

Respuesta a la mezcla autóloga de linfocitos. Características, elementos celulares y su cinética en enfermedades autoinmunes

A. Laffón*, J. Alcocer-Varela y D. Alarcón-Segovia

Departamento de Inmunología y Reumatología. Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán". México DF. México.

* Becario del Fondo de Cooperación Iberoamericana. Madrid. España.

INTRODUCCION

La reacción proliferativa de los linfocitos T a antígenos presentes en la superficie de las células no T autólogas recibe el nombre de respuesta a la mezcla autóloga de linfocitos (RMAL). Desde su descripción en 1975¹, el significado de esta reacción ha recibido numerosas interpretaciones. En general se acepta que la RMAL es un modelo, *in vitro*, del reconocimiento de lo propio, modelo que refleja los complicados mecanismos de inmunoregulación y las interacciones célula-célula.

El reconocimiento que realiza el linfocito T de los determinantes antigénicos presentes en la superficie de las células no T (HLA-DR en el ser humano e Ia en el ratón) provoca su activación y posterior proliferación^{2,3}. Este reconocimiento de los antígenos codificados por genes de respuesta inmune localizados en él o vecinos al complejo mayor de histocompatibilidad, es la base de la reacción, y la adición al cultivo de células humanas de antisuero anti-DR decrece considerablemente la respuesta proliferativa⁴.

La población de células no T, compuesta por linfocitos B, macrófagos (Mφ), células nulas y dendríticas, con antígenos DR de superficie, activa a la población T y esta activación induce la síntesis y expresión de antígenos DR en la membrana de dichas células T, antígenos que no poseen cuando están en reposo, para iniciar posteriormente su proliferación. Esta autorrespuesta de las células T ante el estímulo de las no T alcanza su máximo al séptimo día de cultivo (fig. 1), para después disminuir y llegar a sus valores basales. La medición de la síntesis de DNA por parte de la población respondedora se realiza mediante la medición de la incorporación de timidina tritiada (³H-Tdr) al DNA de la célula, lo que se lee en un espectrómetro β de centelleo y se mide en cuentas por minuto (cpm). La metodología empleada usualmente se resume en la figura 2.

El análisis detallado que han hecho Smolen et al⁵ de la relación entre la activación celular de linfocitos T y su proliferación, o se entre el número de células activadas (que detecta el marcador 4F) y las que se encuentran en fase

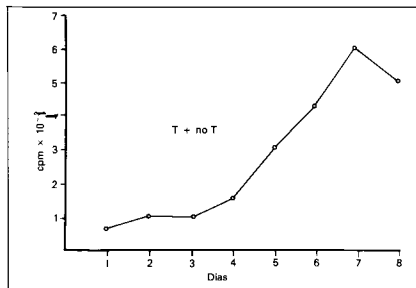


Fig. 1. Autorrespuesta normal. Las células T proliferan ante el estímulo de la no T que previamente se han tratado con mitomicina o irradiación. La transferencia blástica de la población respondedora (T) se mide en cpm de incorporación de ³H-Tdr al DNA celular y alcanza su pico más elevado al séptimo día de cultivo.

Correspondencia y separatas: Dr. Donato Alarcón-Segovia. Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán". Vasco de Quiroga n.º 15. Delegación Tlalpan. México DF. 14000. México.

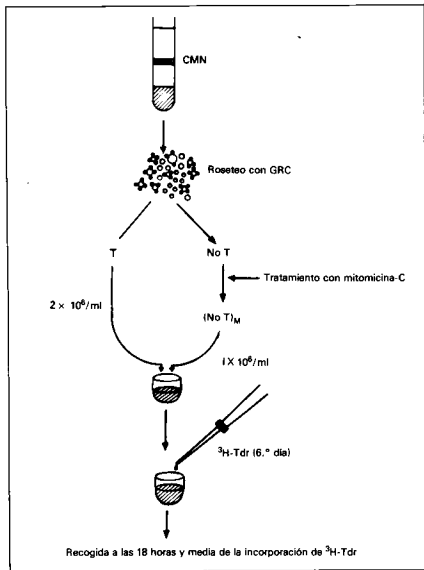


Fig. 2. Metodología más usual: las CMN procedentes de un gradiente de centrifugación en Ficoll-Hypaque se incuban durante una hora a 4 °C con hematias de carnero al 4 % y suero fetal de ternera. Mediante otro gradiente de centrifugación en Ficoll-Hypaque se separan las poblaciones T y no T. Después de tratar las células no T con mitomicina C se monta el cultivo empleando generalmente el doble de células respondedoras (T) que de estimuladoras (no T). La separación de monocitos, cuando se efectúa, se realiza a partir de las CMN aprovechando la capacidad de estas células de adherirse al vidrio o plástico, en caja de Petri.

de proliferación del ciclo celular, muestra una gran correlación entre ambas. Por otra parte, la incorporación de ^3H-Tdr también correlaciona con el aumento de DNA intracelular medido por citofluorografía⁵.

La peculiaridad quizá más importante de la RMAL es, sin duda, que posee memoria y especifici-

dad^{6,7}. Su memoria inmunológica se puede demostrar mediante estudios de cinética de la reacción, al añadir células mononucleares (CMN) o células no T autólogas inactivadas, como nueva fuente de células estimuladoras; la respuesta proliferativa de los linfocitos T se reproduce en sólo 3 o 4 días (fig. 3). Esta respuesta secundaria

sugiere que los linfocitos T están dotados de memoria para reconocer a células no T autólogas aunque también puede provocarse con células alogénicas⁶. Sin embargo, la magnitud de la respuesta secundaria a éstas es menor, lo que revela la especificidad de la RMAL.

Los trabajos originales de Opelz et al¹, Weksler et al⁹ y Kuntz et al⁹, desencadenaron una serie de investigaciones que nos conducen hoy a varias conclusiones: a) la RMAL es un modelo, *in vitro*, de reconocimiento inmunológico de lo propio; b) constituye un excelente método de estudio de la función T, y es por tanto una herramienta de trabajo para quien investiga esta función; c) se caracteriza por poseer memoria y especificidad; d) genera al final del sexto o séptimo día de cultivo un número importante de células T con actividad citotóxica y supresora^{10,12}; e) se pueden obtener a través de ella células T activadas sin necesidad de utilizar mitógenos específicos, antígenos solubles o aloantígenos, y f) en el sobrenadante de las células a las 48 horas del cultivo se puede obtener un factor T soluble denominado interleucina-2 (IL-2), sin necesidad de utilizar mitógenos¹³.

CELULAS RESPONDEDORAS EN LA RMAL

Hausman y Stobo¹⁴ fueron los pioneros en pretender determinar la subclase de células T que responde a la mezcla con células autólogas y encontraron que es una célula T cooperadora. La disponibilidad de los anticuerpos monoclonales modificó en pocos años los métodos de identificación de las células. Reinherz et al¹⁵ crearon una serie de anticuerpos monoclonales de la cual el anticuerpo monoclonal T4 identifica la población cooperadora y el T8 la supresora y citotóxica¹⁵. Mediante el uso de tales anticuerpos Smolen et al^{16,17} encontraron que la célula T que responde en la RMAL es la T4; lo que confirmó lo expuesto años atrás por Hausman y Stobo¹⁴. Al

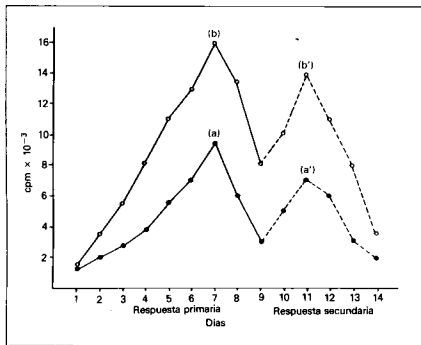


Fig. 3. Memoria de la RMAL. El cultivo mixto de linfocitos autólogos (a) alcanza la máxima proliferación T al séptimo día de cultivo. Si este día añadimos de nuevo CMN o células no T, autólogas y frescas se produce un segundo pico al décimo o undécimo día (a'), indicándonos que la RMAL posee memoria inmunológica. Cuando el cultivo es bastante superior al séptimo día, la adición este día de células alogénicas da lugar a una respuesta secundaria también de mayor magnitud que la autóloga (b').

eliminar a la subpoblación T4⁺, con el monoclonal OKT-4 y complemento, la RMAL entre células T8⁺ y no T es muy pobre. Cuando se añaden linfocitos T4⁺, tratados previamente con mitomicina C, el número de cpm de incorporación de ³H-Tdr al DNA de las células T8⁺ se eleva considerablemente, lo que indica que se requiere de la presencia de los T4⁺ para que proliferen las T8⁺¹⁶. Algo similar sucede cuando se añade al cocultivo de células T8⁺ y células no T, IL-2, glucoproteína con efecto de factor de crecimiento de las células T y que es producido primordialmente por las células T4⁺¹⁶.

En nuestro laboratorio, Palacios et al¹², después confirmado por otros^{19,20}, demostraron que las células que responden en el cultivo mixto de linfocitos son células T formadoras de rosetas autólogas (células Tar) de las cuales un 66% son T4⁺²¹ y dentro de éstas, las que no fijan en su superficie a la

aglutinina del cacahuate o maní (PNA-) son las que mejor responden²¹. El trabajo de Reinherz et al²² podría servir para verificar conceptos. Al utilizar el monoclonal anti-TQ-1 para subdividir la población T4⁺ en T4⁺TQ-1⁺ y T4⁺TQ-1⁻, estos autores hallaron que las células T4⁺TQ-1⁺ son las que responden en la RMAL. Sería ahora conveniente ver que fenotipo tienen las células Tar T4⁺PNA-. Por otra parte, la célula Tar es una pobre respondedora en el cultivo mixto alogénico^{18,22}.

El grupo de la Universidad de San Francisco, en California, ha identificado dos subpoblaciones de células T como respondedoras de la RMAL. Se valen de un anticuerpo monoclonal que reacciona aproximadamente con el 10% de células T circulantes en sangre periférica humana, el T-29. Según estos investigadores, los linfocitos T-29⁺ responden a la señal de los Mø pero no a la de los linfocitos

B²³. Los linfocitos T-29⁺ proliferan ante las células no T con depleción de Mø. En estudios preliminares, Stobo et al²⁴ han señalado que en el lupus eritematoso humano activo, ambas subpoblaciones, T-29⁺ y T-29⁻, tienen poca reactividad a sus células estimuladoras autólogas Mø y B, respectivamente.

CELULAS ESTIMULADORAS EN LA RMAL

Para saber el papel que desempeñan en la RMAL las diferentes subpoblaciones celulares que la componen, los estudiosos de esta reacción han ido descascándolas, pretendiendo hallar cuál o cuáles tienen actividad estimuladora. El grupo no T, al que se le ha frenado su mitosis mediante irradiación o empleo de mitomicina C, parece actuar presentando a las células T los determinantes antigénicos DR presentes en su superficie. La separación de las poblaciones celulares que componen este grupo y su utilización por separado en la RMAL ha aportado datos de interés:

1. Los linfocitos B y las células nulas son potentes estimuladoras cuando se cultivan con células T4⁺, pero su poder decrece considerablemente cuando el cultivo se efectúa con células T8⁺^{16,25,26}.

2. Las células dendríticas constituyen alrededor del 0,5% de las CMN, son portadoras de antígeno en su superficie y son células accesorias en diversos mecanismos de respuesta inmune^{27,30}. En el sistema murino, Mason et al³¹, Steinman et al³², Nussenzweig et al³³, y Lechler et al³⁴, han demostrado la importante capacidad estimuladora de las células dendríticas en la RMAL, lo que posteriormente ha sido corroborado en seres humanos³⁵.

3. Los Mø, a los que algunos consideran supresores de la auto-respuesta por inhibir la proliferación de la población T4⁺^{16,36}, son, para otros, células con dualidad de funciones, supresora y estimuladora. Hausman et al³⁷ defienden la existencia de estas dos subpoblaciones, de las que la estimuladora

de la RMAL se puede definir con el anticuerpo monoclonal Mac 120, y representa entre el 40 y el 60 % del total de Mø de sangre periférica. La otra subpoblación de Mø Mac 120⁺ tiene una menor capacidad estimuladora de la RMAL. Los monocitos Mac 120⁺ son, según Gonwa et al³⁸, portadores de un determinante la, el HLA-DS, diferente del HLA-DR, que interviene directamente en la presentación del antígeno a la célula T y en la estimulación de la RMAL. En un trabajo paralelo, Shen et al³⁹ separaron los Mø en base a su reactividad con los anticuerpos monoclonales OKM-1 y OKM-5, y encontraron que la máxima capacidad para estimular en la RMAL reside en la subpoblación OKM5⁺, OKM1⁻, mientras que en la reacción alógena no se encuentran diferencias significativas entre ésta y la OKM1⁺, OKM5⁻. Estos hallazgos sugieren la existencia de similitudes entre las subpoblaciones Mac 120⁺ y la OKM5⁺, OKM1⁻. Es deseable que se instituya un taller para determinar las características de diversas subpoblaciones celulares.

GENERACION DE CELULAS CON ACTIVIDAD CITOTOXICA Y SUPRESORA

Al final de los cultivos de mezclas autólogas se encuentran numerosas células con actividad citotóxica. Miller y Kaplan⁴⁰ han demostrado que esta actividad se puede ejercer sobre CMN autólogas, si previamente fueron estimuladas con lipopolisacárido (LPS), un potente inductor de la activación de células B. Sin embargo, no encontraron una citólisis importante sobre CMN o linfocitos B no estimulados con LPS, lo que sugiere que el antígeno de superficie, que hace sensible a la lisis a las células B, lo adquieren únicamente cuando son estimuladas. Más tarde, Tomonari⁴¹ tuvo resultados similares al confirmar la generación de células citotóxicas a partir de RMAL, con acción sobre varias líneas celulares de estirpe tumoral. Concluye que las células citotóxi-

cas que se generan en cultivo mixto tienen características de células NK. Estos resultados apoyan a la hipótesis propuesta por Weksler y Birnbaum⁹, de que la RMAL puede reflejar, *in vitro*, un sistema de vigilancia inmunológica contra la transformación neoplásica y en contra de células infectadas por virus que podría colaborar, con el sistema de células "asesinas naturales" o células NK. Es de interés el hecho de que la IL-2 que se da en el cultivo mixto de linfocitos es potenciadora de la actividad NK⁴².

En los últimos días del cultivo, al hallazgo de células con carácter citotóxico se añade el de células que son supresoras^{10,12}, y que podrían modular, mediante un mecanismo de retroalimentación, la función de los linfocitos "B". En apoyo de esto está la observación de que al cultivar células procedentes de la RMAL con linfocitos B, decrece considerablemente la producción de inmunoglobulinas inducida por mitógenos. James et al⁴³ lo han corroborado en un cocultivo de cooperación T-no T, en el que las células T proceden de RMAL. La medición de la producción de IgM en el sobrenadante de este cultivo es muy baja cuando se compara con otro ensayo paralelo en el que las células T son frescas⁴³. Dado que la concanavalina-A (Con-A) genera células supresoras, Sakane y Green¹⁰ eliminaron los linfocitos activados en cultivo mixto con bromodesoxiuridina y luz ultravioleta y trataron a las células restantes con Con-A, y encontraron una disminución importante en la actividad supresora.

PRODUCCION DE FACTORES SOLUBLES CON CAPACIDAD REGULADORA DE LA RESPUESTA

En 1979, Chiorazzi et al⁴⁴ demostraron que el sobrenadante de la RMAL estimula la producción de inmunoglobulinas por CMN de sangre periférica, lo que sugirió la presencia en él de factores solubles con capacidad reguladora de la respuesta inmune. Posterior-

mente, se descubrió que en estos sobrenadantes hay también factores de ayuda al desarrollo de células con capacidad citotóxica⁴⁵. El factor responsable se identifica inicialmente en el ratón⁴⁶, y después en el ser humano⁴⁷, como el factor de crecimiento de células T: la IL-2. Nosotros hemos encontrado que los sobrenadantes con actividad de IL-2, obtenidos a partir de RMAL, presentan la misma potencia estimuladora sobre la expansión clonal de los linfocitos T activados que los obtenidos con el uso de mitógenos sin que haya contaminación por éstos. Sin embargo, Meuer et al⁴⁸ han determinado que, bajo estímulo mitogénico, las subpoblaciones T-4⁺ y T-8⁺ producen cantidades similares de IL-2, pero que en cultivo mixto, las células T-4⁺ producen diez veces más que las T-8⁺. Esto indicaría, según estos autores, que la producción de esta linfocina, por una u otra subpoblación de linfocitos T, depende del tipo de estímulo que reciben. En el ratón se ha demostrado que la producción de IL-2 en RMAL viene dada por subpoblaciones diferentes de células T⁴⁹ pero en el hombre, los estudios realizados hasta el momento para caracterizar la subpoblación de células T productoras de IL-2, arrojan resultados que una vez más confirman la heterogeneidad existente entre las células T cooperadoras. En dos estudios independientes^{48,50} se demostró que la célula T con mayor capacidad productora de IL-2 posee fenotipo T4⁺, y en nuestro laboratorio extendimos su caracterización señalando que posee, además, la habilidad para formar rosetas con hematíes autólogos (Tar), y que de éstas, la subpoblación PNA⁻ produce mejor. Esta célula, productora de IL-2, también es la que, según nuestros datos, responde en la RMAL. La alteración numérica y/o funcional de esta célula conlleva a diferentes anomalías en la inmunorregulación, lo que en las enfermedades autoinmunes se manifiesta tanto por alteraciones en la RMAL⁵¹ como en deficiencias en la producción de IL-2⁵².

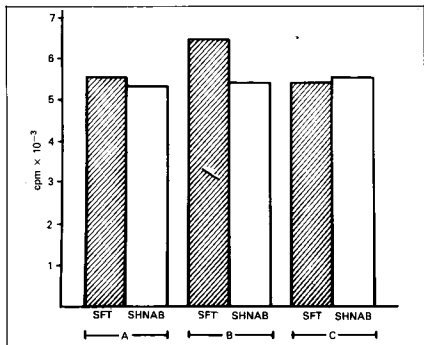


Fig. 4. RMAL con tres métodos diferentes de separación de células en 8 individuos sanos. A) Obtención de linfocitos T y no T por medio de rosetas con GRC. B) Las dos poblaciones anteriores proceden de incubación en columna de nailon-lana durante 40 minutos. La población no adherente a este tejido, linfocitos T en su mayoría, sale de la columna después del primer lavado con medio de cultivo. La población adherente al nailon-lana, células no T, se obtiene pasando a través de la columna solución salina de fosfatos (PBS) fría. C) La población no T procede de tratar las CMN con OKT₃ y complemento mientras que las T utilizadas en este ensayo resultan del procedimiento anterior (nailon-lana). En los tres casos (A, B y C) la RMAL se ha efectuado empleando suero fetal de ternera (SFT) y suero humano normal AB (SHNAB). Como puede verse, los resultados expresados en cpm de incorporación de ³Tdr al DNA de las células T son bastante homogéneos.

POSIBLE INTERFERENCIA DE XENOANTÍGENOS EN LA RMAL

A pesar del gran volumen de trabajos que ha generado la RMAL como posible fenómeno de autorespuesta, Huber et al.⁵³ han hecho dudar de su recientemente utilidad a este respecto al descubrir que la RMAL podría deberse a xenoproteínas con comportamiento antigénico y que se encuentran localizadas en los glóbulos rojos de certero (GRC) utilizados en el proceso de separación de las fracciones T y no T, y en el suero fetal de ternera (SFT) que se utiliza como nutriente de las células durante los 7 días de cultivo. Tanto Moody et al.⁵⁴ como nosotros⁵⁵ hemos estu-

diado esta cuestión evitando todo contacto de las células con antígenos de otras especies. En nuestro trabajo⁵⁶, separamos las CMN procedentes de un gradiente de centrifugación en Ficoll-Hypaque por tres métodos diferentes: a) mediante formación de rosetas con GRC; b) con columna de nailon-lana, y c) por lisis de células T, con el anticuerpo monoclonal OKT-3 y complemento y con mezclas de células no T así obtenidas con células T procedentes del método de la columna de nailon-lana (células no adherentes). En los métodos b y c se evita todo contacto con GRC. Los cultivos se realizan paralelamente con SFT y con suero humano normal AB, y durante todo el procedimiento de separa-

ción se añade al medio de cultivo que se usa para las incubaciones y lavados de células, plasma autólogo para evitar el contacto con SFT. Los resultados que se ofrecen en la figura 4 indican la semejanza entre ellos sin diferencias con significado estadístico. En apoyo de la realidad de la autorrespuesta en RMAL se encuentran las variaciones que sufre por la edad y el sexo^{56,57} y su comportamiento en enfermedades autoinmunes⁵¹.

EVALUACIÓN DEL ESTADO DE LA RMAL EN ALGUNAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Smith y Pasternak⁵⁸ encontraron en el ratón NZB un descenso importante en la incorporación de ³H-Tdr al DNA de las células T estudiadas en cultivo mixto. Glimcher et al.⁵⁹ obtuvieron resultados similares con tres cepas diferentes de ratones con enfermedad autoinmune. Poco después, en varios estudios realizados en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES)⁶⁰⁻⁶², se obtuvo el mismo hallazgo. Aparentemente, el descenso en la proliferación de las células T, al final del séptimo día de cultivo, guarda relación con la actividad del lupus eritematoso sistémico⁶³.

Posteriormente se han encontrado alteraciones en otras enfermedades con implicación autoinmune. Así, la RMAL se ha encontrado disminuida en el síndrome de Sjögren^{51, 64}, artritis reumatoidea^{51, 65, 67}, esclerosis generalizada progresiva^{51, 68}, dermatopolimiositis⁵¹, enfermedad mixta del tejido conectivo⁵¹, cirrosis biliar primaria⁶⁹, púrpura trombótica trombocitopénica⁷⁰, mononucleosis infecciosa⁷¹, leucemia linfocítica crónica^{72, 73} y enfermedad de Hodgkin⁷⁴. Sin embargo, varios de estos estudios no sugieren más que una anomalía en la población estimuladora o respondedora, cuando se habla de disminución al séptimo día, y los resultados van a variar dependiendo de la técnica empleada. Así, la presencia de anticuerpos linfocitotóxicos en el suero autólogo, no desactivado y utilizado como nutriente

del cultivo, puede causar una respuesta baja en la RMAL de pacientes con LES⁷⁵. La cinética de la reacción nos ha aportado bastantes⁶¹ más datos. Nuestro propósito al estudiar la función T a través de cultivo mixto autólogo en padecimientos reumáticos autoinmunes fue comparar la evolución de la activación y proliferación T a lo largo de los 7 días del cultivo, entre individuos sanos y pacientes con estas enfermedades. Para ello utilizamos la proporción 2/1 entre número de células respondedoras T, por número de estimuladoras no T, y suero autólogo previamente desactivado a 56° durante 30 minutos, como nutriente. Día a día, durante una semana, tomamos una muestra del cultivo en la que se medirá la incorporación de ³H-Tdr⁶¹. Los resultados de este trabajo, en el que se ha analizado la cinética de la RMAL de un total de 86 pacientes con enfermedades del tejido conectivo, se presentan en cada uno de los apartados siguientes. Es de señalar que los enfermos estudiados no recibían tratamiento, lo que es de importancia ya que los esteroides modifican considerablemente la RMAL^{76, 77}.

LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO (LES)

En diversos estudios se ha encontrado el descenso de la proliferación T estudiada en RMAL, en pacientes con LES^{51, 60, 63}. Esta enfermedad, que afecta a múltiples órganos y sistemas, se acompaña de una gran variedad de anticuerpos circulantes que pueden aparecer por un trastorno en la regulación de las células B por las T⁷⁸. La subpoblación T afecta es la supresora, que se halla deficiente⁷⁹. Sakane et al⁶¹ estudiaron las subpoblaciones Ty y T-Ty en cultivo mixto en pacientes con LES. Los ensayos con células Ty como respondedoras resultan en menor proliferación que los realizados con T-Ty. Estas últimas responden normalmente tanto en la reacción mixta autóloga como en la alógena. La concanavalina-A (Con-A), que en condiciones normales gene-

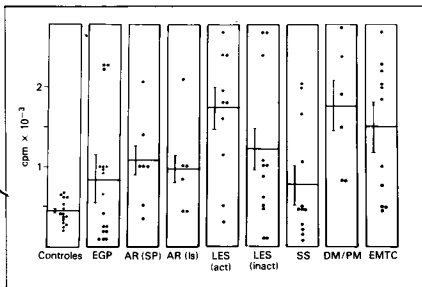


Fig. 5. Incorporación del ³H-Tdr expresado en cuentas por minuto en el primer día de la mezcla de linfocitos autólogos en diversas enfermedades del tejido conjuntivo. En el LES se separan los casos con enfermedad activa (act) de los que la tenían inactiva (inact), y en la AR se separan los datos de células de sangre periférica (Sp) de los de líquido sinovial (ls).

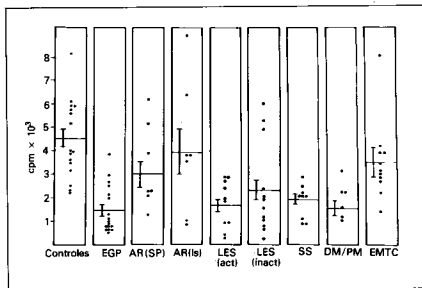


Fig. 6. Incorporación de ³H-Tdr (en cpm) al séptimo día de cultivo de la mezcla de linfocitos autólogos (véase pie de figura 5).

ra células T supresoras, no es capaz de hacerlo con linfocitos de pacientes con LES activo procedentes de cultivo mixto. Glimcher et al⁶⁹ estudiaron la RMAL en ratones que proceden del cruce NZB/NZW y hallaron que la célula que responde en este cultivo es la Thy 1⁻ Lyl⁺ lo que parece correla-

cionar con los estudios de Sakane en el LES humano.

Palacios et al⁶⁰ han descrito que en el LES las células Tar se hallan disminuidas en número y función y que su trastorno funcional se corrige parcialmente con factor tímico sérico (FTS). La disminución en la autorrespuesta en los pacientes

con LES podría deberse al escaso número de células *Tar* y a la alteración de su función como células precursoras postmíticas con deficiencias en la inducción a la diferenciación de las células *Tar* en *Ty* y *Tμ*. En pacientes con LES la RMAL se corrige parcialmente mediante la adición de FTS al cultivo⁶⁰.

Nosotros realizamos estudios en 22 pacientes con LES y hallamos resultados variables en la cinética de la RMAL dependiendo de la actividad o no de la enfermedad^{51, 63}. Hemos observado mayor incorporación de ³H-Tdr, al primer día de cultivo en los enfermos con actividad de su enfermedad (fig. 5), que en los que están inactivos. Los pacientes con actividad tienen mayor tendencia a desarrollar una curva plana, a lo largo de los 7 días de cultivo, que los que no lo están, y los días finales presentan respuestas más bajas (fig. 6). Estos resultados coinciden con los encontrados por Smith y DeHoratius⁶³, quienes describen una correlación entre descenso de la respuesta proliferativa T y el grado de actividad del LES.

Esclerosis generalizada progresiva (EGP)

En general podemos hablar de una disminución en la RMAL de pacientes con EGP al séptimo día de cultivo. En nuestro estudio⁵¹, realizado en 21 pacientes de los cuales quince tienen propiamente EGP y seis presentan la variante llamada síndrome de CREST (asociación de calcinosis, fenómeno de Raynaud, alteración esofágica, esclerodactilia y telangiectasias), hallamos diecisiete con autorrespuesta baja, valorada los días sexto y séptimo de la reacción. De estos 17 pacientes, en el estudio cinético nueve presentaron un pico de proliferación temprana al cuarto día y dos al quinto día, lo que puede explicar la respuesta baja en los días finales. La figura 7 constituye un ejemplo de uno de estos picos tempranos de proliferación. Por otra parte, es interesante resaltar que nueve de nuestros pacientes presentan un número elevado de cpm al primer día de cultivo, con res-

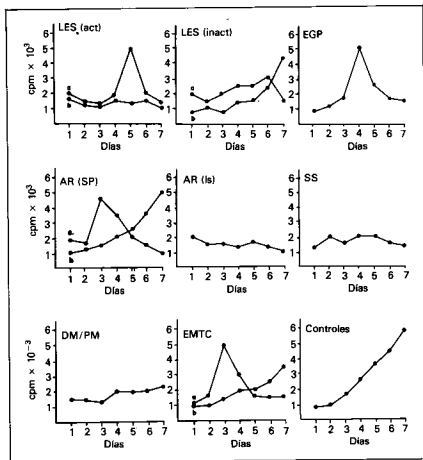


Fig. 7. Perfiles de la cinética de activación de los cultivos de mezclas de linfocitos autólogos a través de 7 días en diversas enfermedades del tejido conjuntivo y en individuos normales (controles). En los cuadros en los que se presentan 2 perfiles para una enfermedad, éstos representan 2 variantes observadas. Los pacientes con LES se presentan separados por actividad (act) o inactividad (inact) de su enfermedad. Los de AR se presentan con células de sangre periférica (SP) o de líquido sinovial (ls).

pecto a sus controles, lo que nos sugiere una activación previa de linfocitos T (fig. 5). El estudio de las células en cada día por medio de anticuerpos monoclonales que detectan células activadas podría aclararnos este concepto.

Artritis reumatoidea (AR)

Los estudios *in vitro* de los linfocitos de sangre periférica (SP) y líquido sinovial (LS), de pacientes con AR, han revelado diferencias significativas entre estos dos compartimientos. Así pues, sabemos que en LS el porcentaje de linfocitos que detecta el anticuerpo monoclonal OKT-3 es mayor que en SP, y que este aumento es debido

principalmente a la subpoblación *T8*⁸¹. Un fenómeno contrario sucede en las células de SP en donde existen proporciones normales de linfocitos *T3*⁺ y aumento moderado de la subpoblación *T4*⁺. Las células T activadas, y por consiguiente portadoras de la de superficie, son considerablemente más numerosas en LS que en SP^{81, 82}. La respuesta a mitógenos también está disminuida en los dos compartimientos, y este descenso podría deberse a un aumento en el número de células T activadas previamente, particularmente en LS o por la presencia de una subpoblación de células supresoras de corta vida sobre todo en SP⁸³.

Astorga y Williams⁶⁵, Beck et al⁶⁶ y Smith y de Horatius⁶³ han encontrado la RMAL disminuida al séptimo día de cultivo, cuando se realiza con linfocitos de SP y estos últimos autores encontraron correlación entre esta disminución y la actividad de la enfermedad. Recientemente, Forre et al⁶⁷ y nosotros^{51, 84} hemos confirmado el descenso de la proliferación T, frente al estímulo de la no T. Forre et al⁶⁷ encontraron datos semejantes en AR y en artritis reumatoidea juvenil (ARJ). De 14 pacientes estudiados en autorrespuesta por nosotros⁵¹, siete presentaron la máxima proliferación T al séptimo día de cultivo, mientras que los otros siete tuvieron picos tempranos al tercer, cuarto o quinto día, (fig. 7). Tres pacientes con AR inactiva tuvieron una RMAL normal. La media de las cpm en los primeros días de cultivo fueron mayores que en los controles (fig. 5), lo que sugiere una preactivación de las células T.

Cuando se realiza el cultivo con células del líquido sinovial procedentes de articulaciones inflamadas de pacientes con AR, los resultados varían dependiendo del nutriente utilizado en cultivo. En presencia de suero fetal de ternera (SFT) o de suero autólogo inactivado 30 min a 56°C, la respuesta de las células T ante las no T, ambas procedentes de LS, es similar a las respuestas normales de SP. Sin embargo, cuando se utiliza sobrenadante de LS inactivado como nutriente, la autorrespuesta está considerablemente disminuida (fig. 6).

La gráfica de la cinética de la reacción es prácticamente plana, tanto para células de SP como para las de LS, cuando se añade al cultivo sobrenadante de LS (fig. 7). Este hecho, que indica el carácter inhibidor del LS, se repite a distintas diluciones⁸⁴, lo que parece descartar que el bloqueo de la autorrespuesta se deba a la hiperviscosidad del líquido. No se puede atribuir la poca proliferación T a la presencia de anticuerpos linfocitotóxicos dada la desactivación previa del sobrenadante del LS. Sin embargo, sí es probable que existan factores inhibidores que

actúen directa o indirectamente en el reconocimiento célula-célula. Cuando en nuestro trabajo⁸⁴ pusimos a las células procedentes del LS a producir IL-2, observamos que estos linfocitos generan cantidades considerablemente mayores que las que producen sus homólogos de SP, pese a que estos últimos producen actividad de IL-2 en forma semejante a la producida por células de SP de individuos sanos. A pesar de esto, el LS no tiene actividad de IL-2. La presencia de prostaglandina E₂ en cantidades importantes en el LS, que se sabe bloquea la acción de la IL-2⁸⁵, puede ser la clave de este hecho aparentemente contradictorio.

Los cultivos cruzados entre células de SP y LS de pacientes con AR denotan que la célula no T de SP^{67, 84} le es menos estimuladora.

Síndrome de Sjögren primario (SS)

La totalidad de los 13 pacientes con SS primario estudiados en RMAL presentaron baja respuesta al séptimo día de cultivo⁵¹ (fig. 6), y la cinética de la activación y subsecuente proliferación de la población respondedora mostró una curva prácticamente plana en los 13 enfermos (fig. 7). En cambio, Miyasaka et al⁸⁴, que realizaron estudios en 25 enfermos con SS tanto primario como secundario, encontraron respuesta baja a los 7 días de cultivo en tan sólo el 60% de los 25 pacientes y sólo en ocho de los quince con SS primario. Esta diferencia puede deberse a diferencias en la selección de pacientes y en la definición del síndrome de Sjögren primario que para nuestro estudio fue muy rigurosa. Miyasaka et al no encontraron relación entre la baja respuesta en RMAL y la presencia de hipergammaglobulinemia o anticuerpos antilinfocíticos pero sí la encontraron con la respuesta proliferativa a Con-A, lo que sugiere afección o disfunción de una subpoblación T (célula *Tar?*).

Dermatopolimiositis (DM/PM)

La respuesta de las células T ante la presencia de las células no T

autólogas se encuentra también baja al séptimo día de cultivo en DM/PM, cuando la comparamos con controles sanos⁵¹. En nuestro trabajo, los 6 pacientes estudiados en cinética de autorrespuesta presentaron un elevado número de cpm de incorporación de ³H-Tdr al primer día de cultivo, lo que vuelve a sugerir una activación prematura de la población T (fig. 5). Dos de los pacientes tuvieron un pequeño pico temprano al cuarto día de cultivo, pero en general la cinética tendió a ser plana (fig. 7).

Enfermedad mixta de tejido conectivo (EMTC)

Las células T de los pacientes con EMTC tienen mayor incorporación de ³H-Tdr a su DNA durante los primeros días del cultivo que sus controles sanos (fig. 5). De los 11 enfermos estudiados, siete presentaron respuesta precoz el tercer, cuarto y quinto días (fig. 7)⁵¹. Los linfocitos T de los 4 pacientes restantes tuvieron su máxima proliferación al sexto o séptimo día de cultivo.

RECAPITULACION

Los resultados del estudio cinético de la RMAL en estas enfermedades del tejido conectivo podría llevarnos a una mejor comprensión de la patogenia autoinmune que las caracteriza. La realización de la cinética de la reacción nos lleva a una serie de conclusiones: a) las células T de estos pacientes tienen una incorporación de ³H-Tdr a su DNA bastante mayor que la de los controles, al primer día de cultivo. Esto sugiere una preactivación T que aparentemente guarda relación con la actividad del padecimiento (fig. 5); b) en varias de estas enfermedades existe un pico temprano de proliferación, más patente en EGP y EMTC, que explica el descenso de cpm al séptimo día de cultivo, y c) la valoración clásica de la RMAL en enfermedades, al séptimo día, ofrece poco interés y aporta tan sólo una respuesta normal o baja con respecto a los controles. El estudio de la cinética seguida día a día nos da

una imagen real del fenómeno dinámico que representa la autorrespuesta, y servirán de apoyo a este concepto los estudios de cinética de la reacción mediante citofluorografía del ciclo celular y el empleo de anticuerpos monoclonales que detecten cada día las subpoblaciones de células T que se activan o los cambios que ocurren en las diversas expresiones fenotípicas de las células respondedoras a través del cultivo.

Si la respuesta a la mezcla autóloga de linfocitos representa realmente *in vitro* a la inmunorregulación, las diferencias en la cinética de la RMAL encontradas en las diversas enfermedades del tejido conjuntivo apoyarían la noción de que en cada una de ellas se llega a la autoinmunidad por un camino diferente o merced a una alteración de los circuitos de inmunorregulación peculiar a cada una de ellas.

Las diferencias encontradas por nosotros en otros sistemas, tales como la producción de, y la respuesta a interleucina-2⁵², apoyan esta posibilidad.

AGRADECIMIENTO

Una parte de los estudios de nuestro laboratorio que aquí se relatan pudieron realizarse gracias a un donativo del Fondo para Estudios e Investigaciones Ricardo J. Zevada.

Bibliografía

1. Opelz G, Kiuchi M, Takasugi M, Terasaki PI. Autologous stimulation of human lymphocyte subpopulations. *J Exp Med* 1975; 142:1.327-1.333.
 2. Thomas DW, Yamashita U, Shevach EM. The role of Ia antigens in T cell activation. *Immunol Rev* 1977; 35:7-120.
 3. Hausman PB, Stobo JD. Specificity and function of a human autologous reactive T cell. *J Exp Med* 1979; 149:1.537-1.542.
 4. Damle NK, Gupta S. Autologous mixed lymphocyte reaction in man. V. Functionally and phenotypically distinct human T cell subpopulations respond to non T and activated T cells in AMLR. *Scand J Immunol* 1982; 16: 59-68.
 5. Smolen JS, Raveche ES, Stein-

berg RT, Sharow SD, Fauci AS, Steinberg AD. The human autologous mixed lymphocyte reaction. II. Analysis of activation and proliferation. *J Clin Lab Immunol* 1982; 9:185-192.
 6. Weksler ME, Kozak R. Lymphocyte transformation induced by autologous cells. V. Generation of immunologic memory and specificity during the autologous mixed lymphocyte reaction. *J Exp Med* 1977; 146:1.833-1.838.
 7. Weksler ME, Kuntz MM, Birnbaum G, Innes JB. Lymphocyte transformation induced by autologous cells. *Fed Proc* 1978; 37:2.370-2.373.
 8. Weksler ME, Birnbaum G. Lymphocyte transformation induced by autologous cells. Stimulation by cultured lymphoblast lines. *J Clin Invest* 1972; 51:3.124-3.132.
 9. Kuntz MM, Innes JB, Weksler ME. Lymphocyte transformation induced by autologous cells. IV. Human T lymphocyte proliferation induced by autologous or allogeneic non T lymphocytes. *J Exp Med* 1976; 143:1.042-1.054.
 10. Sakane T, Green I. Specificity and suppressor function of human T cells responsive to autologous non T cells. *J Immunol* 1979; 123(2):584-589.
 11. Jondal M, Targan S. *In vitro* induction of cytotoxic effector cells with spontaneous killer cells specificity. *J Exp Med* 1978; 147:1.621-1.636.
 12. Innes JB, Kuntz MM, Tai Kim Y, Weksler ME. Induction of suppressor activity in the autologous mixed lymphocyte reaction and in cultures with concanavalin-A. *J Clin Invest* 1979; 64:1.608-1.613.
 13. Alcocer-Varela J, Alarcón-Segovia D. Decreased production of and response to interleukin-2 by cultured lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1982; 69:1.388-1.392.
 14. Hausman PB, Stobo JD. Specificity and function of a human autologous reactive T cell. *J Exp Med* 1979; 149:1.537-1.542.
 15. Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G, Schlossman SF. Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76:4.061-4.065.
 16. Smolen JS, Chused TM, Novotny EA, Berg AD. The human autologous mixed lymphocyte reaction. III. Immune circuits. *J Immunol* 1982; 129 (3):1.050-1.053.
 17. Smolen JS, Luger TA, Chused TM, Steinberg AD. Responder cells in the human autologous mixed lymphocyte reaction. *J Clin Invest* 1981; 68:1.601-1.604.

18. Palacios R, Llorente L, Alarcón-Segovia D, Ruiz-Arguelles A, Díaz-Jouanen E. Autologous rosette-forming T cells as the responding cells in human autologous mixed lymphocyte reaction. *J Clin Invest* 1980; 65:1.527-1.530.
 19. Heijnen CJ, Pot KH, Kater L, Kluin-Nelemans HC, Uytendaa F, Balieux RE. Functional analysis of the defective T cell regulation of the antigen-specific PFC response in SLE patients. Differentiation of suppressor precursor cells to suppressor effector cells. *Clin Exp Immunol* 1982; 47: 359-363.
 20. Tomonari KA, Wakisaka A, Sigawa M. Self recognition by autologous mixed lymphocyte reacting primed cells. *J Immunol* 1980; 125: 1.596-1.600.
 21. Fishbein E, Alcocer-Varela J, Alarcón-Segovia D. Cellular bases of the production and response to interleukin-2. Role of autologous rosette-forming T cell subsets defined with monoclonal antibodies (Immunology, en prensa).
 22. Fourmier C, Charreire J. Autologous mixed lymphocyte reaction in man. II. Autoreactive and alloreactive cells belong to two different T cell subsets. *J Immunol* 1982; 128:2.698-2.703.
 23. Hausman PB, Raff HV, Gilbert RC, Pickett LJ, Stobo JD. T cells and macrophages involved in the autologous mixed lymphocyte reaction are required for the response to conventional antigens. *J Immunol* 1980; 125: 1.374-1.379.
 24. Riccardi PJ, Hausman PB, Raff HV, Stobo JD. The autologous mixed lymphocyte reaction in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25:820-823.
 25. Beale MG, Mac Dermott RP, Stacey MC et al. Stimulating cells types in the autologous mixed leukocyte reaction in man. *J Immunol* 1980; 124(1):227-232.
 26. Mac Dermott RP, Stacey MC. Further characterization of the human autologous mixed leukocyte reaction (MLR). *J Immunol* 1981; 126(2):729-734.
 27. Klinefelter WEF, Labadie JH, O'Brien JP, Beyer CF, Bowers WE. Rat Dendritic cells function as accessory cells and control the production of a soluble factor required for mitogenic responses of T cells. *Proc Natl Acad Sci US* 1980; 77:5.414.
 28. Phillips ML, Parker JA, Frelinger JA, O'Brien RL. Characterization of responding cells in oxidative mito-

- gen stimulation. II. Identification of an Ia bearing adherent accessory cell. *J Immunol* 1980; 124:2.700.
29. Nussenzweig MC, Steinman RM, Gutchinov B, Cohn ZA. Dendritic cells are accessory cells for the generation of anti-TNP cytotoxic T cells. *J Exp Med* 1980; 152:1.070-1.084.
30. Sunshine GH, Katz DR, Feldmann M. Dendritic cells induce proliferation to synthetic antigens under Ir gene control. *J Exp Med* 1980; 152:1.817-1.822.
31. Mason DW, Pugh CW, Webb M. The rat mixed lymphocyte reaction. Roles of a dendritic cell in intestinal lymph and T-cell subsets defined by monoclonal antibodies. *Immunology* 1981; 44:75-87.
32. Steinman RM, Witmer MD. Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of the primary mixed lymphocyte reaction in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75:5.132-5.136.
33. Nussenzweig MC, Steinman RM. Contribution of dendritic cells to stimulation of the murine syngeneic mixed leukocyte reaction. *J Exp Med* 1980; 151:1.196-1.212.
34. Lechler RI, Batchelor JR. Restoration of immunogenicity to passenger cell-depleted kidney allografts by the addition of donor strain dendritic cell. *J Exp Med* 1982; 115:31-41.
35. Van Voorhis WC, Hair LS, Steinman LS, Kaplan G. Human dendritic cells. Enrichment and characterization from peripheral blood. *J Exp Med* 1982; 155:1.172-1.187.
36. Fernández LA, Maasveen JM. The suppressive effects of monocytes in the autologous mixed lymphocyte reaction. *Immunology* 1981; 44:653-659.
37. Hausman PB, Raff HV, Gilbert RC, Picker LJ, Stobo JD. T cells and macrophages involved in the autologous mixed lymphocyte reaction are required for the response to conventional antigen. *J Immunol* 1980; 125 (3):1.374-1.379.
38. Gonwa TA, Picker LJ, Raff HV, Goyert SM, Silver J, Stobo JD. Antigen-presenting capabilities of human monocytes correlates with their expression of HLA-DS, an Ia determinant distinct from HLA-DR. *J Immunol* 1983; 130 (2):706-711.
39. Shen HH, Talle MA, Goldstein G, Chess L. Functional subsets of human monocytes defined by monoclonal antibodies. A distinct subset of monocytes contains the cells capable of inducing the autologous mixed lymphocyte culture. *J Immunol* 1982; 130 (2):698-705.
40. Miller RA, Kaplan HS. Generation of cytotoxic lymphocytes in the autologous mixed lymphocyte culture. *J Immunol* 1978; 121 (6):2.165-2.167.
41. Tomonari K. Cytotoxic T cell generated in the autologous mixed lymphocyte reaction. I. Primary autologous mixed lymphocyte reaction. *J Immunol* 1980; 124 (3):1.111-1.121.
42. Fitzharris P, Knight RA. Generation of suppressor cells in the autologous mixed lymphocyte reaction. *Clin Exp Immunol* 1981; 46:185-195.
43. James SP, Yenokida GG, Graeff A, Elson C, Strober W. Immunoregulatory function of T cells activated in the autologous mixed lymphocyte reaction. *J Immunol* 1981; 127 (6):2.605-2.609.
44. Chiorazzi N, Shu Man Fu, Kunkel HG. Induction of polyclonal antibody synthesis by human allogeneic and autologous helper factors. *J Exp Med* 1979; 149:1.543-1.548.
45. Yu DTY, Chiorazzi N, Kunkel HG. Helper factors derived from autologous mixed lymphocyte cultures. *Cell Immunol* 1980; 50:305-313.
46. Lattime EC, Gillis S, David CH, Stutman O. Interleukin-2, production in the syngeneic mixed lymphocyte reaction. *Eur J Immunol* 1981; 11: 67-69.
47. Palacios R, Moller G. T cell growth factor abrogates concanavalin-A induced suppressor cell function. *J Exp Med* 1981; 153:1.360-1.364.
48. Meuer SC, Hussey RE, Penta AC, Fitzgerald KA, Stadler BM, Schlossman SF, Reinherz EL. Cellular origin of Interleukin-2 (IL-2) in man. Evidence for stimulus-restricted IL-2 production by T4⁺ and T8⁺ T lymphocytes. *J Immunol* 1982; 129 (3):1.076-1.079.
49. Larsson EL, Coutinho A, Martínez C. A suggested mechanism for T lymphocyte activation. Implications on acquisition of functional reactivities. *Immunol Rev* 1980; 51:61-69.
50. Luger TA, Smolen JS, Chused TM, Steinberg AD, Oppenheim JI. Human lymphocytes with either the OKT4⁺ or OKT8⁺ phenotype produce interleukin-2 in culture. *J Clin Invest* 1982; 70:470.
51. Laffón A, Alcocer-Varela J, Alarcón-Segovia D. Differences in the kinetics of the autologous mixed lymphocyte reaction between patients with the various connective tissue diseases (Rheumatol Int, en prensa).
52. Alcocer-Varela J, Laffón A, Alarcón-Segovia D. Differences in the production of and/or the response to interleukin-2 by T lymphocytes from patients with the various connective tissue diseases (pendiente de publicación).
53. Huber C, Merckenschlager M, Gattringer C, Royston I, Fink U, Braunsteiner H. Human autologous mixed lymphocyte reactivity is primarily specific for xenoprotein determinants adsorbed to antigen presenting cells during rosette formation with sheep erythrocytes *J Exp Med* 1982; 155:1.222-1.227.
54. Moody CE, Gupta S, Weksler ME. Lymphocyte transformation induced by autologous cells. XV. Xenoproteins are not required for the proliferative response observed in the autologous mixed lymphocyte reaction. *J Clin Immunol* 1983; 3 (1):100-102.
55. Laffón A, Alcocer-Varela J, Alarcón-Segovia D. The autologous mixed lymphocyte reaction is not primarily due to xenoprotein stimulation. *Clin Immunol Immunopathol* (en prensa).
56. Moody CE, Innes JB, Staiano-Coico L, Incefy GS, Thaler HT, Weksler ME. Lymphocyte transformation induced by autologous cells. XI. The effect of age on the autologous mixed lymphocyte reaction. *Immunology* 1981; 44:431-437.
57. Fournier C, Charreire J. Autologous mixed lymphocyte reaction in man. I. Relationship with age and sex. *Cel Immunol* 1981; 60:212-219.
58. Smith JB, Pasternak RD. Syngeneic mixed lymphocyte reaction in mice. Strain distribution, kinetics, participating cells, and absence in NZB mice. *J Immunol* 1978; 121 (5):1.889-1.892.
59. Glimcher LH, Steinberg AD, House SB, Green I. The autologous mixed lymphocyte reaction in strains of mice with autoimmune disease. *J Immunol* 1980; 125 (4):1.832-1.838.
60. Kuntz MM, Innes JB, Weksler ME. The cellular basis of the impaired autologous mixed lymphocyte reaction in patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1979; 63:151-153.
61. Sakane T, Steinberg AD, Green I. Failure of autologous mixed lymphocyte reaction between T and non-T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75 (7):3.464-3.468.
62. Sakane T, Steinberg AD, Arnett FC, Reinertsen JL, Green I. Studies of immune function of patients with systemic lupus erythematosus. III. Characterization of lymphocyte subpopulations responsible of defective autologous mixed lymphocyte reactions. *Arthritis Rheum* 1979; 22 (7):770-776.

63. Smith JB, de Horatius RJ. Deficient autologous mixed lymphocyte reactions correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 1982; 48:155-162.
64. Miyasaka N, Sauvezie B, Pierce DA, Daniels TE, Talal N. Decreased autologous mixed lymphocyte reaction in Sjögren's syndrome. *J Clin Invest* 1980; 66:928-933.
65. Astorga GP, Williams RC. Altered reactivity in mixed lymphocyte culture of lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1969; 12 (6):547-554.
66. Beck P, Burmester GR, Ledwoch A, Urban C, Kalden JR. Autologous and allogeneic MCL-reactivity in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Lab Immunol* 1981; 6:27-33.
67. Forre Ø, Egeland T, Dobloug JH, Kvien TKK, Natvig JB. Autologous mixed lymphocyte reaction in patients with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. Both non-T cells and *in vivo* activated T cells can act as stimulator cells. *Scand J Immunol* 1982; 16:173-179.
68. Morse JH, Bodi BS. Autologous and allogeneic mixed lymphocyte reactions in progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1982; 25 (1):390-395.
69. James SP, Elson CO, Waggoner JG, Jones EA, Strober V. Deficiency of the autologous mixed lymphocyte reaction in patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest* 1980; 66:1.305-1.310.
70. Zinberg M, Francus T, Weksler ME, Siskind GW, Karparkin S. Abnormal autologous mixed lymphocyte reaction in a autoimmune thrombocytopenic purpura. *Blood* 1982; 59 (1): 148-151.
71. Moody CE, Casazza BA, Christenson WN, Weksler ME. Lymphocyte transformation induced by autologous cells. VIII. Impaired autologous mixed lymphocyte reactivity in patients with acute infections mononucleosis. *J Exp Med* 1979; 150:1.448-1.455.
72. Smith JB, Knowlton RP. T cell subsets in chronic lymphocytic leukemia (CLL). Deficiency in self-recognizing T cells. Proceed International Congress of Immunology, Paris (abstr. 18.04.09), 1980.
73. Halper JP, Fu SM, Gottlieb AB, Winchester RJ, Kunkel HJ. Poor mixed lymphocyte reaction stimulatory capacity of leukemic B cells of chronic lymphocytic leukemia patients despite the presence of Ia antigens. *J Clin Invest* 1979; 64:1.141-1.146.
74. Engleman EG, Benike CJ, Hoppe RT, Kaplan HS, Berberich FR. Autologous mixed lymphocyte reaction in patients with Hodgkin's disease. *J Clin Invest* 1980; 66:149-158.
75. Okudaira K, Searles RP, Goodwin JS, Williams RC. Antibodies in the sera of patients with systemic lupus erythematosus that block the binding of monoclonal anti-Ia to Ia positive targets also inhibit the autologous mixed lymphocyte response. *J Immunol* 1982; 29 (2):582-586.
76. Hahn BH, Macdermott RP, Burkholder Jacobs S, Pietscher LS, Beale MG. Immunosuppressive effects of low doses of glucocorticoids. Effects on autologous and allogeneic mixed leukocyte reactions. *J Immunol* 1980; 124 (6):2.812-2.817.
77. Ilfeld DN, Krakauer RS, Blaese M. Suppression of the human autologous mixed lymphocyte reaction by physiologic concentrations of hydrocortisone. *J Immunol* 1977; 119 (2): 428-434.
78. Sakane T, Steinberg AD, Green I. Studies of immune functions of patients with SLE. Failure of suppressor T cell activity related to impaired generation of, rather than response to, suppressor cells. *Arthritis Rheum* 1978; 21:657-664.
79. Morimoto C, Abe T, Homma M. Altered function of suppressor T lymphocytes in patients with active systemic lupus erythematosus *in vitro* immune response to autoantigen. *Clin Immunol Immunopathol* 1979; 13:161-170.
80. Palacios R, Alarcón-Segovia D, Llorente L, Ruiz-Arguelles A, Díaz-Jouanen E. Human Postthymic precursor cells in health and disease. II. Their loss and dysfunction in systemic lupus erythematosus and their partial correction with serum thymic factor. *J Clin Immunol* 1981; 5:71-80.
81. Fox RI, Fong S, Sabharwal N, Carstens SA, Kung PC, Vaughan JH. Synovial fluid lymphocytes differ from peripheral blood lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1982; 128:351-354.
82. Galili V, Rosenthal L, Klein E. Activated T cells in the synovial fluid of arthritic patients. II. *In vitro* activation of the autologous blood lymphocytes. *J Immunol* 1981; 127 (2):430-432.
83. Burmester GR, Kalden JR, Peter HH, Schedel I, Beck P, Wittenborg A. Immunological and functional characteristics of peripheral blood and synovial fluid lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol* 1978; 7:405-417.
84. Laffón A, Alcocer-Varela J, Alarcón-Segovia D. Manuscrito en preparación.
85. Tilden AB, Balch CM. A comparison of PGE₂ effects on human suppressor cell function and on interleukin-2 function. *J Immunol* 1982; 129 (6):2.469-2.473.