanimoto K, Nakamura M, Okada k, Nagasawa K, Niho Y. A young woman with rheumatoid arthritis who rapidly developed secondary amyloidosis. *Nihon Rinsho Kaishi* 1995; 18(1): 83-9.
- 15) Titinen S, kaarela k, Helin H. Amyloidosis: incidence and early risk factors in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1993; 22: 158-61.
- 16) Nakai H, Ozaki S, Kano S, Goto M, Komatsubara Y, Kondo S. Clinical characteristics and genetic background of secondary amyloidosis associated with rheumatoid arthritis in Japanese. *Ryumachi* 1996; 36(1): 25-33.
- 17) Delgado WA, Mosquera A. A highly sensitive method for diagnosis of secondary amyloidosis by labial salivary gland biopsy. *J Oral Pathol Med* 1989; 18: 310-4.
- 18) Kobayashi S, Tada T, Fuchigami T, Okuda Y, Takasugi K, Matsumoto T y col. Secondary amyloidosis in patients with rheumatoid arthritis: Diagnostic and prognostic value of gastroduodenal biopsy. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 44-9.
- 19) Westermark P, Stenkvist B. A new method for the diagnosis of systemic amyloidosis. *Arch Intern Med* 1973; 132: 522-3.
- 20) Duston MA, Skinner M, Shirahama T, Cohen AS. Diagnosis of amyloidosis by abdominal fat aspiration: Analysis of four years experience. *Am J Med* 1987; 82: 412-4.
- 21) Pettersson T, Tornroth T. Fine-needle biopsy of subcutaneous abdominal fat compared with rectal and renal biopsy in the detection of amyloid deposits. *Scand J Rheumatol* 1987; 16(5): 388.
- 22) Duston MA, Skinner M, Meenan RF, Cohen AS. Sensitivity, specificity and predictive value of abdominal fat aspiration for the diagnosis of amyloidosis. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 82-85.
- 23) Bely M, Apathy A. Causes of death as well as complications in rheumatoid arthritis. *Orv Hetil* 1994; 135(37): 2029-34.
- 24) Couverchel L, Maupars Y, Prost A. Outcome of thirty four rheumatoid arthritis patients with renal amyloidosis. including twelve given alkylating agents. *Rev Rhum (Engl)* 1995; 62(2): 79-85.
- 25) Anicama W. Diagnostico de amiloidosis mediante biopsia aspiración de tejido graso de pared abdominal. Tesis para optar el titulo de especialista. Lima Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1991.
- 26) Cohen AS. Amyloidosis associated with Rheumatoid Arthritis. *Med Clin North Am* 1968; 52: 643.
- 27) Buxbaum J. The Amyloidoses. En: Klippel JH, Dieppe PA, editors. *Rheumatology*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Mosby international; 1998. 8p. 27.1-27.10.
- 28) Steinbrocker O, Traeger Ch, Batterman RC. Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. *JAMA* 1949; 31: 315-24.