

- Prior JC, Wark JD, Barr SL (letter). The prevention and treatment of Osteoporosis. *N Engl J Med* 1993;328:56-66.
- Chesnut CH III. Osteoporosis and its treatment. *N Engl J Med* 1992;326:65-66.
- Reid IR, Ames RW, Evans MC et al. Effect of calcium supplementation on bone loss in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1993;328:460-64.
- Heaney RP. Thinking straight about calcium. *N Engl J Med* 1993;328:503-504.
- Sambrook PH, Birmingham J, Kelly P et al. Prevention of corticosteroid Osteoporosis. A comparison of calcium, calcitriol, and calcitonin. *N Engl J Med* 1993;328:1747-52.
- Meunier PJ. Is Steroid induced Osteoporosis preventable? *N Engl J Med* 1993;328:1781-82.
- Iglesias A. Osteoporosis, en Iglesias, Vasquez-Lamadrid. *Enfermedades metabólicas del Hueso*. Instituto Nacional de Salud. Bogotá. 1992;357-96.
- Guzmán RA, Padilla L. Osteoporosis; enfoque y actualización. Conferencia, Ier. Simposio de Actualización en Menopausia. Barranquilla. 1993. (Memorias en imprenta).
- Hahn BH. Osteopenic bone disease, in McCarty, Koopman. *Arthritis and allied conditions*. Twelfth edition. Lea&Febiger, Philadelphia, 1993;1927-55.
- Gilman SC, Chang J, Zeigles PR et al. Interleukin-1 activates phospholipase A2 in human synovial cells. *Arthritis Rheum* 1988; 31:126-30.
- Holtrop ME, Raisz LE. Comparison of the effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol, prostaglandin E2 and osteoclast-activating factor with parathyroid hormone on the ultrastructure of osteoclasts in cultured long bone of fetal rats. *Calcif Tissue Int* 1979;29:201-05.
- Chyun YS, Raisz LJ. Stimulation of bone formation by prostaglandin E2. *Prostaglandins* 1984; 27:97-103.
- Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. *Cells* 1986;46:155-69.
- Schreiber AB, Winkler ME, Derynck R. Transforming growth factor alpha. A more potent angiogenic mediator than epidermal growth factor. *Science* 1986;232:1250-53.
- Centrell M, McCarthy TL, Canales E. Transforming growth factor-beta is a bifunctional regulator of replication and collagen synthesis in osteoblast enriched cell cultures from fetal rat bone. *Biol Chem* 1987;262:2869-79.
- Canalis E, McCarthy T, Centrell M. Isolation and characterization of insulin-like growth factor I from cultures of fetal rats, calvariae *Endocrinology* 1986;122:22-27.
- Linkhart S, Muhan S, Linkhart TH et al. Human skeletal growth factor stimulate collagen synthesis and inhibits proliferation in a clonal osteoblast cell line. *J Cell physiol* 1986;128:307-12.
- Hanschka PV, Mavrakos AE, Iafrait ME et al. Growth factors in bone matrix. *J Biol Chem* 1986;261:12665-74.
- Duff GW, Rurumn SK. The pyrogenic and mitogenic actions of interleukin-1 are related. *Nature* 1983; 304:449-51.
- Dinarello CA. An update on human interleukin-1: from molecular biology to clinical relevance. *J Clin Immunol* 1985;5:287-97.
- Dinarello CA. Multiple biological properties of recombinant human interleukin-1, (beta). *Immunobiol* 1986;172:301-15.
- Gowen M, Wood DD, Ihrie EJ et al. An interleukin-1 like factors stimulate bone resorption in vitro. *Nature* 1982;306:378-80.
- Dewhirst FE, Stashenk PP, Mole JE et al. Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor identity with interleukin-1 beta. *J Immunol* 1985;132:2562-68
- Opp MR, Krueger JM. Interleukin-1 receptor antagonist block interleukin-1-induced sleep and fever. *AM J Physiol* 1991;260:453-57.
- Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993;328:106-13.
- Waltrous DA, Andrews BL, Levanian OP et al. Effects of interleukin, the 6.9 Kd IL-1 inhibitor and non-steroidal anti-inflammatory agents on Ca release in the newborn murine calvarial assay. *Clin Res* 1988; 36:143a.
- Old LJ. Tumor necrosis factor. *Science* 1985; 230:630-32.
- Tashjian AH, Voelkel EF, Lazzaro M et al. Tumor necrosis factor alpha stimulate bone resorption in mouse calvaria via a prostaglandin mediated mechanism. *Endocrinology* 1987; 120:2029-36.
- Gowen M, MacDonald BR, Russel RG., Actions of recombinant human gama interferon and tumor necrosis factor alpha on the proliferation and osteoblastic characteristics of human trabecular bone cell in vitro. *Arthritis Rheum* 1988;31:1500-07.
- Becker S. Interferons as modulators of human monocyte-macrophage differentiation. *J. Immunol* 1984;132:1249-54.
- Mckenna RM, Ofosu A, Appiah W et al. Interleukin-2 production and responsiveness in active an inactive Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 1986;13:28-32.
- Cannalis E, McCarthy T, Centrell M. Growth factors and the regulation of bone remodeling. *J Clin Invest* 1988;81:277-81.
- Redd AH, Cunningham MS. Bone inductions by osteogenin and morphogenic proteins. *Biomaterials* 1990; 11:33:36.

Aspectos Inmunológicos de las Espondiloartropatías Seronegativas (EAS)

Dra. MABEL AVILA
Dra. PATRICIA GÓMEZ
Dra. RUBY RÍOS
Dra. PATRICIA VÉLEZ
Dr. ANTONIO IGLESIAS
Dr. RAFAEL VALLE
Laboratorio de Inmunología Clínica
Servicio de Reumatología e Inmunología
Hospital Militar Central
Instituto Nacional de Salud

Las Espondiloartropatías Seronegativas (EAS) están constituidas por un grupo aparentemente heterogéneo de enfermedades reumáticas que incluyen la Espondilitis Anquilosante (EA)^{1,134}, Artritis Psoriásica (APs)^{2,3,4}, Artritis Reactivas (ARE) dentro de las cuales se encuentra el Síndrome de Reiter y otras Espondiloartropatías no diferenciadas (EASI) [5], caracterizadas por la ausencia de factor reumatoideo además de otras características clínicas, radiológicas y genéticas^{6,7,8,9,10}. Las más frecuentes EAS son EA y ARE.

Como en muchas enfermedades crónicas, factores ambientales y genéticos participan en la patogénesis de estos desórdenes no siendo aún clara la contribución de cada uno de ellos en la expresión de la enfermedad¹¹. Es así como observamos que las artritis reactivas están siempre precedidas por una infección del tracto gastrointestinal y/o genitourinario^{12,13,14,15,16,17} principalmente bacterias Gram-negativas pertenecientes a la familia de las *Enterobacteriaceae*^{12,18,19,20} y la especie *Chlamydia trachomatis*^{21,22}, denominadas "bacterias artritogénicas". Además de estos microorganismos también se les ha dado gran interés a la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* y al virus de Inmunodeficiencia Adquirida como agentes activadores de estas patologías^{23,24,25,26,27,28,29,30}. Sin embargo, diferentes estudios destacan que los cultivos del líquido sinovial son repetidamente negativos³¹, por lo que se evidencia la no viabilidad de la bacteria en la articulación.

La susceptibilidad está dada por el sistema HLA como fue demostrado en 1973 por Brewerton et al y Scholesstein quienes reportaron una asociación entre HLA-B27 y EA. Desde entonces muchos investigadores han encontrado una

fuerte asociación del HLA-B27 con diferentes EAS principalmente con EA (Tabla 1)⁹.

Los estudios de asociación del HLA-B27 y otras Espondiloartropatías Seronegativas, han sido frecuentemente difíciles de analizar debido a que en muchas ocasiones la sintomatología presentada por los pacientes no se adapta a los criterios clínicos de clasificación de enfermedades existentes. Sin embargo se ha observado que en los caucásicos el HLA-B27 muestra además una fuerte asociación con el Síndrome de Reiter en un 80%, ARE en 77-85%, y con APs y artropatía intestinal pero con compromiso Axial en un 50%.^{32,9}

La presencia de EA en una pequeña minoría de individuos HLA-B27, originó la posibilidad que el producto del gen que codifica para la molécula HLA-B27 observado en enfermos, podría ser diferente del de los individuos normales, pero esta diferencia no ha sido hallada. Sin embargo, estudios con Linfocitos T citotóxicos, anticuerpos monoclonales, punto isoeléctrico y secuencialización de aminoácidos, llevó a descubrir que el HLA-B27 definido específicamente por serología, podía ser subdividido en al menos siete variables bien definidas y que se han denominado HLA-B2701, HLA-B2702, HLA-B2703, HLA-B2704, HLA-B2705, HLA-B2706 y HLA-B-2707 que anteriormente era denominado HLA-B27HS^{33,34,35,9,36,37,38,39,40}.

El HLA-B2705 es el subtipo más frecuente y el alelo ancestral de la familia del HLA-B27, se encuentra en un 80-90% en población blanca HLA-B27 (+) y en un 45% en la población Oriental HLA-B27(+).

El HLA-B2701 y HLA-B2702 están restringidos a la población blanca caucásica, siendo el HLA-B2702 el segundo subtipo hallado en caucásicos HLA-B27(+), encontrándose en un 10%. El HLA-B2701 es escaso.

El HLA-B2703 solo se ha encontrado en población negra Americana y Africana, y es el subtipo predominante en Gambia.

El HLA-B2704 y HLA-B2706 son los subtipos observados en los Orientales, siendo el HLA-B2704 el subtipo predominante en ellos, hallándose en un 55% en los individuos HLA-B27 (+)^{35,32,9,41}.

Las substituciones de aminoácidos entre los siete subtipos de HLA-B27 ocurre en muchas y diferentes posiciones en los dominios α -1 y α -2 (Tabla 2) principalmente en las posiciones 77, 80, 81 del dominio α -1 y 114, 116 y 152 del dominio α -2. La estructura tridimensional por cristalografía de rayos X, revela que en todas las moléculas clase I los dominios α -1 y α -2, juntos forman una plataforma de 8 hebras zeta plegadas que soportan dos hebras paralelas α -helice que forman los lados de una hendidura.

Cuatro bandas del piso β plegado y una de las α helice están formadas por residuos de aminoácidos del dominio α -1 y las otras cuatro bandas β -plegadas y la otra α helice están formadas por el residuo de aminoácidos del dominio α -2.^{42,35,9,41}

Sobre la superficie de la hendidura de unión peptídica se han identificado seis diferentes sitios de acople del péptido y que se han denominado "Bolsillos A, B, C, D y F" que interactúan con aminoácidos del antígeno peptídico en la hendidura.

Debido a que la susceptibilidad a la enfermedad no es alterada por el polimorfismo de subtipos, se cree que residuos de aminoácidos conservados en la hendidura de unión del antígeno, sean de más relevancia patogénica^{32,9,41}.

Benjamin y Parham en 1990³³ propusieron que un grupo de seis aminoácidos localizados especialmente uno cerca al otro y próximos a la abertura del bolsillo 45 recientemente descrita en la molécula HLA-A2 y HLA-Aw68 constituyen posiblemente el factor de susceptibilidad a la enfermedad. En estos seis aminoácidos participa la lisina en la posición 70 que es la que le da especificidad a la familia del HLA-B27 y está formada por: His 9-Glu 45-Cys 67-Lys 70-Ala 71 y Asn97³³.

Son también de interés los residuos de aminoácidos que conforman el "Bolsillo 45", ya que

aunque estos residuos son altamente polimórficos entre las moléculas HLA-B son totalmente conservados entre los subtipos HLA-B27. Los residuos correspondientes que hacen esta hendidura en el HLA-B27 está compuesta por Thr24- Gly 26- Val 34- Cys 67 y Glu 45, que presentan un motivo estructural que permite que se una a él con mayor afinidad un péptido en esa parte de la hendidura^{33,9,40}. Estas observaciones soportan la idea que la Espondilitis Anquilosante es el resultado de una autoreacción de células T dirigidas a una combinación particular del HLA-B27 y un péptido desconocido denominado "péptido artrítico" ^{33,9}.

Aunque no se ha determinado si la enfermedad es el resultado de una respuesta inmunológica o de no respuesta y la manera como el antígeno es transportado a la articulación se cree que una vez localizado estimula una respuesta local no específica produciendo daño en el tejido o una reacción inmunológica cruzada con un antígeno propio por la llegada de células reactivas de memoria o células citotóxicas lo que llevó a proponer varias y diferentes pero no excluyentes hipótesis para explicar cómo el antígeno HLA-B27 y las "bacterias artríticas" interactúan para inducir la enfermedad^{42,43,39,40}.

La teoría del mimetismo molecular: propone que la molécula del HLA-B27 puede tener características estructurales, que aunque únicas entre las moléculas HLA, presentan una estructura similar a la de ciertos determinantes antigénicos de algunos microorganismos, especialmente bacterias Gram negativas, compartiendo epítomos entre microorganismos y proteínas normales del huésped; la respuesta inmune creada para la infección (microorganismo semejante) que puede ser mediada por la generación de linfocitos efectores o anticuerpos que reconocerán determinantes antigénicos específicos sobre células o tejidos blancos, ocasionará una reactividad cruzada contra lo propio; el microorganismo desencadenante, posiblemente sea eliminado, pero los componentes del ataque, de manera continua y progresiva reconocerán los elementos propios, causando el daño tisular y los síntomas clínicos^{33,44,45,46,47,48}.

FRECUENCIA DEL HLA-B27 EN POBLACION CAUCASICA, MONGOLOIDE Y NEGROIDE					
POBLACIÓN	Nº PACIENTES	EA B27(+) %	CONTROLES NORMALES		
			Nº CONTROLES	B27(+) %	
CAUCASICA					
Euro-Caucásicos	2022	79-100	130	16162	4-13
India-Pakistan	83-100			456	2-8
Iranies	25		92	400	3
Arabes	32		81	355	3
Judios	31		81	456	3
MONGOLOIDES					
Chinos					
China Mainland	196		69-91	726	2-7
Hong Kong	77		99	102	4
Taiwan	75		95	297	9
Singapur	29		97	238	7
Japoneses	72		82	208	<1
Filipinos	17		94	529	5-8
Thai	71		86	5	138
INDIOS NORTEAMERICANOS					
Haida	17		100	222	50
Navajo	5		80	100	36
Bella Colla	3		100	129	25
Pima	14		100	400	18
Zuni				158	13
Hopi				100	9
MESTIZOS	239		69-81	1404	3-7
INDIOS SURAMERICANOS					
				440	0
NEGROIDE					
Negros Africanos					
Africa Central					
Congo-Zambia					
Este del Africa				259	0
Mali					
Gambia				82	9.7
Sur Arica				702	2.6
Zimbabwe					
Sur Arica	7		0		<0.01
Negros Americanos	9		22	798	1
	67		57	1330	2-4

* KAHN M.A. et al [62]

Tabla 1.

VARIACIÓN EN LA SECUENCIA DE LOS SUBTIPOS HLA - B27											
VARIANTE	59	74	77	80	81	97	113	114	116	131	152
B*2701	Tyr	Tyr	Asn	Thr	Ala	Asn	Tyr	His	Asp	Ser	Val
B*2702	Tyr	Asp	Asn	Ile	Ala	Asn	Tyr	His	Asp	Ser	Val
B*2703	His	Asp	Asp	Thr	Leu	Asn	Tyr	His	Asp	Ser	Val
B*2704	Tyr	Asp	Ser	Thr	Leu	Asn	Tyr	His	Asp	Ser	Glu
B*2705	Tyr	Asp	Asp	Thr	Leu	Asn	Tyr	His	Asp	Ser	Val
B*2706	Tyr	Asp	Ser	Thr	Leu	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Ser	Glu
B27"HS"	Tyr	Asp	Asp	Thr	Leu	Ser	His	Asp	Tyr	Arg	Val

Tabla 2.

Benjamín, R. and Peter Parham [32]

La molécula HLA-B27 por si misma, está involucrada en la susceptibilidad a la enfermedad, actuando como un receptor para determinados agentes etiológicos, específicamente a antígenos bacterianos que serán presentados a células T. Después de que la bacteria sea eliminada, las células T continúan expandiéndose a través de autoreconocimiento, y las áreas articulares donde el péptido es expresado, serán las más directamente afectadas³³.

La hipótesis de factor modificador de HLA-B27: propuesta por Geczy y cols. 1980, infieren que la *Klebsiella* secreta un factor modificador, que une a la molécula HLA-B27 y puede ser reconocido como un blanco a la respuesta contra lo propio.

Además, propone que las células humanas puedan adquirir genes bacterianos que codifican este factor modificador, guiando una expresión constructiva de HLA-B27 modificado en pacientes con Espondiloartropatías seronegativas, produciéndose una continua respuesta inmune después de la infección bacteriana^{33,49,50,51}. Estos hallazgos son contradictorios puesto que otros trabajos no han podido reproducirlo.

Los genes que dan la susceptibilidad, son los que codifican para la cadena α y β del RCT y que

la asociación con la molécula HLA-B27 es sólo aparente^{33,52}.

La hipótesis del péptido artritogénico: propone que la enfermedad es el producto de una respuesta mediada por Linfocitos T citotóxicos (LTC), a un péptido encontrado sólo en tejidos articulares, que puede específicamente ser rodeado y presentado por todos los subtipos HLA-B27. Sin embargo, bajo condiciones normales el péptido es presentado a bajos niveles a células T, para dar lugar a delección clonal o a la iniciación de la respuesta inmune; y de esta manera si la bacteria o el virus tienen proteínas con una secuencia similar al péptido artritogénico, la infección sensibilizaría a las células T, que detectarían bajos niveles de presentación del péptido artritogénico iniciando una respuesta contra lo propio, que podría ser propagada por futuros péptidos liberados del tejido dañado^{33,32,9}.

Los avances en Biología Molecular y tecnología de síntesis de péptidos han proporcionado información que apoya algunas teorías. Como es la hipótesis de mimetismo molecular ya que en 1987 Schwimbeek, David T. Y. Yu & Oldstone encontraron una secuencia de seis aminoácidos que corresponde al péptido Glutamina - Treonina - Acido Aspártico - Arginina - Acido Glutámico-

Acido Aspártico (Gln - Thr - Asp - Arg - Glu - Asp o QTDRED según código internacional de una letra), presentes en la posición 72-77 en el antígeno HLA-B27 y en el residuo 188-193 de la nitrogenasa de la *Klebsiella pneumoniae*, podía ser reconocidos por los sueros de pacientes con EA y Síndrome de Reiter al ser analizados frente a péptidos que contenían esta secuencia, igualmente en 1989 observaron que al examinar tejido sinovial de pacientes con éstas mismas patologías mediante una técnica inmunoenzimática con antisueros contra péptidos sintéticos que representaban esta secuencia homóloga, todos los pacientes HLA-B27 positivos con inflamación sinovial mostraban una fuerte tinción en las células de la sinovia, endotelio vascular y células inflamatorias indicando que los antígenos que muestran reacción cruzada entre los epítopes del HLA-B27 y la nitrogenasa de la *Klebsiella pneumoniae* se expresaban fuertemente en este tejido^{53,54,55}.

Estudios realizados por R.D. Inman, et al, 1986^{56,40} examinaron así mismo la posibilidad de un mimetismo molecular entre el antígeno HLA-B27 y dos organismos implicados en artritis reactiva como son la *Yersinia enterocolitica*^{33,44,53,3,58,56,60,61} y *Chlamydia trachomatis*^{21,14,17} y aunque los datos obtenidos, no soportaron un mimetismo molecular como base de susceptibilidad a estas entidades seguidas de infección con dichas bacterias, otros investigadores si pudieron demostrar anticuerpos anti - HLA - B27 en estos pacientes lo que origina una gran controversia de resultados que deben seguir siendo investigados^{42,57,56,62,60,63,47,64,65,55,39,66}.

Sin embargo, la posibilidad de un epítipo común bacteriano que dispare la enfermedad siguió siendo investigada por Stieglitz, Fosmire y Plipsky en 1989 quienes estudiaron una serie de especies de *Shigellas* artrítogénicas y *Shigellas* no artrítogénicas asociadas con epidemias, observando la presencia de un plásmido de dos megadaltons (pHS-2Md) en las primeras, que al ser secuenciado presentaba una homología con el residuo [71-75] de la región polimórfica del dominio á del antígeno HLA-B27 el cual cubre el residuo de homología con la nitrogenasa de la *Klebsiella pneumoniae* reportada por

Schwimmbeek, fortaleciendo nuevamente la posibilidad de que el mimetismo molecular entre péptidos codificados por bacterias artrítogénicas y proteínas del huésped incluyendo el propio antígeno HLA-B27 juegan un papel importante en la iniciación de estas patologías, así como la presencia de un plásmido bacteriano común en estas enterobacterias implicadas en el desarrollo de la enfermedad^{65,67}.

Estudios realizados por Robert D. Inman, et al, [56,68,55] examinaron la presencia de anticuerpos contra un péptido que representaba la región homóloga de pHS-2 (péptido pHS-2), así como la reactividad cruzada de los anticuerpos anti - péptido - HLAB2705 con el péptido pHS-2 en un gran número de pacientes con EA, Síndrome de Reiter y ARE, demostrando la presencia de anticuerpos séricos en algunos pacientes con EA y ARE, los cuales reaccionaban con péptidos sintéticos que representaban la región polimórfica del Antígeno HLA-B27 y a las secuencias homólogas del plásmido de la *Shigella flexnerii*, además algunos de los anticuerpos contra el péptido HLA-B2705, al ser purificados, mostraron fuerte reacción con el péptido pHS-2 y una débil reacción con el péptido de la nitrogenasa de la *Klebsiella pneumoniae*, sugiriendo que aunque la nitrogenasa de la *Klebsiella* y el plásmido pHS-2 muestran un grado de similitud en su secuencia, el mimetismo del péptido pHS-2 con el HLA-B27 puede ser mejor reconocido por los linfocitos B que en el caso de la nitrogenasa *Klebsiella pneumoniae*. Estos resultados son de gran interés ya que estos plásmidos pueden ser intercambiados entre varias enterobacterias puesto que es bien conocido que varios microorganismos incluyendo la *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia* y *Chlamydia* están involucradas en la patogénesis de las ARE. Además ellos concluyeron que la leucina en la secuencia (Gln - Thr - Asp - Arg - Glu - Asp) era crítica para la reactividad cruzada al utilizar péptidos análogos al pHS-2, y que al reemplazar la arginina por la alanina se observaba una reacción cruzada más fuerte con el anticuerpo contra el péptido HLA-B27 que con el anticuerpo del péptido original pHS-2, fenómeno que podía estar relacionado con la similitud bioquímica entre los aminoácidos

arginina y lisina ya que ambos poseen cargas positivas. Aunque los resultados de este estudio evidenciaron reactividad cruzada entre la secuencia hipotética del pHS-2 y la molécula HLA-B27, se sugirieron estudios adicionales para aclarar la relación entre el antígeno HLA-B27, antecedentes de infecciones y el desarrollo de EAS^{35,68,55,40}.

Simultáneamente se realizaron estudios a nivel de respuesta celular. Leino y cols 1983 encontraron al examinar la proliferación de mononucleares de pacientes con artritis inducida por *Yersinia*, que a nivel de sangre periférica la respuesta es más baja en el grupo de sujetos infectados con *Yersinia* que desarrollaron artritis, comparado con el grupo de sujetos infectados con *Yersinia* que experimentaron recuperación sin presentar artritis^{69,70,71}.

Brenner y cols 1984, observaron una respuesta aumentada y específica de células T, cuando analizaron el índice de éstas en pacientes con Síndrome de Reiter a *Yersinia enterocolitica* tipo 0:3, así como una respuesta muy localizada en sinovial, ya que al comparar el índice de estimulación linfocítica en sangre periférica y líquido sinovial, se observó un incremento de este último; definiéndose que el área sinovial es el foco de respuesta inmune al agente causal de la artritis y en donde principalmente acontece la actividad de estas patologías^{72,73,70,74,67}.

El problema en la gran mayoría de estos estudios iniciales fue la utilización de bacterias completas, mitógenos policlonales, ya que dentro de éstos algunos componentes pueden tener actividad estimulante o supresora; lo que llevó al estudio detallado de las bacterias desencadenantes y obtener los péptidos más inmunogénicos, para así realizar estudios específicos de la respuesta inmune celular^{75,76}.

Gaston y cols en 1989, al examinar la respuesta proliferativa de células mononucleares de líquido sinovial con Artritis reactiva, encontraron que la máxima respuesta fue dada contra el organismo específico responsable de la infección; posteriormente examinaron la respuesta a organismos adicionales asociados con Artritis reactiva y encontrando datos que sugieren que entre bacterias se comparten epítomos antigénicos que son reconocidos por células T.^{77,78}

La respuesta celular a bacterias tratadas con calor y por rayos gamma, se encontró más baja en sangre periférica que en líquido sinovial, y una respuesta celular a fitohe-maglutinina (PHA) en sangre periférica más alta que en líquido sinovial.

Se propone que la respuesta aumentada de las células mononucleares de líquido sinovial se desencadena por una reactivación de células T de memoria localizadas en el sinovium inflamado, aunque no se encontrara una evidencia serológica a una infección previa de organismos asociados a ARe⁷⁸. Recientemente se obtuvo evidencia que sugiere que las células T de memoria predominan dentro de la articulación; esto por medio de anticuerpos monoclonales como UCHL-1 dirigido contra la molécula CD45RO y 4BB dirigido contra la molécula CD28, los cuales son marcadores de células de memoria^{78,74,79}.

La diferencia entre la respuesta de células mononucleares en sangre periférica y líquido sinovial a organismos puede reflejar un incremento de la frecuencia de las células T antígeno específico estimuladas por células presentadoras de antígeno (APC) encontradas en líquido sinovial, ya que expresan más altos niveles de moléculas clase II que las APC encontradas en sangre periférica; posiblemente por la mayor expresión de los genes interferon en la articulación inflamada^{36,45,80,81}.

La asociación encontrada entre Artritis reactiva y el antígeno clase I HLA-B27, podría sugerir que la asociación no implica que la respuesta de células T sea restringida al HLA-B27 en la patología de Artritis reactiva; sin embargo células T restringidas a moléculas clase II encontradas en respuesta celular podría mediar la reactividad cruzada entre el HLA-B27 y antígenos bacterianos^{78,82}.

Las células mononucleares de líquido sinovial, responden más a la adición de interleukina-2 (IL-2) exógena que las células de sangre periférica; sugiriéndose que las primeras han sido activadas in vivo y que por lo tanto han sufrido rearrreglos en el receptor de IL-2 (IL-2R). Concluyéndose que dentro de la articulación existe antígeno-células T antígeno específico-célula presentadora de antígeno eficiente; sugiriendo que la respues-

ta mediada por células T a bacterias, es central en la patogénesis de la ARe^{83,78,84,81}.

Ebringer y cols 1977, Ogasawara y cols 1986, demostraron reactividad cruzada entre la molécula HLA-B2705 y un epítipo de la nitrogenasa de la *Klebsiella pneumoniae*, ampliamente expresado dentro del tejido sinovial inflamado de pacientes HLA-B27(+)^{85,86,55}.

Todos los estudios relacionados anteriormente fueron realizados en modelos in vitro. Nikeson et al en 1990 realizó estudio en ratones transgénicos en los que una cepa de ratones que expresan en sus células el HLA-B27 fueron retados con *Yersinia* y desarrollaron una artritis semejante a Artritis reactiva demostrando que el antígeno bacteriano puede mostrar alguna homología con el antígeno propio por lo que las células efectoras responsables de atacar la bacteria infectante podría responder a antígenos propios que en la EA o ARe puede ser una proteína articular o proteoglicanos⁸⁷.

Todos estos estudios han llevado a apoyar aún más las teorías del Mimetismo molecular así como a la del péptido artritogénico, dirigiendo las nuevas investigaciones a una mejor identificación de epítipos involucrados en la respuesta inmune de los diferentes microorganismos artritogénicos y una mejor evaluación de la respuesta humoral y celular de los pacientes, que junto con experimentos en ratones transgénicos podrían delinear, si la selección positiva o negativa de las células T juegan un papel importante en la patogénesis de la enfermedad.

Estado Actual de las Investigaciones de Espondiloartropatías Seronegativas en Colombia

En Colombia no existen datos epidemiológicos que muestren la incidencia y prevalencia de EAS. Dado el carácter multifactorial de estas enfermedades y teniendo en cuenta que al Servicio de Reumatología e Inmunología del Hospital Militar Central son remitidos individuos originarios de diferentes partes del país sometidos a va-

rios medios ambientales y con un cuadro clínico sugestivo de EAS, nuestro laboratorio se estimuló a iniciar una línea de investigación en este tipo de patologías.

Inicialmente se realizó un estudio comparativo entre un grupo de 58 individuos que presentaban EAS: 11 con Espondilitis Anquilosante (EA), 27 con Artritis Reactiva (ARe), 16 con Espondilitis Seronegativa Indiferenciada (EASI) y 4 con Artritis Psoriásica (APs) y un grupo de 57 individuos sin antecedentes familiares de enfermedades reumáticas y un factor RA negativo.

Pacientes y controles fueron tipificados serológicamente para HLA-A, HLA-B y HLA-C, por la técnica de microlinfocitotoxicidad con 140 antisueros específicos. Igualmente se determinó mediante técnica de ELISA la presencia de anticuerpos contra péptidos sintéticos que representan la región homóloga de la nitrogenasa de la *Klebsiella pneumoniae*, el plásmido de 2Md de la *Shigella flexnerii* (pHS-2) y la región hipervariable del HLA-B2705. También se utilizó un péptido con la secuencia CAKAQTRED que representa el piso del HLA-B27, péptidos de la región hipervariable del HLA-B7 y HLA-B14, así como un péptido control (P-97) asociado a melanoma.

Al analizar la presencia del HLA-B27 en el grupo de pacientes con EAS en relación con el grupo control, se encontró una gran diferencia (55.1%/8.7%), con una significancia estadística $p < 0.005$ y un R.R. de 14. Cuando se analizó el grupo de pacientes clasificados en los cuatro grupos de enfermedades se observó que esta diferencia se mantenía principalmente en el grupo con Espondilitis Anquilosante (90.8%) con una significancia estadística $p < 1.38 \times 10^{-7}$ y un R.R.:104, así como con los grupos con ARe (62.9%) y EASI (37.5%) con significancia estadística $p < 0.005$ y R.R. de 17.68 y 6.24 respectivamente. No se encontró la presencia de este antígeno en el grupo APs.

Aunque no hubo diferencia significativa de los antígenos del grupo CREG-B27 en el grupo de pacientes en relación al grupo control se observó que en 25 pacientes que eran HLA-B27 negativos, 6 presentaban HLA-B7, 6 HLA-B40 y 1

HLA-B42, que al ser clasificados en los diferentes grupos de enfermedad sólo se encontró significancia estadística con el antígeno HLA-B7 y EASI (31-25%/10.5%) dando un R.R. [3,86].

De los 58 pacientes estudiados por ELISA, 9 respondieron al péptido del plásmido de 2 Md (pHS-2), 1 (1,72%) al péptido CAKAQTRED, 1 (1,725) respondió al péptido del melanoma y 2 respondieron al péptido de la región hipervariable del HLA-B14.

No se encontró respuesta significativa a los péptidos de la nitrogenasa de la *Klebsiella pneumoniae*, a la región hipervariable del HLA-B2705 y al péptido de la región hipervariable del HLA-B7.

De los 9 pacientes que respondieron al pHS-2, 5 (55.6%) son HLA-B27(+) y 4 HLA-B27(-). De los 5 HLA-B27(+), uno además era HLA-B7(+) y otro HLA-B14(+). Los cuatro que eran HLA-B27(-), 2 son HLA-B7(+) de los cuales uno además es HLA-B40(+), lo que soporta aún más la participación del HLA-B27 y antígenos del Grupo CREG-B7 en la etiología de estas enfermedades. Se evidencia una fuerte asociación del antígeno HLA-B27 con EAS principalmente con EA, ARe, al igual que en otros grupos humanos. No se observó reacción cruzada en la respuesta humoral a péptidos sintéticos.

En una segunda fase de la investigación se evaluó la respuesta celular del líquido sinovial y sangre periférica de 29 pacientes con EAS (EA, ARe, EASI, Aps) frente a diferentes péptidos propios (HLA) y derivados de bacterias, teniendo en cuenta el fondo genético de estos individuos y controlando el ensayo con 21 personas al mismo grupo social, edad y sexo a las que se les realizó los ensayos de blastogénesis y HLA. Este estudio volvió a encontrar asociación de EA, A Reactiva y EASI con el HLA-B27, apoyando los resultados de Gómez P. (et al) en el que también encontró una fuerte asociación a las EAS.

También se observó respuesta de 4 pacientes con EA HLA-B27(+), 1 paciente con ARe HLA-B27(+), 1 paciente con EASi HLA-B27(-) presentaron respuesta a 2 o más péptidos de reactividad cruzada en sangre periférica, al igual que 1 paciente con EASi HLA-B27(+) en líquido

sinovial. En 3 pacientes con EA se evidenció reactividad cruzada (respuesta a péptidos propios HLA y derivados de bacterias).

Se encontró respuesta significativa al péptido HLA-B14 en el grupo de pacientes, así como en el grupo de EASi en relación al grupo control, y al péptido HLA-B2705 en el grupo de pacientes con Espondilitis anquilosante con relación al grupo control.

Al asociar la respuesta celular a péptidos y la presencia del antígeno HLA-B27 en el grupo de pacientes, no se encontró diferencia significativa, sin embargo, se observó que la mayoría de pacientes y controles con respuesta celular a péptidos eran HLA-B27(+) y/o presentaban antígenos del grupo CREG-B7.

Los datos de respuesta celular apoyan la reactividad cruzada como uno de los mecanismos involucrados en el desencadenamiento de las EAS, especialmente en EA y aportan conocimiento del papel que juegan los aminoácidos en el reconocimiento que hace la célula T.

Para el estudio de los factores ambientales a los individuos con Artritis reactiva se les realizó cultivo de células McKoy e identificación por monoclonales para *Chlamydia* y solo dos fueron positivos para *Chlamydia* teniendo todos antecedentes de test negativo.

El enfoque multidisciplinario del paciente y estudios más selectivos a nivel de respuesta de linfocitos T, presentación antigénica y epítomos de bacterias desencadenantes en nuestro medio darán en un futuro nuevas estrategias de terapia en estas enfermedades. ■

Referencias

1. VENDERLINDEN SJEFF M. 1990 Clinical and radiographic features of ankylosing spondylitis. *Curr. Opin. Rheum.* 2:563-569
2. GLADMAN DAFNA, D. FRCPC. 1990 Psoriatic Arthritis *Curr. Opin. Rheumatol.* 2:377-581
3. HAMILTON M. L., D.D. GLADMAN A. SHORE AND et al 1990 Juvenile psoriatic arthritis and HLA antigens *Ann. Rheum. Dis.* 49:694-697
4. SOUTHWOOD TAUNTON R., Ross E. Petty et al 1989 Psoriatic arthritis in children. *Arthritis Rheum.* 32:1007-1013
5. DOUGADOS MAXIME, Sief van der Linder, Roger Juhlin et al 1991 The European spondyloarthropathy study group preliminary criteria for the classification

- of spondyloarthropathy. *Arthritis and Rheumatism*. 34:1218-1226
6. ARNETT, Frank C. 1990 The seronegative spondyloarthropathies. *Curr. Opin. Rheum.* 2:561-562.
 7. BONAGURA, VINCENT R., Wedgood, J.F., Nicodemo, Agustino et al. 1989 Seronegative Rheumatoid arthritis, rheumatoid factor cross reactive idiotype expression and hidden rheumatoid factors. *Ann. Rheum. Dis.* 48:488-495.
 8. JAMES, H. WILLIAM. 1991 Sex ratios and hormones in HLA related rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 50:401-404.
 9. KAHN, M.A. and Herbert Kellner. 1992 Immunogenetic of Spondyloarthropathies. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 18:837.
 10. UTSINGER, PETER D., David M. Spalding, Steven R. Weiner et al. 1988 Intestinal Immunology and Rheumatic Disease: Inflammatory Bowel disease and Intestinal Bypass Arthropathies. *Infect. Rheumatic. Dis.* 38:317-341.
 11. CALIN, ANDREW and Elswood Judith 1989 Relative role of the genetic and environmental factors in disease expression: Sibpair analysis in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis and Rheumatism*. 32:77-81.
 12. AHO KIMMO 1988 Yersinia Infections and Yersinia Arthritis in Europe. *Infect. Rheumatic Dis.* 32:267-272.
 13. GOLDENBERG, DON L. 1990 Infection as trigger to connective tissue disease. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2:648-651.
 14. KEAT ANDREW, FRCP. 1988 Reactive Arthritis, Reiter's Syndrome and Genitourinary Infections. *Infect. Rheumatic Dis.* 34:281-286.
 15. KHATEEB MONTHER GEORGE, F. Araj et al. 1990 Brucella Arthritis. A study of 96 cases in Kuwait. *Ann. Rheum. Dis.* 49:994-998.
 16. KINSELLA T. DOUGLAS. 1988 Ankylosing Spondylitis and Infections Agents. *Infect. Rheumatic. Dis.* 412:353-360.
 17. MARICIC MICHAEL J. and F. Paul, Alepa. 1990 Reactive Arthritis after Mycobacterium Intracellulare infection Poncet's disease revised. *Am. J. Med.* 88:549-550
 18. BERDER, J.H.M., Muyjeans H. L. et al. 1979 Reactive Arthritis associated with Campylobacter yeyuny enterity. *Br. Med. J.* 10:380-381.
 19. FRAGA ANTONIO and Carlos Lavallo. 1988 Salmonella Arthritis *Infect. Rheumatic. Dis.* 5:27-30.
 20. GOTUZZO EDUARDO and Carlos Carrillo. 1988 Brucella Arthritis *Infect. Rheumatic Dis.* 6:31-41.
 21. KEAT ANDREW, FRCP. 1990 Sexually transmitted arthritis syndromes. *Med. Clin. North Am.* 74:1617-1631.
 22. WAGAR ELISABETHA., Julius Schater, Patrik Banoi et al. 1990 Differential human serologic response to two 60.000 molecular weight Chlamydia trachomatis antigen. *J. Infect. Dis.* 162:927-992.
 23. BARKA, MOURI E, Melkon S. Agopian, James B. Peter. 1990 False positive IgM antibodies to Borrelia Burgdorferi in Indirect Elisa as a result of IgM Rheumatoid factor. *J. Infect. Dis.* 161:1312.
 24. BARTHOLD STEPHEN W., Deborah S. Beck et al. 1990 Lyme Borreliosis in selected strains and ages of laboratory mice. *J. Infect. Dis.* 162:133-138.
 25. COOKE W. DONALD and Dattwyler, Raymond J. 1990 Spirochetal arthritis including Lyme disease. *Curr. Opin. Rheum.* 2:622-627.
 26. JOHNSON SCOTT E, B. Swaminathan et al. 1990 Borrelia Burgdorferi: Survival in Experimentally Infected human blood processed for transfusion. *J. Infect. Dis.* 162:557-559.
 27. KINSEY ROBERT B. and Andrew Spielman. 1990 Motility of Lyme Disease Spirochetes in fluid as viscous as the extracellular matrix. *J. Infect. Dis.* 162:1205-1208.
 28. NELSON JEFFERY A, Matthew J. Bankowski, Barbara J. Newton et al. 1990 Detection of Antibodies in Late Lyme Disease. *J. Infect. Dis.* 161:1034-1035.
 29. SMITH CAROL A. 1990 Virus related arthritis excluding human immunodeficiency virus. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2:635-641.
 30. WINCHESTER, ROBERT and Gary Salomon. 1988 Reiter's Syndrome and Acquired Immunodeficiency. *Infect. Rheumatic Dis.* 39:343-347.
 31. KELLNER H. and D. Yu. 1992 The Pathogenetic Aspects of Spondyloarthropathies from the point of view of HLA-B27. *Rheumatol. Inf.* 12:121.
 32. BENJAMIN RICHARD, Peter Parham. 1990 Guilt by association: HLA-B27 and Ankylosing Spondylitis. *Immunol. Today.* 11:137-142.
 33. CHOO Y.S., Antonelly P, Nisperos B. et al. 1986 Six variants of HLA-B-27 identified by isoelectric focusing. *Immunogenetics* 23:24-29.
 34. IGLESIAS GAMARRA ANTONIO y Julio Granados Arriola. 1990 Inmunogenética del HLA-B27. *Bio-médica* 10:59-83.
 35. KINGSLEY G.H. 1993 Reactive Arthritis. A paradigm for inflammatory arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 11 (Suppl. 8):S29.
 36. LOPEZ DANIEL, Susana Rojo, Victor Calvo et al. 1990 Peptide presenting similarities among functionally distant HLA-B27 subtypes revealed by allo-reactive T lymphocytes of unusual specificity. *J. Immunol.* 148:996-1002.
 37. REVEILLE, JOHN D. 1993 The interplay of nature versus nurture in predisposition to the Rheumatic Diseases. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 19:15.
 38. VIITANEN ANNA-MARI, T. Petter Arstila et al. 1991 Application of the polymerase chain reaction and immunofluorescence techniques to the detection of bacteria in yersinia-triggered Reactive Arthritis. *Arthritis Rheum.* 34:89-96.
 39. YU DAVID T, S. Yoon Choo and Terry Schaack. 1989 Molecular Mimicry in HLA-B27 related Arthritis. *Ann. Intern. Med.* 111:581-591.
 40. LOPEZ DE CASTRO JOSE A. 1989 HLA-B27 y HLA-A2 Subtypes: Structure, Evolution and Function. *Immunol. Today.* 10:239-246.
 41. ABBAS ABULUK, M.B.B.S., Andrew H. Lichtman et al. 1991 Cellular and molecular immunology. W.B.S. Edic. W.B. Sunder Philadelphia.
 42. CAVENDER DRUIE and Ziff Morris. 1986 Anti-HLA-B27 antibodies in sera from patients with Gram-negative bacterial infections. *Arthritis and Rheumatism.* 29:352-357.
 43. CHEN, J.H., Kono D, Yong Z. et al. 1987 A Yersinia

- pseudotuberculosis protein which cross-reacts with HLA-B27. *J. Immunol.* 139:3003-3011.
44. FORD DENYS K. 1986 Reactive Arthritis. Viewpoint rather than a review. *Clin. in Rheumatic Diseases* 12:
 45. KINGSLEY GABRIELLE and Sochen Sieper. 1993 Current perspectives in reactive arthritis. *Immunol. Today.* 14:387-391.
 46. SCHWIMMBECK PETER L., Michael B.A. and Oldstone M.D. 1988 Molecular mimicry between Human Leukocyte Antigen B27 and Kleisbella. *Am. J. Med.* 85 (Sup 6A):51-53.
 47. SCHWIMMBECK PETER L., David T, Y. Yu et al. 1987 Autoantibodies to HLA-B27 in the SERA of HLA-B27 patients with ankylosing spondylitis and Reiter's Syndrome. *J. Exp. Med.* 166:173.
 48. TAK Y.D. et al. 1989 Molecular mimicry in HLA-B27 related arthritis. *Intern. Med.* 111:581-590.
 49. GECSY A.F., Alexander K. and Bashier H.V. 1980 A factor in Kleisbella culture filtrates specifically modifies an HLA-B27 associated cell-surface component. *Nature* 283:782-784.
 50. SULLIVAN, JOHN S., John Prendergest et al. 1988 Cross reacting bacterial determinants in Ankylosing Spondylitis. *Am. J. Med.* 85 (Sup 6A): 54-55
 51. TRULL A, A Ebringer, G. Panayy et al 1984 HLA-B27 and the Immune Response to Enterobacterial Antigens in Ankylosing Spondylitis. *Clin. Exp. Immunol.* 55:74-80.
 52. CAMERON F.H. et al 1987 Failure of Klebsiella pneumoniae antibodies to cross-react with periphcal blood mononuclear cells from patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis and Rheumatism* 30:300-305.
 53. HUSBY GUNNAR, Nauyuki Tsuchiya, Peter L. Scwimmbeck et al. 1989 Cross reactive epitope with Klebsiella Pneumoniae Nitrogenase in Articular Tissue of HLA-B27(+) patients with Anklosing Spondylitis. *Arthritis Rheum.* 32:437-445.
 54. SEAGER, K., Bashir H. V., Gecsy A. et al. 1979 Evidence for a specific B-27 associated cell surface marker on lymphocytes of patients with Spondylitis Ankylosing. *Nature* 227:68-70.
 55. TSUCIYA NAOYUKI, Gunnar Husby, Ralph C. Williams Jr. et al. 1989 Studies of humoral and cell-mediated immunity to peptides shared by HLA-B27 and Klebsiella pneumoniae nitrogenasa in Anklyosing Spondylitis. *Clin. Exp. Immunol.* 76:354-360.
 56. IMMAN, ROBERT D., B. Chin M.E., A. Johnston et al. 1986 Molecular Mimicry in Reiter's Syndrome: Citotoxicity and Elisa Studies of HLA-Microbial relationships. *Immunol.* 58:501-506.
 57. GROMBERG A. Fryden and E. Kihlstrom. 1989 Humoral Immune response to individuals Yersinia enterocolitica antigen in patients with and without Reactive Arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 76:361-365.
 58. HAMMER MICHAEL, Henning Zeider et al. 1990 Yersinia Enterocolitica in the sinovial membrane of patients with Yersinia induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 33:1795-1800.
 59. HARTIALA KAIJA, Inggred Grandenberg et al. 1989 Inhibition of polymorphonuclear leucocyte functions in vivo by Yersinia enterocolitica lipopolysaccharide. *Ann. Rheum. Dis.* 48:42-47.
 60. LAHESMAA RANTALA RITTA, Jurgen Heesemann et al. 1989 Avidity of antibodies against released proteins of Yersinia Spp: Comparison of patients with or without reactive arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 48:1003-1006.
 61. LEIRISALO MARJATTA and Hannu Suranta. 1988 Ten year follow up study of patients with Yersinia Arthritis. *Arthritis Rheum.* 31:533-537.
 62. KINSELLA T. DOUGLAS, Marvin J. Fritzler and Raymond M. Lewkonia. 1986 Normal Anti-Kiesbella Limphocytotoxicidad in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis Rheum.* 29:358-362.
 63. OGASAWARW M., Kobayashi J.L. Hill et al. 1985 Rabbit antisera against three different bacteria which can produce induce Reactive Arthritis analysis by ELISA, Immunoprecipitation and Western-blot. *Immunol.* 54:665-676.
 64. SIEPER J. et al. 1992 Pathogenic role of Chlamydia, Yersinia and Borrelia in undifferentiated oligoarthritis. *J. Rheumatol.* 9:1236-1242.
 65. SIEPER JOACHIM, Jurgen Braum, Jan Brandt et al. 1992 Pathogenetic role of Chlamydia, Yersinia and Borrelia in undifferentiated oligoarthritis. *J. Rheumatol.* 19:1236-1242.
 66. STAHLBERG TOMMHY, Jurgen Heesemann et al. 1989 Immunoblot analysis of IgM, IgG and IgA responses to plasmid encoded released proteins of Yersinia enterocolitica in patients with or without Yersinia triggered reactive arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 48:577-581.
 67. STIEGLITZ HEATHER, Susan Fosmire and Peter Lipsky. 1988 Bacterial Epitopes involved in the induction of Reactive Arthritis. *Am. J. Med.* 85 (Supp 6A):56-58.
 68. TSUCIYA NAOYUKI, Gunnar Husby, Ralph C. Williams Jr. et al. 1990 Autoantibodies to the HLA-B27 sequence cross-react with the hypothetical peptide from the arthritis-associated Shigella Plasmid. *J. Clin. Invest.* 86:1193-1203.
 69. FORD K.D. and Sculzer M. 1988 Synovial lymphocyte responses to microbial antigens differentiate the arthritis to enteric reactive arthritis from the arthritis of inflammatory bowel disease. *J. Rheumatol.* 15:1239-1242.
 70. KONTTINEN, Y.T. et al. 1986 Cell mediated immune response in the Disease Joints in patients with Reactive Arthritis. *Scand. J. Immunol.* 23:685-691.
 71. LEINO R. et al. 1983 Depressed Lymphocyte Transformation by Yersinia and Escherichia Coli in Yersinia Arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 42:176-181.
 72. BRENNER B.M. et al. 1984 In Vitro T Lymphocyte Polyferate Response to Yersinia Enterolitica in Reiter's Syndrome: Lack of response in other HLA-B27 Positive Results. *Arthritis and Rheumatism.* 27:250-257.
 73. FORD K.D., ROZA M.D. and WARD H.R. 1984 Arthritis confined to knee joints: synovial lymphocyte responses to microbial antigens correlate with distribution of HLA. *Arthritis and Rheumatism* 27:1157-1164.
 74. SHELDON P. 1985 Specific Cell Mediated response to Bacterial Antigens Clinical Correlations in Reactive

- Arthritis, Reiter's Syndrome and Ankylosing Spondylitis. *Immunological Reviews*. 86:5-25.
75. TAK YAN YU DAVID 1988 Experimental Studies of Infection Agents in Reactive Arthritis. *Infect. Rheumatic. Dis.* 35:287-302.
 76. TAK Y.D. et al. 1985 Study of Reiter's Syndrome with special emphasis on *Yersenia Enterocolitica*. *Immunological Reviews*. 86:27-45.
 77. FORD D.K. et al. 1982 The Specificity of Synovial Mononuclear Cell Responses to Microbiological Antigen in Reiter's Syndrome. *J. Rheumatol.* 9:561-567.
 78. GASTON, J.H.S. et al. 1989 Synovial T Lymphocytes Recognition of Organisms that trigger reactive arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 76:348-353.
 79. SIEPER J. et al. 1991 Synovial T Lymphocyte Specific Immune Response to *Chlamydia Trachomatis* in Reiter's Disease. *Arthritis and Rheumatism*. 34:588-598.
 80. STAGS A.J. et al. 1991 The distribution and functional properties of dendritic cells in patients with seronegative arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 84:66-71.
 81. VINER N.J. et al. 1991 Isolation of *Yersinia* specific T cell clones from the synovial membrane and synovial fluid of patient with reactive arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 34:1151-1157.
 82. MAEDA K. et al. 1984 A study of the specificity of the direct binding between bacteria and HLA Antigens. *Clin. Exp. Immunol.* 57:694-702.
 83. COOPER M. SH. et al. 1991 Diversity of Rheumatoid synovial tissue T cells by T cell receptor analysis; oligoclonal expansion in interleukin 2 responsive cells. *Arthritis and Rheumatism* 34:537-546.
 84. IMAN D.R. et al. 1989 HLA class I related impairment in IL-2 production and lymphocyte response to microbial antigens in reactive arthritis. *J. Immunol.* 142:4256-4260.
 85. EBRINGER R.W. et al. 1978 Sequential Studies in Ankylosing Spondylitis. Association of *Klebsiella pneumoniae* with active disease. *Arthritis and Rheumatism Dis.* 37:146-151.
 86. OGASAWARA M. et al. 1986 Mimicry of human histocompatibility HLA B27 antigens by *Klebsiella Pneumoniae*. *Infect. Immunity*. 51:901-908.
 87. NICKERSON CHERYL L., Harvinder S. Luthra and Chella S. David. 1990 Role of enterobacteria and HLA-B27 in spondyloarthropathies studies transgenic mice. *Ann. Rheum. Dis.* 49:426-433.