

SINDROME DE FELTY. FENOTIPOS LINFOCITARIOS.

TESIS DOCTORAL

ALEJANDRO OLIVE MARQUES.

BARCELONA JUNIO 1990.

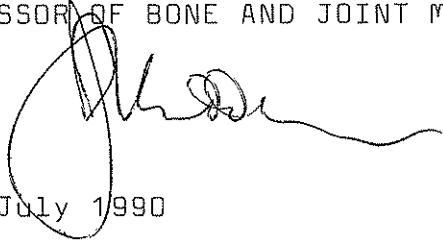
Yo certifico que la tesis titulada SINDROME DE FELTY.FENOTIPOS LINFOCITARIOS realizada por ALEJANDRO OLIVE MARQUES ha sido realizada bajo mi direccion y cumple los requisitos formales para ser presentada al tribunal correspondiente.

Lo que certifico.

I certify that the thesis named FELTYS SYNDROME.LYMPHOCITE PHENOTYPES was done by ALEXANDER OLIVE MARQUES under my direction and fullfils all the legal requirements to be submitted to the board of examiners.

I Do hereby certify

PETER J MADDISON, MD, FRCP.  
PROFESSOR OF BONE AND JOINT MEDICINE.



Bath, July 1990

FERNANDO SEGURA PORTA  
PROFESOR TITULAR U.A.B



Barcelona Julio 1990.

A mis padres, Francisco y Maria Luisa.

A Roser.

## AGRADECIMIENTOS.

- Al Profesor Dr P.J Madisson, Royal National Hospital for Rheumatic Diseases, Bath , Inglaterra. Director de esta Tesis, por el estímulo constante que ha representando trabajar con él durante 18 meses.
  
- Al Dr Fernando Segura, Jefe de Servicio de Medicina Interna del Hospital Parc Taulí, co-director de la Tesis , por la paciencia demostrada a pesar de la lejanía geográfica.
  
- Al Dr Jordi Carbonell, Jefe de Servicio del Servicio de Reumatología del Hospital General de la Esperanza, amigo y maestro, constante reto intelectual y científico.
  
- A las personas que lentamente me iniciaron en la investigación de laboratorio : June Davis, Ian James, Paul Skinner y Xavier Palazón, así como al resto de miembros del Bath Institute for Rheumatic diseases.
  
- A los miembros del Servicio de Reumatología del Hospital General de la Esperanza, adjuntos, colaboradores y secretaria, por aleccionarme durante 4 años de residencia. Mención especial para mi "R grande" Dra Elena Martínez y mi "R pequeña" Dra María Bonet.
  
- A los Drs Salvi Junca Valdor y Eric Cobo Valeri de la Unidad de Bioestadística del Departamento de Salud Pública y Legislación Sanitaria de la Universidad de Barcelona por su asesoría estadística.
  
- A los pacientes afectos de Síndrome de Felty y sendos grupos controles, por qué sin ellos esta tesis hubiera sido imposible.
  
- A aquellas instituciones que auspiciaron mi estancia en el extranjero: CIRIT, Sociedad Española de Reumatología y La Caixa/British Council.

## INDICE

OBJETIVOS DE LA TESIS.....	1
CAPITULO 1 :INTRODUCCION.....	2
1.1 Nacimiento de un proyecto.....	2
1.2 Introducción histórica al Síndrome de Felty.....	3
1.3 Definición del Síndrome de Felty.....	4
1.4 Características clínicas del Síndrome de Felty.....	5
1.4.1 Artritis.....	5
1.4.2 Esplenomegalia.....	5
1.4.3 Hiperpigmentación.....	6
1.4.4 Ulceras cutáneas.....	6
1.4.5 Vasculitis.....	7
1.4.6 Sjogren.....	7
1.4.7 Infecciones.....	7
1.4.8 Pérdida de peso.....	8
1.4.9 Hepatopatía.....	9
1.4.10 Linfadenopatías.....	9
1.4.11 Manifestaciones oculares.....	10
1.4.12 Polineuropatía.....	10
1.4.13 Manifestaciones pleuro-pulmonares.....	11
1.5 Laboratorio del Síndrome de Felty.....	12
1.5.1 Hematología.....	12
1.5.2 Médula ósea.....	13

1.5.3 Serología.....	13
1.6 Patogenia del Síndrome de Felty.....	14
1.6.1 Rol del bazo.....	14
1.6.2 Anticuerpos antineutrófilo.....	15
1.6.3 Función polimorfonuclear.....	15
1.6.4 Mielopoyésis.....	16
1.6.5 Cinética leucocitaria.....	17
1.6.6 Sumario de la patogenia.....	17
1.7 Morbilidad y Mortalidad.....	17
1.8 Tratamiento del Síndrome de Felty.....	18
1.8.1 Introduucción.....	18
1.8.2 Crisoterapia.....	18
1.8.3 Penicilamina.....	19
1.8.4 Esteroides.....	19
1.8.5 Inmunosupresores.....	20
1.8.6 Plasmaféresis.....	20
1.8.7 Testosterona.....	20
1.8.8 Litio.....	20
1.8.9 Gammaglobulina.....	21
1.8.10 Esplenectomía.....	21
1.8.11 Miscelánea.....	22
1.9 Inmunidad celular en la Artritis Reumatoide y en el Síndrome de Felty.....	22
1.9.1 Introduucción.....	22
1.9.2 Linfocitos T.....	23

1.9.2.1	Generalidades.....	23
1.9.2.2	Subpoblaciones linfocitarias T.....	26
1.9.2.2.1	De ayuda/Inductores.....	26
1.9.2.2.2	Citotóxico/Supresores.....	29
1.9.3	Células activadas.....	31
1.9.4	Tercera población de células linfoides o células asesinas-natural killer.....	33
1.10	Análisis de los linfocitos en sangre periférica.....	35
1.10.1	Análisis cuantitativo de los linfocitos T.....	35
1.10.2	Análisis de las subpoblaciones linfocitarias mediante anticuerpos monoclonales.....	35
1.10.3	Análisis de los linfocitos T en líquido y tejido sinovial.....	36
1.10.4	Análisis de las células NK en sinovial y sangre periférica.....	37
1.11.	Linfocitos T,células NK,Linfocitosis T ,Leucemia granular y Síndrome de Felty.....	37
1.11.1	Introducción.....	37
1.11.2	Leucemias.....	38
1.11.2.1	Agudas.....	39
1.11.2.2	Crónicas.....	39
1.11.3	Desórdenes malignos de células T.....	39
1.11.4	Clasificación de los desórdenes de células T.....	39
1.11.5	Linfocitosis T crónica/Leucemia linfocítica T crónica..	41
1.11.5.1	Linfocitosis T crónica.....	42
1.11.5.2	Morfología y citoquímica .....	42
1.11.5.3	Fenotipos linfocitarios y membranosas.....	42
1.11.5.4	Estudios funcionales.....	43

1.11.5.5 Clínica.....	43
1.11.5.6 Leucemia linfocítica T crónica.....	44
1.12 Heterogeneidad del Síndrome de Felty.....	45
1.13 Leucemia, Artritis Reumatoide, y infección por HTLV I.....	46
CAPITULO 2: MATERIAL Y METODOS.....	47
2.1 Esquema del estudio.....	47
2.2 Población a estudio.....	48
2.3 Variables a estudio.....	49
2.4 Técnicas de laboratorio utilizadas para el estudio de los parámetros.....	53
2.4.1 Rutinarias .....	53
2.4.2 No rutinarias.....	54
2.4.2.1 Anticuerpos antinucleares en línea celular HEP2.....	54
2.4.2.1.1 Introducción.....	55
2.4.2.1.2 Material y reactivos.....	55
2.4.2.1.3 Metodica de trabajo.....	56
2.4.2.1.4 Interpretación .....	57
2.4.2.2 Cardiolipina.....	58
2.4.2.2.1 Introducción.....	58
2.4.2.2.2 Material y reactivos.....	58
2.4.2.2.3 Metodica de trabajo.....	59
2.4.2.2.4 Interpretación.....	60
2.4.2.3 Antígenos extraíbles del núcleo (ENA).Contrainmunoeléctroforésis.....	61



2.4.2.3.1	Introducción.....	61
2.4.2.3.2	Material y reactivos.....	61
2.4.2.3.3	Metódica de trabajo.....	62
2.4.2.3.4	Interpretación.....	63
2.4.2.4	Antígenos extraíbles del núcleo.(ENA).Inmunodifusión pasiva-Ouchterlony.....	64
2.4.2.4.1	Introducción.....	64
2.4.2.4.2	Material y reactivos.....	64
2.4.2.4.3	Metódica de trabajo.....	65
2.4.2.4.4	Interpretación.....	66
2.4.2.5	Inmunofluorescencia indirecta para el estudio de los fenotipos linfocitarios.....	66
2.4.2.5.1	Introducción.....	66
2.4.2.5.2	Material y reactivos.....	66
2.4.2.5.3	Metódica de trabajo.....	68
2.4.2.5.4	Interpretación.....	71
2.5	Metodología estadística.....	71
CAPITULO 3:	RESULTADOS.....	73
3.1	Estudio descriptivo de los pacientes afectados de SF.....	73
3.2	Estudio estadístico del fenotipo linfocitario de los tres grupos: Síndrome de Felty, Artritis Reumatoide y control.....	99
CAPITULO 4:	DISCUSION.....	163
CAPITULO 5:	CONCLUSIONES.....	184
BIBLIOGRAFIA.....		186

## OBJETIVOS DE LA TESIS

El estudio del Síndrome de Felty (SF) en nuestro país ha carecido de series, basándose en su mayoría, de casos clínicos anecdóticos y de cartas al director. Así pues el análisis clínico de una serie de pacientes afectados del SF era uno de los intereses máximos de la tesis doctoral presentada, aumentando así el conocimiento de dicho síndrome en nuestro medio.

La heterogeneidad del SF, la posibilidad real que dentro de este término se incluyesen otras enfermedades como ciertos desórdenes proliferativos fue otro de los objetivos marcados mediante el cuidadoso examen de las características clínicas y de laboratorio de todos los pacientes.

El estudio de la inmunidad humoral en el marco del SF concretamente, el examen de los anticuerpos antinucleares mediante dos sustratos (hígado de rata y línea celular HEP 2), el examen de los antígenos extraíbles del núcleo y por último de los anticuerpos anticardiolipina eran otros objetivos marcados dada la ausencia de dichos datos en la literatura.

El objetivo primordial de la tesis era el estudio comparativo mediante el uso de anticuerpos monoclonales del fenotipo linfocitario del pacientes con Síndrome de Felty, Artritis reumatoide, y grupo control. Determinando si los fenotipos linfocitarios de la Artritis Reumatoide y el Síndrome de Felty eran similares y observando sí dentro del mismo SF existía una uniformidad.

## CAPITULO 1

### INTRODUCCION

#### 1.1 NACIMIENTO DE UN PROYECTO.

Tras finalizar la residencia de Reumatología en el Hospital General de la Esperanza bajo la tutela del Dr Jordi Carbonell, mi intención principal era la de realizar la tesis doctoral. Existía la posibilidad de permanecer en Barcelona y diseñar y trabajar en la tesis en dicha ciudad, pero al mismo tiempo la idea de una estancia en el extranjero preferiblemente en un centro referencia era harto atractiva. Conocer el sistema de trabajo de un país diferente al nuestro, profundizar en su cultura y perfeccionar la lengua inglesa eran también ofertas seductoras. Sin menospreciar en ningún momento la tradición científica de nuestra ciudad, opté por la opción foránea.

La elección del centro y del que sería mi tutor no presentó dificultad alguna, de nuevo aquí la ayuda prestada por el Dr Carbonell fue valiosa. El centro elegido fue el Royal National Hospital for Rheumatic Diseases, sito en Bath , Reino Unido; el director de la tesis doctoral y tutor durante mi estancia de 18 meses sería el Profesor Peter J Maddison, el codirector el Dr Fernando Segura de Parc Taulí, Sabadell.

El Royal National Hospital cuenta con una tradición en el tratamiento y diagnóstico de las enfermedades reumáticas que data del año 1738, fue entonces cuando el alcalde de Bath, William Pulteney puso la primera piedra del Hospital. En la actualidad es un centro referencia, donde se envían los casos más complicados en el ámbito de diagnóstico, tratamiento y rehabilitación. Cuenta con 100 camas dedicadas exclusivamente a reumatología, anualmente se realizan más de 1000 ingresos y existe una consulta ambulatoria con un volumen de 12000 pacientes al año (1).

Una característica importante del hospital es la presencia de un centro de investigación adosado que cuenta con una cierta independencia, el coste de mantenimiento del edificio y los diferentes proyectos de investigación son sufragados por la Arthritis Research Council, Bath University y las numerosas donaciones que recibe (1).

El rol que desempeñé durante mi estancia en Bath, fue la de "clinical research fellow". Es decir que combinaba la labor de investigación con la actividad clínica. Semanalmente realizaba dos consultas externas, uno de artropatías inflamatorias - principalmente Artritis Reumatoide (AR)- y otro de conectivopatías.

En el laboratorio, dediqué mi tiempo al estudio de anticuerpos antinucleares mediante el uso de diversos sustratos, también trabajé en diferentes métodos de análisis de los antígenos extraíbles del núcleo como inmunodifusión pasiva y contraelectroforesis. Otro objeto de estudio fue el análisis de los fenotipos linfocitarios con anticuerpos monoclonales.

Uno de las líneas de investigación del centro era el Síndrome de Felty (SF), dado que recientemente la homogeneidad de dicho síndrome ha sido puesta en duda, diseñamos un protocolo para el estudio clínico, serológico y linfocitario de dicha entidad. Nuevamente el trabajar en un centro referencia me ayudó en la recolección de enfermos y sueros, debido a la escasa frecuencia del SF. Durante 18 meses recogí todos los datos que me propongo explicarles a continuación.

## 1.2 INTRODUCCION HISTORICA

En el año 1924 Augustus R. Felty médico del Hospital Johns Hopkins describió en 5 pacientes la asociación de Artritis Reumatoide del adulto, esplenomegalia y leucopenia, curiosamente solo uno de los pacientes fue observado por Felty; el resto de los mismos fueron hallados en una búsqueda retrospectiva en los archivos del mencionado hospital (2). Sin embargo, ya por entonces existía en la literatura europea comunicaciones que sugerían dicha asociación. George F. Still (3) en 1897 y Chauffard y Ramon (4) en 1896 describieron la AR con esplenomegalia en el niño y en el adulto respectivamente.

El término SF fue usado por primera vez en 1932 por Hanrahan y Miller (5), dichos autores presentaron un caso de AR, esplenomegalia, y leucopenia en el que la esplenectomía mejoraba considerablemente al paciente. La bibliografía mundial utiliza desde entonces dicha acepción para describir la asociación de AR, esplenomegalia y leucopenia/granulocitopenia.

### 1.3 DEFINICION DEL SINDROME DE FELTY

El SF representa una complicación sistémica de la AR seropositiva, que ocurre en pacientes afectos de una severa enfermedad articular, numerosas alteraciones inmunológicas y mayor prevalencia de manifestaciones extrarticulares. Se caracteriza por la asociación de AR definida o clásica según los criterios de la Asociación Americana de Reumatismo, esplenomegalia detectada por examen clínico o gammagráfico y leucopenia con recuento leucocitario inferior a  $3.500 \text{ mm}^3$  ( $3.5 \times 10^9/l$ ) o granulocitopenia inferior a  $2000 \text{ mm}^3$  ( $2.0 \times 10^9/l$ ). Dentro de la tríada diagnóstica, la esplenomegalia es el criterio más discutido, existiendo autores que consideran no necesario su presencia (6,7,8,9,10).

La etiología del SF es desconocida y su patogenia altamente controvertida. El SF es poco común. Su prevalencia es desconocida. Un estudio del año 1957 sobre una población hospitalaria de AR lo hallaba en menos del 1%, otros autores confirman lo anterior (11,12). La tríada diagnóstica no siempre esta presente de forma simultanea, en el curso evolutivo de la enfermedad puede aparecer el criterio que menguaba configurando definitivamente el síndrome (10).

Se presenta en formas evolucionadas de la AR con un promedio de 10 años de evolución (6,7,8,9). Existen formas de presentación excepcionales : aparición simultánea de AR, esplenomegalia y leucopenia (13), reumatismo palindrómico que evoluciona a SF (12,14) y por último neutropenia como primera manifestación del SF, precediendo a este en un margen de tiempo variable (15).

No todo paciente afecto de AR, esplenomegalia y leucopenia es un SF "per se", siempre se deben considerar otros desórdenes cuya forma de presentación es similar. El diagnóstico diferencial debe tener en cuenta a: infecciones virales, amiloidosis, anemia hemolítica autoinmune, agranulocitosis inducida por drogas, anemia aplásica, endocarditis, desórdenes linfoproliferativos, síndromes mieloproliferativos, absceso esplénico, tuberculosis y síndrome de Sjogren (16).

El SF afecta más a las mujeres que a los hombres en una proporción dos a una. La edad de presentación es variable, desde 18 años hasta 70 años, encontrándose la media en la quinta o sexta década de la vida (6,7,8,9). La mayoría de pacientes afectos son de raza caucásica, siendo

extremadamente raro en negros y asiáticos (17,18,19,20). No suele existir acúmulos familiares de SF, sin embargo se describen casos en la literatura de forma anecdótica (21,22), así mismo es muy raro en niños (23).

La AR muestra en poblaciones anglosajonas una asociación con el antígeno de histocompatibilidad DR 4. Dicha relación es más significativa en aquellos casos seropositivos que seronegativos. Estudios de Suiza, España y Italia muestran una mayor asociación con el antígeno de histocompatibilidad DR 1 (24). Dinant et al mostró una asociación del antígeno DR 4 con el SF de un 95%, siendo para la AR sin esplenomegalia o leucopenia del 69%, y del grupo control del 31% (25). Dichos datos han sido confirmados por otros autores (26,27,28,29). La rareza del SF en la raza negra, puede muy bien ser explicada por la baja frecuencia del antígeno DR4 (9.8%) en individuos de color, así mismo la carencia de SF en nuestro país quizás sea debida a la mayor expresión del antígeno DR 1.

#### 1.4 CARACTERISTICAS CLINICAS DEL SINDROME DE FELTY.

##### 1.4.1 ARTRITIS

La afección articular es más severa en el SF que en la AR, con mayor prevalencia de deformidad y erosiones, sin embargo existen casos de exigua afección articular. Felty en su descripción original postulaba que la duración media de la artritis previo desarrollo del SF configurado era de 4.5 años. Series posteriores muestran una duración media de 14.5 años, con un rango de 1 a 39 años. Un 60% de pacientes muestran sinovitis activa, presentando deformidades un 90%. En el caso que la sinovitis esté inactiva se evidencian manifestaciones extrarticulares (2,6,7,8,9,30). Existe comunicaciones de SF en donde los síntomas articulares no tienen ninguna expresión clínica a pesar de presentar el resto de rasgos del SF, incluyendo erosiones; Heyn reserva para dichos casos la acepción de SF no articular (31,32).

##### 1.4.2 ESPLENOMEGALIA.

La esplenomegalia es uno de los criterios incluidos en la tríada diagnóstica del SF. Su necesidad es discutida por diversos autores (10). La presencia de esplenomegalia en una población de AR hospitalizadas es

del 6.5-9% utilizando métodos clínicos exploratorios. Dicho porcentaje puede incrementar si se utilizan técnicas isotópicas. Así Isomaki examinando con Tecnecio 99 a 17 pacientes con AR lo encuentra en un 10% de ellos (33,34). El tamaño del bazo es variable, generalmente se palpa de 2 a 4 cm por debajo de la parrilla costal izquierda. Sus características son la dureza y el no ser doloroso (16). Existen casos - aunque excepcionales - de esplenomegalia masiva o de ruptura espontánea del bazo (35,36,37). No existe correlación entre la granulocitopenia y el tamaño del bazo (6,7,8,9).

La gammagrafía hepato-esplénica del SF se caracteriza por la esplenomegalia moderada o severa, inversión de la captación del radio coloide entre el hígado y el bazo con biología hepática normal, ausencia de captación del radio coloide en médula ósea y pulmón, y captación homogénea del hígado. Las tres últimas características son diferentes a las que ocurren en la cirrosis, ya que en ésta la biología hepática suele estar alterada, existe captación en médula ósea y pulmón y la captación hepática es heterogénea (38,39).

#### 1.4.3 NODULOS

El nódulo subcutáneo es una de las características más importantes y específicas de la AR. Recientemente la especificidad del mismo se ha visto reducida debido a comunicaciones de nódulos histológicamente indistinguibles al reumatoide en pacientes afectados de LES, personas sin artritis y otras enfermedades reumáticas (40). En la AR clásica o definida la prevalencia del nódulo es del 25%, sugiriendo una enfermedad más maligna y con mayor presencia de erosiones y vasculitis reumatoide (41). En el SF se describen nódulos en un porcentaje que oscila del 53% al 78% de pacientes, siempre dependiendo de las series, la localización de los mismos es la clásicamente descrita: subcutáneos y yuxtarticulares en zonas de presión y trauma físico (6,7,8,9,41,42).

#### 1.4.4 HIPERPIGMENTACION

La hiperpigmentación marronácea particularmente de las piernas es uno de los signos clásicos descritos por Felty, éste lo refería en un 100% de su serie original (2). Todas las series posteriores muestran frecuencias inferiores que oscilan del 5 al 19 % (6,7,8,9). Pinals describe la especificidad del signo físico relacionándolo más con la fragilidad capilar, éstasis y extravasación hemática que con la propia

enfermedad (43).

#### 1.4.5 ULCERAS CUTANEAS

Las úlceras cutáneas localizadas en las piernas son un problema poco común en la AR. Short y Bauer (11) no lo describen en ninguno de sus 293 pacientes, por contra Wilkinson y Kirk refieren úlceras en 27 de sus 324 pacientes (8.3%). El mencionado trabajo fue realizado en una población hospitalaria (44). Otro trabajo muestra en una población de AR ambulatoria una incidencia del 9% sobre 215 pacientes, el grupo control con osteoartritis únicamente mostraba un 4% (45). A las clásicas debidas al estasis venoso, se suman las traumáticas con o sin relación a las deformaciones del pie y tobillo, las vasculíticas, las de fragilidad cutánea debida tratamiento esteroideo, pioderma gangrenoso, y las propias del SF (45,46). Estas últimas pueden tomar un protagonismo clínico importante siendo el principal problema terapéutico. La frecuencia media es del 25%, siendo su patogenia controvertida y posiblemente relacionado con fenómenos vasculíticos (6,7,8,9).

#### 1.4.6 VASCULITIS

La vasculitis reumatoide es una manifestación extrarticular de la AR que ocurre en pacientes con enfermedad seropositiva nodular de larga duración. Suele aparecer en forma de úlceras en sacabocados de aparición repentina, rápida evolución y en lugares inusuales; signos constitucionales marcados, mononeuritis multiplex, polineuritis, púrpura y lesiones isquémicas u gangrenosas. La histología es variable oscilando desde una vasculitis leucocitoclástica hasta una arteritis necrotizante tipo Pan (47). El SF presenta una frecuencia que oscila del 7% al 25% (6,7,8,9,41). El diagnóstico histológico es difícil valiéndonos de la biopsia cutánea, rectal, o sural (47,48). En ocasiones el diagnóstico es confirmado mediante angiografía mesentérica (48). El pronóstico es ominoso con una mortalidad del 30% (49).

#### 1.4.7 SJOGREN

El síndrome de Sjogren se presenta en un 30-55% de pacientes con AR, proponiéndose para los mismos el término de Sjogren secundario. La diferencia de frecuencias viene explicada por los diferentes criterios diagnósticos. Estos pueden ser: el test de Schirmer, tinción de Rosa de



Bengala, flujo saliváceo, sialografía y biopsia de glándula salivar menor (50). En el SF se describen una frecuencia media del 52%, sin embargo no existe ningún trabajo en la literatura que confirme el diagnóstico con algo más que el test de Schirmer (6,7,8,9), por tanto hemos de concluir que la frecuencia verdadera es desconocida.

#### 1.4.8 INFECCIONES

Los pacientes con AR sin leucopenia o esplenomegalia tienen mayor frecuencia de infecciones que los individuos normales. En la AR las infecciones son responsables de una mayor mortalidad y morbilidad, siendo la primera causa de óbito. La edad avanzada, la inmovilidad, el tratamiento inmunosupresor y la frecuente hospitalización pueden predisponer a la invasión microbiana (51). En el SF se describe una mayor sensibilidad para contraer infecciones bacterianas, la frecuencia media es del 60% (6,7,8,9,41). De nuevo Pinals es crítico respecto al tema, comentando como factores de confusión la carencia de estudios controlados y la inclusión de pacientes con SF a los que se les ha realizado esplenectomía, y por consiguiente con un riesgo adicional de infección (10).

La granulocitopenia no guarda relación directa con el número y la severidad de las infecciones. Sin embargo Breeveld et al describe una relación entre un número de polimorfonucleares inferior a  $0.1 \times 10^9/l$  y mayor incidencia de infecciones (52,53). La mayoría de infecciones son causadas por patógenos comunes como el estafilococo y el estreptococo. La localización de las mismas es de: piel (26%), pulmón (24%), tracto urinario (9%), úlceras bucales (4%), sinusitis y otitis (4%) y artritis séptica (2%)(7,8,54,55).

Es importante conocer que en el SF los paciente forman pus y responden correctamente a la antibioticoterapia. Es curioso observar que tanto en el SF como en la Neutropenia Cronica Idiopática no se producen bacteriemias espontáneas, hecho diferencial con las leucosis (9,56). La mayor susceptibilidad a la infección no es solo debida a defectos cuantitativos sino tambien a defectos cualitativos de los granulocitos. Así mismo, las reservas medulares de granulocitos estan disminuidos pudiendo ser otro factor contribuyente (6). Breeveld tambien menciona comos factores contribuyentes a la mayor frecuencia de infecciones un elevado índice de Steinbroker, presencia de úlceras cutáneas, tratamiento esteroideo, hipocomplementemia y niveles elevados de inmunocomplejos circulantes (52,53).

#### 1.4.9 PERDIDA DE PESO

La pérdida de peso ya fue descrita por Felty en su original comunicación de 5 pacientes (2). Posteriormente otras series han confirmado dicho signo aunque con frecuencias medias del 71% (6,7,8,9,41). Short y Bauer en su clásica monografía sobre la AR describieron a la pérdida de peso como una de las características más notables de la AR hospitalizada, refiriéndola en un 78% de sus 293 pacientes. La antigüedad del estudio y sus criterios de selección hacen dudar de la actualidad del dato (11). Los textos de reumatología mencionan a la pérdida de peso como común al inicio de la enfermedad. Como muchas de las características clínicas del SF, hacen falta estudios controlados para conocer con exactitud la prevalencia correcta.

#### 1.4.10 HEPATOPATIA

En la AR no se describe una lesión hepática específica. Un pequeño porcentaje muestran hepatomegalia, pero sin embargo entre un 25% y 50% de pacientes presentan elevación de fosfatas alcalina, 5 nucleotidasa y gamma-glutamyl transpeptidasa. Dichos niveles enzimáticos disminuyen al controlar la enfermedad y su relación con las drogas es desconocida. Los cambios histológicos son poco importantes y no específicos (57).

La afección hepática en el SF es frecuente, la hepatomegalia está presente en un 68% y en la biopsia hepática existen alteraciones en un 67%. Se describen la hiperplasia nodular regenerativa (HNR) y la fibrosis portal, ambas lesiones pueden presentarse de forma aislada o conjunta. La HNR tiene protagonismo propio, se caracteriza por la alteración difusa del parénquima hepático en forma de nódulos regenerativos de 1 mm a 2 mm separados por cordones celulares atróficos pero no observándose nunca tabiques fibrosos entre los nódulos. Por tanto es una lesión no cirrótica, pero fácilmente confundible. La fibrosis portal con expansión de dichos espacios es también característica, pero puede observarse de forma aislada o conjunta con la HNR (57). La HNR fue descrita por Ramstron con el nombre de adenomatosis hepatocelular miliar, posteriormente Steimer acuña el nombre actual y es Blendis el primer autor que asocia dicha entidad con el SF (57,58). La HNR no es exclusiva del SF, habiéndose descrito en: esclerodermia, anemias ferropénicas severas, tuberculosis, endocarditis, y en síndromes mieloproliferativos como policitemia vera, metaplasia mielóide agnogénica, trombocitosis y mieloma. (59)

La bioquímica hepática puede ser normal o moderadamente elevada. Thorne en su serie de 18 SF describe a un 56% de los mismos con alteraciones de la biología hepática, cifra algo mas elevada que el 38% descrito en otra series (57). Puede existir hipertensión portal, ésta será secundaria al aumento del flujo esplénico y a la resistencia presinusoidal causada por la HNR (57,60,61,62). Thorne refiere en sus 18 SF, a 4 pacientes con hipertensión portal, dos eran histológicamente HNR, uno fibrosis portal y otro un hígado normal. La patogenia de la HNR es desconocida, la hipótesis actual favorece la formación de trombos plaquetarios en el sinusoides del bazo, estos viá esplénica embolizarán las venas portas produciendo una obliteración de los vasos, atrofia celular y nódulos regenerativos. Dada la escasa traducción clínica biológica de las alteraciones hepáticas en el SF la biopsia hepática es el método de diagnóstico de elección. El pronóstico vendrá en función de la lesión histológica y de la posibilidad real de desarrollo de la hipertensión portal y sus complicaciones (57,59).

#### 1.4.11 LINFADENOPATIAS

Las linfadenopatías forman parte del espectro de la AR. Short y Bauer en 293 AR evidencian en 80 (29.4%) un aumento del tamaño de las mismas, por contra el grupo control refleja únicamente 26 (8.9%) con adenomegalias (11). Otro estudio controlado sobre 100 AR activas muestra un aumento significativo de las adenopatías, principalmente en áxilas, epitrocleas y regiones inguinales pero no en cabeza y cuello. La mayoría de adenopatías son vecinas a articulaciones con sinovitis. El número de adenopatías guarda relación con la seropositividad y una velocidad de sedimentación superior a 30. La presencia de adenopatías generalizadas es poco frecuente y debe hacer sospechar linfoma (16). En el SF es clásica la descripción de linfadenopatías, sin embargo los porcentajes en las diversas series varían del 0 al 42% (6,7,8,9,41). Probablemente las diferencias son debidas al grado de actividad de la AR y a los criterios de selección.

#### 1.4.12 MANIFESTACIONES OCULARES

La presencia de manifestaciones extrarticulares en la AR se asocia al grado de afección ocular. Los diferentes tipos de afección ocular especialmente la escleritis se correlacionan con exacerbaciones de la enfermedad. La escleritis es una manifestación extrarticular de la AR que ocurre según Mc Gavin en un 0.67%. Dicho autor refleja en su serie de 4210 pacientes con AR un factor pronóstico: un 45% de AR con

escleritis fallecían en un período de 9 años, comparado con una mortalidad del 18% en aquellos sin escleritis (63). En el SF la frecuencia media de escleritis es del 8%, dato que confirma la estrecha relación entre la afección ocular y las manifestaciones extrarticulares (6,7,8,9).

#### 1.4.13 POLINEUROPATIA

La neuropatía puede complicar el curso de la AR en cualquier momento. Las causas principales de neuropatía en el contexto reumatoide son:

- A Neuropatías por compresión.
- B Neuropatías angiopáticas
  - Neuropatías sensitivas distales.
  - Mononeuritis multiplex.
  - Autonómica.
- C Amiloide.
- D Neuropatía coincidente con la AR de otra etiología.
  - 1 deficiencia vitamínicos.
  - 2 drogas.
  - 3 metales pesados.
  - 4 diabetes.
  - 5 carcinomatosa.
  - 6 hereditaria.

En el SF se describe neuropatía con una frecuencia media del 17%, esta es en forma de polineuritis sensitivo motora o mononeuritis múltiple (6,7,8,9,64).

#### 1.4.14 AFECCION PULMONAR

La pleuritis y la fibrosis pulmonar son relativamente frecuentes en la AR. En el SF, se describen frecuencias medias del 19% y 50%, respectivamente, como en la mayoría de manifestaciones clínicas hacen falta estudios controlados para determinar con exactitud su frecuencia (6,7,8,9).

## 1.5 LABORATORIO

### 1.5.1 HEMATOLOGIA

La anemia está presente en la mayoría de pacientes con SF, suele ser normocítica y normo u hipocrómica, suele ser una anemia de proceso crónico y reflejar el grado actividad de la enfermedad (6,7,8,9). Los reticulocitos están ligeramente elevados en algunos casos reflejando una destrucción de los mismos en el bazo (65,66,67). La hemólisis clínica con incremento de la bilirrubina y descenso de la haptoglobina es extremadamente rara (16).

La leucopenia es uno de los criterios diagnósticos del SF. La mayoría de pacientes con SF son diagnosticados a raíz de una leucopenia descubierta en un análisis de rutina. El descenso de la serie blanca es a expensas de los granulocitos. Los criterios de diagnóstico para el SF varían según los diferentes autores, así Spivak postula que una leucopenia  $4000 \text{ mm}^3$  es suficiente para el diagnóstico, por contra otros autores con criterios mucho más estrictos- creen que para el diagnóstico es necesario una leucopenia  $2000 \text{ mm}^3$  o polimorfonucleares  $1000 \text{ mm}^3$ . El recuento diferencial no muestra formas jóvenes, esto es importante ya que diferencia al SF de otras entidades como las leucosis o síndromes mieloproliferativos en donde se objetivan mielocitos, metamielocitos y precursores eritroides. Puede existir linfopenia pero la presencia de linfocitosis es indicativa -como veremos más tarde- de otro tipo de enfermedad (6,7,8,9,16).

La trombocitopenia se presenta en un 40%, suele ser asintomática y de patogenia controvertida, el hiperesplenismo, la inhibición central y en algunos casos excepcionales la autoinmunidad son factores contribuyentes.(10).

Los reactantes de fase aguda como la velocidad de sedimentación, proteína c reactiva, fibrinógeno y viscosidad se encuentran elevados

(6,7,8,9). De forma muy ocasional se describen casos de síndrome de hiperviscosidad (68,69).

### 1.5.2 MEDULA OSEA

La médula ósea presenta anormalidades características en el SF. La alteración más frecuentemente descrita es una hiperplasia mieloide con una desviación a la izquierda y reducción de formas segmentadas. Este hallazgo es descrito en la literatura anglo-sajona con el nombre de "maturation arrest" o "paro en la maduración" (55). Barnes en su serie de 20 pacientes evidencia dicho patrón mieloide en 13 de sus pacientes (6), sin embargo Pinals lo describe en 18 de sus 19 pacientes (10). Otros patrones medulares son la existencia de una hipoplasia medular, una médula ósea normal, y también la presencia de una gran infiltración linfocítica. Esta última alteración - presente siempre en una minoría de pacientes - en la mayoría de series, corresponderá a una enfermedad absolutamente diferente al SF (55,16).

### 1.5.3 SEROLOGIA

Como corresponde a una AR con gran número de manifestaciones extrarticulares, el factor reumatoide será positivo a títulos altos en la mayoría casos. Pinals en su clásica revisión señalaba una positividad en un 98% de los casos hasta ahora comunicados. Existen casos seronegativos, pero son la excepción (6,7,8,9,10).

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son positivos en el SF, la variabilidad en la frecuencia, que oscila del 47% al 100%, refleja las diferentes sensibilidades en la técnica y en el sustrato utilizado. La positividad de los ANA es mayor en los pacientes con SF que en aquellos casos de AR con manifestaciones extrarticulares pero sin SF (18 %). El patrón más común es el homogéneo, pero también se describen patrones periféricos (6,7,8,9,10,70,71,72,73).

Los anticuerpos anti histona han sido recientemente descritos como positivos en un 68% de pacientes con SF, frente a un 12% de AR como grupo control. Dichos anticuerpos fueron determinados mediante técnica de ELISA y las diferentes positividades fueron 53% positivos frente a Ig G, 3% Ig M y 12% positivos para ambas inmunoglobulinas (72).

En la literatura existe una única referencia respecto a los anticuerpos anticardiolipina en el SF, ésta muestra resultados negativos frente a Ig G y Ig M (74) .

Los esteroides inducen la formación de una proteína efectora llamada lipocortina. Esta se muestra elevada en pacientes con AR y tratamiento esteroideo. Dado que en el SF existen numerosas anomalías inmunológicas, determinamos - utilizando un método ELISA- las concentraciones de dicha proteína. Resultados preliminares indicaron una positividad de más del 90% comparando con grupos controles sanos y con AR. La concentración de dicho anticuerpo era independiente del tratamiento esteroideo o de la actividad articular (75).

Los niveles de las inmunoglobulinas, principalmente de IgG Y IgM, están más elevados en el SF que en la AR (8), asimismo los niveles de complemento también se encuentran más bajos, ambas determinaciones aunque aumentadas no presentan diferencias significativas. Es característica la detección de inmunocomplejos circulantes en el suero de pacientes con SF, las positividades oscilan del 75% al 100%, dependiendo de las técnicas utilizadas para la determinación. Como es sabido en la AR ~~sin SF~~ solo 1/4 presentan niveles detectables de inmunocomplejos circulantes (71,77,78,79).

Un tipo de anticuerpo antinuclear dirigido contra los granulocitos se presenta en un 85% de los casos, es de naturaleza IgG y lógicamente se le ha atribuido un papel patogénico, sin embargo dicho rol ha sido puesto en tela de juicio por la presencia de dichos anticuerpos en un 14% de pacientes con AR (80,81,83) y además por un elegante estudio que demostraba que la unión de la IgG, IgM y IgA al granulocito era secundaria a la unión de un inmunocomplejo al polimorfonuclear y no a la presencia de autoanticuerpos dirigidos a antígenos en la superficie membranosa del neutrófilo (83,84). Para acabar con la serología comentaremos que los anticuerpos anti dna nativo son negativos en el SF (6,7,8,9).

## 1.6 PATOGENIA

### 1.6.1 PAPEL DEL BAZO

El rol del bazo en la patogenia del SF es controvertido, existen

argumentos poderosos en contra de su protagonismo : la recurrencia del SF tras la esplenectomía (85) y la existencia de SF sin esplenomegalia (86) son dos razones que contrastan con el estimulante experimento de Wright et al (87) que demuestra una diferencia marcada en la concentración de leucocitos entre la sangre arterial y venosa en el momento de la esplenectomía.

Existen estudios histológicos del bazo en el SF que adolecen la de falta de un grupo control de AR con la misma severidad. En la AR se describen hiperplasia de los centros germinales, plasmocitosis y abundantes inmunoblastos. En el SF, a parte de los citados cambios se evidencia una hiperplasia de los macrófagos en las cuerdas esplénicas y una hiperplasia endotelial de las arterias foliculares (88). Todos los trabajos hasta ahora publicados acerca de la histología del bazo en el SF carecen de grupos controles acertados y son de número escaso.

#### 1.6.2 ANTICUERPOS ANTIGRANULOCITO

La investigación de anticuerpos anti neutrófilo se inició a raíz de la observación- no confirmada posteriormente - de inducción de leucopenia en un voluntario sano tras la transfusión de plasma de un paciente con SF (89,90). La positividad en pacientes con SF del test de consunción de antiglobulina hizo pensar en la existencia real de anticuerpos sin embargo dicha positividad es probablemente causada por la presencia de inmunocomplejos adosados al polimorfonuclear y no a anticuerpos. Comunicaciones recientes confirman este hecho (91,83,84). El desarrollo de técnicas de determinación de antiglobulinas que distingan entre inmunocomplejos adosados al granulocito y inmunoglobulina unida al neutrófilo ayudarán a desvelar la patogenia del SF.

#### 1.6.3 MIELOPOYESIS

La posibilidad que una granulopoyésis defectuosa contribuyera a la neutropenia no fue considerada hasta que se observó que la población de células medulares progenitoras en fase de síntesis estaba disminuída en el SF (92), otro experimento evidenció que el suero de pacientes con SF retardaba la formación de colonias medulares en el ratón, un 85% de sueros de pacientes con SF presentaba dicho fenómeno por un 12.5% de AR sin SF (93). Otros investigadores encontraron que el factor estimulante de las colonias (CSA) se encontraba disminuído en el SF en comparación con otros desordenes neutropénicos, implicando el



déficit de dicha glucoproteína en el SF (10,94,95), siendo ambos mecanismos humorales. La capacidad de producción de colonias de células hijas en maduración en el cultivo de médula ósea ( colony forming unit in culture CFU-C) está ausente o disminuído, dicha supresión parece ser mediada por células mononucleares y linfocitos T supresores, siendo por tanto un mecanismo celular. En conclusión diremos que la supresión de la mielopoyésis en el SF esta mediada por la interrelación de la inmunidad celular y humoral (96,97,98,99),.

#### 1.6.4 FUNCION POLIMORFONUCLEAR

La evidencia que el nivel absoluto de neutropenia no estaba relacionado con el número de infecciones en el SF y sí en otros desórdenes neutropénicos, sugería la presencia de otros factores adicionales. Lógicamente la presencia de hipocomplementemia contribuye a la poca resistencia del huesped a la infección (74). Howe et al mostraron una reducción del quimiotactismo y de la adherencia de los polimorfonucleares en el SF: comparado con controles sanos y pacientes con AR (100,101,102). Asimismo la generación de radicales superóxido está disminuída en el SF: si lo comparamos con controles sanos o pacientes con AR, curiosamente dicha reducción esta correlacionada con la cantidad de IgG unida al polimorfonuclear y en un grado menor al nivel de IC (103,104,105). De todas formas todos estos experimentos estan realizados in vitro y su relación con la susceptibilidad a las infecciones es incierta. Como dice Crowley es razonable pensar que los numerosos defectos funcionales demostrados en la AR con o sin el SF tambien contribuyen a la tendencia a la infección en estos pacientes (16).

#### 1.6.5 INMUNOCOMPLEJOS

La presencia de inmunocomplejos (IC) en el SF está bien establecida, de la misma forma estos IC se evidencian únicamente en 1/3 de AR sin esplenomegalia o leucopenias. Otros medios de detección de IC como la determinación de crioglobulinas ofrece resultados similares (71,79,). Los IC en el SF poseen IgG, IgM y complemento, y parecen haber sido ingeridos por el polimorfonuclear. La presencia de inclusiones citoplasmáticas intragranulocitarias conteniendo inmunoglobulinas y complemento en el bazo de pacientes con SF: confirma lo anterior (105,,106,107). Aquellos polimorfonucleares que reaccionaron con los IC tendrán una mayor dificultad de atravesar la red capilar del bazo y así ser selectivamente marginados.

#### 1.6.6 CINETICA LEUCOCITARIA

El estudio de la cinética leucocitaria en pacientes con SF ha ofrecido resultados conflictivos a causa de problemas metodológicos (108,109). Vincent et al demostró que la marginación excesiva era el factor más importante en la neutropenia, estando la producción leucocitaria disminuída en una minoría, dicho experimento ha sido repetido por otros autores confirmando la teoría de la marginación leucocitaria como posible (110). Sin embargo otros investigadores no han podido probar dicha hipótesis patogenética (111). Citando a Bishop diremos que los diferentes resultados leucocinéticos entre distintos grupos son debidos a diferentes técnicas y a la variación y severidad de la población estudiada (108). En el SF las reservas medulares están reducidas, las técnicas utilizadas han sido estimulación con eticolanololona, endotoxinas y cortisol, los estudios de la médula muestran un número adecuado de células maduras, pero sin embargo el recuento de neutrófilos en sangre periférica no aumenta (90,112,113). Dos explicaciones verosímiles para este hecho son: que las células no sean liberadas o que una vez en sangre periférica su tránsito sea tan rápido que no puedan ser observadas.

#### 1.6.7 SUMARIO DE LA PATOGENIA

La patogenia del SF es controvertida. Se puede afirmar que es multifactorial. La inmunidad celular y humoral tienen un rol importante. Así diremos que los polimorfonucleares interaccionan con los IC o con anticuerpos anti granulocito y de ésta forma son marginados y secuestrados en el bazo, al mismo tiempo la función del leucocito se ve afectada por el depósito de inmunoglobulinas o de los anticuerpos. Por otra parte la supresión de la mielopoyésis por factores celulares, humorales o por producción deficiente de CSA por los monocitos contribuyen a la neutropenia. En cada caso de SF predominará un mecanismo patogenético y como muy bien decía Biosca et al es en esta variabilidad patogenética individual en donde radicarán las diferentes respuestas al tratamiento (116).

#### 1.7 MORBILIDAD Y MORTALIDAD

La historia natural del SF es variable, aunque muy raro existen casos de remisión espontánea de la neutropenia y otras manifestaciones extrarticulares (115). La mayoría de series con un seguimiento de corto

plazo son aquellas donde se realizó esplenectomía, la mortalidad aproximada es del 15 %, aunque hay series donde es del 36%. La primera causa de fallecimiento es la infección (16,116).

## 1.8 TRATAMIENTO

### 1.8.1 INTRODUCCION

El tratamiento del SF, debe contemplar el tratamiento de la enfermedad de base: la AR. La probada eficacia de un plan básico en forma de explicación de la condición que se padece, reposo de 8 a 10 horas diarias incluyendo una pequeña siesta o descanso, baños de agua caliente para evitar la rigidez matutina y un programa de fisioterapia son consejos terapéuticos eficaces y desgraciadamente frecuentemente olvidados .

Mc Carty comenta que un 25 % de sus pacientes con AR son refractarios al tratamiento standard en forma de fisioterapia, reposo, férulas, zapatos ortopédicos, uso de aspirina u otros antiinflamatorios no esteroideos, sales de oro , antimaláricos, esteroides matinales a dosis bajas y infiltraciones locales (117,118). Es en este grupo de pacientes donde situaremos a la mayoría de pacientes con SF, y en donde se ensayarán las diferentes modalidades terapéuticas mas agresivas.

Es importante remarcar que los pacientes con SF responden a la infección correctamente y forman pus (119). Sin embargo antes de comenzar a hacer énfasis en los tratamientos es obligado decir que al ser una enfermedad de escasa frecuencia la totalidad de los estudios realizados carecen de un número importante de enfermos, son abiertos y no controlados.

### 1.8.2 CRISOTERAPIA

El tratamiento con oro del SF ha tenido un lastre muy importante, la mayoría de pacientes con SF son diagnosticados a raíz de una analítica ocasional en el curso del tratamiento de la AR con oro, acto seguido pensando que se trata de un efecto secundario se suspende la crisoterapia, y más tarde al pasar un año y persistir la leucopenia se piensa en el SF. Para entonces se inicia tratamiento con otra droga

dejando al oro olvidado.

Este concepto debe tenerse siempre presente para evaluar el rol definitivo del oro en el tratamiento del SF (120). Otra razón de las escasas referencias al oro en el SF es el temor de iniciar dicho tratamiento en pacientes con leucopenia sabiendo el efecto de depresión medular de la crisoterapia. La primera comunicación del tratamiento del SF con sales de oro es sorprendentemente reciente, son 4 pacientes, todos ellos mejoran de la artritis, recuento y fórmula y velocidad de sedimentación; ninguno de ellos presentaba infecciones (121). Posteriormente han aparecido numerosas comunicaciones de crisoterapia intramuscular y oral con resultados positivos en forma de aumento de las células blancas, mejoría del index articular y en menor medida de las infecciones, episodios febriles y úlceras cutáneas (122,123,124,125).

El trabajo definitivo es el de Dillon et al que tras tratar a 20 pacientes con SF durante un período de 23.6 meses evidencia una respuesta completa en 60 % de pacientes, en un 20% una respuesta parcial y refractarios un 20%, no existieron complicaciones (126,127).

### 1.8.3 PENICILAMINA

La experiencia con Penicilamina es mucho más escasa que con el oro, en la literatura existen 18 pacientes con SF tratados con penicilamina, no existen detalles de la respuesta al tratamiento en 8 de ellos. La última serie publicada sobre 8 pacientes tratados con dosis medias de 250 mg a 750 mg y con un seguimiento de 11.75 meses muestra resultados positivos, con una respuesta de la leucopenia en 6 de los pacientes, curación de la úlceras en 4 de los 6 que presentaban dicha complicación y no recurrencia de las infecciones en 3 sobre 5 pacientes. Sin embargo la droga tuvo que ser retirada en 6 pacientes debido a complicaciones, uno de ellos falleció por pancitopenia (128). Concluyendo, la Penicilamina es efectiva pero la impresión es que es más tóxica que el oro en el tratamiento del SF. Hacen falta estudios prospectivos randomizados de ambas drogas.

### 1.8.4 ESTEROIDES

En 1966 Pengelly describió la respuesta de un paciente con SF al tratamiento esteroideo, otros autores con un número de pacientes muy

escaso (1 a 3) reflejan también cierta mejoría (129,130). Las dosis bajas de esteroides son inefectivas no pudiendo suprimir las alteraciones inmunológicas o la neutropenia. Existe un número de pacientes que responden a dosis esteroideas elevadas, pero la tendencia de esta droga de disminuir la capacidad funcional de los granulocitos, así como los efectos secundarios y el escaso número de pacientes que responden han casi precluido a esta droga. Existen autores que utilizan el tratamiento esteroideo para aumentar el número de células blancas dado sus efectos neutrofílicos, a continuación se insta una tratamiento con oro o penicilamina (130)

#### 1.8.5 INMUNOSUPRESORES

El uso de estas drogas en el tratamiento del SF poco frecuente, en primer lugar como ocurre con las drogas inductoras de remisión el temor de empeorar la leucopenia ha prevenido su uso. Sin embargo existen casos de mejoría de SF, de la neutropenia y de las infecciones con Ciclofosfamida y Metotrexato.(131,132,133,134,135,136,137).

#### 1.8.6 PLASMAFERESIS

Las indicaciones de la plasmaféresis en el contexto de la AR son hoy día escasas (138), existen estudios controlados que demuestran su inutilidad, aunque con un número de pacientes pequeño (139). Se describen casos esporádicos de pacientes con SF que han sido tratados mediante plasmaféresis con mejoría de la fórmula y del estado del paciente (140).

#### 1.8.7 TESTOSTERONA

La testosterona fue utilizada por primera vez en el tratamiento del SF en 1973, tres pacientes recibieron dicha droga con recuperación de la fórmula, mejoría del estado subjetivo, disminución de infecciones en uno y resolución de la úlceras en otro. La capacidad de la testosterona en estimular la formación de los granulocitos y su función linfocítica merecen nuevos estudios. Sin embargo la imposibilidad de utilizar dicha droga en las mujeres mermó su uso (141).

#### 1.8.8 LITIO

Las sales de litio se utilizan en el tratamiento de las enfermedades psiquiátricas. Durante el uso de dicha droga se evidenció la presencia de leucocitosis reversible, el aumento de los glóbulos blancos era a expensas de los granulocitos. El litio estimula la granulopoyésis, probablemente por el aumento de producción del factor estimulante de las colonias. Todo ello indujo a tratar a pacientes con SF, los resultados mostraron una recuperación de la fórmula a expensas de los polimorfonucleares, pero la alta toxicidad, la falta de beneficios a largo plazo y resultados negativos han contribuido a que caiga en desuso (142,143,144,145).

#### 1.8.9 GAMMAGLOBULINA INTRAVENOSA

El uso satisfactorio de la gammaglobulina intravenosa en el tratamiento de la púrpura trombótica trombocitopénica hizo que se tratase un pequeño número de pacientes con SF con dicha terapéutica. Ninguno de los 5 pacientes mejoró, por lo que dicho tratamiento ha sido abandonado (146).

#### 1.8.10 ESPLENECTOMIA (SPC)

El exacto rol de la (SPC) sigue abierto a la polémica desde la realización en 1932 de dicha intervención en un paciente con SF (5). La racionalidad de dicha intervención quirúrgica debe sopesar la posibilidad de la remisión espontánea del SF, la morbilidad de la operación, el riesgo incrementado de infección especialmente por neumococo y la falta de correlación entre la leucopenia y la incidencia de infecciones (116). Lógicamente las indicaciones varían entre autores. En la mayoría de casos la (SPC) lleva a una respuesta hematológica temprana, con recuperación de la serie blanca en cuestión de horas (30).

Pinals revisando a 5 series recientes describe que un 88% de pacientes tienen una respuesta hematológica a corto plazo positiva, sin embargo las infecciones recurrieron o persistieron en un 26 a 60% de pacientes (43,7,8,6,54,55).

Crowley revisando otras series de SF esplenectomizados, con un volumen de 265 pacientes evidencia que un 94 % de pacientes tenían un incremento del recuento posoperatoriamente, un 22% de estos recurrían

en la leucopenia. Sin tener en cuenta la la evolución de la fórmula, un 24% seguían teniendo infecciones. El seguimiento de los pacientes fue de 1 a 5 años, y durante todo este período ocurrieron 38 muertes es decir un 15 % de los mismos. La causa de óbito posoperatorio más frecuente fue la sepsis (8 de 11). De los 27 pacientes restantes, la infección ocasionó 1/3 de las muertes. En conclusión el porcentaje de éxitos en esta serie combinada es del 73%, al restar el porcentaje de éxito operatorio (77%) menos el porcentaje de muertes operatorias (4%) (16).

Como ya mencionamos antes se deben sopesar una serie de factores y decidir si se realiza o no la esplenectomía. La indicación actual se enmarcaría dentro de una muy agresiva enfermedad que no ha respondido a la terapia con oro o inmunosupresores. En circunstancias especiales se practicó la esplenectomía por úlceras tórpidas, pero la respuesta ha sido variable. En casos de trombocitopenias severas que no responden al tratamiento convencional puede estar indicado la intervención. En ningún caso la leucopenia y neutropenia sin acompañamiento de infecciones es criterio de intervención, solo las acompañadas de infección y que no responden a las sales de oro o a los inmunosupresores se intervendrán (16,147,148,149,150,151,152).

#### 1.8.11 MISCELANEA

Se ha ensayado la salazopiridina en 6 pacientes con SF sin éxito alguno. Así mismo no existen datos de la irradiación linfóide total en el SF.(153.)

### 1.9 INMUNIDAD CELULAR EN LA ARTRITIS REUMATOIDE Y EL SINDROME DE FELTY

#### 1.9.1 INTRODUCCION

Estudios de la inmunidad en la gallina mostraron de forma temprana la dicotomía del sistema inmunitario. La ablación del timo resultaba en la eliminación de la respuesta inmunitaria mediada por células pero no la mediada por anticuerpos. Por otra parte la exéresis de la bolsa de Fabricio en estas aves las convertía en incapaces de desarrollar anticuerpos frente a un estímulo antigénico. La inmunidad celular en las aves bursectomizadas permanecía intacta. Esta dicotomía de la inmunidad es también observable en los síndromes congénitos de inmunodeficiencia

en el ser humano: la agammaglobulinemia congénita tipo Bruton que carece de inmunidad humoral y el Síndrome de Di George con ausencia de inmunidad celular (154,155,156).

Ambos sistemas inmunitarios se fundamentan en sendas líneas de linfocitos. Los linfocitos B (Bursa equivalentes) capaces de desarrollarse en la médula ósea, independientes del timo y que dan lugar a los anticuerpos. La otra línea celular que requiere el concurso del timo para su desarrollo son los linfocitos T (Timo dependientes)(155,157,).

La inmunidad humoral ya ha sido revisada anteriormente, sin embargo la inmunidad celular y por consiguiente el linfocito T merecerán nuestra atención acto seguido.

## 1.9.2 LINFOCITOS T

### 1.9.2.1 GENERALIDADES

Durante el tránsito a través del timo la célula madre, interactuando con las células epiteliales tímicas y un conjunto de factores tímicos o hormonas, madura y se transforma en células de la línea T. Estas células expresan un número de antígenos de superficie, marcadores y diferentes funciones inmunoreguladoras. Los linfocitos T comprenden un 80% de los linfocitos circulantes, un 12% a 15 % de linfocitos circulantes son B y por último un 10% corresponden a una tercera población de células linfoides o células NK (células asesinas o natural killer).

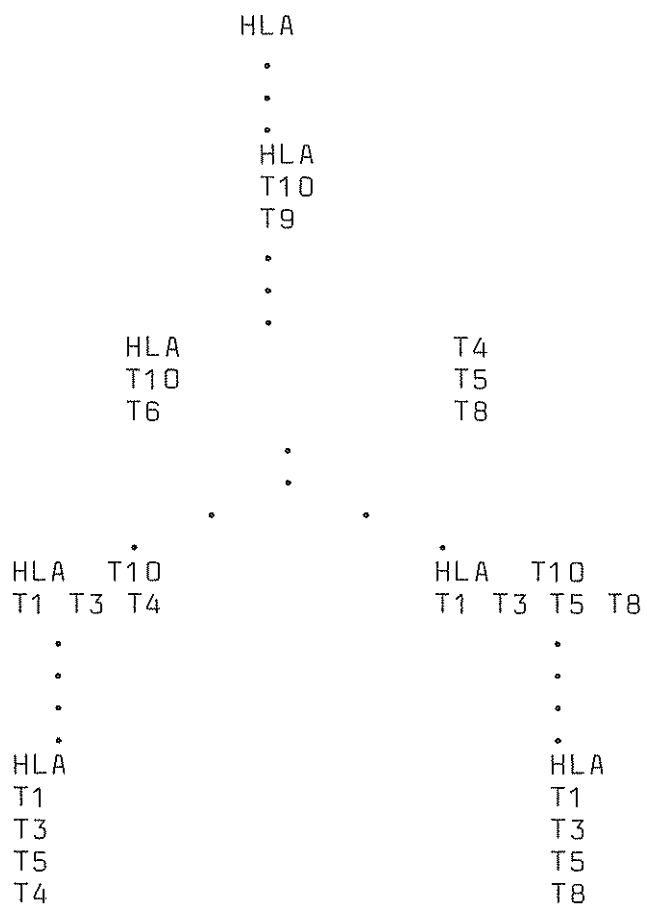
El advenimiento de la técnica del hibridoma permitió el desarrollo de la tecnología de los anticuerpos monoclonales. Una serie de anticuerpos monoclonales son reactivos con los timocitos humanos y con los antígenos de superficie de los linfocitos T periféricos.

Siguiendo a Reinherz y Schlossman (158) que utilizan la nomenclatura OKT para la serie de anticuerpos monoclonales, el timocito más temprano presenta OKT9 y OKT10, en este momento únicamente un 10% de timocitos evidencian dicho fenotipo. Mas adelante, el proceso de maduración prosigue y los timocitos expresan de forma simultánea OKT6,OKT4, OKT5,



y OКТ8, portando dicho fenotipo más de un 70% de la población tímica. Una etapa más en la maduración y curiosamente los timocitos pierden la reactividad OКТ6 y adquieren la OКТ1 y OКТ3, segregándose en los subtipos OКТ4 y OКТ5/OКТ8. Posteriormente el linfocito T es exportado a sangre periférica, perdiendo el marcador OКТ 10. En un principio se creía que las series OКТ4 y OКТ8/OКТ5 no presentaban un entrecruzamiento pero como veremos después a pesar de ser funcionalmente diferentes evidencian un overlap (158) (figura 1).

FIGURA 1: DIFERENCIACION LINFOCITOS T



#### 1.9.2.2 SUBPOBLACIONES LINFOCITOS T

Como ya mencioné anteriormente existen dos subpoblaciones de linfocitos T, éstas son:

- . helper/inducer-CD 4- O<sub>K</sub>T4. De ayuda.
- . suppressor/cytotoxic-CD 8- O<sub>K</sub>T8. Supresores.

Ambas poblaciones han sido descritas mediante el uso de anticuerpos monoclonales y por la presencia de receptores de isotipos de inmunoglobulina. Unicamente me extenderé por razones obvias en aquellas poblaciones definidas por anticuerpo monoclonales.

Inicialmente se pensó que estas dos subpoblaciones eran homogéneas, y que cada tipo tenía unas funciones distintas, sin embargo los avances en la tecnología de los anticuerpos monoclonales han permitido vislumbrar una heterogeneidad entre las clásicas subpoblaciones de CD4-helper/inducer y las CD8 suppressor/cytotoxic

##### 1.9.9.2.2.1 HELPER/INDUCER CD4

Esta población es responsable de ayudar en la diferenciación de los linfocitos B en células secretoras de inmunoglobulinas, incluye también a linfocitos T que ayudan en la linfotoxicidad mediada por por células y por último a linfocitos T que son efectores para la hipersensibilidad retardada.

Reinherz et al (158) utilizando un anticuerpo monoclonal TQ1, demostró que las células T4+TQ1- (25%) eran inductoras de ayuda. Por el contrario las T4+ TQ1+ (75%) eran inductoras de supresión y respondían en las reacciones T y no T de linfocitos mixtos.

Morimoto usando otro anticuerpo monoclonal 2H4 define un tipo de unas células T4+2H4 inductoras de supresión y T4 2H4- efectoras de los helpers-de ayuda (159).

Damler et al valiéndose de un anticuerpo monoclonal, el Leu 8, define otros subtipos, Leu 3+ Leu 8- son helpers y Leu 3- Leu 8 + corresponden a los inductores de supresión (160).

Nuevamente Morimoto demostró que el suero de pacientes con AR juvenil (ARJ) contenía anticuerpos anti células T. Este suero reaccionaba con un subtipo de T4+. Separando las T4+ ARJ y las T4 ARJ-mostraron que las primeras eran inductoras de supresión y las segundas eran helper de la síntesis de inmunoglobulinas (159).

Biddison et al evidenció una posible función citotóxica de las T4 (161). Meur et al desarrolló clones de T4 y T8 citotóxicas y mostró que las T4 reconocían el antígeno de clase II del complejo de histocompatibilidad y las T8 el antígeno de clase I del complejo de histocompatibilidad (162).

Todos estos diferentes subtipos dentro de las T4 indicaban un polimorfismo genético del epítipo T4. Fuller et al aprovechándose de 8 anticuerpos monoclonales anti-T4, demostró claramente que existen al menos de 5 a 7 epítipos en la molécula de T4. Estas variaciones del epítipo T4 no parecen estar relacionadas con el grado de maduración de la célula T helper. El significado de este polimorfismo en la función de las T 4 está por determinar (163) (figura 2).

FIGURA 2 : HETEROGENEIDAD DE LAS LINFOCITOS CD4

CD 4      T4      LEU3

TQ1+ (75%)      TQ1- (25%)  
Inductores de supresión      Inductores de ayuda

LEU8+ (80%)      Leu8- (20%)  
Inductores de supresión      Inductores de ayuda

2H4+(40-45%)      2H4-(55-60%)  
Inductores de supresión      Inductores de ayuda

JRA +(40%)      JRA- (60%)  
Inductores de supresión      Inductores de ayuda.

#### 1.9.2.2.2 SUPRESORES/CITOTOXICOS CD8

Los linfocitos CD8 requieren la interacción de las células CD4 para ejercer su función supresora sobre la respuesta de los linfocitos B. Las T8+ ejercen su función supresora mediante la disminución de la síntesis y secreción del factor helper de las células T4 (164,165).

La heterogeneidad de las T8 se definió mediante los anticuerpos monoclonales 9.3 y CD20. Damle et al (161) separaron las células Leu 2+ 9.3+ de las Leu 2 +9.3-; las primeras resultaron ser citotóxicas y las segundas supresoras. Los mismos investigadores, por medio del anticuerpo monoclonal Leu 8, clasificaron a las Leu 2 +9.3 - en dos subtipos mas: Leu 2+9.3- Leu8+ y Leu 2 +9.3-Leu 8-; las primeras inductoras de supresión y las segundas supresoras (figura 3).

Thomas et al (165) usando un anticuerpo monoclonal -el CD20- definen tambien subtipos. Este nuevo antígeno el CD20 es reconocido por un pequeño número de linfocitos en reposo, por el contrario se detecta en un número considerable de linfocitos activados. El análisis funcional demostró que los T8+CD20+ eran citotóxicos y los T8 CD20- eran precursoras de citotoxicidad y efectoras supresoras.

En conclusión podemos afirmar que existe una heterogeneidad dentro de las poblaciones T4 y T8.

FIGURA 3: HETEROGENEIDAD DE LOS LINFOCITOS CD8

CD8	T8	LEU2
9.3 + (50%)	9.3 - (50%)	
Citotóxicas	Leu8+ (40%) Efectoras Supresoras	Leu8- (10%) Efectoras Inductoras
CD20+	CD20-	
Citotóxicas Efectoras	Supresoras	

### 1.9.3 ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II Y CELULAS ACTIVADAS

Los productos de los genes de los antígenos de histocompatibilidad (HLA) de clase II son marcadores de susceptibilidad para el desarrollo de ciertas enfermedades reumáticas. Existen datos para pensar que estas moléculas que gobiernan la respuesta inmune, tienen un rol importante en el inicio de la secuencia que lleva a la enfermedad.(166)

Los genes del HLA se encuentran localizados en el brazo corto del cromosoma 6. Los antígenos de clase II se sitúan en el final centromérico, separados de los genes de clase I por los de clase III (166).

Los HLA de clase II se subdividen en tres subregiones: DR, DQ y DP. La presencia en la superficie celular de los HLA de clase II son un índice de actividad, sin embargo la función de estas moléculas en la célula se desconocen. La distribución de estos antígenos es en células dendríticas, macrófagos, células B, y células tímicas epiteliales (166) (figura 4).

Otro marcador de actividad es el antígeno Tac, que es específico de la interleucina 2 (IL 2). Este antígeno es requerido para la proliferación de los linfocitos y está ausente en los linfocitos T en reposo (167).

El receptor para la transferrina esta también presente en los linfocitos activos y parece que su presencia es posterior a la del antígeno Tac. La expresión del receptor de la transferrina depende de la expresión del antígeno Tac, el bloqueo del receptor Tac por un anticuerpo anti-Tac bloqueará la expresión del receptor de la transferrina, y por tanto la síntesis del DNA y la proliferación de los linfocitos T.(168)



FIGURA 4: MOLECULAS DEL HLA DE CLASE II

Hombre..... DR,DQ,DP

Ratón..... IA, IE

Distribución..... Dendríticas, macrófagos,  
tímicas y epiteliales.

#### 1.9.4 TERCERA POBLACION DE CELULAS LINFOIDES O NATURAL KILLER(CELULAS NK)

Aproximadamente un 5-6% de los linfocitos periféricos no corresponden ni a las células T ni a las células B.

Son definidas por su habilidad de matar a diversas células tumorales y partículas virales en ensayos de citotoxicidad. Esta capacidad es independiente del timo y se demuestra en animales de experimentación atímicos. Estas células carecen de los marcadores clásicos para las células T o B, son radioresistentes, no fagocíticas, no adherentes, no muestran memoria, y pueden ser activadas de forma no específica y rápidamente por el interferón y agentes que inducen al interferón. (169,170,171,172).

Tienen la apariencia de linfocitos granulares (LGL) y reaccionan con un número de anticuerpos monoclonales, concretamente con anti-Leu 11, Okm 1, Leu 7 (HNK 1). Sin embargo poseen características compartidas con las células T, por ejemplo la capacidad de reaccionar y secretar interleucina II, también son afines a los macrófagos, ya que presentan receptores Fc y se marcan con OKM 1 (figura 5).

Para contribuir más a la confusión, recientemente se ha demostrado que estas células NK producen interleucina 1, interleucina 2 y alfa y gamma interferón. Por tanto esta tercera población linfoide es un tipo único de línea celular con características comunes a las otras dos poblaciones linfoides (173,174).

FIGURA 5 RECEPTORES DE LA TERCERA POBLACION DE CELULAS LINFÓIDES

Receptores Fc de la Ig G.

Receptores para virus de EB.

Antígeno DR.

Receptor de Interferón.

Receptor de Interleucina II

Lyt 3, Leu 5, aGM1, OKM1, Leu 7, Leu 11, NK 8, OKT8, B73.

Receptor de baja afinidad para SRBC.

## 1.10 ANALISIS DE LOS LINFOCITOS EN SANGRE PERIFERICA

En la AR los resultados del análisis de los linfocitos son controvertidos respecto a las células T, sin embargo es universalmente reconocido de la hiperreactividad de las células B.

### 1.10.1 ANALISIS CUANTITATIVO DE LOS LINFOCITOS T

Utilizando técnicas como la formación de rosetas con hematíes de carnero diversos autores encuentran un número de células T dentro de una proporción normal, principalmente en AR inactivas o moderadamente activas (175,176,162,177,178,179). Sin embargo en AR activas la población de células T mediante uso de la mencionada técnica se encuentra disminuída.

Con el uso de anticuerpos monoclonales los resultados son variopintos, así Veys et al (181) reporta un número y proporción de células T dentro de la normalidad. Kotzin et al (182) comunica un número disminuído pero con proporciones normales y Raeman (178) proporciones bajas y y número normales. Las discrepancias probablemente se originan por las formas diferentes de selección de los pacientes respecto al tratamiento y actividad de la enfermedad.

### 1.10.2 ANALISIS CUANTITATIVO DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS MEDIANTE ANTICUERPOS MONOCLONALES.

Los resultados son conflictivos. El análisis mediante anticuerpos monoclonales de las células T4+ ha mostrado proporciones normales (182,183,184;185,186;181,187,188), incrementados (189,180,190, 181) y disminuídos(191). De forma similar las células T8+ se describen aumentadas (191),normales (192,193,194,185,186, 195) y disminuídas (189,181,195,180,190,178,188). Por tanto el cociente T4/T8 es normal (179,184), aumentado (188,195,181,178) y disminuído (191). Existen otras determinaciones que son harto interesantes, como la del estudio de las subpoblaciones en pacientes con o sin vasculitis reumatoide; en donde se demostró que en los pacientes arteríticos existía un número de T8 disminuídas. También el análisis de las subpoblaciones en AR activas reflejó un aumento de las T4 y una disminución de las T8 (190). Los mecanismos por los cuales las diferentes subpoblaciones presentan diferentes porcentajes son desconocidos.

### 1.10.3 ANALISIS DE LOS LINFOCITOS EN LIQUIDO Y TEJIDO SINOVIAL

La presencia de un gran número de linfocitos T en la sinovial, así como el pequeño número de linfocitos B, indica la importancia del rol de los primeros. Proporciones aumentadas de linfocitos T, definidas por formación de rosetas o por el uso de anticuerpos monoclonales han sido demostradas, tanto en líquido sinovial como en tejido sinovial (196,197,198,199,200,201,202,203,183,194,204,205).

El estudio de las subpoblaciones linfocitarias en sinovial ha ofrecido resultados conflictivos. Los números de células T4 están aumentados (206,183,205,204), disminuidos (186) y normales (185). La mayoría de células T4 estaban en contacto con células que expresaban el HLA-DR. El análisis de células T 8 ha revelado números aumentados (187,204) normales (185) y disminuidas (186).

Para resolver este laberinto linfocitario, Kurosaka y Ziff (204) estudiaron las subpoblaciones linfocitarias en sinovial mediante un técnica inmunohistoquímica y de microscopía electrónica. El infiltrado perivascular mononuclear se demostró variable en tamaño y composición no solo en diferentes pacientes con AR sino también en el mismo paciente. Las áreas linfocíticas se componían principalmente de linfocitos pequeños, las áreas transicionales presentaban linfocitos, macrófagos, y células plasmáticas. En ambas áreas el 80% de los linfocitos eran CD3. En aquellos lugares ricos en linfocitos las células CD4 eran las predominantes, con un ratio CD4/CD8 aumentado. En las áreas transicionales, las CD8 predominaban dando lugar a un ratio disminuido.

Existe una concordancia de resultados respecto al número de células T que expresan el antígeno HLA-DR, todos los trabajos presentan un número aumentado de células activadas (206,178,192,185,205,206). Burmester et (179) categorizó las células T con expresión de HLA-DR en el tejido sinovial, la mayoría de estas células eran CD8 habiendo escasas CD4.

### 1.10.4 ANALISIS DE LAS CELULAS NK EN SINOVIAL Y SANGRE PERIFERICA EN LA AR

Así como la actividad de las células NK en el Lupus Eritematoso Sistémico y en el Síndrome de Sjogren están disminuidas (207,208), dichas células en la AR presenta resultados controvertidos que

probablemente reflejan diferentes criterios de selección de pacientes, diferentes técnicas y número variable de estas células en relación a la actividad de la enfermedad.

En sangre periférica la actividad de las células NK se encuentra disminuída, dicha disminución es más severa en pacientes con actividad de la enfermedad (209,210,). Existen en la literatura algunos trabajos que presentan una actividad de las células NK dentro de la normalidad (211,212). Sin embargo todos los autores están de acuerdo en que las células NK están disminuídas en sinovial.(211,212).

## 1.11 LINFOCITOS T,CELULAS NK,LINFOCITOSIS T CRONICA LEUCEMIA GRANULAR Y SF

### 1.11.1 INTRODUCCION

Existen numerosas enfermedades hematológicas que cursan con manifestaciones reumatológicas y viceversa; una clasificación simplista pero eficaz sería la siguiente:

Desórdenes de la célula roja.

- . Drepanocitosis.
- . Talasemias.

Desórdenes del almacenamiento del Hierro.

- : Hemocromatosis.

Desórdenes de la célula blanca

- . Leucemias : Agudas y Crónicas.
- . Linfomas .
- . Mieloma Múltiple.

Desórdenes de la Coagulación y de la plaquetas.

- . Hemofilia.
- . Anticoagulante Circulante-Cardiolipina  
y síndrome antifosfolípido.

Gota Secundaria.

A lo largo de la vida reumatológica de un especialista, no solo encontraremos dichas enfermedades, sino también leucopenias, trombopenias y anemias en el curso de un Lupus o una AR. Son pues frecuentes en la práctica médica (213).

Las leucemias, son por razones obvias el tema al que voy a centrarme.

#### 1.11.2 LEUCEMIAS

Las manifestaciones articulares en el curso de las leucosis son frecuentes, en concreto la artritis se evidencia un 13.5%, dicho porcentaje fue obtenido en una serie prospectiva de 74 pacientes (214).

#### 1.11.2.1 AGUDAS

El dolor articular y óseo son manifestaciones comunes y tempranas en las leucemias agudas, describiéndose en un 16.6%. La artritis suele ser asimétrica, poliarticular, aditiva y a menudo formar parte de la presentación de la enfermedad (214). La infiltración de la sinovial por células leucémicas ha sido demostrada en un cierto número de pacientes, y puede ser la causa de la artritis (214,215). Los resultados del líquido articular oscilan desde el líquido no inflamatorio hasta el marcadamente inflamatorio, con un número de células tan llamativo como 720.000 células mm<sup>3</sup> (214). Existen casos esporádicos de Leucemia mieloide aguda que se presentan como si fuesen verdaderos SF (216).

#### 1.22.2.2 CRONICAS

La artritis como manifestación clínica es menos frecuente en las leucosis crónicas que en las agudas, evidenciándose en un 12.4%. Se trata de una sinovitis asimétrica y de aparición tardía en el marco de la enfermedad de base. Tras la práctica de biopsia sinovial se ha objetivado un infiltrado leucémico (214,215,216). Aunque sin la presencia de artritis, recientemente se han descrito casos de Leucemia de células pilosas con vasculitis sistémica tipo Pan (218,219).

Una característica de la literatura concerniente a la relación entre leucosis y artritis es la poca frecuencia de Leucemias crónicas T que cursan con artritis. Las neoplasias de células B, o las leucemias linfoblásticas agudas son más comunes que los desordenes proliferativos de las células T (220), explicando probablemente la disparidad de frecuencias.

#### 1.11.3 DESORDENES MALIGNOS DE CELULAS T

#### 1.11.4 CLASIFICACION DE LOS DESORDENES MALIGNOS DE CELULAS T

Aunque la clasificación de las neoplasias de células T es un área polémica, se pueden dividir en dos grupos mayoritarios:



1. Proliferación de células inmaduras (linfoblastos), los cuales poseen en la membrana el fenotipo correspondiente a células tímicas y a sus precursores. En términos clínicos son agudas y afectan principalmente a niños y adultos jóvenes.

2. Proliferación de células T maduras, que presentan un fenotipo característico de células pos-tímicas, es decir linfocitos T periféricos. Estas afecciones se presentan casi exclusivamente en adultos y, con algunas excepciones son desordenes crónicos.

Aunque raro, su análisis y clasificación - siempre ayudado por el advenimiento de nuevas técnicas como los anticuerpos monoclonales - ha contribuído a clarificar los cambios que ocurren en la diferenciación de las células T, y al mismo tiempo conocer las diferentes funciones de las subpoblaciones linfocitarias (221).

## FIGURA 6 CLASIFICACION DE DESORDENES PROLIFERATIVOS DE CELULAS T

- |  |   |
|--|---|
| 1. Leucemia Aguda Linfoblástica T y<br>Linfoma Linfoblástico T.<br>Timocito temprano.<br>Timocito común.<br>Timocito tardío.   | Células inmaduras<br>Fenotipo Tímico          |
| 2. Leucemia Linfocítica/ Linfoma Linfocítico<br>Leucemia/Linfoma de cel. T del adulto.<br>Linfoma T zona.<br>Leucemia prolinfocítica T.<br><br>Leucemia Linfocítica T Crónica/ Linfocitosis T Crónica.<br>Linfomas Cutaneos T: Micosis fungoides y Sde de Sézary | Células maduras.<br>Fenotipo perifé<br>rico . |
| 3. Linfomas Raros.<br>Linfomas de células grandes- T inmunoblásticos.<br>Linfomas Mixtos linfoblásticos y linfocíticos del tipo T.<br>Linfomas con fenotipos compuestos.   |   |

En ocasiones es imposible distinguir entre un linfoma ( masa linfoide sólida) y una leucemia ( afectación de la sangre y la médula ósea), el término Linfoma-leucemia es entonces necesario. (221)

### 1.11.5 LINFOCITOSIS T CRONICA /LEUCEMIA LINFOCITICA T CRONICA

Los clínicos, a menudo, encontramos pacientes con linfocitosis absoluta o relativa; un análisis detenido de los tipos de linfocitosis en 145 pacientes muestra que 132 (93%) tenían una linfocitosis B, 5 (4%) presentaban una linfocitosis T, 2 (1%) leucemia de células pilosas y 6 (4%) tenían una linfocitosis reactiva (222,223). Es decir, se trata de

una entidad rara, especialmente si lo comparamos frente a las linfocitosis y leucemias de las células B.

El término Leucemia linfocítica T Crónica (LLTC) debería ser reservado a aquellas proliferaciones de células T con una morfología de célula T madura. Estos casos pueden ser fácilmente distinguidos de otros desórdenes de células T, aunque en algunas ocasiones la ausencia de clonalidad hara difícil la diferenciación con proliferaciones benignas de células T. El término Linfocitosis T Crónica (LTC) debería utilizarse en aquellos casos de linfocitosis de células T en los que no se demuestre clonalidad por análisis citogenético (221).

#### 1.11.5.1 LINFOCITOSIS T CRONICA(LTC)

Como ya mencionamos anteriormente, se incluyen aquí, aquellas proliferaciones de células T sin presencia de clonalidad.

#### 1.11.5.2 MORFOLOGIA Y CITOQUIMICA

Estas células presentan de forma típica un citoplasma abundante y gránulos azurófilos notablemente visibles. El examen por microscopia electrónica revela un ratio núcleo/citoplasma bajo, cromatina nuclear madura, Aparato de Golgi-Cajal activo, gránulos de tamaño medio adheridos a la membrana y filas de túbulos paralelos (221). La presencia de los mencionados gránulos azurófilos, ha hecho que esta entidad sea también llamada Leucemia Granular Linfocítica (224).

La reacción de ANAE es negativa o tiene un patrón débil difuso. La fosfatasa ácida es positiva, con característica localización granular, La beta-glucoronidasa y la beta glucosaminodasa son positivas (221).

#### 1.11.5.3 FENOTIPO LINFOCITARIO O MEMBRANOSO.

Las células evidencian E+, es decir forman rosetas, y son TdT-, reacción que caracteriza a los linfoblastos derivados del timo, presente en Leucemias Linfoblásticas T agudas y Linfomas linfoblásticos T y ausente en las proliferaciones postímicas (221,225, 226).

El fenotipo mas frecuente en la LTC y al mismo tiempo en la LLTC es CD3+, CD1 +/-, CD8+, CD4-, HLA-DR-/+. La positividad del HLA-DR es variable. Todos los pacientes estudiados tenían un incremento absoluto de las células T con el fenotipo de supresoras/citotóxicas, mientras las inductoras/helper están disminuídas. En 15 de 17 pacientes las células expresaban el receptor FC para la Ig G. (227).

#### 1.11.5.4 ESTUDIOS FUNCIONALES

Las células T de estos pacientes responden pobremente a los mitógenos como la concanavalina y la fitohemaglutinina y tambien a concentraciones mitógenas del anticuerpo UCHT1 (221).

La actividad natural killer por las células formadoras de rosetas era variable, en ocasiones reducida (221), en otras ausente (225,226). Sin embargo numerosos casos de células E+, CD3-, CD8+ con gran actividad natural killer han sido comunicados (220). Trabajos más recientes con anticuerpos monoclonales HNK-1 (Leu7) y B73.1 han mostrado que estas células expresan determinantes antigénicos que se expresan en las células natural killer (228).

#### 1.11.5.5 CLINICA

La edad de afectación tiene un margen amplio, siendo más temprana que en la Leucemia Linfocítica Cronica B. En la serie original de Brouet et al de 11 pacientes la edad era menor a 50 y las características clínicas más frecuentes fueron esplenomegalia en 10, hepatomegalia en 4, lesiones cutáneas en 4, uno de los pacientes comunicados presentaba una AR seropositiva (220).

En la completa serie de Newland et al (227) sobre 21 pacientes, la edad media de presentación era de 49.6 años con un rango de 4 a 78 años, esto contrasta con la edad media de la Leucemia Cronica Linfocítica B que suele afectar a pacientes con edad superior a 60. La forma de presentación fue variopinta, fiebre recurrente en 9 pacientes, con infección demostrada en 7, quebrantamiento del estado general en 6, dos de los cuales presentaban tambien pérdida de peso; un análisis rutinario en 5 pacientes, 4 de los cuales tenían una AR. El bazo era palpable en 16 enfermos y se evidenciaba hepatomegalia en en dos pacientes. Solo dos pacientes presentaban linfadenopatías. Las manifestaciones cutáneas, se

objetivaron en dos pacientes, sin embargo la biopsia cutánea no ofreció infiltrado linfocítico alguno. Es importante denotar que 7 de los enfermos presentaban una AR seropositiva y en todos ellos se consideró un SF.

El conteaje de los linfocitos mostró  $8.3 \times 10^9 / l$ , con un rango de  $0.75-24 \times 10^9 / l$ , aunque 6 en un principio tenía un número de linfocitos normal. La neutropenia se encontraba presente en 18 casos. El examen de médula ósea se realizó en 20 pacientes, en todos los pacientes menos en uno existía un infiltrado linfocitario. En aquellos con un infiltrado menor las células eran reconocidas por su morfología (227).

Posteriormente otros pacientes con poliartritis, neutropenia y elevado número de linfocitos granulares circulantes han sido descritos. En una de las series, sobre 5 pacientes con dichas características, todos ellos presentaban esplenomegalia y infecciones recurrentes. Así como la leucopenia no era constante, si se presentaba neutropenia en todos los pacientes y una linfocitosis absoluta en tres de ellos. La enfermedad articular, que como ya hemos dicho se manifestaba como una poliartritis afectaba principalmente a muñecas, metacarpo-falángicas, interfalángicas proximales y en dos casos se sumaban rodillas y hombros. Uno de los pacientes poseía nodulos y erosiones. El factor reumatoide era positivo en cuatro pacientes y los anticuerpos antinucleares también eran positivos. Por tanto todos los pacientes cumplían los criterios para el SF (228). Otros casos descritos no hacen más que confirmar la presunta asociación entre AR, neutropenia, y una linfocitosis a expensas de los linfocitos de gránulos grandes.(229).

#### 1.11.5.6 LEUCEMIA LINFOCITICA T CRONICA

Tanto la morfología celular como los antígenos de membrana reconocidos por los anticuerpos monoclonales son iguales en la LTC como en la LLTC. Existen diversas formas de demostrar el carácter neoplásico y no reactivo de una proliferación celular. En primera instancia se realizaron estudios citogenéticos, los cuales eran harto difíciles ya que es de vital importancia que las células estudiadas proliferen espontáneamente o bajo estímulo, características que las células granulares no cumplen. Sin embargo los estudios cromosómicos en este tipo de pacientes han mostrado anomalías cromosómicas en dos pacientes, concretamente una trisomía 8 y una trisomía 14, confirmando el carácter neoplásico de algunos casos de LTC. Uno de los pacientes presentaba artritis, neutropenia, factor reumatoide positivo y

infecciones recurrentes, el paciente en cuestión configuraba un SF (230). La segunda forma de averiguar el carácter clonal es mediante el estudio de los receptores linfocitarios por medio del análisis del DNA genómico y técnicas de Southern Blot. Es decir el estudio de los genes que codifican el receptor antigénico de la célula T(TI), este gen Ti consiste de cadenas alfa, beta y gamma que se organizan en el linfocito T maduro.

Mediante estas últimas pruebas se han comunicado casos de linfocitosis granular, con AR seropositiva, neutropenia y esplenomegalia que presentaban un anormalidad en el reordenamiento del receptor beta del linfocito T configurando una leucemia crónica, bautizada como LLTC o Leucemia T de gránulos grandes (231,232,233,234).

#### 1.12 HETEROGENEIDAD DEL SF

La historia del SF es ya de por sí confusa, en un principio se pensó que lo que Augustus Felty describió no era más que un Lupus Eritematoso Sistémico, incluso existieron trabajos que presentaban supuestos SF con la características lesión esplénica del bulbo de cebolla (235,236).

Un rigor científico cada vez mayor y el advenimiento de nuevas técnicas complementarias hicieron sustentar firmemente el diagnóstico de SF. Sin embargo, se presentaban series de SF con patrones medulares distintos, desde hipoplásicos hasta con infiltración linfoidea. La descripción de esta nueva enfermedad compuesta de linfocitosis periférica, esplenomegalia, citopenias y en ocasiones AR, además de autoanticuerpos hace pensar que en un pasado estos pacientes fueron incluidos bajo el término SF. Nuevamente, técnicas complejas pero de extrema utilidad, como la técnica del hibridoma y la genética molecular, fueron fundamentales para la definición de la LTC y la LLTC.

En la actualidad ante todo paciente con AR y neutropenia y esplenomegalia debemos tener presente la posibilidad de la LTC y la LLTC, para ello contaremos con algunas características clínicas que sugerirán se trate de un verdadero SF o de una LTC o LLTC.

La presencia de un gran número de manifestaciones extrarticulares indicarán la posibilidad de un SF ya que en las otras dos entidades son poco comunes. La observación de erosiones severas también es indicativo

de SF, ya que en las proliferaciones linfocíticas son escasas y ausentes. Por último el inicio de la neutropenia es concomitante con el de la artritis, dato no usual en el SF (230,231,229,237,238,232).

Otros datos que ayudarán para el diagnóstico será la práctica de un estudio de médula ósea para evidenciar la presencia de infiltrados linfoides. La tinción de las células mononucleadas con un panel de anticuerpos monoclonales, tan sencillos como CD3, CD4, CD8, HNK1, HLA-DR y la presencia de Fc para la IG G serán datos que decantarán la balanza a uno u otro lado, ya que el fenotipo linfocitario de pacientes con SF es diferente al de la LTC y la LLTC (239,240,241,242).

Por último si se objetiva tras estas pruebas que se trata de una LTC es importante analizar los receptores del linfocito T, para descartar la posibilidad de una Leucemia.

### 1.13 LEUCEMIA, AR Y HTLV-I

Existe evidencia sustancial que la Leucemia-Linfoma T del adulto esta causada por un retrovirus, el HTLV-I. Las características de dicha leucosis son diferentes, con presencia de núcleos polilobulados y falta de gránulos y con un fenotipo harto diferente: CD2+, CD3+, CD4+, CD8-DR+ y Tac+. Esta leucosis además de ser endémica en Japón, Caribe y Sur de USA, presentan unas características clínicas diferenciales: curso agudo y progresivo, infiltrados cutáneos, infecciones oportunistas, y hipercalcemia (220).

Starkebaum et al, en un elegante trabajo en el prestigioso Lancet muestra que el suero de 6 pacientes con LLTC reaccionó frente las proteínas p19 y p24 del retrovirus. Ningun suero control en el que se incluían 32 pacientes con AR, 27 con SF, y 11 con otras enfermedades del tejido conectivo reaccionaron. De notable importancia es el hecho que dos de los 6 pacientes con positividad para el HTLV-I presentaban una AR. El papel definitivo de los retrovirus en la LLTC, requerirá, estudios, asimismo la relación con la AR debe ser reexaminada dada la importancia evidente de cara a la etiopatogenia de la enfermedad (243).

## CAPITULO 2: MATERIAL Y METODOS

### 2.1 ESQUEMA DEL ESTUDIO

La tesis doctoral presentada versa a cerca del estudio clínico, serológico y linfocitario del SF.

Una vez elegido el tema del proyecto de investigación y consecuentemente el de la tesis. Se me administró una lista de pacientes afectos de SF controlados en dicho centro. Dichos enfermos fueron contactados mediante misiva en donde se expresaba la voluntad del autor en hacerles partícipes en un proyecto de investigación a cerca de la enfermedad que padecían.

Una vez recibidas las respuestas, aquellos que respondieron afirmativamente fueron citados en Consulta Externa del Hospital. Aquí debemos decir que todos ellos fueron citados y examinados a la misma hora, así, el autor efectuaba el interrogatorio, la exploración física del paciente y las extracciones de sangre pertinentes, tanto para el estudio de la Hematología como de la inmunidad humoral y celular.

La primera parte de la tesis incluye el examen clínico de 20 pacientes afectos de SF. Dicho estudio clínico es seguido de un análisis de datos hematológicos y además de un completo estudio serológico realizado por el autor.

La segunda parte de la tesis corresponde al estudio de los determinantes antigénicos de membrana de los linfocitos, llamado fenotipo linfocitario. Se analizan 20 pacientes afectos de SF, 20 con AR seropositiva y 20 controles con Osteartrosis. La hipótesis planteada era el observar si el fenotipo linfocitario de la AR y el SF era similar o diferente, así mismo nos planteamos la posibilidad de una heterogeneidad del mismo SF mediante el análisis con anticuerpos monoclonales

Durante los primeros 14 meses, se llevó a cabo el trabajo práctico - el autor hizo personalmente todas las técnicas expresadas en el trabajo



posteriormente se efectuó la evaluación de los datos, asesoría estadística y escritura de la tesis.

Además del consentimiento firmado del paciente, el trabajo fue aprobado por el comité de ética del Royal National Hospital for Rheumatic diseases.

## 2.2 POBLACION A ESTUDIO

Como mencioné anteriormente se trabajó con tres grupos de población diferentes: Felty, AR y grupo control, mayoritariamente compuesto de pacientes con osteartrosis.

El criterio de selección para los dos primeros grupos (SF y AR) fue la presencia de artritis reumatoide definida y/o clásica siguiendo los criterios de la Asociación Americana de reumatología (ARA) revisados por Ropes en 1985 (247). En el caso del SF los criterios utilizados:

- Artritis Reumatoide definida por la ARA.
  
- Leucopenia inferior a  $3.500 \text{ mm}^3$  ( $3.5 \times 10^9/l$ ) y/o neutropenia inferior a  $2000 \text{ mm}^3$  ( $2.0 \times 10^9/l$ ).
  
- palpación de esplenomegalia o detección por gammagrafía isotópica.

Todos los pacientes habían cumplido los criterios mencionados, algunos de los casos dada la evolución del SF a la curación espontánea o a la mejoría con el tratamiento en el momento de su evaluación no presentaban la totalidad de los criterios.

El tercer grupo se trataba de pacientes en fase de rehabilitación a causa de una osteoartritis, en todos los casos los reactantes de fase aguda se encontraban dentro de la normalidad.

Los criterios de exclusión en el casos del SF tenía en cuenta una serie de enfermedades: Amiloidosis, Linfomas, síndromes mieloproliferativos, citopenias por drogas, anemia aplásica, virasis, absceso esplénico, endocarditis, tuberculosis. Todos ellos pueden cursar con alguna de los criterios mencionados y fueron descartados mediante una anamnesis correcta, exploración física y hemograma completo.

Los pacientes fueron examinados consecutivamente en la Consulta externa (out patient clinic) del Royal National Hospital for Rheumatic Diseases, sito en Bath, Inglaterra, Reino Unido.

La recogida de datos se inició en Agosto de 1987 y finalizó en Diciembre de 1988. Durante 1989 y parte de 1990 se ha realizado la asesoría estadística y la escritura de la tesis.

Tras la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, se obtuvo una población muestral integrada por 60 pacientes. Subdivididas en 20 SF, 20 AR y 20 controles. Edad media 63.1833, Desviación Standard 9.7988, distribución sexual 48 mujeres y 12 varones.

### 2.3 VARIABLES DEL ESTUDIO

En el primer grupo (SF) se realizó un completo estudio clínico y serológico sin grupo control de AR o normales.

1. Sexo

2. Edad: en el momento del estudio

3. Esplenomegalia mediante palpación física.

4. Erosiones radiológicas: objetivadas mediante radiografía palmo-placa

de manos, realizada en el día de la evaluación del paciente.

5. Presencia de infecciones.

6. Infección respiratoria.

7. Infección cutánea.

8. Infección otorrinolaringológica.

9. Infección urinaria.

10. Artritis séptica.

11. Nodulos subcutáneos: Objetivados en el examen físico del paciente en localizaciones típicas de la AR, no se realizó biopsia.

12. Hepatomegalia: Objetivada en la exploración física en el momento de la evaluación del paciente mediante palpación física.

13. Pérdida de peso: más del 20% del peso corporal.

14. Polineuritis: determinada mediante exploración física, excluidas causas comunes, y con electromiografía compatible.

15. Historia de Vasculitis: en forma de mononeuritis multiplex. Dato revisado en la historia.

16. Hiperpigmentación: objetivadas por el autor.

17. Escleritis: objetivada por el autor durante la exploración física y confirmada por el Oftalmólogo.

18. Ulceras piernas: de localización típica, profundas y descartándose las secundarias a problemas de retorno venosos u otras causas. Objetivadas en la exploración física.
19. Infiltrado pulmonar: radiología y broncoscopia con biopsia posterior.
20. Adenopatías: objetivadas por el autor.
21. Rigidez matutina: en minutos.
22. Índice de Ritchie (244). Realizado por el autor y siempre a la misma hora.
23. Capacidad funcional de Steinbroker (245).
24. Hemoglobina en gr/dl.
25. Volumen corpuscular medio.
26. Plaquetas en  $10^9/l$
27. Leucocitos en  $10^9 /l$
28. Neutrófilos  $10^9 /l$
29. Linfocitos  $10^9 /l$
30. Viscosidad.
31. Complemento C3.

32. Complemento C4.
33. Proteína C reactiva.
34. ANAS en sustrato de rata.
35. ANAS en línea celular HEP 2.
36. Patrón ANAS en sustrato de rata.
37. Patrón ANAS en línea celular.
38. ENAS en Inmmodifusión pasiva Duchterlony.
39. Tipos de líneas de precipitación en Duchterlony.
40. ENAS en contrainmunolectroforesis.
41. Tipos de líneas de precipitación en contrainmunolectroforesis.
42. Anticuerpos Cardiolipina.
43. Anticuerpos Cardiolipina Ig G.
44. Anticuerpos cardiolipina Ig M.
45. Estudios de médula ósea practicados.
46. Patrones medulares.

A continuación mencionaremos aquellas variables comunes a los tres

grupos y que corresponden al estudio del fenotipo linfocitario.

1. Edad.
2. Sexo.
3. Leucocitos  $10^9$  /l.
4. Linfocitos  $10^9$  /l.
5. Células T 3- Cd 3. en % y en números absolutos.
7. Células T 4-Cd 4 en % y en números absolutos.
8. Índice T4-CD4/ T8-Cd 8 en % y en números absolutos.
9. Células NK - natural killer o asesinas naturales en % y en números absolutos.
10. Celulas activadas o con HLA clase II en % y en números absolutos.
11. Celulas activadas con expresión de DQ en % y en números absolutos

#### 2.4 TECNICAS DE LABORATORIO UTILIZADAS PARA EL ANALISIS DE PARAMETROS HEMATOLÓGICOS, SEROLÓGICOS Y LINFOCITARIOS.

A continuación citaremos uno a uno, las diferentes técnicas utilizadas para determinar los parámetros. Obviamente existen métodos de laboratorios muy automatizados en el que una explicación detallada no da a lugar en el contexto de esta tesis .Las técnicas detalladas son las que realizó el autor de la tesis personalmente.

##### 2.4.1 RUTINARIAS

Hemoglobina.- Determinada por Coulter.Unidades Gr/dl.

Leucocitos y fórmula.- Determinado por Coulter.En todos los casos se obtenía el número de linfocitos. En el supuesto de una leucopenia severa siempre se obtenía el resto de la formula.

Volumen Corpuscular Medio.- Coulter.Unidades femtolitros.

Plaquetas.- Coulter.

Viscosidad.-cp

Factor Reumatoide.- Nefelometría. Unidades UI/ml.  
Hyland Disc 120 Laser.Nephelometer.  
Lorne laboratories LTD. PO Box 6.Twyford.Reading.  
Berkshire R610 9WL.U.K

Proteína C reactiva.- Nefelometría. Unidades ng/l  
Hyland Disc 120 Laser.Nephelometer.  
Lorne laboratories LTD.PO Box 6.Twyford.Reading.  
Berkshire. R610 9WL.U.K

C3 Y C4.- Nefelometría.Unidades Gr/l.  
Hyland Disc 120 Laser.Nephelometer.  
Lorne laboratories LTD.PO Box 6. Twyford.Reading.  
Berkshire.R610 9WL.U.K

Anticuerpos antinucleares en sustrato de rata.- Técnica de Inmunofluorescencia en sustrato de rata.  
Rat/mouse substrates .Biodiagnostics.Lambourn House.Wells Road.Malvern Wells.Worcestershire W 14 4 P6.U.K

#### 2.4.2 NO RUTINARIAS

##### 2.4.2.1 ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN LINEA CELULAR HEP 2

Anticuerpos antinucleares en línea celular HEP 2.- Técnica de Inmunofluorescencia. Línea celular obtenida en el propio laboratorio.

#### 2.4.2.1.1 INTRODUCCION:

Hargraves, Richmond y Morton descubrieron el fenómeno LE en el año 1948, dicho fenómeno es debido a la presencia de un anticuerpo que no es más que uno de los muchos anticuerpos que reaccionan con los antígenos nucleares en varios tejidos y especies (246).

A partir de entonces la investigación de los ANA ha avanzado mucho. Se ha demostrado que en el test de inmunofluorescencia indirecta para los ANA la sensibilidad varía según el sustrato que se utilice. Diversos estudios han demostrado que los sustratos de líneas celulares muestran mayor sensibilidad que las secciones tisulares. Las líneas celulares representan una población celular homogénea, por el contrario las secciones tisulares contienen generalmente dos o más tipos de células morfológicamente distintas haciendo dificultosa la identificación de los patrones y siendo menos específica la fluorescencia. Otra importante razón es que la mayoría de líneas celulares carecen de matriz extracelular, colágeno, elastina y glicosaminos por contra las secciones tisulares son ricas en estas sustancias haciendo la interpretación más ardua y menos específica (246).

#### 2.4.2.1.2 MATERIAL Y REACTIVOS:

1. HEP 2 substrate.  
Biodiagnostics. Wells road. Malvern Wells. Worcestershire W14 4PG.  
U.K
2. PBS Phosphate Buffered Saline. Tablets 100.(ph 7.3).  
Oxoid . Wade Road. Basingstoke. Hampshire R624 ODN. U.K.
3. Anti-human Polyvalent Immunoglobulin FITC conjugate. Antibody developed in goat.  
Sigma Chemical Ltd. Fancy Road. Poole. Dorset. BH17 7WN. U.K
4. Evans Blue Counterstain.



Sigma Chemical Ltd. Fancy Road. Poole. Dorset. BH17 7WN. U.K

5. Microscope Leitz SM. Lux with epi-illumination.  
48 Park street. Luton. LU 1 3HP. U.K

6. DABCO. 1,4 Diazobicyclo (2,2,2) Octane Triton x.  
Sigma Chemical Ltd. Fancy Road. Poole. Dorset. BH17 7WN. U.K.

7. Clear Nail Protector.  
Pavlon Ltd. New York .NY 10960. USA.

#### 2.4.2.1.3 METODICA DE TRABAJO:

1. Diluir el suero problema a 1/40 con PBS (Oxoid).

2. Tomar portaobjetos comercial con pocillos en donde se encuentran las células HEP 2 (Biodiagnostics). Cada portaobjetos tiene 10 pocillos.

3. Añadir 10-20 microlitros de un control negativo en el pozuelo número 1. Añadir 10-20 microlitros de un control positivo en pozuelo número 2. Añadir 10-20 microlitros de cada uno de los sueros a evaluar, cada suero en un pozuelo correspondiente. Se debe tener cuidado en no llenar los pozuelos de tal forma que no desborde el mismo. Utilizar una pipeta para cada suero.

4. Incubar las preparaciones en cámara húmeda a temperatura ambiente durante 30 minutos.

5. Recuperar las preparaciones y aclarar con PBS (Oxoid) mediante pipeta Pasteur, el chorro debe ser enfocado de forma oblicua al portaobjetos nunca hacerlo perpendicular a la preparación.

6. Introducir la preparación en una jarra de Coplin con PBS (Oxoid) y dejarlo durante 10 minutos. Agitar al principio, a los 5 minutos y al final.

7. Extraer la preparación y dejar que se escurra pero sin secarse. Bañarlo sucesivamente en agua destilada para remover el PBS (Oxoid) restante. No dejar que se seque.

8. Poner nuevamente la preparación en cámara húmeda y inmediatamente añadir la inmunoglobulina anti-humana conjugada (Sigma). Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente protegiéndola de la luz.

9. Realizar el mismo procedimiento que el paso 5. Una vez aclarado se añaden azul de Evans (Sigma).

10. Introducir en jarra de Coplin con PBS (Oxoid) y dejarlo 10 minutos. Agitar la preparación al principio, a los 5 minutos y al final.

11. Extraer la preparación y bañarla en agua destilada para remover el PBS (Oxoid) sobrante. Secar levemente un papel secante puesto en el borde del portaobjetos.

12. Añadir DABCO (Sigma), 4-5 gotas distribuidas en la preparación.

13. Poner un cubreobjetos de 22 x 64 mm y sellar con laca de uñas translúcida (Pavlon).

14. Leerlo en microscopio de fluorescencia (Leitz).

#### 2.4.2.1.4 INTERPRETACION

Existen 4 importantes patrones de identificación tanto en líneas celulares como en secciones tisulares de rata o riñón. Estos son:

homogéneo  
periférico  
moteado  
nucleolar

todos ellos son perfectamente distinguibles según la forma de distribución de la fluorescencia (246).

#### 2.4.2.2 CARDIOLIPINA

##### 2.4.2.2.1 INTRODUCCION

Los anticuerpos antifosfolípido pueden ser detectadas mediante precipitación o fijación del complemento (VDRL), el test del anticoagulante lúpico, radioinmunoensayo y por ELISA.

Los anticuerpos anticardiolipina , determinados por ELISA , han sido evaluados en el contexto de enfermedades del tejido conectivo y AR. Su valor asociativo en el contexto del Lupus eritematoso y trombosis recurrentes y trombocitopenia es un hecho establecido (74).

##### 2.4.2.2.2 MATERIAL Y REACTIVOS

1. Polystyrene plates.  
Nunc Inmuno I. U.K.
2. Cardiolipin. Anti-human IgG. Anti-human Ig M.  
Sigma Chemical Ltd CO. Fancy Road. Poole Dorset. U.K

3. Phosphate Buffered Saline (PBS).Tablets 100(ph 7.3).  
Oxoid.Wade Road.Basingstoke.Hampshire R6 240PN.U.K.
4. Foetal Calf serum.  
Imperial Laboratories.West Portway.Andover.Hampshire SP10 3LF.U.K.
5. Alkaline Phosphatasa conjugated Goat anti-human Ig G and IgM.  
Sigma Chemical Ltd Co.Fancy Road .Poole Dorset .U.K
6. P Nitrophenil Phosphate tablets.  
Sigma Chemical Ltd. Co.Fancy Road. Poole. Dorset.U.K
7. Dynatech Mr 580 Microelisa Auto reader.  
Dynatech Laboratories Ltd.Daux Road.Billinghurst.Sussex RH 14 9SJ.U.K
8. Sodium Carbonate- Sodium Hidrogen Carbonate.  
BHD Analar.BHD Limited Poole.U.K

#### 2.4.2.2.3 METODICA DE TRABAJO

Todos los pasos se realizan a temperatura ambiente.

1. Cubrir los pozuelos de la placa Elisa (Nunc Inmuno I) con Cardiolipina (Sigma)4.9 mg/ml a una concentración en metanol de 50 microgramos/ml.Los pozuelos externos no se utilizan.En la mencionada placa siempre habrá pozuelos con control positivo y suero normal.
2. Dejar que se evapore .Aproximadamente una hora.
3. Lavar 3 veces las placas con PBS (Oxoid).
4. Bloquear las placas con Suero fetal de timo (Imperial Lab) al 10%. Añadir 100 micolitros por pozuelo y incubar durante dos horas.Cubrir las placas.

5. Lavar las placas tres veces con PBS (Oxoid).

6. Diluir el suero 1:50 en Suero fetal de timo y PBS.(20 microlitros en 980 micolitos).Añadir 100 micolitos por pozuelo. Hacerlo en duplicado.Incubar una hora.

7. Lavar 3 veces en PBS (Oxoid). En el primer lavado no llenar los pozuelos, existe posibilidad de contaminación por los sueros vecinos.

8. Diluir el conjugado-fosfatasa alcalina( Sigma) al 1/1000 en 10% de suero fetal timo/PBS.Añadir 100 micolitos por pozuelo y incubar durante una hora.

9. Lavar tres veces en PBS (Oxoid).

10. Hacer sustrato en tampón de Carbonato :1.05 gr de Carbonato sódico hidrogenado + 1.33 Carbonato sódico anhidroso. 500ml en H2O2 y Ph de 9.6.Añadir una tableta de p-nitrofenil fosfato por cada 5 ml de tampón.

11. Añadir 100 micolitos en todos los pozuelo y esperar su lectura Dynatech Mr 500 Microelisa autoreader hasta que el suero control positivo (desviación standard tope) alcance una lectura de 1.0.

#### 2.4.2.2.4 INTERPRETACION

El resultado se expresa en desviaciones standard. El sistema empleado fue validado por un reciente Workshop en relación a los anticuerpos Cardiolipina. Toda desviación standard por encima de 2.0 se considerará como positiva.

#### 2.4.2.3 ANTIGENOS EXTRAIBLES DEL NUCLEO (ENA) CONTRAINMUNOELECTROFORESIS- CIE

##### 2.4.2.3.1 INTRODUCCION

Anderson fue el primero en detectar la precipitación de anticuerpos frente a antígenos incluidos en extractos de tejido en sus estudios del Síndrome de Sjogren. Desde entonces un número determinado de anticuerpos han sido descritos, principalmente en el Lupus Eritematoso Sistémico y en el Síndrome de Sjogren. Los anticuerpos más frecuentes son: RNP, SM, RO Y LA (246).

Aunque existen diferentes técnicas de determinación hemos utilizado la Contrainmunolectroforésis y la Inmunodifusión pasiva método de Duchterlony.

El método de contrainmunolectroforésis es cinco veces mas sensible que el de inmunodifusión pasiva, en ocasiones la identificación de una línea de precipitación es algo dificultosa debido a la poca concentración del anticuerpo en el suero examinado. El principio en que se basa está técnica es la difusión en un gel de agar de un anticuerpo hacia un antígeno, en este caso la difusión es ayudada por una corriente eléctrica (246).

#### 2.4.2.3.2 MATERIAL Y REACTIVOS

1. Placas de cristal de 80 x 80 mm.
2. Tanque de electroforésis.  
Shandon Southern Products Co Ltd. Chadwick Road.  
Astmoor. Runcon. Cheshire. U.K.
3. Whatmans filter paper n 1.  
Whatman Ltd. Springfield Mill. Maidstone. Kent ME14 2LE. U.K
4. Grupo electrógeno capaz de 200 voltios.  
Shandon Southern Products Co Ltd. Chadwick  
Road. Astmoor. Runcorn. Cheshire. U.K.
5. Agarose Type 1.  
Sigma Chemical Ltd Co. Fancy Road. Poole .Dorset. U.K.

6. Trefina de 4 mm de diámetro.
7. Tampón de Barbitol. 11.9 de Barbitol Sódico más una cantidad pequeña de agua destilada para su disolución. Añadir 13.75 ml de ácido clorídrico diluido al 1/10. Hacer hasta un litro disuelto en agua destilada y con un Ph de 8.2.
8. Barbitone sodium.  
BHD Analar. BHD Chemicals Ltd Poole. U.K
9. Hydrochloric Acid sp gr 1.16.  
BHD Analar. BHD Chemicals Ltd Poole. U.K
10. Extractos de antígeno para Bazo humano y Timo de carnero.  
Bath Institute for Rheumatic Diseases. Trim Street. Bath. U.K
11. Anticuerpos proporcionados por sueros prototipo para Sm, Rnp, Ro, La.  
Bath Institute for Rheumatic Diseases. Trim Street. Bath. U.K

#### 2.4.2.3.3 METODICA DE TRABAJO

1. Preparación de las placas de agarosa.
  - a. Dos gr de agarosa (Sigma) mas 100 ml de barbitol (BHD Anala). Remover y calentar hasta que tome un carácter translúcido.
  - b. Pipetear 12 ml de la solución de agarosa en frascos y guardarlos a - 4 grados Celsius.
2. Método de CIE.
  1. Calentar en agua hirviendo la solución de agarosa hasta que tome un carácter translúcido.

2. Vertir en las placas de cristal sobre tabla niveladora.
3. Permitir que las placas de agarosa se endurezcan, para ello introducirlas con una cámara húmeda en una nevera durante una hora.
4. Extraer las placas y con un modelo de plantilla previamente realizado realizar agujeros (4mm) con la trefina: 2 filas de 9 pozuelos separados cada uno de 6mm horizontalmente y 2mm verticalmente.
5. Llenar el tanque de electroforésis (Shandon Southern) con la solución tampón. Colocar las placas de agarosa en el tanque y con el papel de filtro hacer que contacte con solución tampón. Los pozuelos deben ser llenados tan pronto como sea posible. En primer lugar, se llenarán con 20 microlitros de cada suero a examinar los pozuelos del lado anódico.
6. Conectar y realizar electroforésis durante 20 minutos a 12,5 Ma por placa.
7. En un segundo estadio se añaden en el lado catódico los extractos de antígeno. Se electroforesa durante 60 minutos.
8. Leer las placas inmediatamente, a la hora y a las 24 horas.

#### 2.4.2.3.4 INTERPRETACION

Se realizaban en primer lugar una serie enfrentando los sueros a examinar frente a antígenos de timo de carnero y bazo humano. Las líneas de precipitación que aparecían en un cierto número de sueros eran anotadas.

Los sueros que habían presentado precipitación eran enfrentados al mismo antígeno y a los anticuerpos Sm, Rnp, Ro, La. Mediante este último paso se objetivaban líneas de identificación frente a los anticuerpos prototipo.



#### 2.4.4.4 ANTIGENOS EXTRAIBLES DEL NUCLEO (ENA). INMUNODIFUSION PASIVA METODO DE OUCHTERLONY

##### 2.4.4.4.1 INTRODUCCION

El método de Ouchterlony es uno de los métodos más simples y más informativos. Se permite difundir libremente al anticuerpo frente a un antígeno a través de un gel de agarosa. Una línea de precipitación se forma en el lugar de encuentro de ambos reactantes. La posición de la línea de precipitación vendrá determinada por la concentración del antígeno y del anticuerpo en el agar, y por el peso molecular de los reactantes. (246)

##### 2.4.4.4.2 MATERIAL Y REACTIVOS

1. Cápsulas de Petri. 50mm diámetro x 20mm profundas.  
Sterilin House. Clokhouse Lane. Feltham. Middlesex TW 14 8Q2. U.K
2. Agarosa Tipe 1 .Loweed.  
Sigma Chemical CO LTD. Fancy Road. Poole. Dorset. U.K
3. Punch n 1 de 4mm y Punch n 4 de 7 mm.
4. Tabla niveladora.
5. Medio de Ouchterlony: Stock solutions de 1 Molar  $\text{NA H}_2 \text{Po}_4$  y 1 molar  $\text{Na}_2 \text{H Po}_4$  . Se toman 4.2 cc de primero más 5.8 cc del segundo. Se añade 0.5 gr de Sodium Azide y 4.38 gr de Cloruro sódico. Añadir 45 ml de agua destilada. Ph de 7. Ajustar el volumen final a 500 ml.
6. Sodium Chloride (cloruro sódico).  
BHD Analar .BHD Limited. Poole. England. U.K.
7. Sodium Azide.  
Sigma Chemicals Co Ltd. Fancy Road. Poole. Dorset. U.K

8. Extractos de antígeno de bazo humano y timo de carnero.  
Bath Institute for Rheumatic Diseases. Trim Street. Bath. U.K.

9. Anticuerpos prototipo para Ro,La.Rnp.Sm.  
Bath Institute for Rheumatic Diseases. Trim Street. Bath.U.K.

#### 2.4.2.4.3 METODICA DE TRABAJO.

1.Preparación de las placas de Duchterlony.

a. Mezclar 3 gr de agarosa(Sigma) con 500 ml del Buffer-tampón .  
Calentar y ir agitando hasta que quede translúcido. Verter en frascos  
y almacenar a 4 grados Celsius

b. Calentar uno de los frascos hasta que la solución quede translúcida.

c. Pipetear 7 ml en cápsulas de Petri (Sterilin) en una tabla  
niveladora.Permittir solidificación a temperatura ambiente.

d. Colocar las cápsulas de Petri(Sterilin) boca abajo en nevera durante  
una hora para permitir que la agarosa se endurezca.

2. Metodo Duchterlony.

1. Hacer pozuelos con punch. Un pozuelo central de 7mm rodeado de 7  
pozuelos periféricos 4 mm. La distancia entre el pozuelo central y  
los periféricos no debe exceder los 3mm. En las placas de Petri  
existe espacio suficiente para dos conjuntos de pozuelos central  
rodeados de 7 periféricos.

2. Poner suero del antígeno (100 microlitros) en pozuelo central, poner  
suero a examen (20 microlitros) en los pozuelos periféricos. Dejar  
las cápsulas de Petri durante 24 horas a temperatura ambiente. Leer  
con ayuda de una luz a las 24 y 48 horas.

#### 2.4.2.4.4 INTERPRETACION

La lectura de las capsulas de Petri usando el método de Inmuno-difusión pasiva-Ouchterlony es extremadamente sencillo. Una vez sabemos aquellos sueros con precipitación frente a timo de carnero o bazo humano los enfrentamos de nuevo a estos antígenos, alternando en pozuelos periféricos todos los sueros positivos con los diferentes anticuerpos :Ro, La, Sm ,Rnp.(246)

Las líneas de precipitación serán de identificación, de parcial identificación y de no identificación .

#### 2.4.2.5. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA PARA EL ESTUDIO DE LOS FENOTIPOS LINFOCITARIOS

##### 2.4.2.5.1 INTRODUCCION

La inmunofluorescencia es una técnica histoquímica utilizada para la localización de antígenos. A modo de recordatorio: un anticuerpo específico es conjugado con componentes fluorescentes, resultando un marcador sensible con una capacidad inmunológica íntegra. Dicho suero es añadido a las células o tejidos a examinar, formándose un inmunocomplejo estable. Otras proteínas son eliminadas mediante lavados sucesivos, el resultado se examina en un microscopio de fluorescencia.

Existen dos métodos clásicos, el directo y el indirecto. En la tesis hemos utilizado un método de inmunofluorescencia indirecto.

##### 2.4.2.5.2 MATERIAL Y REACTIVOS

1. Tubos de Polipropileno de 50 ml y 15 ml. Polypropylene Conical tubes. Falcon Products. Becton Dickinson Labware. Becton Dickinson Co. 2 Bridge Water Lane. Lincoln Park. New Jersey 07035. U.K
2. Heparin Injection B.P (Monoparin) 1000 units/ml. CP Pharmaceutics Ltd. Wrexham .U.K.
3. Ficoll Paque for isolation of human lymphocytes. Pharmacia Ltd. Pharmacia House. Midsummer Boulevard. Central Milkton

Keynes.Bucks MK 9 3 HP.U.K

4. MSR Centaur 2. Bench top Centrifuge.  
MSE Scientific Instruments.Mamor Royal.Crawley.Sussex RH 10 2QQ.U.K
5. Phosphate Buffered Saline(PBS) tablets 100(Ph 7.3).  
Oxoid.Wade Road Basingstone.Hamshire R6 24 OPN.U.K
6. D-Glucose.BHD Analar.  
BHD Chemicals LTD Poole .U.K.
7. Albumin Bovine 98-99% albumin, free of globulins.  
Sigma Chemical Ltd. Fancy Road.Poole. Dorset. U.K.
8. Pipetas Pasteur.. Volac Disposable glass pasteur pipettes 145 mm.  
Jhon Poulten Ltd.77-93. Tanner Street Barking. Essex.U.K.
9. ARH Counting chamber.Improved Neubauer.  
Arnold R Horwell Limited. 73 Maygrove Road London NW6 2BP.UK.
10. Nunclon Delta A/S Nunc.  
Post Box 280 Kamstrup.DK 4000 Roskilde.Denmark.
11. Blood cell mixer.  
Jencons Scientific Ltd. Mark Road. Hemel Hampstead Herts England.UK.
12. Anti mouse Ig G (whole molecule).FITC Conjugate F<sub>1</sub>(ab)<sub>2</sub> fragment.  
Sigma Chemicals Ltd Cop.Fancy Road.Poole, Dorset.U.K
13. DABCO 1-4 Diazobicyclo (2,2,2) octane triton x.  
Sigma Chemical Ltd Co. Fancy Road .Poole, Dorset.U.K.
14. Coverslips 22 x64.  
LSL (UK) LTD.246 Whitwoth Rd Ruchdale.Lancashire,U.K.

15. Multispot Microscope Slides.  
Hendley Essex. PTFE specialiced coatins. Hendley Essex LTD. Oakwood Hill.Industrial State. Loughton. Essex England.U.K

16. Monoclonales:

- OKT3-CD3,OKT8-CD8,HNK 1(células NK),Leu10-anti HLA DQ,WR 18-anti HLA clas II(DQ,DR,DF). Obtenidos de Monoclonals Antibodies Unit.University of Southampton.Tenovus Laboratories.Tremona Road.Southtamton.U.K
- OKT4-CD4.Monoclonals mouse antibodies to human helper/inducer T cells. (DAKO-T4).DAKOPATTS.

17. Clear Nail Protector.  
Pavlon Ltd.N York Ny 10960.USA.

18. Formalina. Formaldehyde Solution.  
BHD Chemicals Ltd Poole England.U.K.

19. Microscope Leitz SM Lux. with epi-illumination.  
48 Park street Luton.U.K.

#### 2.4.2.5.3 METODICA DE TRABAJO

1.Preparación de Buffers-tampones:

- PBS G : 1.6 gr glucosa (Analar) + 1 L PBS (Oxoid).
- PBS A: 2 gr Albumina bovina (Sigma) + 1 L PBS (Oxoid).

2. Extraer 10 ml de sangre problema. Todas las extracciones se realizaban entre las 8 horas de la mañana y las 9.30 para evitar variaciones en el número de los linfocitos. La sangre se introducía en tubos de propileno (Beckton Dickinson) con una pequeña cantidad de heparina (CP Pharmaceutics) para evitar coagulación.

3. Aplicar de forma muy lenta los 10 ml de sangre sobre 4 ml de Fycoll

(Pharmacia). Es conveniente realizar esta operación en cámara de flujo laminar.

4. Centrifugar 30 minutos (MSE Scientific Instruments) lo anterior a Temperatura ambiente y a 1.200 rpm.
5. Recuperar la interfase de células mononucleares con pipeta Pasteur (Jhon Poulten).
6. Lavar (mezclar y centrifugar) 1 vez con PBS-G. 10 minutos a 1.200 rpm.
7. Decantar sobrenadante y añadir 1 ml de PBS-G. Resuspender las células.
8. Añadir 10ml de PBS-G.
9. Centrifugar lo anterior a 1.200 rpm durante 10 minutos.
10. Decantar el sobrenadante y resuspender en 1ml de PBS-A.
11. Preparar un tubo con 1 ml de líquido para contar células y añadir microlitros de de la suspensión celular.
13. Contar con cámara de Nembauer (Arnold R Howell Limited). Ajustar la suspensión celular a 2.5 millones /ml.
14. Aplicar 50 microlitros de la suspensión sobre placa con pozuelos múltiples (Numclon DeltaA/S Nunc). Un pozuelo con 50 microlitros por cada anticuerpo monoclonal más un control.
15. Añadir los anticuerpos monoclonales (University of Southampton, Dakopats y Coulter Co).
16. Incubar con mezclador, 30 minutos en nevera (Jencons Scientific).

17. Lavar 4 veces con PBS-G.30 segundos a 2000 rpm.
18. Preparar dilución 1/30 con anticuerpo con fluoresceína.(Sigma).
19. Resuspender las células en antisuero diluido al 1/30.
20. Incubar 30 minutos en mezclador (Jencons Scientific).
21. Lavar 4 veces con PBS-A.
22. Resuspender en 25 microlitros de PBS-A.
23. Poner 2 microlitros de cada uno de los pozuelos en portaoobjetos multi-spoted.(Hendley Essex) Numerar cada pozuelo.
24. Extender los 2 microlitros a lo largo y ancho de cada pozuelo.
25. Ponerlo en un contenedor con vapor de formalina.(BHD Chemicals).15 minutos.
26. Dejar que la preparación se sequé.
27. Aplicar sobre la preparación gotitas de DABCO.(Sigma)
28. Poner cubreobjetos (LSL) y sellar con esmalte de uñas.(Pavlon).
29. Leerlo al microscopio (Leitz).

#### 2.4.2.5.4 INTERPRETACION

La lectura es sencilla, aquellos determinantes antigénicos dispuestos sobre la membrana de la célula mononucleada y marcados por el

anticuerpo monoclonal y la antiglobulina con fluoresceína, brillan una vez colocado el filtro del microscopio (Leitz). Cuidadosamente se cuentan las células que fluorescen, necesitando por lo general de dos a tres campos.

Todos los portaobjetos con sus pozuelos correspondientes eran leídos inmediatamente a su preparación. En el caso de no poder leerse se guardaban en cámara húmeda oscura, para ser leídos en las siguientes 24 horas.

Para establecer el tanto por ciento se contaban 200 células. Para determinar el valor absoluto, se deducía del mencionado tanto por ciento y del número absoluto de linfocitos, según una fórmula leucocitaria obtenida el mismo día.

Es muy importante resaltar que se dio en todo momento más importancia para la interpretación de los resultados, las cifras en números absolutos de T3, T4, T8, Nk, WR18 Y DQ. Escogiendo la cifra en porcentaje para la valoración del índice T4/T8.

## 2.5 METODOLOGIA ESTADISTICA.

El análisis estadístico de la presente tesis se ha realizado mediante el paquete integrado SPSS del Centro de Cálculo de la Universidad de Barcelona utilizándose las pruebas siguientes:

- . Estudio descriptivo.
- . Verificación condiciones de aplicación.
  1. Test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov.
  2. Test de Bartlett-Box F.



3. Test "F" de Snedecor.

. Análisis Estadístico.

1. Test de Krustar Wallis. Analisis de varianza.

2. Test "U" de Mann Whitney. Comparación de tendencias centrales en dos muestras independientes.

3. Coeficiente de correlación ordinal de Spearman.

### CAPITULO 3: RESULTADOS

#### 3.1 ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS PACIENTES AFECTOS DE SF.

##### 1. SEXO

	FRECUENCIA	%
Mujer	16	80.0
Varón	4	20.0

##### 2. EDAD

MEDIA	MINIMA	MAXIMA	D.STANDAR
62.35	47	76	8.8215

##### 3. DURACION ARTRITIS REUMATOIDE

MEDIA	MINIMA	MAXIMA	D.STANDAR
21.25	0	43	9.3913

4. INTERVALO ARTRITIS REUMATOIDE Y SINDROME DE FELTY

MEDIA	D.STANDAR
12.50	1.0809

5. PRESENCIA DE ESPLENOMEGALIA MEDIANTE PALPACION FISICA

	FRECUENCIA	%
Presencia	11	55
Ausencia	3	15
Esplenectomía	6	30

6. EROSIONES ARTICULARES EN RADIOGRAFIA MANOS PALMO PLACA

	FRECUENCIA	%
Presencia	17	85
Ausencia	3	15%

7 CIFRA MEDIA DE MANIFESTACIONES EXTRARTICULARES

MEDIA	NUMERO DE PACIENTES
2.15	20

NUMERO DE MANIFESTACIONES	FRECUENCIA	%
0	2	10
1	5	25
2	6	30
3	4	20
4	1	5
5	2	10

8. NODULOS REUMATOIDES OBJETIVADOS MEDIANTE PALPACION

	FRECUENCIA	%
Presencia	15	75
Ausencia	5	25

9. HEPATOMEGALIA OBJETIVADA POR PALPACION FISICA

	FRECUENCIA	%
Presencia	6	30
Ausencia	14	70

10. PERDIDA DE PESO

	FRECUENCIA	%
Presente	4	20
Ausente	16	80

11. POLINEURITIS

	FRECUENCIA	%
Presente	2	10
Ausente	18	90

## 12. HISTORIA DE VASCULITIS

	FRECUENCIA	%
Presencia	4	20
Ausencia	16	80

## 13. HIPERPIGMENTACION

	FRECUENCIA	%
Presencia	2	10
Ausencia	18	80

## 14. ESCLERITIS

	FRECUENCIA	%
Presencia	2	10
Ausencia	18	90

15. ULCERAS PIERNAS

	FRECUENCIA	%
Presencia	5	25
Ausencia	15	75

16. INFILTRADO PULMONAR

	FRECUENCIA	%
Presencia	2	10
Ausencia	18	80

17. ADENOPATIAS

	FRECUENCIA	%
Presencia	1	5
Ausencia	19	95

### 18. INFECCIONES PASADAS

	FRECUENCIA	%
Presencia	14	70
Ausencia	6	30

### 19. INFECCION RESPIRATORIA

	FRECUENCIA	%
No	11	55
Si	9	45

### 20. INFECCIONES CUTANEAS

	FRECUENCIA	%
No	12	60
Si	8	40



21. INFECCIONES OTORRINOLARINGOLOGICAS

	FRECUENCIA	%
No	17	85
Si	3	15

22. INFECCIONES URINARIAS

	FRECUENCIA	%
No	19	95
Si	1	5

23. ARTRITIS SEPTICA

	FRECUENCIA	%
No	19	95
Si	1	5

24. RIGIDEZ MATUTINA EN MINUTOS

	FRECUENCIA	%
Menor a 30 min.	8	40
Mayor a 30 min.	12	60

25. RIGIDEZ MATUTINA MEDIA : 70.35 minutos

26. INDICE DE RITCHIE

	FRECUENCIA	%
Menor a 14	16	80
Mayor a 14	4	20

27. INDICE DE RITCHIE MEDIO : 9.95

28. INDICE DE STEINBROKER

	NUMERO DE PACIENTES	%
I.....	5	25
II.....	3	15
III.....	11	55
IV.....	1	5

29. HEMOGLOBINA EN GR/DL

	FRECUENCIA	%
Menor a 12 gr/dl	11	55%
Mayor a 12 gr/dl	9	45%

30. HEMOGLOBINA

Media	Desviacion Std	Mínimo	Máximo
11.67	1.92	8.6	14.6

31. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO

Media	Desviacion Std	Mínimo	Máximo
85.06	11.00	63.5	110

	FRECUENCIA	%
Microcitosis	9	45
Normocitosis	10	50
Macroctosis	1	5

32. LEUCOCITOS  $10^9/l$

Media	Desviación Std	Mínimo	Máximo
4.86	2.36	2.0	15.3

	FRECUENCIA	%
Menor a 4000	11	55
Mayor a 4000	9	45

34. CORRELACION LEUCOCITOS Y ESPLENOMEGALIA .T de STUDENT.

	Numero de Casos	Media	Desviación Standard
Con esplenomegalia	11	3.7909	1.768
Sin esplenomegalia	3	2.4667	0.643
GRADO DE SIGNIFICACION			
P = 0.068			

35. CORRELACION ENTRE NEUTROFILOS Y ESPLENOMEGALIA

	Numero de casos	Media	Desviacion Standard
Con esplenomegalia	8	1.9613	1.345
Sin esplenomegalia	3	0.2133	0.250
GRADO DE SIGNIFICACION			
P = 0.008			

34. NEUTROFILOS

Media	Desviación Std	Mínimo	Máximo
2.23	2.39	0.04	8.49

	FRECUENCIA	%
Menor a 2000	10	50
Mayor a 2000	3	15
Missing	7	35

35. CIFRA MEDIA DE NEUTROFILOS 2.23

36. LINFOCITOS

Media	Desviacion Std	Mínimo	Máximo
1.64	0.73	0.50	4.10

	FRECUENCIA	%
Menor a 1500	12	60
Mayor a 1500	8	40

37. PLAQUETAS 10/1

Media	Desviacion Std	Minimo	Maximo
293.95	154.44	54	635

	FRECUENCIA	%
Menor a 150.000	2	10
Entre 150-300.000	10	50
Mayor a 300.000	8	40

39. VISCOSIDAD

	FRECUENCIA	%
Menor a 1.71	6	30
Mayor a 1.71	12	60
Missing	2	10

40. CIFRA MEDIA DE VISCOSIDAD 1.86

41. PROTEINA C REACTIVA

	FRECUENCIA	%
Menor a 0.010	7	35
Mayor a 0.010	13	65



42. COMPLEMENTO C 3.

Media	Desviación Std	Minimo	Maximo
1.24	0.38	0.74	2.41

	FRECUENCIA	%
Menor a 0.75	2	10
Mayor a 0.75	16	80
Missing	2	10

43. COMPLEMENTO C 4

Media	Desviación Std	Minimo	Maximo
0.20	0.06	0.13	0.32

	FRECUENCIA	%
Menor a 0.2	8	40
Mayor a 0.2	10	50
Missing	2	10

44. FACTOR REUMATOIDE UI/ml

Media	Desviación Std	Minimo	Maximo
273.25	224.02	0	719

	FRECUENCIA	%
Positivo	18	90
Negativo	2	10

46. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN SUSTRATO DE HIGADO RATA.

	FRECUENCIA	%
Positivo	9	45
Negativo	11	55

47. PATRON DE IDENTIFICACION DE LOS ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN HIGADO DE RATA.

	FRECUENCIA	%
Homogeneo	9	100
Periférico	0	0
Moteado	0	0

48. TITULOS DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN HIGADO DE RATA.

	FRECUENCIA	%
2	2	10
10	1	5
20	2	10
40	3	15
400	1	5

49. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN SUSTRATO DE LINEA CELULAR HEP 2.

	FRECUENCIA	%
Positivo	14	70
Negativo	6	30

50. PATRON DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN SUSTRATO DE LINEA CELULAR HEP

	FRECUENCIA	%
Homogeneo	14	100
Periférico	0	0
Moteado	0	0

51. COMPARACION ENTRE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES DETERMINADOS EN HIGADO DE RATA Y EN LINEA CELULAR HEP2. TEST DE Mc NEMAR.

		ANAS HEP 2	
		-	+
ANAS RATA	+	0	9
	-	6	5

GRADO DE SIGNIFICANCIA

P = 0.0625

51. ANTIGENOS EXTRAIBLES DEL NUCLEO (ENAS) EN CONTRAINMUNOELECTROFORESIS

	FRECUENCIA	%
Positivo	9	45
Negativo	11	55

52. LINEAS DE PRECIPITACION DE ENAS EN CONTRAINMUNOLECTROFORESIS.

	FRECUENCIA	%
No identificada frente a timo de carnero (TC)	1	11.1
No identificada frente a bazo humano (BH)	6	66.7
No identificada frente a TC y BH	2	22.2

53. ANTIGENOS EXTRAIBLES DEL NUCLEO (ENAS) EN INMUNODIFUSION PASIVA-METODO DE OUCHTERLONY.

	FRECUENCIA	%
Positivo	3	15
Negativo	17	85

54. TIPOS DE LINEAS DE PRECIPITACION EN INMUNODIFUSION PASIVA METODO DE OUCHTERLONY.

	FRECUENCIA	%
No identificada frente a timo de carnero (TC)	0	0
No identificada frente a bazo humano (BZ)	0	0
No identificada frente a BH y TC	3	100

55. COMPARACION ENTRE ANTIGENOS EXTRAIBLES DEL NUCLEO DETERMINADOS EN INMUNODIFUSION PASIVA Y CONTRAINMUNOELECTROFORESIS CIE.

		ENAS INMUNODIFUSION PASIVA	
		-	+
ENA CIE	+	6	3
	-	11	0

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0313

55. ANTICUERPOS CARDIOLIPINA DETERMINADOS POR ELISA

	FRECUENCIA	%
Positivo	8	40
Negativo	11	55
Missing	1	5

56. ANTICUERPOS CARDIOLIPINA - Ig G- ELISA

	FRECUENCIA	%
Menor a 2.5	14	70
Mayor a 2.5	5	25
Missing	1	5



57. ANTICUERPOS CARDIOLIPINA - Ig M- ELISA

	FRECUENCIA	%
Menor a 2.5	16	80
Mayor a 2.5	3	15
Missing	1	5

58. EXAMENES DE MEDULA OSEA

	FRECUENCIA	%
Practicadas	16	80
No practicadas	4	20

59. PATRONES DE LAS MEDULAS OSEAS

	FRECUENCIA	%
Hiperplasia mieloide con desviacion a la Izquierda	10	58.8
Normales	4	23.5
Hipopláxico	1	5.9
Linfocitosis	1	5.9

60. CORRELACIONES MEDIANTE TEST DEL COEFICIENTE DE SPEARMAN

PCR	2759 20 0.120					
VISCOSIDAD	3649 18 0.06	2626 18 0.146				
RITCHIE	1110 20 0.321	2072 20 0.190	0736 18 0.386			
RIGIDEZ	-1591 20 0.251	1125 20 0.318	-1876 18 0.228	5046 20 0.012		
LEUCOS	2922 20 0.106	-0042 20 0.493	-1376 18 0.293	0522 20 0.414	-1694 20 0.238	
NEUTROF	-0220 13 0.472	0028 13 0.496	-4729 12 0.060	3430 13 0.126	3061 13 0.155	6152 13 0.013
	PLAQUETAS	PCR	VISCOSIDAD	RITCHIE	RIGIDEZ	LEUCOS

3.2 ANALISIS ESTADISTICO COMPARATIVO DE LOS FENOTIPOS LINFOCITARIOS DE LAS TRES POBLACIONES : SF, AR Y CONTROL.

60. EDAD

	MEDIA	DESVIACION STD	CASOS
FELTY	62.3500	8.8215	20
AR	63.6000	10.0441	20
CONTROL	63.6000	10.8792	20
POBLACION TOTAL	63.1833	9.7988	60

61. SEXO.

	MUJER	VARON	
FELTY	16	4	
AR	16	4	
CONTROL	16	4	
Total	48	12	60
%	80	20	100%

60. RESULTADOS DEL FENOTIPO LINFOCITARIO EXPRESADO EN % DE PACIENTES CON SINDROME DE FELTY.

CASOS	T3	T4	T8	NK	WR 18	DQ
1	63.2	30.0	35.5	10.1	56.1	18.0
2	68.0	44.4	12.2	13.9	33.5	15.1
3	58.5	31.7	32.7	22.3	49.7	29.8
4	80.0	46.0	31.3	7.9	21.2	10.0
5	80.6	45.0	34.3	5.8	21.5	5.1
6	62.3	59.5	17.8	42.0	29.1	20.0
7	49.3	39.8	14.8	20.5	44.0	9.8
8	82.0	52.0	32.0	35.0	49.0	25.0
9	72.0	62.4	8.2	52.1	66.9	22.3
10	58.5	50.5	7.7	14.5	14.5	3.1
11	86.8	48.7	33.3	58.5	45.5	16.2
12	66.6	30.1	36.4	35.8	28.0	8.2
13	85.1	50.0	36.1	36.5	11.8	4.0
14	80.9	61.8	20.5	6.0	21.2	3.4
15	66.8	40.8	27.6	9.5	40.3	16.0
16	67.9	25.2	39.3	49.7	14.3	6.3
17	95.0	30.0	67.0	39.5	49.5	----
18	82.9	46.0	26.0	12.6	28.8	9.3
19	84.8	76.6	29.8	24.5	8.7	3.0
20	86.9	42.0	50.2	35.0	19.9	4.5

61. RESULTADOS DEL FENOTIPO LINFOCITARIO EXPRESADO EN % DE PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE.

CASOS	T3	T4	T8	NK	WR 18	DQ
1	53.1	36.4	41.9	18.8	59.4	12.9
2	59.8	33.6	29.5	19.5	58.8	35.7
3	88.9	73.7	15.3	2.5	8.5	2.0
4	60.7	58.6	13.1	12.6	21.3	12.2
5	78.3	57.4	38.5	21.8	30.3	14.5
6	61.2	56.5	14.9	20.5	16.8	4.9
7	83.5	47.0	33.3	11.4	15.3	3.5
8	78.0	41.5	26.3	24.0	17.6	9.0
9	80.4	59.5	22.5	1.5	22.5	5.5
10	60.8	35.7	32.5	10.1	18.1	2.0
11	86.6	55.0	35.5	26.0	13.0	4.0
12	61.3	40.7	17.0	11.3	19.9	14.5
13	75.3	60.5	29.1	18.9	24.3	5.8
14	63.7	50.5	13.5	10.6	17.7	2.9
15	82.0	50.0	30.2	34.0	20.0	12.0
16	78.6	61.3	17.0	13.0	22.2	3.8
17	86.2	57.5	42.1	20.4	10.9	2.3
18	80.3	53.4	20.4	7.3	11.5	4.3
19	68.0	44.4	12.2	13.9	33.5	15.1
20	65.8	50.0	11.2	7.8	18.7	12.0

62. RESULTADOS DE LOS FENOTIPOS LINFOCITARIOS EXPRESADOS EN % DE PACIENTES CONTROL.

CASOS	T3	T4	T8	NK	WR 18	DQ
1	90.0	64.8	21.7	11.3	8.2	1.0
2	69.5	49.7	20.7	13.0	13.4	1.0
3	78.0	71.5	11.5	2.3	10.9	1.4
4	88.5	46.0	18.0	6.6	24.0	8.0
5	61.2	49.5	15.8	12.8	6.4	3.7
6	70.5	59.5	22.4	19.5	4.0	----
7	76.7	54.3	31.6	16.0	13.7	4.9
8	76.5	60.0	21.6	8.0	11.4	3.8
9	62.3	48.0	15.5	18.8	10.9	3.9
10	81.3	63.5	21.8	15.4	12.2	4.0
11	67.4	63.6	6.5	11.0	11.0	2.0
12	71.8	59.0	16.5	6.6	14.9	4.9
13	80.0	61.9	22.5	11.0	7.0	3.0
14	88.0	56.2	23.2	3.7	7.5	1.9
15	76.2	67.0	10.5	18.4	4.0	1.0
16	66.3	51.7	28.0	15.0	14.0	4.5
17	81.3	63.5	21.8	15.4	12.0	4.0
18	75.0	59.4	13.5	8.2	7.0	2.9
19	61.5	43.0	12.8	14.1	7.5	4.7
20	73.0	44.0	12.0	19.0	9.6	3.0

63. RELACION DE INDICES T4/T8 EN PACIENTES CON SINDROME DE FELTY

CASOS	%
1	0.85
2	3.64
3	0.97
4	1.47
5	1.31
6	3.34
7	2.69
8	1.63
9	7.61
10	6.56
11	1.46
12	0.83
13	1.39
14	3.01
15	1.48
16	0.64
17	0.45
18	1.77
19	2.57
20	0.84



64. RELACION DE INDICES T4/T8 EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE.

CASOS	%
1	0.87
2	1.14
3	4.82
4	4.47
5	1.49
6	3.79
7	1.42
8	1.58
9	2.64
10	1.10
11	1.55
12	2.39
13	2.08
14	3.74
15	1.66
16	3.61
17	1.37
18	2.62
19	3.64
20	4.46

65. RELACION DE INDICES T4/T8 EN PACIENTES CONTROL.

CASOS	%
1	2.99
2	2.40
3	6.22
4	2.56
5	3.13
6	2.66
7	1.72
8	2.78
9	3.10
10	2.91
11	9.78
12	3.58
13	2.75
14	2.42
15	6.38
16	1.85
17	2.91
18	4.40
19	3.36
20	3.67

66. RESULTADOS DE LOS FENOTIPOS LINFOCITARIOS EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS DE PACIENTES CON SINDROME DE FELTY.

CASOS	T3	T4	T8	NK	WR 18	DQ
1	676.24	321.00	379.85	108.07	600.27	192.60
2	1632.00	1065.60	292.80	333.60	804.00	362.40
3	497.25	269.45	277.95	189.55	422.45	253.30
4	560.00	322.00	219.10	55.30	148.40	70.00
5	894.66	499.50	380.73	64.30	238.65	56.61
6	623.00	595.00	178.00	420.00	291.00	200.00
7	493.00	398.00	148.00	205.00	440.00	98.00
8	615.00	390.00	240.00	262.50	367.50	187.50
9	1173.50	1017.12	133.66	849.23	1090.47	363.49
10	766.35	661.55	100.87	189.95	189.95	40.61
11	1822.50	1022.70	699.30	1228.50	955.50	340.20
12	639.36	288.96	349.44	343.68	268.80	78.72
13	2093.46	1230.00	888.06	897.90	290.28	98.40
14	404.50	309.00	102.50	30.00	106.00	17.00
15	1442.88	881.28	596.16	205.20	870.48	345.60
16	1561.70	579.60	903.90	1143.10	326.60	144.90
17	2736.00	864.00	1929.60	1137.60	1425.60	-----
18	870.45	483.00	273.00	132.30	302.40	97.65
19	1221.12	1103.04	429.12	352.80	125.28	43.20
20	3128.40	1512.00	1807.20	1260.00	716.40	162.00

67. RESULTADOS DE LOS FENOTIPOS LINFOCITARIOS EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS DE PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE.

CASOS	T3	T4	T8	NK	WR 18	DQ
1	531.00	364.00	419.00	188.00	594.00	129.00
2	837.00	470.40	413.00	273.00	823.20	499.80
3	800.10	663.30	137.70	22.50	76.50	18.00
4	667.70	644.60	144.10	138.60	234.30	134.20
5	1096.20	803.60	539.00	305.20	424.20	203.00
6	795.60	734.50	193.70	266.50	218.40	63.70
7	1285.90	723.80	508.20	175.56	235.62	53.90
8	936.00	498.00	315.60	288.00	211.20	108.00
9	1841.16	1362.55	515.25	34.35	515.25	125.95
10	1459.20	856.80	780.00	242.40	432.00	48.00
11	3550.60	2255.00	1455.50	1066.00	533.00	164.00
12	613.00	407.00	170.00	113.00	199.00	145.00
13	1611.42	1294.70	622.74	404.46	520.02	124.12
14	764.40	606.00	162.00	127.20	212.40	34.80
15	787.20	480.00	289.92	326.40	192.00	115.20
16	1021.80	796.90	221.00	169.00	286.00	49.40
17	1982.60	1322.50	968.30	469.20	250.70	52.90
18	1365.10	907.80	346.80	124.10	195.50	76.50
19	870.40	568.32	156.16	177.92	428.80	193.28
20	855.40	650.00	145.60	101.40	243.10	156.00

68. RESULTADOS DE LOS FENOTIPOS LINFOCITARIOS EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS DE PACIENTES CONTROL.

CASOS	T3	T4	T8	NK	WR 18	DQ
1	1602.00	1153.44	386.26	201.14	145.96	17.80
2	1320.50	944.30	393.30	247.00	254.60	19.00
3	702.00	643.50	103.50	20.70	98.10	12.60
4	1831.50	952.20	372.60	136.62	496.80	165.60
5	856.80	693.00	221.20	179.20	89.60	51.80
6	1198.50	1011.50	380.80	321.50	68.00	-----
7	2607.80	1846.20	1074.40	544.00	465.80	166.60
8	688.50	540.00	194.40	72.00	122.60	34.20
9	996.80	768.00	248.00	300.80	174.40	62.40
10	1560.96	1219.20	418.56	295.68	230.40	76.80
11	1078.40	1017.60	104.00	176.00	176.00	32.00
12	1795.00	1475.00	412.50	165.00	372.50	122.50
13	1176.00	909.93	330.75	161.70	102.90	44.10
14	1953.60	1247.64	515.04	82.14	166.50	42.80
15	1295.40	1139.00	178.50	312.80	68.00	17.00
16	530.40	413.60	224.00	120.00	112.00	36.00
17	1804.86	1409.70	483.96	341.88	266.40	88.80
18	1567.50	1241.46	282.15	171.38	146.30	60.61
19	1168.50	817.00	243.20	267.90	142.50	89.30
20	876.00	528.00	144.00	228.00	115.20	36.00

69. CIFRAS MEDIAS EXPRESADAS EN % EN PACIENTES CON SINDROME DE FELTY

VARIABLE	MEDIA	DESVIACION STD	MINIMO	MAXIMO
T3	73.91	12.56	49.3	95.0
T4	45.62	12.98	25.2	76.6
T8	29.64	14.13	7.7	67.0
T4/T8	2.22	1.90	0.45	7.61
NK	26.58	16.64	5.8	58.5
WR 18	32.67	16.53	8.7	66.9
DQ	12.06	8.17	3.0	29.8

70. CIFRAS MEDIAS EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS EN PACIENTES CON SINDROME DE FELTY.

VARIABLE	MEDIA	DESVIACION STD	MINIMO	MAXIMO
T3	1192.59	772.23	404.50	3128.40
T4	690.64	369.52	269.45	1512.00
T8	516.46	519.90	100.87	1929.60
T4/T8	32.25	31.18	7.94	124.04
NK	470.43	434.77	30.00	1260.00
WR 18	499.00	364.22	106.00	1425.60
DQ	165.90	116.96	17.00	363.49

71. CIFRAS MEDIAS EXPRESADAS EN % DE PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE.

VARIABLE	MEDIA	DESVIACION STD	MINIMO	MAXIMO
T3	72.62	11.02	53.1	88.9
T4	51.16	10.22	33.6	73.7
T8	24.79	10.35	11.2	42.1
T4/T8	2.52	1.29	0.87	4.82
NK	15.30	8.10	1.5	34.0
WR 18	23.00	13.73	8.5	59.4
DQ	8.96	7.87	2.0	35.7



72. CIFRA MEDIA EXPRESADA EN NUMEROS ABSOLUTOS DE PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE .

VARIABLE	MEDIA	DESVIACION STD	MINIMO	MAXIMO
T3	1183.60	689.96	531.00	3550.60
T4	820.49	445.52	364.00	2255.00
T8	425.18	334.66	137.70	1455.50
T4/T8	36.76	16.58	8.69	63.52
NK	250.64	223.91	22.50	1066.00
WR 18	341.26	184.09	76.50	823.20
DQ	124.74	103.16	18.00	499.80

73. CIFRA MEDIA EXPRESADA EN % DE PACIENTES CONTROL.

VARIABLE	MEDIA	DESVIACION STD	MINIMO	MAXIMO
T3	74.75	8.67	61.2	90.0
T4	56.80	8.14	43.0	71.5
T8	18.40	6.24	6.5	31.6
T4/T8	3.58	1.89	1.72	9.78
NK	12.31	5.12	2.3	19.5
WR 18	10.47	4.52	4.0	24.0
DQ	3.35	1.76	1.0	8.0

74. CIFRA MEDIA EXPRESADA EN NUMEROS ABSOLUTOS DE PACIENTES CONTROL

VARIABLES	MEDIA	DESVIACION STD	MINIMO	MAXIMO
T3	1330.57	513.86	530.40	2607.80
T4	998.51	356.95	413.60	1846.20
T8	335.56	212.21	103.50	1074.40
T4/T8	60.67	31.17	14.77	156.55
NK	217.77	118.42	20.70	544.00
WR 18	189.73	125.12	68.00	496.80
DQ	61.86	46.62	12.60	166.60

75. TEST DE KRUSTAR-WALLIS. LINFOCITOS T3 EXPRESADOS EN %.

RANGO MEDIO	CASOS	
31.50	20	FELTY
28.45	20	A.R
31.55	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.8132

76. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T4 EXPRESADOS EN %.

RANGO MEDIO	CASOS	
22.25	20	FELTY
29.85	20	A.R
39.40	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.079

77. TEST DE KRUSTAR-WALLIS. LINFOCITOS T8 EXPRESADOS EN %.

RANGO MEDIO	CASOS	
37.75	20	FELTY
31.90	20	AR
21.85	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.0144

78. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS NK EXPRESADAS EN %.

RANGO MEDIO	CASOS	
38.95	20	FELTY
28.85	20	AR
23.70	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.0193

79. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS MONUCLEADAS WR 18 EXPRESADAS EN %.

RANGO MEDIO	CASOS	
42.70	20	FELTY
34.70	20	AR
14.10	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.000

80. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS MONONUCLEADAS DQ EXPRESADAS EN %.

RANGO MEDIO	CASOS	
39.58	19	FELTY
32.00	20	AR
16.79	19	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.0001

81. TEST DE KRUSTAR WALLIS. INDICE T4/T8 DE LINFOCITOS EXPRESADO EN %

RANGO MEDIO	CASOS
-------------	-------

22.17	20	FELTY
-------	----	-------

29.63	20	AR
-------	----	----

39.70	20	CONTROL
-------	----	---------

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0063

82. U MANN-WHITNEY. LINFOCITOS T4 EXPRESADOS EN %.

RANGO MEDIO	CASOS
-------------	-------

15.02	20	FELTY
-------	----	-------

25.98	20	CONTROL
-------	----	---------

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0030

RANGO MEDIO            CASOS

17.08                    20                    AR

23.92                    20                    CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
0.0639

RANGO MEDIO            CASOS

17.73                    20                    FELTY

23.27                    20                    AR

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.1001

83. U MANN WHITNEY. CELULAS MONONUCLEADAS WR 18 EXPRESADAS EN %.

RANGO MEDIO            CASOS

29.15                    20                    FELTY

11.85                    20                    CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P= 0.0000



RANGO MEDIO	CASOS	
28.25	20	AR
12.75	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.0000

RANGO MEDIO	CASOS	
24.05	20	FELTY
16.95	20	AR

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.0548

84. U MANN WHITNEY. CELULAS MONONUCLEADAS DQ EXPRESADAS EN %.

RANGO MEDIO	CASOS	
25.23	20	AR
14.50	19	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION.  
P = 0.033

RANGO MEDIO	CASOS	
26.71	19	FELTY
12.29	19	CONTROL
		GRADO DE SIGNIFICACION
		P = 0.000

RANGO MEDIO	CASOS	
22.87	19	FELTY
17.27	20	AR
		GRADO DE SIGNIFICACION
		P = 0.1267

85. INDICE T4/T8 LINFOCITARIO EXPRESADO EN %.U MAN WHITNEY.

RANGO MEDIO	CASOS	
14.95	20	FELTY
26.05	20	CONTROL
		GRADO DE SIGNIFICACION
		P = 0.0022

RANGO MEDIO	CASOS	
16.85	20	AR
24.15	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.0483

RANGO MEDIO	CASOS	
17.73	20	FELTY
23.27	20	AR

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.1333

86. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T3 EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS

RANGO MEDIO	CASOS	
27.15	20	FELTY
28.85	20	AR
35.50	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.2789

87. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T4 EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS.

RANGO MEDIO	CASOS	
23.90	20	FELTY
28.85	20	AR
38.75	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION  
P = 0.0235

88. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T8 EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS.

RANGO MEDIO	CASOS	
31.50	20	FELTY
31.45	20	AR
28.55	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.8294

89. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS NK EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS.

RANGO MEDIO	CASOS	
36.35	20	FELTY
27.60	20	AR
27.55	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.1858

90. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS MONONUCLEADAS WR 18 EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS.

RANGO MEDIO	CASOS	
39.50	20	FELTY
33.95	20	AR
18.05	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0003.

91. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS MONONUCLEADAS DQ EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS.

RANGO MEDIO	CASOS	
37.18	19	FELTY
32.45	20	AR
18.71	19	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0021

92. TEST DE KRUSTAR WALLIS. INDICE T4/T8 LINFOCITARIO EXPRESADO EN NUMEROS ABSOLUTOS.

RANGO MEDIO	CASOS	
20.35	20	FELTY
28.85	20	AR
42.30	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0003

93. U MANN WHITNEY. LINFOCITOS T4 EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS.

RANGO MEDIO	CASOS	
15.85	20	FELTY
25.15	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0119

RANGO MEDIO

CASOS

16.90

20

AR

24.10

20

CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0515

RANGO MEDIO

CASOS

18.55

20

FELTY

22.45

20

AR

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.2914



94. U MANN WHITNEY. CELULAS MONONUCLEADAS WR 18 EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS

RANGO MEDIO	CASOS	
22.90	20	FELTY
18.10	20	AR

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.1941

RANGO MEDIO	CASOS	
26.35	20	AR
14.65	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0012

RANGO MEDIO

CASOS

27.10

20

FELTY

13.90

20

CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0004

95. U MANN WHITNEY. CELULAS MONUCLEADAS DQ EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS.

RANGO MEDIO

CASOS

25.29

19

FELTY

13.71

19

CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0003

RANGO MEDIO

CASOS

24.75

20

AR

15.00

19

CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0076

RANGO MEDIO

CASOS

21.89

19

FELTY

18.20

20

AR

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.3118

96. U MANN WHITNEY. INDICE T4/T8 LINFOCITARIO EXPRESADO EN NUMEROS ABSOLUTOS

RANGO MEDIO	CASOS	
13.85	20	FELTY
27.15	20	CONTROL
		GRADODESIGNIFICACION
		P = 0.0003

RANGO MEDIO	CASOS	
15.35	20	AR
25.65	20	CONTROL
		GRADODESIGNIFICACION
		0.0053

RANGO MEDIO	CASOS	
17.00	20	FELTY
24.00	20	AR
		GRADODESIGNIFICACION
		P = 0.0583.

97. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T3 EXPRESADOS EN % EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
30.00	19	FELTY
28.45	20	AR
31.55	20	CONTROL
		GRADODESIGNIFICACION
		P = 0.8497

98. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T4 EXPRESADOS EN % EXCLUIDO EL PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
22.37	19	FELTY
28.85	20	AR
38.40	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION  
P = 0.0134

99. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T8 EXPRESADOS EN % EXCLUIDO EL PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
36.58	19	FELTY
31.90	20	AR
21.85	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION  
P = 0.0231.

100. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS NK EXPRESADAS EN % EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
37.84	19	FELTY
28.85	20	AR
23.70	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0343

101. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS MONONUCLEADAS WR 18 EXPRESADAS EN % EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
41.89	19	FELTY
34.60	20	AR
14.10	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.000

102. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS MONONUCLEADAS DQ EXPRESADAS EN % EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
39.58	19	FELTY
32.00	20	AR
16.79	19	CONTROL
		GRADODESIGNIFICACION
		P = 0.0001

103. U MANN WHITNEY. LINFOCITOS T4 EXPRESADOS EN % EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO	CASOS	
14.76	19	FELTY
24.98	24.98	CONTROL
		GRADODESIGNIFICACION
		P = 0.0052



RANGO	CASOS	
17.08	19	AR
23.92	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0639

RANGO	CASOS	
21.58	19	FELTY
18.50	20	AR.

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.3992

104. U MANN WHITNEY. CELULAS MONONUCLEADAS WR 18 EXPRESADAS EN %  
EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
23.32	19	FELTY
16.85	20	AR

GRADODESIGNIFICACION  
P = 0. 0767

RANGO MEDIO	CASOS	
28.25	19	AR
12.75	20	CONTROL

GRADODESIGNIFICACION  
P = 0.0000

RANGO MEDIO	CASOS
28.58	19 FELTY
11.85	20 CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0000

105.U MANN WHITNEY CELULAS MONONUCLEADAS DQ EXPRESADAS EN % EXCLUIDO  
 PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS
26.71	19 FELTY
11.85	19 CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0001.

RANGO MEDIO

25.23

14.50

CASOS

20 AR

19 CONTROL.

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0033.

RANGO MEDIO

22.87

17.27

CASOS

19 FELTY

20 AR

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.1256.

106. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T3 EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS
25.47	19 FELTY
28.80	20 AR
35.50	20 CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.1766

107. TEST DE KRUSTAR WALLIS. LINFOCITOS T4 EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS
22.95	19 FELTY
28.60	20 AR
38.10	20 CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0204

108. TEST DE KRUSTAR WALLIS LINFOCITOS T8 EXPRESADOS EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
30.00	19	FELTY
31.45	20	AR
28.55	20	CONTROL
		GRADODESIGNIFICACION
		P = 0.8672.

109. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS NK EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
35.11	19	FELTY
27.60	20	AR
27.55	20	CONTROL
		GRADODESIGNIFICACION
		P = 0.2899

110. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS MONONUCLEADAS WR 18 EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUIDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
38.42	19	FELTY
33.95	20	AR
18.05	20	CONTROL
	GRADODESIGNIFICACION	
	P = 0.0005	

111. TEST DE KRUSTAR WALLIS. CELULAS MONONUCLEADAS DQ EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUYENDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
37.18	19	FELTY
32.45	20	AR
18.71	19	CONTROL
	GRADODESIGNIFICACION	
	P = 0.0021	

112. TEST DE KRUSTAR WALLIS. INDICE LINFOCITARIO T4/T8 EXPRESADO EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUYENDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS
20.32	19 FELTY
27.90	20 AR
41.30	20 CONTROL
	GRADO DE SIGNIFICACION
	P = 0.0006

113.U MANN WHITNEY. LINFOCITOS T4 EXPRESADO EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUYENDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS
15.26	19 FELTY
24.50	24.50 CONTROL
	GRADO DE SIGNIFICACION
	P = 0.0114



RANGO MEDIO	CASOS	
16.90	20	AR
24.10	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0515

RANGO MEDIO	CASOS	
17.68	19	FELTY
22.20	20	AR

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.2163

114. U MANN WHITNEY .CELULAS MONONUCLEADAS WR 18 EXPRESADAS EN NUMEROS ABSOLUTOS EXCLUYENDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO	CASOS	
26.42	19	FELTY
13.90	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0006

RANGO MEDIO	CASOS	
26.35	20	AR
14.65	20	CONTROL

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0076

RANGO MEDIO

CASOS

21.89

19

FELTY

18.20

20

AR

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.3118

115.U MANN WHITNEY INDICE LINFOCITARIO T4/T8 EXPRESADO EN NUMEROS  
ABSOLUTOS EXCLUYENDO PACIENTE CON LINFOCITOSIS.

RANGO MEDIO

CASOS

16.79

19

FELTY

23.05

20

AR

GRADO DE SIGNIFICACION

P = 0.0865

RANGO MEDIO

15.35

25.65

CASOS

20

AR

20

CONTROL

GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0053

RANGO MEDIO

13.53

26.15

CASOS

19

FELTY

20

CONTROL

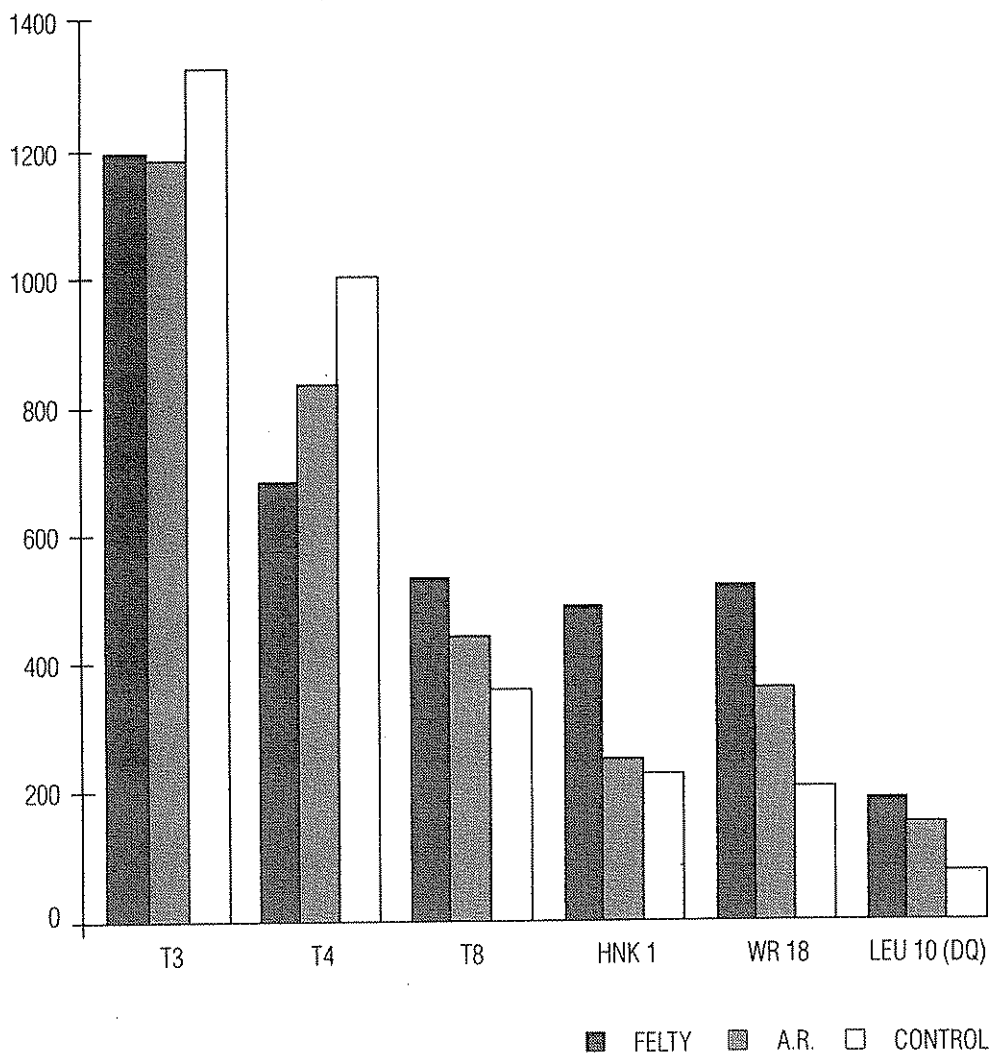
GRADODESIGNIFICACION

P = 0.0005

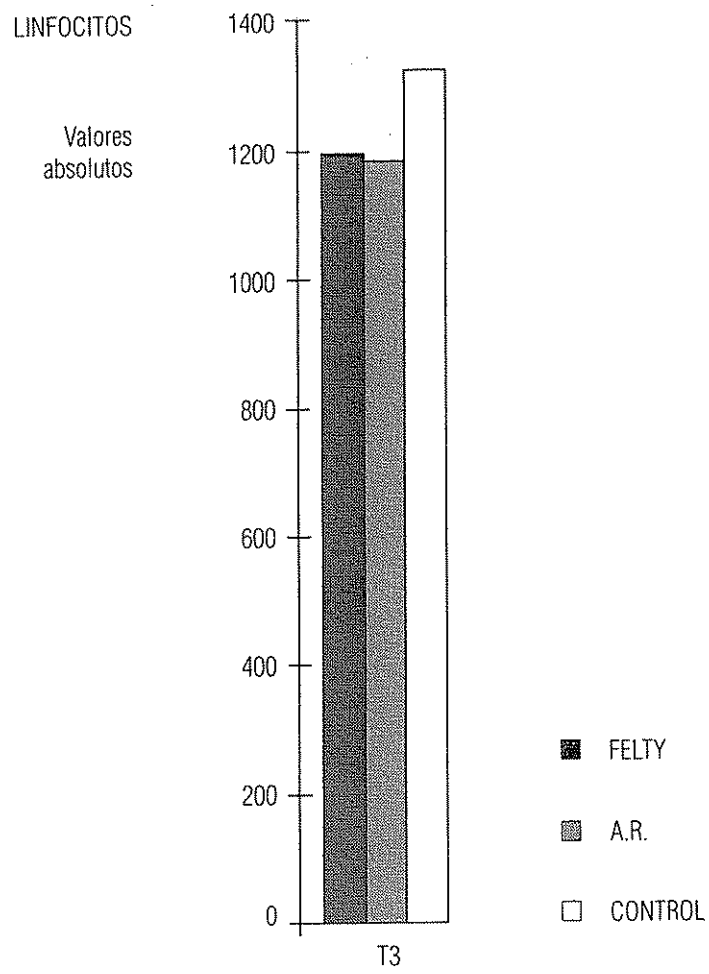
### Fenotipo Linfocitario expresado en números absolutos de los 3 grupos: Felty, A. Reumatoide y Control

LINFOCITOS

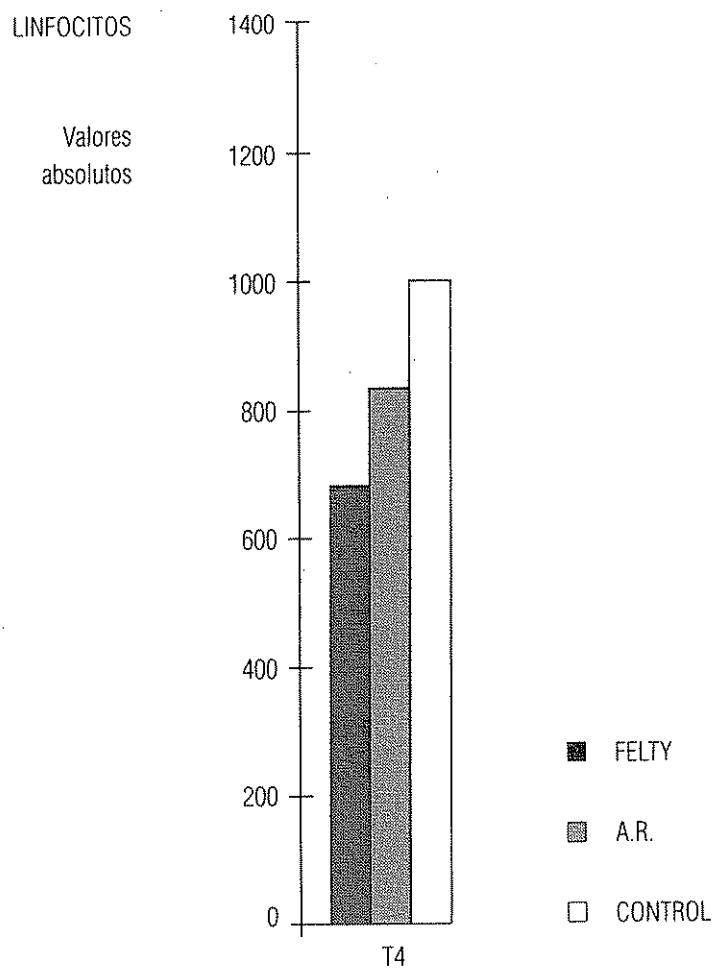
Valores absolutos



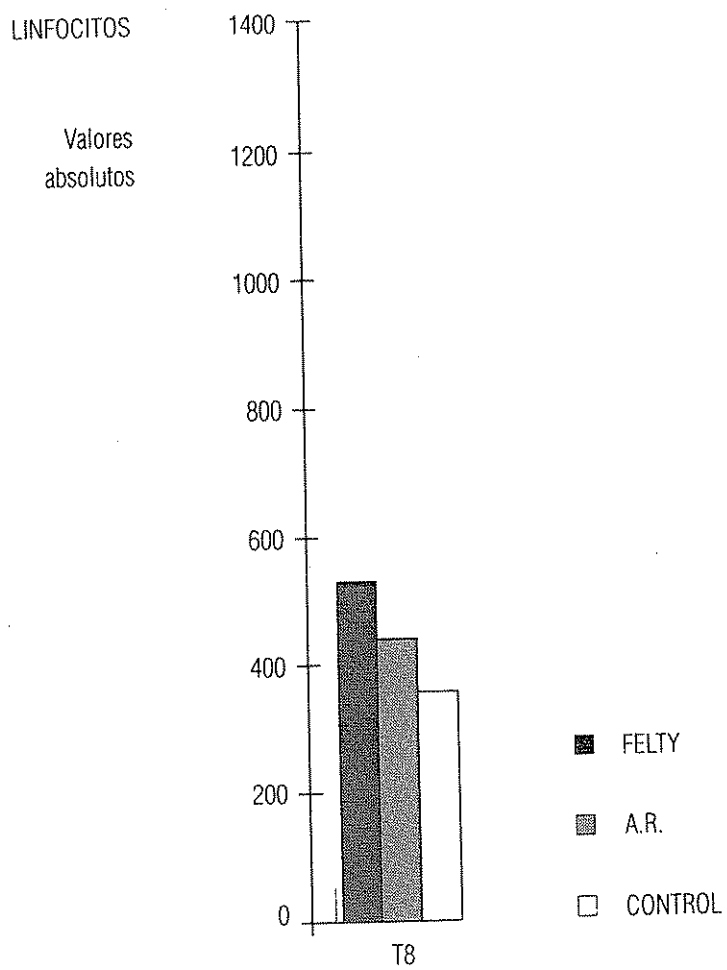
## Linfocitos T3 en números absolutos



## Linfocitos T4 en números absolutos

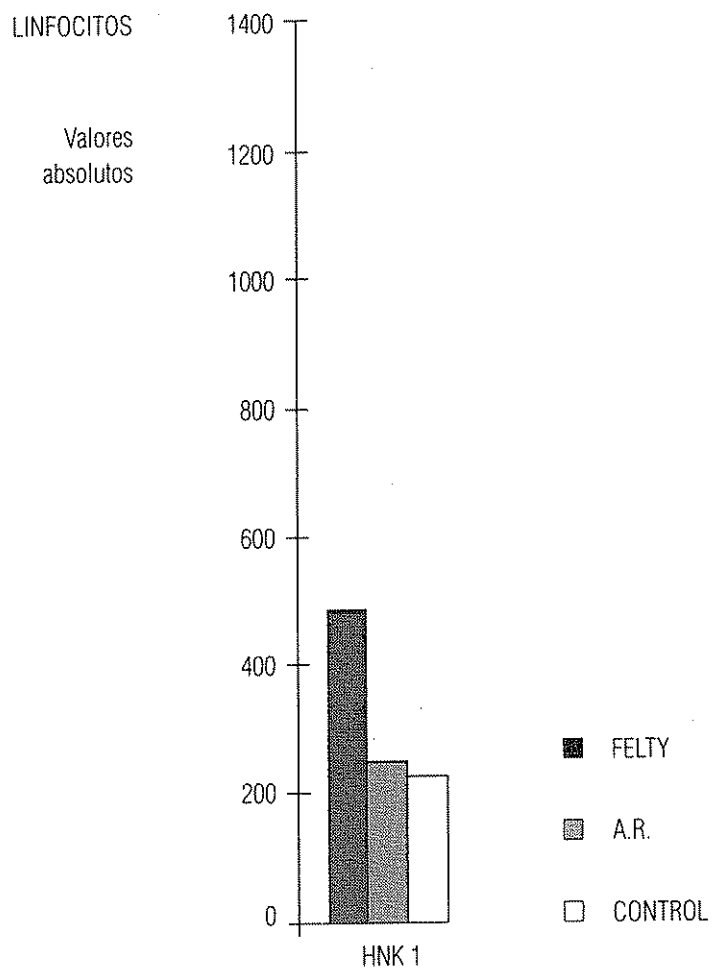


## Linfocitos T8 en números absolutos

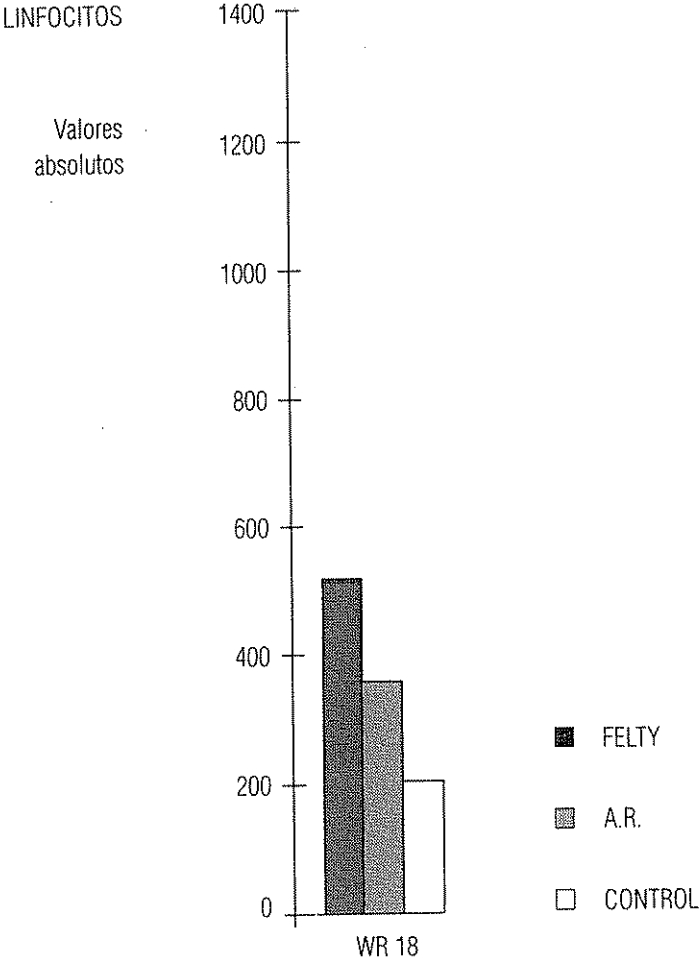




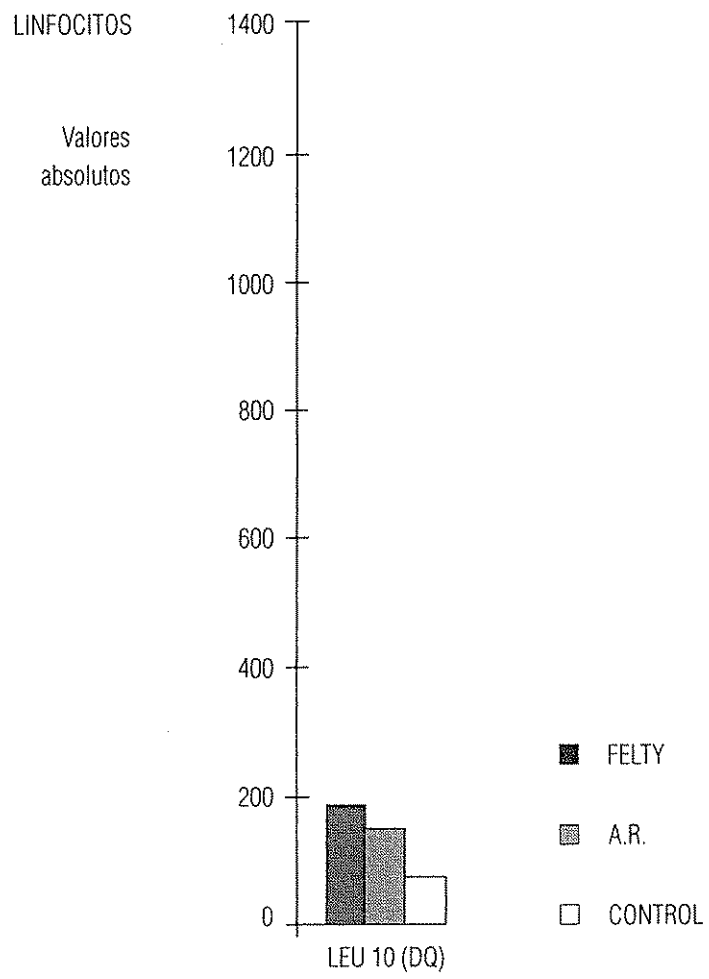
## HNK1 en números absolutos



WR18 (HLA de clase II) en números absolutos



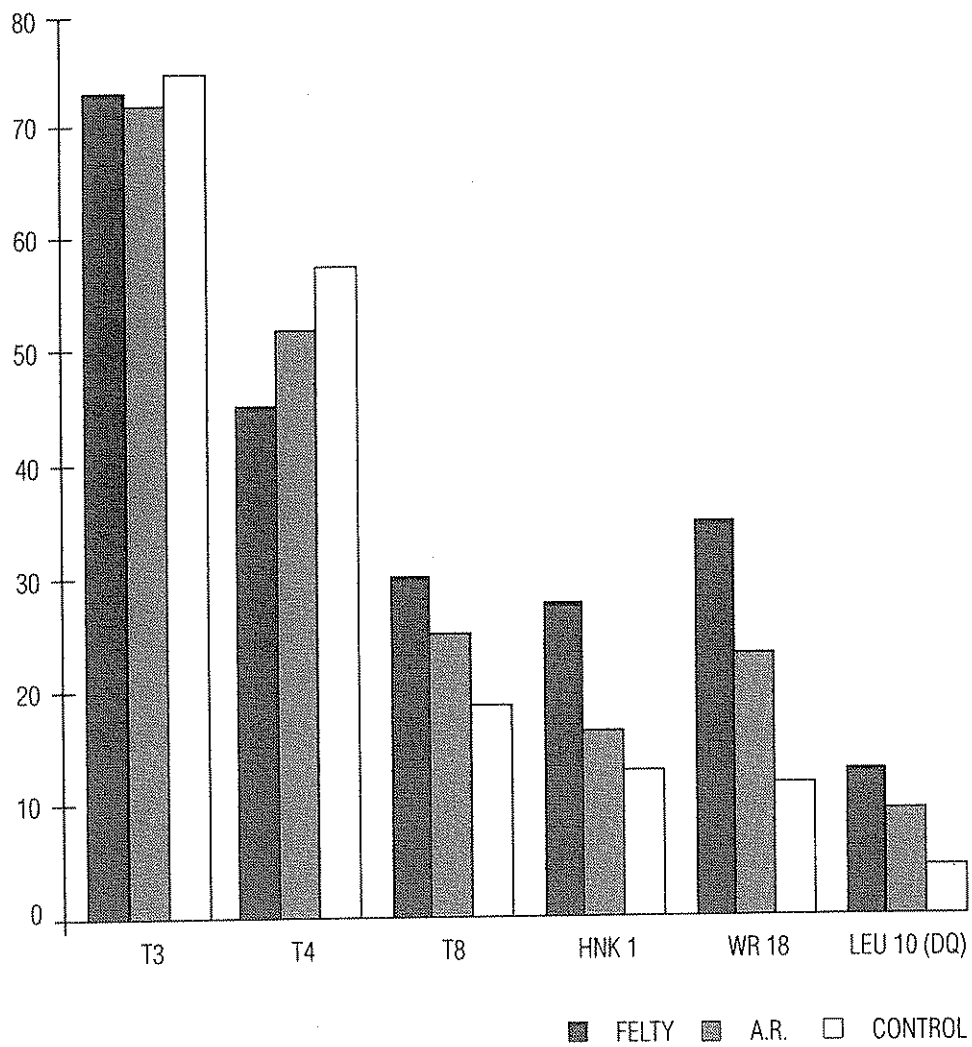
### LEU 10 (DQ) en números absolutos



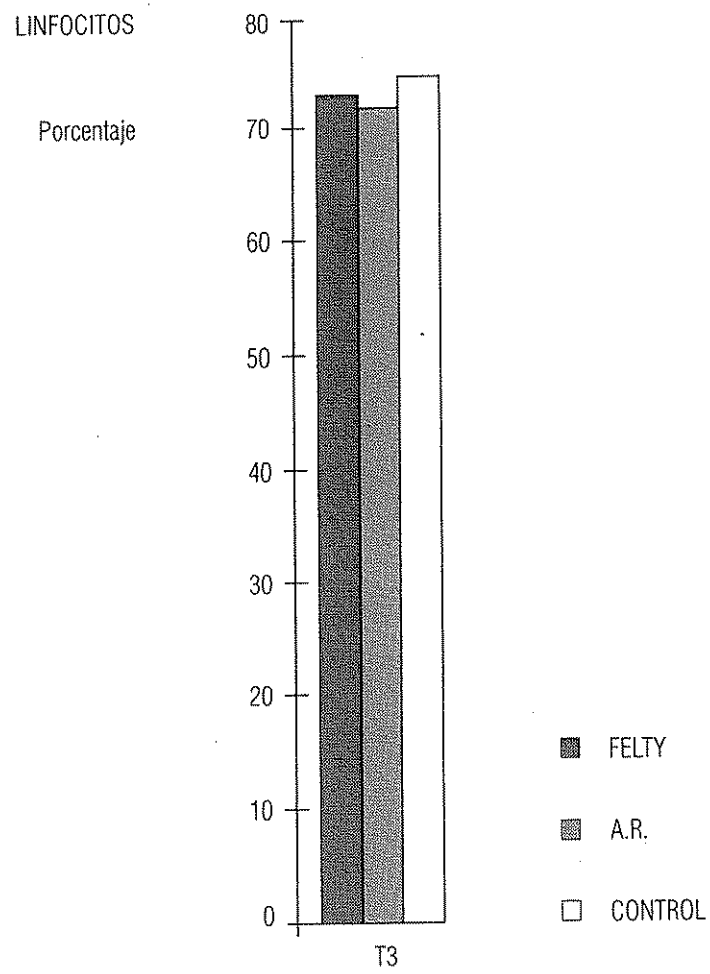
### Fenotipo Linfocitario expresado en porcentaje de los 3 grupos: Felty, A. Reumatoide y Control

LINFOCITOS

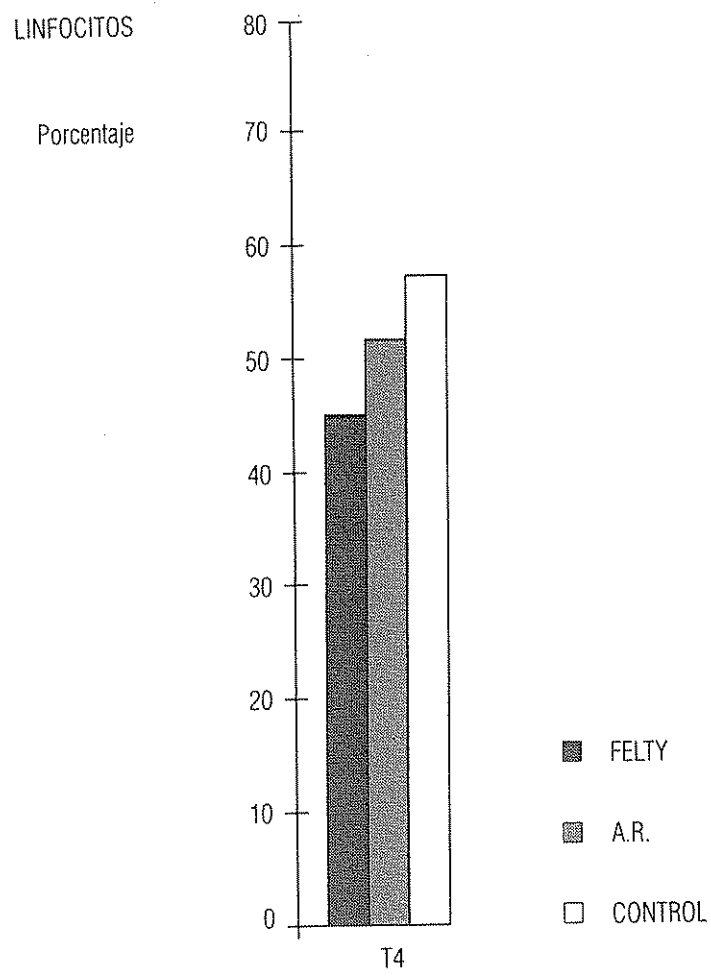
Porcentaje



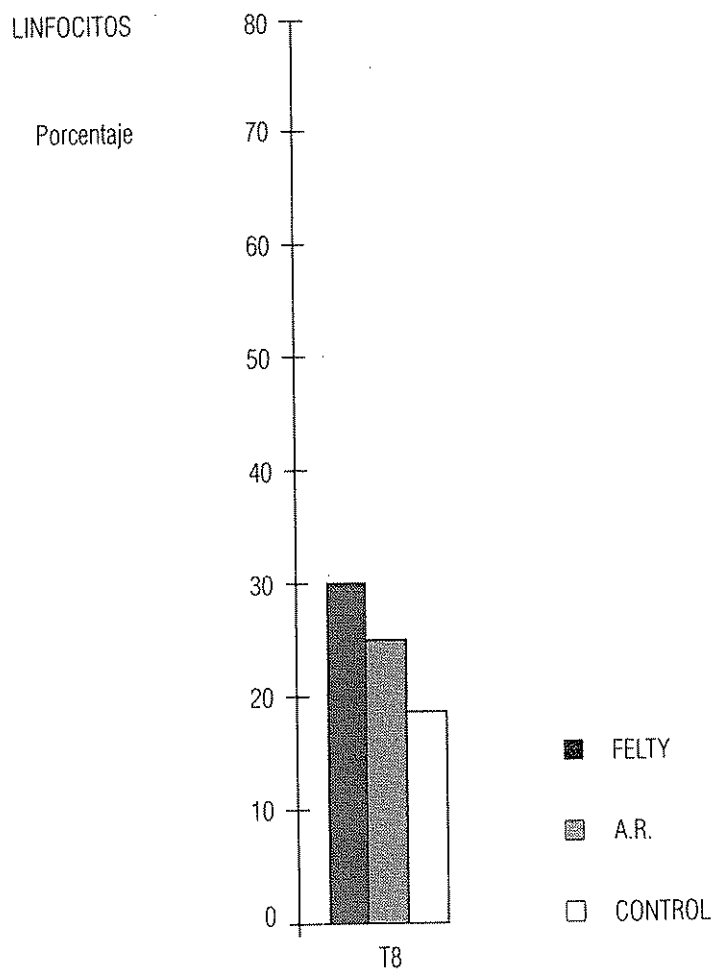
## Linfocitos T3 en porcentaje



## Linfocitos T4 en porcentaje



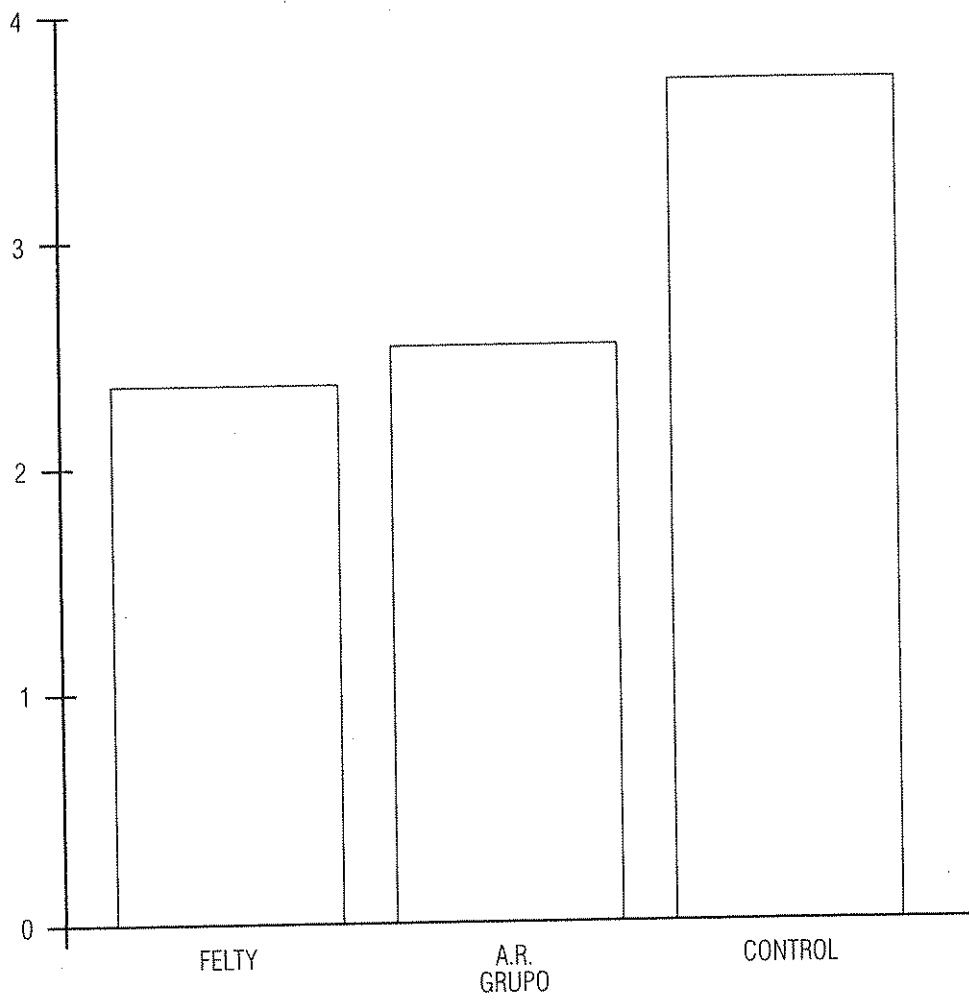
## Linfocitos T8 en porcentaje



## Indice T4/T8 expresado en porcentaje

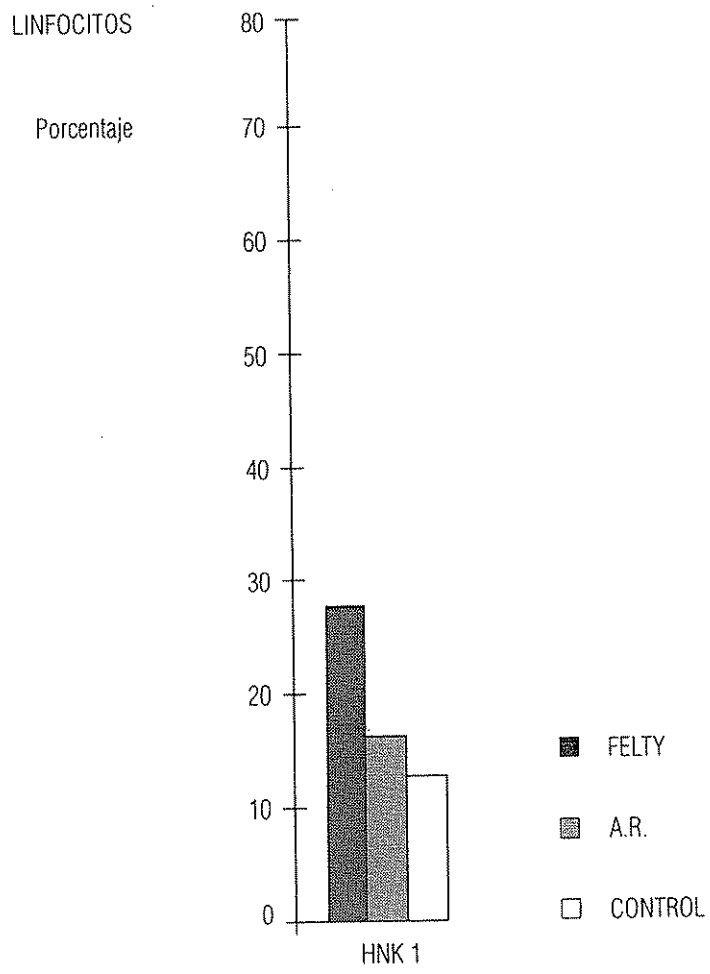
LINFOCITOS

Porcentaje

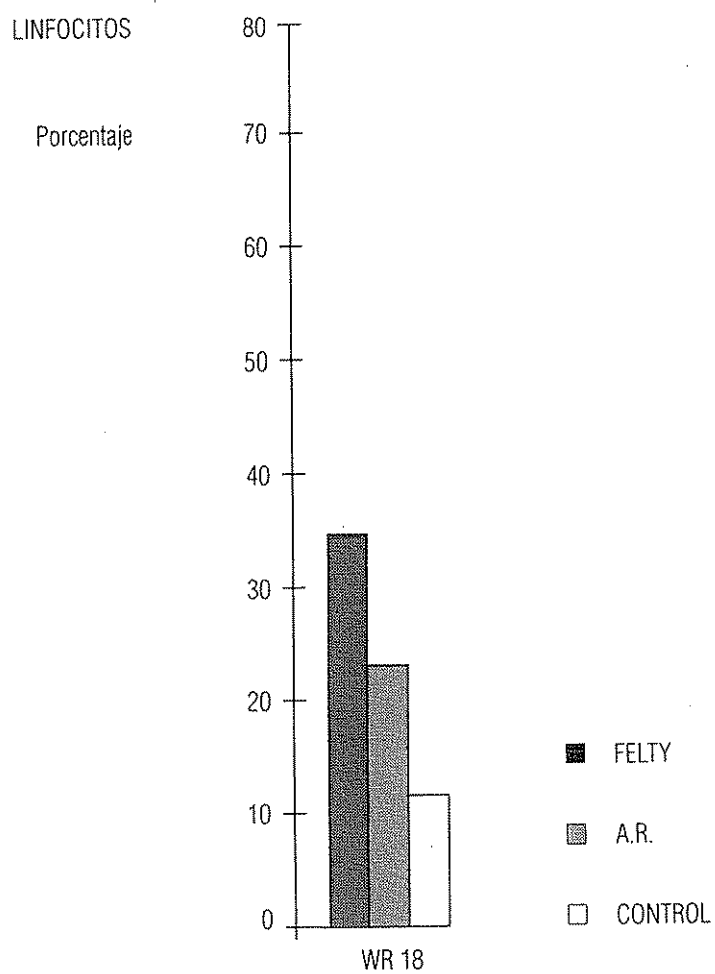




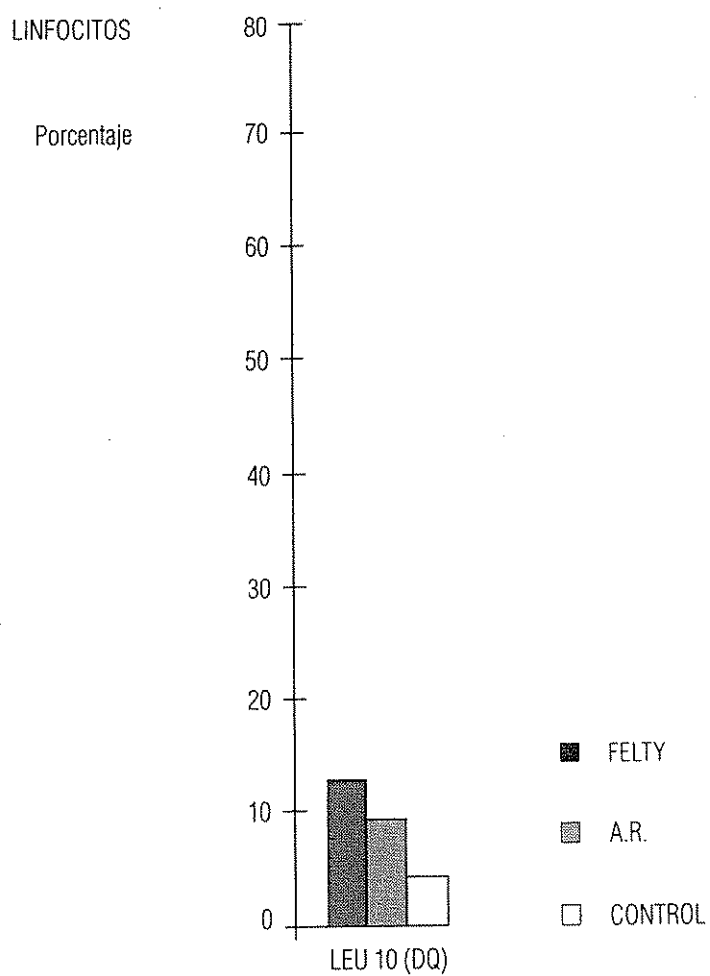
## HNK1 en porcentaje



### WR18 (HLA de clase II) en porcentaje



### LEU 10 (DQ) en porcentaje



## CAPITULO 4

### DISCUSION

Iniciaré la discusión comparando los estudios clínicos descriptivos realizados hasta la fecha en el marco del SF. Posteriormente analizaré los resultados de inmunidad humoral y concluiré con los resultados de inmunidad celular.

En nuestra serie de SF. recogidos durante 18 meses, observamos que existían un 20% de varones y un 80% de mujeres. Comparemos dichos porcentajes con los de otros autores:

		Mujeres	Varones
Ruderman	1968	85%	15%
Barnes	1971	71%	29%
Spivak	1977	70%	30%
Sienknecht	1977	68%	32%
Goldberg	1980	52%	48%

Como se puede ver, nuestros resultados son similares a los presentes en la literatura, a excepción del trabajo de Goldberg. En definitiva 2/3 de los casos de SF. corresponden a mujeres (6,7,8,9,10).

La edad de nuestros pacientes era de 62.35 con un rango de 47 a 76 años, dicha edad es parecida a la reflejada en los trabajos de Goldberg y Ruderman, y ligeramente superior a la presente en los trabajos de

Spivak, Barnes y Sienknecht. El hecho de trabajar en un centro referencia al que se envían pacientes de una región tan basta como el sudoeste de Inglaterra, puede significar un sesgo, remitiéndose pacientes con AR avanzadas y con manifestaciones extrarticulares, lógicamente enfermos en donde la AR lleva años de evolución, así mismo la propia historia y tradición del hospital concentra un gran número de pacientes con AR de muchos años de evolución.

	Edad	Intervalo AR-SF
Ruderman	60	--
Barnes	53.9	11.7
Spivak	42	14.5
Sienknecht	56	16.7
Goldberg	63	12

Clásicamente se dice que aquellos pacientes que desarrollan un SF lo hacen tras varios años de padecer la AR. En nuestro caso el intervalo AR-SF es de 12.50 años, dato equiparable al resto de las series. Parece evidente que para el desarrollo del SF, es necesario una AR de aproximadamente 10 años de evolución, es curioso observar que en ocasiones - dos casos en nuestra serie- la AR y el SF fueron diagnosticados de forma sincrónica.(6,7,8,9,10)

Aunque reportado ocasionalmente en la literatura del SF, la aparición simultánea de la tríada sintomática del SF es un hecho conocido (13). Recientemente un número parcial de pacientes con LTC y LLCT presentan de forma coincidente artritis, citopenias y esplenomegalia. Aunque nuestra serie es pequeña- de hecho cualquier serie de SF lo es - uno de los pacientes con inicio concomitante de las características del SF presentaba en realidad un LTC. Por tanto, el intervalo entre la AR

y el SF es un dato clínico que puede ayudar de cara al diagnóstico de una proliferación linfoidea (229,230,231,232,237,238).

La duración total media de la AR es de 21.25 años. Es decir son pacientes que en su mayoría han padecido la enfermedad reumatoide durante dos décadas, dicho dato, unido al hecho de presentar un SF, que como mencionamos en la introducción representan un subgrupo de pacientes con una AR mas agresiva es la causa que este conjunto enfermos tengan -como veremos despues- una capacidad funcional muy menguada.

Analicemos los criterios por los cuales se diagnostica el SF: la AR, la esplenomegalia y la leucopenia/granulocitopenia.

Todos nuestros pacientes presentaban una AR siguiendo los criterios de la sociedad americana de reumatismo (247). En un 85% de los mismos las erosiones se encontraban presentes. Porcentajes parecidos a los de Goldberg (68%),o los de Sienknecht (91%). Quizás el examinar las erosiones mediante estudio radiológico no solo de las manos (palmo placa) sino tambien de los pies (pie-placa) acercaría nuestro porcentaje al de Sienknecht (8,10). Tres pacientes de nuestra serie no presentaron erosiones, uno de ellos era el paciente con LTC. La ausencia de erosiones o su escasa presencia es otro de los datos comunicados en la literatura como sugestivos de estar delante de una proliferación linfoidea en lugar de una AR (231,241).

En cada visita se realizó un índice funcional, concretamente el de Steinbroker (243), observándose que un 55% (11 pacientes) de afectos del SF se encontraban en un grado III y un 5% en un grado IV. El significado de estos grados de funcionalismo es el siguiente: los de grado III tenían una capacidad mínima para realizar las actividades diarias, incluso las de su propio cuidado corporal, que un paciente tenga un grado IV significa que precisa de silla de ruedas. Dicha variable no había sido calculado nunca dentro de un grupo de pacientes con SF. Aunque es una medida subjetiva por parte del observador, se puede asegurar que dentro de un grupo de AR este porcentaje es alto y da una diáfana idea sobre la gravedad del SF.

La esplenomegalia es uno de los criterios originales del SF, como comenté en la introducción su necesidad es puesta en duda, dada la frecuencia de presentación de dicha visceromegalia en el contexto de la AR sin citopenia (10). En el momento de la revisión de los enfermos

un 55% (11) presentaban esplenomegalia, un 30% (6) habían sido esplenectomizados, sin embargo a un 15% (3) no se les encontró a la palpación física dicha víscera. Dicho porcentaje varía con respecto a las series restantes ya que éstas presentan pacientes "de novo" y siempre incluyen como criterio la esplenomegalia. En nuestro caso, fue una evaluación en un punto concreto de la historia de la enfermedad, de ahí la razón que se presenten ciertos pacientes esplenectomizados y otros que en el preciso momento de su evaluación no presentaban la esplenomegalia, debido a la regresión del SF en un paciente o el encontrarse con tratamiento de fondo en otros.

En el momento de su examen un 55% (11 pacientes) presentaban una leucopenia inferior a  $4 \times 10^9 / l$ , así mismo un 50% (10 pacientes) se encontraban granulocitopénicos. La cifra media de leucocitos es de  $4.86 \times 10^9 / l$  y la de granulocitos obtenida únicamente en 13 pacientes de  $2.23 \times 10^9 / l$ . Nuevamente al comparar estos datos, observamos que en nuestro trabajo se trataba de una evaluación en un momento concreto de la historia del SF, por tanto existían pacientes que habían respondido a tratamiento e incluso otros cuya evolución espontánea era hacia la remisión del SF. No existió correlación entre la presencia de esplenomegalia y la leucopenia.

Un dato de relevancia es la existencia de un paciente con linfocitosis absoluta junto con leucopenia y granulocitopenia. Este paciente una vez efectuado el estudio correspondiente resultó ser una linfocitosis T entidad que curiosamente cumple los criterios del SF, siendo un proceso linfoproliferativo.

Es interesante ver series pasadas de SF, como en la de Barnes en donde están perfectamente detallados las características hematológicas de los pacientes con SF, existen cuatro pacientes con linfocitosis superior a  $3.500 \text{ mm}^3$  ( $3.5 \times 10^9 / l$ ), dos de estos presentan linfocitosis absolutas superiores a  $4000 \text{ mm}^3$  ( $4 \times 10^9 / l$ ), sugiriendo la posibilidad de una Linfocitosis T, sin embargo los estudios de la médula no lo reflejan, aunque se puede argumentar que al ser la Linfocitosis T una nueva enfermedad con probabilidad en el pasado no se evaluaban las médulas con el mismo atino que hoy. (6)

La forma de presentación de nuestros SF se adapta a lo descrito en la literatura, es decir, en 18 pacientes la AR precedió a la leucopenia y la granulocitopenia, en dos pacientes la tríada diagnóstica se inició de forma simultánea, dato que como veremos tiene interés. Se ajusta a

los datos de series recientes como la de Goldberg: en 19 pacientes la AR precede a la citopenia y esplenomegalia, uno presentó granulocitopenia que precedió a la AR en un mes. Dicho dato clínico de aparente banalidad toma importancia en el contexto de la Linfocitosis T /Leucemia granular de Linfocitos T, dado que diversos autores al revisar sus pacientes con estas entidades han mencionado que un porcentaje respetable de estos presentan simultáneamente una poliartritis, esplenomegalia y granulocitopenia-linfocitosis absoluta, estamos pues frente a un dato clínico que puede ayudar en el diagnóstico diferencial. De nuestros dos pacientes con aparición sincrona de la tríada, uno de ellos presentaba una linfocitosis T.(228-231)

La actividad de la AR se midió mediante dos índices usados de forma habitual, la rigidez matutina y el índice de Ritchie, este último fue medido siempre por un único explorador. Un 60% tenían una rigidez matutina superior a 30 minutos, así mismo un índice de Ritchie superior a 14 se objetivó únicamente en un 20%. El índice de Ritchie medio es de 9.95 y la rigidez matutina media de 70.35 minutos.

Sobre la actividad de la artritis los datos de la literatura son variables, así Goldberg (10) comenta a cerca de sus 19 pacientes afectos de SF que solo 1/3 presentaban actividad articular, aunque resulta paradójico que no comente el método de medición. Dicho autor menciona que la mayoría de sus pacientes tienen AR "quemadas" es decir sin actividad articular. Curiosamente otra serie como la de Sienknecht et al (8) refleja una gran actividad de la artritis, claro que el índice de medición de la actividad es el de Lansbury. A pesar de la diferencia sus resultados son ostensiblemente diferentes a los de Goldberg y nuestros.

Otro índice de medición de la inflamación no referido en la literatura de los SF es la rigidez matutina, su validez es universal, y no se discute su utilidad como parámetro. Un 60% de nuestros pacientes presentaban una rigidez matutina valorable en términos de inflamación (8,10).

En conclusión podemos afirmar que los SF examinados no poseían una actividad articular importante según la evaluación por el índice de Ritchie. Sin embargo presentaban una rigidez matutina valorable, aunque tampoco demasiado importante, en términos inflamatorios. Curiosamente no existió correlación alguna entre diferentes índices clínicos (Ritchie, Rigidez matutina) y otros reactantes de fase aguda como



viscosidad, proteína c reactiva, y plaquetas.

La presencia de infecciones es otro aspecto que da protagonismo al SF, en nuestra serie un 70% presentaban antecedentes de infecciones, veamos otras series :

Barnes 66%

Goldberg 33%

Ruderman 52%.

Las frecuencias son similares entre Barnes, Ruderman y nuestro trabajo. Sin embargo se alejan de los dato de Goldberg, esto tiene explicación quizás debido a que este autor no cree en la existencia de mayor número de infecciones en el marco del SF, alegando que la inclusión de pacientes esplenectomizados en todas las series de SF es un sesgo importante ya que estos pacientes presentan mayor labilidad al infección (6,7,8,10).

Vista la existencia de infecciones comparemos la localización de estas:

Barnes, Ruderman  
Laszlo, Moore (6,7,8,54)

Olivé

Piel.....	26%	40%
Pulmonar.....	24%	45%
Tracto urinario.....	9%	5%
Otorrino-laringológica.....	8%	15%
Artritis séptica.....	2%	5%

Las frecuencias no son del todo similares, con probabilidad se debe a la inclusión en la presente serie de pacientes esplenectomizados, y también hospitalizados, que representan un subgrupo dentro de los afectos con SF con mayor severidad y labilidad a la infección.

Es evidente que existe una mayor prevalencia de infecciones en el SF, estamos de acuerdo con Goldberg (10) en el sentido que en un futuro próximo y en orden a saber la exacta prevalencia de la infección en el marco del SF son necesarios dos condiciones:

- exclusión de pacientes esplenectomizados.
- Grupos controles de AR sin leucopenia y esplenomegalia .

Las manifestaciones extrarticulares tienen mayor prevalencia en el SF que en la AR. En nuestra serie existía una media de 2.15 manifestaciones extrarticulares por paciente. Dato algo menor que Sienknecht et al que refería 2.9 por paciente. Veamos los resultados, siempre comparándolos con series demostrativas:

	Sienknecht (%)	Ruderman (%)	Barnes (%)	Goldberg (%)	Olivé (%)
Nódulos reumatoides	74	82	71	53	75
Adenopatías	42	30	19	0	5
Hepatomegalia	68	--	--	--	30
Ulceras piernas	16	41	19	21	25
Polineuritis	14	19	14	11	10
Sjogren	48	--	69	32	--
Epiescleritis	3	11	5	0	10
Pericarditis	0	7	0	--	0
Pleuritis	22	15	0	11	0
Fibrosis pulmonar	50	--	--	--	--
Hiperpigmentación	22	--	22	5	10
Infiltrado pulmonar	--	--	--	--	10
Historia vasculitis	--	--	23.8	--	20
Pérdida de peso	65			26	20

A vista de pájaro es notable la similitud entre las diferentes series (6,7,8,10). Sin embargo en donde existen más puntos de concordancia es con la serie de Goldberg, que a su vez es también junto a la presente la más moderna. A continuación discutiremos uno a uno cada una de las manifestaciones clínicas.

Los nódulos reumatoides se objetivaron en un 75% (15) de pacientes, incluyendo el paciente con linfocitosis T. Su frecuencia y localización no se diferenciaron de las series hasta ahora publicadas en la literatura: yuxtaarticulares y en zonas de presión.

Las adenopatías se encontraron en escasa frecuencia, es importante observar que en las series más recientes -Goldberg (10) y la presente- la frecuencia disminuye de forma importante, quizás la aplicación de los criterios de forma más estricta puede explicar la diferencia.

La hepatomegalia se objetivó en un 30% (6), el procedimiento fue mediante examen físico y palpación ordinaria, la frecuencia es menor a la de Sienknecht, dicho trabajo no menciona el método de evaluación de dicha víscera (8). Es a partir de dicho trabajo que el estudio del hígado en el SF ha tomado protagonismo mediante la asociación con Hiperplasia Nodular Regenerativa y Fibrosis portal. Dado que el objetivo principal del proyecto era la inmunidad humoral y celular, no se analizó la función hepática y se obvió la realización de biopsia hepática para el estudio de la hepatopatía.

Las úlceras en las piernas se encontraron en un 25% (5), se localizaban todas en región pretibial y en ningún caso se acompañaron de signos de vasculitis. Nuevamente si examinamos las series veremos que la frecuencia de dichas úlceras disminuye en frecuencia a lo largo de la historia del SF, así pues tenemos que Ruderman lo refiere en un 41% y Goldberg en un 21%. La aplicación de criterios más estrictos puede explicar las diferencias. (7,10)

La polineuritis se evidenció en un 10% (2), de nuevo con similitud a las series recientes de Goldberg, era asintomática y se halló durante la exploración física. No existía ninguna otra causa que pudiese justificarla. Las diferencias entre el resto de series es mínima. Lógicamente si se realizasen electromiogramas los porcentajes serían más elevados. (6,7,8,10)

El Síndrome de Sjogren, que en este caso es secundario, no se estudió en la presente serie, debido a razones ya mencionadas anteriormente. Sin embargo hay que ser crítico respecto a los porcentajes de series precedentes debido a que sus criterios diagnósticos se basan únicamente en el Test de Schirmer, sin realizar en ningún caso examen con Rosa de Bengala y biopsia de glándula salival menor.(6,7,8,10)

La epiescleritis se manifestó en un 10% (2), se sospechó clínicamente y siempre fue confirmada por oftalmólogo. Los porcentajes son similares.

No se documentó ningún paciente con pericarditis o pleuritis, dato que concuerda con las demás series, especialmente en el caso de las pericarditis. No se realizaban de screening ni radiografía de tórax ni pruebas funcionales, esto explica la ausencia de fibrosis pulmonar en nuestra serie.

La hiperpigmentación ya fue descrita clásicamente por Augustus Felty, la presente serie objetiva dicho signo en un 10% (2), porcentaje que no se aparta de los datos de la literatura. Hoy día es otro de los síntomas del SF. mas cuestionados, las series recientes - Goldberg y la nuestra- presentan porcentajes similares que lo diferencian algo de series más antiguas.(2,6,7,8,9,10)

El infiltrado pulmonar se evidenció en un 10% (2), dicho paciente se presentó con disnea, imagenes pulmonares y biopsia pulmonar compatible con infiltrado linfocitario que respondió a la corticoterapia. No deja de ser curioso el que no haya sido referido en la literatura.

Bajo el título historia de vasculitis agrupamos un grupo de pacientes con úlceras de rápida evolución, en lugares poco comunes, en sacabocado y/o mononeuritis multiplex; un 20% (4) presentaron dichos síntomas, en todos los casos se documentó con biopsia rectal compatible con vasculitis. Esta variable fue examinada por el autor, mediante revisión de la historia clínica de los pacientes. Su porcentaje no se aleja de lo reflejado en la literatura(6,7,8,9,10).

Por último la pérdida de peso de peso se valoró si era mas de un 10% (2) del total corporal. Nuestros datos se ajustan más a la reciente serie de Goldberg, la gran diferencia con la serie de Sieknecht se debe a que dicho autor agrupa bajo el síntoma perdida de peso a otros signos

sistémicos como fiebre.(8,10)

Como mencioné anteriormente los datos presentados se ajustan mas a las series recientes. Es evidente que para afirmar taxativamente que el SF. tiene mayor número de manifestaciones extrarticulares, dato recogido ampliamente en la literatura y que es una impresión clínica confirmada por el autor en la presente tesis, es imperativo realizar un estudio controlado con AR de similares características pero sin granulocitopenia o esplenomegalia.

A continuación discutiremos la hematología.

Un 55% (11) de los pacientes recogidos en la presente serie, evidenciaban una hemoglobina inferior a 12 gr/dl; la hemoglobina media era de 11.67 gr/dl, datos similares a las cifras de Sienknecht: 11.1 gr/l y Goldberg: 11 gr/dl.

En un 45% (9) de pacientes se trataba de una anemia microcítica, un 50% (10) normocítica y en un 5% (1) macrocítica. En la literatura se refleja la anemia en un 79%, las diferencias con otras series son quizás debidas a la poca actividad inflamatoria que tenían nuestros pacientes así mismo en la presente serie los pacientes con SF. ya estaban controlados y ergo todos tenían tratamiento, sea con drogas inmunosupresoras o agentes inductores de remisión (6,7,8,10).

Una plaquetopenia inferior a  $150 \times 10^9 /l$ , se objetivó en un 10% (2), con unas plaquetas medias de  $293 \times 10^9 /l$ , que es algo diferente a las referidas por Sienknecht:  $195 \times 10^9 /l$  y Goldberg  $197 \times 10^9 /l$ . Uno de ellos presentaba una plaquetopenia autoinmune; en un 40% (8) de pacientes la cifra de plaquetas era superior a  $300 \times 10^9 /l$  comportándose como un reactante de fase aguda. Nuevamente la diferencia respecto series precedentes es ostensible, a excepción de la serie de Goldberg en donde sobre 19 pacientes únicamente tres presentaban plaquetopenia. Las razones mencionadas en el párrafo anterior tambien se adaptan para las plaquetas (6,7,8,10).

La viscosidad plasmática se encontró elevada en un 60% (12) de pacientes, con una cifra media de 1.86 cp, dicho parámetro se comporta como un reactante de fase aguda, que en nuestro caso fue sustitutivo de la velocidad de sedimentación.

A un 80% de (16) los pacientes se les realizó estudio de la médula ósea. Los resultados mostraron que un 58% tenían una hiperplasia mieloide con desviación a la izquierda y falta de formas maduras, lo que los ingleses llaman en su literatura un "maturation arrest". Un 23% tenían la médula normal, un 5.9% hipoplásico y un 5.9% con infiltrados linfoides, correspondiendo en este último caso a una linfocitosis T. Los resultados de Goldberg ofrecen que un 94% de sus pacientes presentan el mismo patrón mieloide, es decir una hiperplasia mieloide con desviación a la izquierda, también presenta uno con hipoplasia mieloide. He aquí una de los hechos paradójicos del SF, una misma enfermedad con diferentes patrones medulares, diferentes respuestas a un mismo mecanismo patogénico (10).

La descripción reciente de la linfocitosis T/leucemia granular con su patrón mieloide de infiltración linfóide, ha diferenciado uno de los patrones medulares que en la literatura del SF se reflejaba minoritariamente pero de forma constante. Hecho de vital importancia y que sugiere una heterogeneidad dentro del SF. El advenimiento futuro de nuevas técnicas quizás pueda diferenciar otros patrones - como el hipoplásico y el normal- en sendas enfermedades (5,6,8,10,227).

A continuación discutiremos los resultados de la inmunidad humoral.

El factor reumatoide resultó positivo en un 90% (18) de pacientes, es decir que dos casos resultaron seronegativos, dato recogido en toda la literatura aunque escasamente. La cifra media es de 273.25. Nuestras titulaciones fueron más bajas que en series precedentes, la técnica por nosotros empleada es diferente: nefelometría, y explica tales diferencias, ya que en trabajos previos las técnicas utilizadas eran las de latex y Waaler-Rose.

Goldberg expresa sobre 19 pacientes uno seronegativo y Barnes sobre 21 SF refiere dos seronegativos. Los títulos son más elevados debido al uso de la técnica de Latex: 1/2898. Lógicamente también pueden existir otros factores que influyan los resultados del factor reumatoide: el hecho que todos los pacientes estén con tratamiento de fondo y la variable evolución de la AR pueden hacer que en distintos momentos evolutivos existan titulaciones más bajas, seroconversiones e incluso positivaciones del factor reumatoide (6,10).

La proteína C reactiva resultó positiva, en un 35% de los pacientes con

SF, su método de medición fue por nefelometría y se consideraron positivos resultados superiores a 0.010. Dentro de los llamados reactantes de fase aguda sorprende algo la diferencia entre la viscosidad y la proteína C reactiva, aunque ambos están con niveles bajos.

Se reflejó hipocomplementemia C3 en un 10% y C4 en un 40%, signo indirecto de la existencia de inmunocomplejos circulantes. Lamentablemente no pudieron realizarse estos.

Los anticuerpos antinucleares (ANA) se efectuaron en dos sustratos bien diferenciados: hígado de rata y en líneas celulares como HEP 2. De todos es bien sabido la mayor sensibilidad de las líneas celulares. Los resultados reflejaron una positividad frente a hígado de rata de un 45%, y frente a sustrato celular HEP 2 del 70%. La diferencia entre ambas técnicas no resultó significativa ( $p = 0.0625$ ), a pesar de ello la diferencia es apreciable.

Todos los patrones de inmunofluorescencia eran compatibles con el homogéneo. Todos los pacientes con positividad frente a hígado de rata también lo eran frente a HEP 2, sin embargo dada la mayor sensibilidad de la línea celular en ocasiones existían positividades frente a HEP 2 que no lo habían sido en sustrato de hígado de rata. Comparemos los resultados frente a los de otros autores:

	RUDERMAN	BARNES	SIENKNECHT
ANAS	85%	61%	55%

En la literatura se ofrecen incluso positividades del 100%. Al analizar los resultados de cada una de las series hay que tener en cuenta :



-los criterios de selección de los pacientes con SF.

-los sustratos utilizados dada la mayor sensibilidad de las líneas celulares.

En un trabajo reciente con metodología parecida, se muestran positivities frente a hígado de rata de un 62% y frente a líneas celulares (HEP2) de un 82%, siendo dichos resultados similares a los de la presente serie (72). El patrón de inmunofluorescencia es en su mayoría de casos homogéneo aunque se describen en ocasiones patrones periféricos (72).

Los antígenos extraíbles del núcleo se analizaron mediante Inmunodifusión pasiva - método de Ouchterlony - y Contrainmunolectroforésis. Dicho procedimiento no se había realizado en la literatura del SF.

La inmunodifusión pasiva ofreció positivities únicamente en un 15% (3), dichas líneas de precipitación fueron frente a timo de carnero y bazo humano no identificándose ninguna línea con los anticuerpos prototipo: Ro (SSa), La (SSb), Rnp y Sm.

Respecto a la Contrainmunolectroforésis, un 45% (9) de sueros ofrecieron líneas de precipitación : seis frente bazo humano, una frente a timo de carnero y dos frente a ambos.

La comparación entre ambas técnicas resulto ser significativa  $P = 0.0313$ , dato que confirma la mayor sensibilidad - ya conocida en la literatura - de la Contrainmunolectroforesis frente a la inmunodifusión pasiva.(246).

En todos los casos se enfrentaron a los anticuerpos prototipo sin obtener ninguna identificación, ni siquiera parcial. El significado de estas líneas de precipitación es desconocida. La nitidez de la línea de precipitación no era tan diáfana como las habituales frente a anticuerpos prototipo, lo cual hace dudar de la existencia de un anticuerpo propio no identificado. Solo el avance en la serotecas y la difusión de técnicas mas sensibles como ELISA o Inmunoblotting permitirán identificar dichos anticuerpos. Recientemente sendos trabajos han

mostrado un importante prevalencia de anticuerpos anti histona en el SF, utilizando un ELISA y Inmunoblotting (72,248).

La determinación de los anticuerpos cardiolipina en el contexto de las enfermedades inmunes ha tomado un rol importante. Examinando dichas series, podemos observar la ausencia de dicha determinación en pacientes con SF, excepto en una serie de Mc Hugh et al; sobre 27 pacientes con SF, únicamente uno presenta positividad frente a dicha prueba pero a títulos bajos (74).

Estimulados por el mencionado trabajo determinamos mediante un sistema ELISA validado por el Worckshop Internacional (Jamaica) los anticuerpos anticardiolipina. Si observamos los resultados veremos que fueron positivos frente a IgG en un 25% (5) y frente a IgM en un 15% (3). Los resultados obtenidos eran titulaciones bajas y en ningún caso se presentaron con clínica acompañante de trombosis arteriales, trombosis venosas, abortos recurrentes, cefaleas y livedo reticularis.

El rol definitivo de los anticuerpos anticardiolipina en el marco del SF esta por determinar, la presencia de títulos bajos hace pensar que no será mas que un epifenómeno autoinmune, sin embargo para poder afirmar esto de forma categórica se requerirá en el futuro nuevas determinaciones con grupos control sin enfermedad alguna y AR sin esplenomegalia ni granulocitopenia.

A continuación discutiremos los resultados de la inmunidad celular.

Realizando una primera lectura de los resultados de los fenotipos linfocitarios efectuados con el panel de anticuerpos monoclonales, se observa que no hay diferencia significativa entre los fenotipos linfocitarios de la Artritis Reumatoide, Síndrome de Felty y población control, al menos en lo que concierne a: CD3, CD8, NK.

En otras palabras, no existen diferencias entre el número de células T (CD3), células T supresoras (CD8) y las células naturales asesinas (NK).

El rol del linfocito T en la AR, es importante. Hoy día se piensa que los síntomas de la enfermedad comienzan en el momento que la actividad

de la célula T es prominente. La activación de la célula T es el primer escalón en la patogénesis de la enfermedad. La expansión clonal de las células T en respuesta a los antígenos llevará más tarde a la proliferación de células B y la producción de anticuerpos, incluyendo el factor reumatoide (166).

Cuantitativamente nuestros resultados no son sorprendentes, el número de linfocitos en la AR se describe como normal, por tanto no es de extrañar que no existan diferencias significativas entre el número de linfocitos T del SF y el de los grupos control. El anticuerpo monoclonal utilizado es un marcador del determinante antigénico de membrana CD3. Es la actividad de los mismos, su activación la que desencadenará la cascada inmunológica que llevará a la enfermedad reumatoide (166).

Los resultados hasta ahora ofrecidos de las diferentes subpoblaciones en la AR, son contradictorios, como mencioné en la introducción existen en la literatura diferentes trabajos que muestran normalidad, aumento o descenso de las poblaciones CD4 y CD8, y subsecuentemente del cociente CD4/CD8 (182-195). El reciente advenimiento del citómetro de flujo ha facilitado el estudio de estas células. Datos recientes muestran un descenso de las células supresoras -CD8- y por tanto un aumento del cociente CD4/CD8.

El resultado de nuestro trabajo no muestra diferencias significativas entre AR, SF y grupo control respecto a CD3, CD8, NK. Nuestros resultados son similares a los recogidos en la literatura antes de la llegada de los citómetros de flujo. Este hecho y el que el aumento de las células supresoras se objetivase más en aquellas AR activas son las razones aducidas por el autor para explicar la diferencia de resultados.

La atractiva hipótesis a cerca que la función defectuosa de los linfocitos T supresores capacita la génesis de un número elevado de inmunoglobulinas, incluyendo al factor reumatoide no puede ser confirmada por la normalidad en nuestro trabajo de los linfocitos T supresores.

El análisis en sangre periférica de las células naturales asesinas no mostró diferencias significativas frente a aquellos pacientes con AR y el grupo control. Dicho resultado es semejante al publicado en la literatura en donde los porcentajes de células NK es igual en la AR que en los grupos control. Sin embargo es interesante observar que en

la sinovial las células NK (estudiadas mediante anticuerpos monoclonales) sí se encuentran disminuídas, los hallazgos histológicos muestran una sinovial exuberante, es quizás esta falta de citotoxicidad la que producirá una persistencia y replicación - del supuesto virus etiológico de la AR - en la sinovial y así la cronicidad de la enfermedad (209,210,211,212).

Revisando los resultados de los fenotipos linfocitarios también es denotable una serie de diferencias entre las tres poblaciones examinadas que merecen atención : CD4, índice T4/T8, HLA clase II -DR,DQ,DP- WR 18, y HLA CLASE II-DQ- Leu 10.

Como comuniqué en la introducción, el número de células supresoras - CD4-en la AR y siempre refiriéndome a sangre periférica también ha ofrecido resultados controvertidos: normales, aumentados o disminuídos. En el trabajo presentado existen diferencias significativas en los grupos Felty y AR respecto al grupo control, sin embargo no hay diferencias entre Felty y AR. Los resultados son próximos a los mostrados por otros grupos. Sin embargo hay que hacer notar que utilizando técnicas más sutiles (citómetros) los resultados más actuales ofrecen un descenso de los CD8, capacitando por tanto la génesis de un gran número de inmunoglobulinas (182-195).

Un dato objetivado en la presente tesis y que es avalado por la literatura es la presencia significativa de linfocitos activados en el SF, y la AR respecto al grupo control. Curiosamente no existen diferencias significativas entre los linfocitos activados entre la AR y el SF. El anticuerpo monoclonal utilizado es el WR 18 (HLA clase II). La expresión de dicho antígeno, como el Ia son los reportados clásicamente para objetivar los linfocitos activados. El resultado presentado no es novedoso, y no hace más que reafirmar el papel del linfocito T activado en la génesis y persistencia de la enfermedad reumatoide.

Sendos anticuerpos monoclonales han aparecido recientemente, no comparten el mismo epítipo, y ambos son específicos de los linfocitos activados. Se trata del anti-tac y el transferrina. En un futuro sería harto interesante realizar estudios de linfocitos activados en sangre periférica, líquido sinovial y tejido sinovial con dichos anticuerpos monoclonales, ya que parece ser que hay una disociación entre los antígenos Tac y los DR-Ia (166,167,168).

Otro resultado interesante es la mayor expresión en la membrana de las células mononucleadas del SF<sub>i</sub> y la AR del determinante antigénico DQ, que como es sabido forma parte del HLA clase II junto a DP y DR (166). Es decir que de nuevo y conjugando con el resultado anterior existe una mayor expresión de los HLA de clase II. Remarcando la importancia del linfocito activado en la genesis de la AR (166).

Si observamos los resultados del cociente CD4/CD8, veremos que existe una diferencia significativa entre los de la AR y el SF<sub>i</sub> respecto al grupo control. Sin embargo no existen diferencias significativas entre AR y Felty respectivamente. Como mencionamos en la introducción el cociente CD4/CD8 en el marco de la AR es también un dato controvertido. Objetivándose cocientes normales, aumentados e invertidos (182-195).

Es interesante observar que de las AR un único paciente sobre 20 presentaba un cociente invertido: 0.8. Paradójicamente en el SF<sub>i</sub> se objetivaron 6 pacientes con una inversión del cociente CD4/CD8. Uno de ellos con un ratio CD4/CD8 de 0.45 y que correspondía a la linfocitosis T Crónica. Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre los cocientes CD4/CD8 entre ambas poblaciones (AR Y SF<sub>i</sub>).

La inversión del cociente CD4/CD8 en seis pacientes con SF<sub>i</sub>, ha hecho que examinásemos de forma comparativa este grupo de pacientes con el ratio invertido (6 pacientes) con aquellos pacientes con SF<sub>i</sub> y ratio normal. Se analizaron todas las variables clínicas y biológicas no existiendo ninguna diferencia significativa. Es decir que no existía ninguna manifestación clínica diferenciable, ni dato biológico que diese protagonismo a estos pacientes con SF<sub>i</sub>.

En la literatura existe una única serie en la que se examinan los fenotipos linfocitarios del SF<sub>i</sub> con anticuerpos monoclonales correspondientes a CD3, CD4 y CD8. Los resultados que ofrece son el de unos ratios CD4/CD8 normales a excepción de uno con un cociente de 0.5 (239).

Nuestro trabajo muestra seis pacientes con SF<sub>i</sub> con el ratio invertido sin embargo solo uno inferior a 0.5, que es el paciente con la linfocitosis T. Por tanto nuestra serie de pacientes con SF<sub>i</sub> difiere en cierta forma con el mencionado trabajo en el sentido de presentar un mayor número de SF<sub>i</sub> con el ratio invertido, sin embargo tiene en común en que si la inversión del ratio es inferior a 0.5, las posibilidades

de un desorden proliferativo son mayores. Es importante resaltar que una grosera inversión del cociente CD4/CD8 en el marco del SF debe hacernos pensar en un desorden proliferativo, como veremos después.

Un aspecto interesante que se evidencia en la presente tesis, es la similitud entre los fenotipos linfocitarios entre la AR y el SF; ambas enfermedades se distinguen del grupo control por el CD4, y expresión del HLA clase II-DR DQ DP- y HLA clase II- DQ.

Sin embargo la identidad presente entre ambas poblaciones (SF y AR) dice mucho de ambas. Afirmar que dado que los fenotipos linfocitarios son parejos se trata de una misma enfermedad es arriesgado, dado lo inespecífico de los mismos. El SF es una complicación extrarticular de la AR, un subgrupo dentro de la AR con una enfermedad más agresiva y mayor número de manifestaciones extrarticulares, con un protagonismo propio, pero, es y cumple los criterios diagnósticos de la AR (10). Aportar fenotipos linfocitarios similares es un argumento pequeño frente a los criterios diagnósticos actuales de la AR, sin embargo es otro dato a valorar.

Un objeto de la presente tesis, es el examinar si en la serie de SF revisada existía una heterogeneidad. Es decir dentro de este grupo de pacientes catalogados de SF: ¿ Había alguna linfocitosis T Crónica /Leucemia granular linfocítica?.

El paciente número 17 afecto de un SF, presentaba una linfocitosis periférica y central. Su fenotipo linfocitario presentaba una grosera inversión del cociente CD4/CD8, aumento prominente de las células naturales asesinas (NK), y también presencia importante de células activadas (WR 18 y DQ). No se demostró clonalidad. Se trataba pues de una linfocitosis T crónica (227).

El autor ha revisado la literatura del SF prácticamente desde su descripción original por Augustus Felty en el año 1924 hasta la fecha actual. Llama la atención que en las series más tempranas ya se describen un pequeño número de pacientes enmarcados dentro del SF, con una linfocitosis (6).

Recientemente, a raíz de la descripción de la Linfocitosis T crónica/Leucemia linfocítica de gránulos grandes y en base a la

heterogeneidad del SF se han revisado series de pacientes con SF, siendo los resultados harto curiosos.

Freimark et al (232) estudian 8 pacientes con SF, encuentran dos de ellos con linfocitosis y clonalidad (Leucemia linfocítica de gránulos grandes), y dos con linfocitosis pero sin clonalidad (linfocitosis T crónica). Loughran et al (231) examinan a 12 pacientes con SF, cuatro de ellos presentan un fenotipo característico y clonalidad, se trataban pues de Leucemias linfocíticas de gránulos grandes.

Un reciente trabajo retrospectivo que examina la prevalencia de las proliferaciones granulares linfocitarias en pacientes con AR y neutropenia muestra sobre 1053 AR revisadas durante el período 1978-87 un 1.1% de SF y un 0.6% de proliferaciones granulares linfocitarias. Curioso es observar que este porcentaje de proliferaciones linfocitarias representan un 20% de las linfocitosis granulares vistas en la institución (248).

¿Que caracteres clínicos y biológicos nos pueden ayudar de cara a la diferenciación entre el SF y las proliferaciones de linfocitos granulares?.

En nuestra serie de 20 SF, existía un único paciente con una linfocitosis T crónica. Las características más acusadas fueron:

- Inicio simultáneo de artritis, neutropenia, esplenomegalia.
  
- Escasas manifestaciones extrarticulares (únicamente nódulos).
  
- Ausencia de erosiones articulares.

Dichos son los datos clínicos que en el marco del diagnóstico del SF, deben hacer sospechar la linfocitosis T crónica (231).

Los datos biológicos presentes en nuestro paciente son:

- la linfocitosis periférica y central.
- neutropenia.
- Fenotipo linfocitario característico: Cd3+,CD4-,CD8+, DR +,NK +.

Todos ellos son los datos reportados en la literatura como característico de las proliferaciones linfocitarias granulares, y son los que nos harán sospechar la presencia de éstas (230-234).

A modo de resumen, tanto las series descritas en la literatura como en la tesis presentada , existe un pequeño porcentaje de pacientes con supuesto SF<sub>i</sub> que presentan un desorden proliferativo - llámese linfocitosis T crónica o Leucemia linfocítica de gránulos grandes- todo ello sugiere una heterogeneidad dentro de lo que se llama SF. De la misma forma, dado que en la series más antiguas ya se describían cierto SF<sub>i</sub> con linfocitosis centrales es de suponer que estos pacientes se encontraban afectados de un desorden proliferativo. El advenimiento de nuevas técnicas ha diferenciado ambas enfermedades de forma diáfana.

Otro punto observado en la tesis, es que con la excepción del caso afecto de una Linfocitosis T crónica, el resto de los resultados de los fenotipos linfocitarios en pacientes con SF<sub>i</sub> presentan una uniformidad descartando la posibilidad de otras condiciones distintas definidas al menos por el panel de anticuerpos monoclonales utilizados. Quizás el descubrimiento futuro de nuevas técnicas de laboratorio permitan vislumbrar otro posible subgrupo dentro de lo que actualmente se considera SF<sub>i</sub>.



## CAPITULO 5: CONCLUSIONES.

I. Se presentan las características clínicas de 20 pacientes con SF, éstas no difieren de las reflejadas en la literatura.

II. Uno de los pacientes con SF presentaba un desorden proliferativo, concretamente una Linfocitosis T Crónica. Dicha entidad cursa con síntomas y signos que pueden simular un SF, y sugiere que existe una heterogeneidad dentro del SF.

III. La hematología de los pacientes afectados de SF, presentados no difiere de las del resto de la literatura.

IV. A pesar de no mostrar una significancia estadística los anticuerpos antinucleares en hígado de rata son menos sensibles que los realizados en sustrato de línea celular HEP 2. Así mismo los patrones de identificación son todos homogéneo, dato ya presente en la literatura.

V. Los antígenos extraíbles del núcleo (ENA) se examinaron mediante contrainmunolectroforesis (CIE) y inmunodifusión pasiva, método de Ouchterlony. La contrainmunolectroforesis (CIE) es un método más sensible y ofreció una significancia estadística  $P = 0.033$ . Las líneas de precipitación fueron no identificadas frente a los anticuerpos más habituales como Ro, La, Sm y Rnp. Su significado es incierto.

VI. Se examinaron los anticuerpos anticardiolipina mediante técnica de ELISA detectándose positividad pero siempre a un título bajo y nunca en presencia de clínica .

VII. El fenotipo linfocitario examinado mediante técnica de inmunofluorescencia y utilizando anticuerpos monoclonales frente a CD3,CD4,CD8,NK,HLA clase II(DR,DQ,DP),y HLA clase II(DQ) no mostró diferencias significativas entre Síndrome de Felty y Artritis Reumatoide.

VIII. El índice CD4/CD8 no mostró diferencias significativas entre Síndrome de Felty y Artritis Reumatoide.

IX. El fenotipo linfocitario de pacientes con Síndrome de Felty y Artritis Reumatoide presentó diferencias significativas respecto al grupo control en CD4,HLA clase II (DR,DQ,DP), y HLA clase II(DQ).

X. La mayor expresión en pacientes con Síndrome de Felty y Artritis Reumatoide de los antígenos de clase II sobre las células mononucleadas indica que dichas células están activadas, y que por tanto tienen un rol en la génesis y perduración de la enfermedad reumatoide.

XI. El cociente CD4/CD8 de los pacientes con SF y AR muestra diferencias significativas respecto a la población control.

XII. Dentro de los pacientes con Síndrome de Felty, existían 6 de ellos con el cociente CD4/CD8 invertido,se realizó análisis estadístico comparando los subgrupos de SF con ratio CD4/CD8 invertido respecto a los de ratio normal. No existió grado de significación en ningún dato clínico y serológico.

XIII. El fenotipo linfocitario del paciente con Linfocitosis T Crónica es característico presentando CD3, severa inversión del ratio CD4/CD8, NK, y HLA Clase II dato ya recogido en la literatura.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Rolls R. The Hospital of the Nation: The story of Spa medicine and the Mineral Water Hospital at Bath. Bird Publications. 1 Trim Bridge Bath. Avon BA 1 1HD 1988.
- 2.- Felty AR. Chronic arthritis in the adult associated with splenomegaly and leucopenia : a report of five cases of an unusual clinical Syndrome. Johns Hopkins Hos Bull 1924;395:16-20.
- 3.- Still GF. On a form of chronic joint disease in children. Trans Med Chir Soc Edinburgh. 1897;80:47.
- 4.- Chauffard A, Ramon F. Des adenopathies dans le rhumatisme chronique infectieux. Rev Med 1896;16:345.
- 5.- Hanrahan EM, Miller S. Effect of splenectomy in Felty's Syndrome. JAMA 1932;99:1247-1249.
- 6.- Barnes CG, Turnbull AL, Vernon R. Felty's Syndrom. Ann Rheum Dis 1971;30:359-374.
- 7.- Ruderman M, Miller L, Pinals RS. Clinical and serologic observations on 27 patients with Felty's Syndrom. Arthritis Rheum 1968;11:377-383.
- 8.- Sienknecht CW, Urowitz MB, Pruzanski W, Stein HB. Felty's Syndrome: clinical and serological analysis of 34 cases. Ann Rheum Dis 1977;36:500-507
- 9.- Spivak JL. Felty's Syndrome: an analitical review. Jhons Hopkins Med J 1977;1412:156-162.
- 10.- Goldberg J. Pinals R. Felty's Syndrom. Semin Arthritis Rheum 1980;10:52-65.

- 11.- Short CL, Bauer, Reynolds W. Rheumatoid Arthritis. Harvard University Press 1957.
- 12.- Velasco F, García F, Gonzalez S, Alonso ML, Mena MA, Alonso MJ. Reumatismo Palindrómico: presentación de dos formas evolutivas excepcionales: nodulosis reumatoide y Síndrome de Felty. Rev Esp Reum. 1988;15:58-62.
- 13.- Biosca M, De la Figuera M, García-Bragado F, Villar M, Vilardell M. Síndrome de Felty. Presentación inicial de la Artritis Reumatoidea. Med Clin 1984;82:909-910.
- 14.- Davies PG, Thompson PW. Palindromic Rheumatism and Felty's Syndrome. Ann Rheum Dis 1985;44:640-641.
- 15.- Amrstong RD, Fernades L, Gibson T, Kauffmann EA. Felty's Syndrome presenting without arthritis. Brit Med J. 1983;287:1620.
- 16.- Crowley JP. Felty's Syndrome. En Rheumatoid Arthritis. Utsinger PD, Zvaifler N, Ehrlich GE. J B Lippincott Company. Philadelphia 1985:393-410.
- 17.- Lewis RB. Felty's Syndrome in blacks. Arthritis Rheum. 1980;23:377-378.
- 18.- Termini TE, Biundo JJ, Ziff M. The rarity of Felty's Syndrome in blacks. Arthritis Rheum 1979;22:999-1005.
- 19.- Ramahi KM, Hess EV. Felty's Syndrome in black americans: a case report. Clin Exp Rheum. 1986;4:75-78.
- 20.- Srivastava A, Joseph AG, Cherian AM. Felty's Syndrome in Assians. Brit J Rheumatol 1985;24:303.
- 21.- Blendis LM, Lloyd-Jones K, Hamilton EBD, Williams R. Familial Felty's Syndrome. Ann Rheum Dis. 1976;35:279-281.

- 22.- Runge LA, Davey FR, Goldberg J, Hoyd D, Peter R. The inheritance of Felty's Syndrome in a family with several affected members. *J Rheumatol* 1986;13:39-42.
- 23.- Rosemberg AM, Mitchell DM, Card RT. Felty's Syndrome in a child. *J Rheumatol* 1984;11:835-837.
- 24.- Woodroww JC, .Immunogenetics of Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 1988;15:1-3.
- 25.- Dinant HJ, Hissink M, Van der Berg-Loonen EM, Nijenhuis LE, Engelfriet CP. HLA-DRw 4 in Felty's Syndrome. *Arthritis Rheum* 1980;23:1136.
- 26.- Friman C, Schlaut J, Davis PJ. HLA DR4 in Felty's Syndrome. *J Rheumatol* 1985;12:628-629.
- 27.- Samsom DM, Ridwell JL, Klouda PT, Bradley BA, Campion G, Maddison PJ. A DR4 Associated DQ beta restriction fragment length polymorphism in Felty's Syndrome. *Brit J Rheumatol* 1986;25(Suple 2):67.
- 28.- Thompson W, Sanders PA, Davis M, Dyer PA, Greenan DM. C4B null alleles in Felty's Syndrome. *Brit J Rheum* 1987;26:88.
- 29.- Klouda PT, Corbin SA, Bidwell JL, Bradley BA, Ahern MJ, Maddison PJ. Felty's Syndrome and HLA DR antigens. *Tissue Antigen* 1986;27:112-113.
- 30.- Gruchy CD. Diagnosis and treatment of Felty's Syndrome. *Geriatrics* 1965;20:219-227.
- 31.- Heyn J. Non articular Felty's Syndrome. *Scand J Rheumatol*. 1982;11:47-48.
- 32.- Cornwell GG, Zacharski LR, . Neutropenia, elevated Rheumatoid factor, splenomegaly and absence of Rheumatoid Arthritis. *Ann Intern Med* 1974;80:555-556.

- 33.- Isomaki H, Koivisto O, Kivinity K . Splenomegaly in Rheumatoid Arthritis. Acta Rheum Scan 1971;17:23-26.
- 34.- Gordon DA, Stein JL, Broder I. The extrarticular features of Rheumatoid Arthritis. Am J Med 1973;54:445-452.
- 35.- Mason D, Morris J. The variable features of Felty's Syndrome. Am J Med 1964;36:462-469.
- 36.- Louie JS, Pearson CM. Felty's Syndrome. Semin Haematol 1971;8:216-220.
- 37.- Peña JM, García J, Crespo M, Gijón J, Vazquez JJ. Spontaneous rupture of the spleen in Rheumatoid Arthritis. Ann Rheum Dis 1984;43:539.
- 38.- Shih WJ, Domstad P, Chin YL, Deland Fh, Maruyama Y. Radiocolloid Scintigraphy in Felty's Syndrom. Am J Rad 1986;146:181-183.
- 39.- Tiger L, Gordon M, Ehrlich G, Shapiro B. Liver enlargement demonstrated by Scintigraphy in Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol 1976;3:15-20.
- 40.- Moore p, Wilkens RF. The Subcutaneous Nodule :Its significance in the Diagnosis of Rheumatic Diseases. Semin Arthritis Rheum 1977;7:63-79.
- 41.- Hurd ER .Extrarticular manifestations of Rheumatoid Arthritis Semin Arthritis Rheum 1979;8:151-176.
- 42.- Campion G, Goulding NJ, Maddison PJ. The clinical features of Felty's Syndrom : a controlled study. Brit J Rheumatol 1986,25 (Supl 2) 67.
- 43.- Pinals R. Felty's Syndrom. En Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB. Textbook of Rheumatology. Saunders Company 1985 Philadelphia. 950-955.

- 44.- Wilkinson M, Kirk J. Leg ulceration complicating Rheumatoid Arthritis. Scott Med Journal 1965;10:175-182.
- 45.- Thurtle OA, Cawley MID. The frequency of leg ulceration in rheumatoid arthritis:a survey. J Rheumatol 1983;10:507-509.
- 46.- Cawley MID. Vasculitis and ulceration in rheumatic diseases of the foot. Clin Rheum (Balliere).1987;1:315-333.
- 47.- Scott DG, Bacon PA, Tribe CR. Systemic rheumatoid vasculitis:a clinical and laboratory study of 50 cases. Medicine (Balt)1981;60:288-297.
48. Tribe CR, Scott DG, Bacon PA. Rectal biopsy in the diagnosis of systemic vasculitis. J Clin Pathol 1981;34:843-850.
- 49.- Hitter E, Williame L, Chappel R, Mahler LH,.Abdominal microaneurysm in Rheumatoid Arthritis. Brit J Rheumatol 1988;27:239-240.
- 50.- Martinez E. Artritis reumatoide y síndrome de Sjogren:referencia especial al tiempo de evolución de la Artritis reumatoide. Tesis Doctoral. Barcelona 1988.
- 51.- Baum J. Infection in Rheumatoid Arthritis. Arthritis Rheum 1971; 14:135-136.
- 52.- Breeveld FC, Fibbe WE, Cats A. Neutropenia and infections in Felty's Syndrome.Brit J Rheumatol. 1988;27:191-197.
- 53.- Breeveld FC, Fibbe WE, Hermans J, Van der Meer JWM, Cats A. Factors influencing the incidence of infections in Felty's Syndrome. Arch Intern Med 1987;147:915-920.
- 54.-Laszlo J, Jones R, Silbermen F, Banks PM.Splenectomy for Felty's Syndrome. Arch Intern Med.1978;138:597-602.

- 55.- Moore RA, Brunner CM, Sandusky WR, Leavell B. Felty's Syndrome: long term follow up after splenectomy. *Ann Intern Med* 1971;75:381-385.
- 56.- Dale DC, Dupont-Guerry IV, Wewerka JR, Bull JM, Chusid M. Chronic neutropenia. *Medicine (Balt)*.1979;58:128-144.
- 57.- Thorne C, Urowitz MB, Wanless I, Roberts E, Blendis LM. Liver disease in Felty's Syndrome. *Am J Med* 1982;73:35-40.
- 58.- Blendis LM, Ansell ID, Lloyd-Jones K, Hamilton E, Williams R. Liver in Felty's Syndrome. *Brit Med J* 1970;1:131-135.
- 59.- Wanless IR, Godwin A, Allen F, Feder A. Nodular Regenerative Hyperplasia of the liver in haematologic disorders: a possible response to obliterative venopathy. *Medicine (Balt)*1980;59:367-379.
- 60.- Reisman T, Levi J, Zeppa R, Clark R, Morton R, Schiff E. Non cirrhotic Portal Hypertension in Felty's Syndrome. *Digestive Diseases* 1977;22:145-148.
- 61.- Kloforn RW, Steigerwald JC, Mills DM, Smyth CJ. Esophageal Varices in Felty's Syndrome. *Arthritis Rheum* 1976;19:150-154.
- 62.- Ritland S. Cirrhosis of the liver in Felty's Syndrome. *Scand. J Rheumatol*.1973;2:29-32.
- 63.- Mc Gavin DD, Williamson J, Forrester J, Foulkds WS, Buchanan WW, Dick WC, Lee P, Macsween RN, Whaley K. Episcleritis and scleritis. A study of their clinical manifestations and association with rheumatoid arthritis. *Brit J Ophthalmol* 1976;60:192.
- 64.- Conn DL. Rheumatoid neuropathy. *En Rheumatoid Arthritis*. Utsinger PD, Zvaifler NJ, Ehrlich GE. Lippincott Company Philadelphia 1985, 365-378.
- 65.- Hume R, Dagg JH, Frasert TN, Godberg A. Anemia of Felty's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 1964,23:267-271.



- 66.- Hahn RG, Mayne J, Kiely J. Clinical and hematological study of Felty's Syndrom. Arthritis Rheum 1963;6:275.
- 67.- Collier RL, Brush BE. Hematologic disorders in Felty's Syndrome. Am J Surgery 1966;112:869-873.
- 68.- Clinicopathologic conference: Rheumatoid Arthritis with Felty's Syndrom, Hyperviscosity and immunologic hyperreactivity. Am J Med 1981;70:89-100.
- 69.- Baron M, Fam A, Elkan I, Underdow B. Hiperviscosity Syndrome in Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol. 1982;9: 843-849.
- 70.- Barnett EV, Ruderman M, Jeannet M, Block KJ. Felty's Syndrom: Occurrence of antinuclear antibodies and leucocyte agglutinins in 14 patients. Arthritis Rheum. 1966;9:846.
- 71.- Weisman M, Zvaifler N. Cryoimmunoglobulins in Felty's Syndrome. Arthritis Rheum 1976;19:103-109.
- 72.- James IE, Mc Hugh NJ, Hall ND, Maddison PJ. Anti-histone antibodies in Felty's Syndrome. Brit J Rheumatol 1988;27:56.
- 73.- Brunner C, Davis J. Characteristics of antinuclear factors in Felty's Syndrome. Arthritis Rheum 1970;13:33-37.
- 74.- Mc Hugh NJ, Maymo J, Skinner PR, James I, Maddison PJ. Anticardiolipin antibodies, livedo reticularis and major cerebrovascular and renal disease in Systemic Lupus Erythematosus. Ann Rheum Dis. 1988;47:110-115.
- 75.- Podgorsky MR, James IE, Olivé A et al. Antilipocortin antibodies elevated in Felty's Syndrome. Brit J Rheumatol 1988;27:54.
76. Cooke TD, Hurd ER, Jasin K, Bienestock J, Ziff M. Identification of immunoglobulins and complement in rheumatoid articular collagenous tissues. Arthritis Rheum 1975;18:541.

- 77.- Hurd ER, Andreis M, Ziff M. Phagocytosis of immunocomplexes by polymorphonuclear leucocytes in patients with Felty's Syndrome. Clin Exp Immunol 1977;28:413-425.
- 78.- Hurd ER, Chubik A, Jasin HE, Ziff M. Increased C1 Q binding immunocomplexes in Felty's Syndrome. Arthritis Rheum 1979;22:697-702.
- 79.- Andreis M, Hurd ER, Lospalluto J, Ziff M. Comparison of the presence of immunocomplexes in Felty's Syndrome and Rheumatoid Arthritis. Arthritis and Rheum. 1978;21:310-315.
- 80.- Wilk A, Munthe E. Complement fixing granulocyte-specific antinuclear factors in neutropenic cases of Rheumatoid Arthritis. Immunology 1974;26:1127.
- 81.- Rosenthal FD, Beeley JM, Gelsthorpe K, Doughty RW. White cell antibodies and the etiology of Felty's Syndrome. Q J Med 1974;170:187-203.
- 82.- Faber V, Elling P. Leucocyte specific Antinuclear factors in patients with Felty's Syndrome, Rheumatoid Arthritis, Systemic Lupus Erythematosus and other diseases. Acta Med Scan 1966;179:257-267.
- 83.- Breedveld FC, Lafeber GJM, Doekes G, Claas FHJ, Cats A. Felty's Syndrome: autoimmune neutropenia or immunocomplex mediated disease. Rheumatol Int 1985;5:253-258.
- 84.- Goldschmeding R, Breedveld FC, Engelfriet CP, Van der Borne AEG. Lack of evidence for the presence of neutrophil autoantibodies in the serum of patients with Felty's syndrome. Brit J Haematol 1988;68:37-40.
- 85.- Logue G, Huang A, Shimm D. Failure of splenectomy in Felty's Syndrome. N Eng J Med 1981;304:580-583.
- 86.- Logue G, Silberman H. Felty's Syndrome without splenomegaly. Am J Med 1979;66:703-706.

87.- Wright CS, Doan CA, Bouroncle BA, Zollinger RB. Direct splenic arterial and venous blood studies in the hypersplenic syndromes before and after epinephrine. Blood 1951;6:195.

88.- Van Krieken JHJM, Breeveld FC, Velde JT. The spleen in Felty's Syndrome : a histological, morphometric and immunohistochemical study. Eur J Haematol. 1988;40:58-64.

89. Calabresi P, Edwards EA, Shilling RF. Fluorescent antiglobulin studies in leukopenic and related disorders. J Clin Invest. 38, 2091. 1959.

90.- Kimball HR, Wolff SM, Talal N, Plotz PH, Decker JL. Marrow Granulocyte reserves in rheumatic diseases. Arthritis and Rheum 1973;16:345-352.

91.- Logue G. Felty's Syndrome: Granulocyte bound immunoglobulin and splenectomy. Ann Intern Med 1976;85:437-442.

92.- Greenberg P, Schrier S. Granulopoiesis in Neutropenic Disorders. Blood 1973;41:753-769.

93.- Duckham DJ, Rhyne RL, Smith FE, Williams RC. Retardation of colony growth in vitro bone marrow culture using sera from patients with Felty's Syndrome, disseminated lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and other diseases states. Arthritis Rheum. 1975;18:323

94.- Goldberg LS, Bacon P, Bucknall RC, Fitch J, Cline M. Inhibition of human bone marrow granulocyte precursor, by serum from patients with Felty's Syndrome. J Rheumatol 1980;7:275-278.

95.- Gupta R, Robinson W, Albrecht D. Granulopoietic Activity in Felty's Syndrome. Ann Rheum Dis 1975;34:156-161.

96.- Abdou NI. Heterogeneity of bone marrow-directed immune mechanism in the pathogenesis of neutropenia in Felty's Syndrome. Arthritis Rheum. 1983; 26:947-953.

- 97.- Abdou NI, Napomjebara C, Balentine L, Abdou NL. Suppressor cell mediated neutropenia in Felty's Syndrome. J Clin Invest.1978;61:738-743.
- 98.- Bagby GC. T lymphocytes involved in inhibition of granulopoiesis in two neutropenic patients are of the cytotoxic/supresor type (T3 T8). J Clin Invest.1981,68.1597-1600.
- 99.- Starkebaum G, Singer JW, Arend WP. Humoral and cellular inmune mechanism of neutropenia in patients with Felty's Syndrom. Clin Exp Immunol 1980;39:307-314.
- 100.- Howe GB; Fiordham JN, Brown KA, Currey LF. Polymorphonuclear cell function in Rheumatoid Arthritis and in Felty's Syndrome. Ann Rheum Dis 1981;40:370-375.
- 101.- Corberand J, Amigues H, Larrard B, Pradere J. Neutrophil function in Rheumatoid Arthritis.Scand J Rheumatol 1977;6:49-52.
- 102.- Bertouch JV, Jhonston C, Davis P. Reversal of depressed Neutrophil superoxide production in Felty's Syndrome after Gold therapy. J Rheumatol. 1987;14:52-54.
- 103.- Friman C, Davis P, Starkebaum G et al. Suppresion of superoxide generation by normal polymorphonuclears leucocytes preincubated in plasma from patients with Felty's Syndrom. J Rheumatol 1987;16:113-120.
- 104.- Davis P, Friman C, Starkebaum G, Johnston C. Neutrophil function in Felty's Syndrome: relationship to Ig G polimorphonuclear binding activity.Brit J Rheum 1986 ;25:129.
- 105.- Starkebaum G,Arend WP, Singer JW,Nardella FA, Gavin SE.Felty's Syndrom:humoral and cellular aspects.Arthritis Rheum 1976;61:29-32.
- 106.- Hurd ER. Presence of leucocyte inclusions in spleen and bone marrow of patients with Felty's Syndrom. J Rheumatol 1978;5:26-32.

- 107.- Gupta RC, Laforce MF, Mills DM. Polymorphonuclear leucocyte inclusions and impaired bacterial killing in patients with Felty's Syndrome. *J Lab Clin Med* 1976;88:183-191.
- 108.- Bishop C. The neutropenia of Felty's Syndrome. *Am J Haematol* 1977,2:203-207.
- 109.- Srodes CR, Hyde F, Chervenick PA, Boggs DR. Neutrophil kinetics in Felty's Syndrome. *Blood* 1972,XL:950.
- 110.- Vincent PC, Levi JA, Macqueen A. The mechanism of neutropenia in Felty's Syndrome. *Brit J Hematol* 1974;27:463.
- 111.- Slavin S, Liang MH. Cell mediated autoimmune granulocytopenia in a case of Felty's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 1980;39:399-402.
- 112.- Bucknall RC, Davis P, Bacon PA, Verroer-Jones J. Neutropenia in Rheumatoid Arthritis :studies on possible contributing factors. *Ann Rheum Dis* 1982;41:242-247.
- 113.- Joyce RA, Boggs DR, Chervenik PA. Neutrophils Kinetics in Felty's Syndrome. *Am J Med* 1980;69:695-702.
- 114.- Biosca M, Garcia-Bragado F. Síndrome de Felty. *Med Clin* 1986;86:859-863.
- 115.- Luthra H, Hunder G. Spontaneous remission of Felty's Syndrom. *Arthritis Rheum* 1975;18:515-517.
- 116.- Campion G, Maddison PJ. Felty's Syndrom. The Arthritis and Rheumatism Council. Reports on rheumatic diseases: topical review 3. May 1986.
- 117.- Mc Arty DJ, .Treating intractable Rheumatoid Arthritis. *N Eng J Med*.1981;305:1009-1011.

118.- Decker JL, Plotz P. Extrarticular Manifestations. En Arthritis and allied conditions. Mc Arty DJ. Lea Febiger 1979 Philadelphia 484-486.

119.- Crosby WH. How many polys are enough?. Arch Intern Med 1969;123:722-723.

120.- Percy J. Gold in the treatment of Felty's Syndrome. J Rheumatol 1981;8:878-879.

121.- Gowans JDC, Salami M. Response of Rheumatoid Arthritis with leucopenia to Gold Salts. N Engl J Med 1973;288:1007-1008.

122.- Mastaglia GL, Owen ET. A study of the response of the leukopenia of Rheumatoid Arthritis to Gold Salt Therapy. J Rheumatol 1981;8:658-660.

123.- Luthra H, Conn D, Ferguson R. Felty's Syndrome : Response to Parenteral Gold. J Rheumatol 1981;8:902-909.

124.- Tumiati B, Terzi C, Zini R, Baricchi R, Bellelli A. Felty's Syndrome: response to Auranofin. Clin Exp Rheum 1983;1:183-184.

125.- Bellelli A, Veneziani M, Tumiati B. Felty's Syndrome : Long-term follow up after treatment with Auranofin. Arthritis Rheum. 1987;30:1057-1061.

126.- Dillon AM. Felty's Syndrome. Minn Med. 1987;70:411-413.

127.- Dillon AM, Harvinder L, Conn D, Ferguson RF. Parenteral Gold Therapy in Felty's Syndrome. Medicine (Balt) 1986;65:107-112.

128.- Lakhanpal S, Luthra H. D Penicillamine in Felty's Syndrome. J Rheumatol 1983;12:703-706.

- 129.- Pengelly CDR. Felty's Syndrome : Good response to adrenocorticosteroid possible mechanism of the anemia. Brit Med J 1966;2:986-988.
- 130.- Fieldmann JI, Menkes CJ. Mecanisme du Syndrome de Felty et evolution a long terme. Revue de Rheum.1988,55: 255-259.
- 131.- Kaprove RE. Felty's Syndrom : case report and rationale for disease supressant immunosuppressive therapy. J Rheumatol 1981;8:791-796.
- 132.- Wiesmer KB, Shapiro RF, Bryan B, Fuller C, Utsinger PD. Immunosuppressive therapy in Felty's Syndrome. N Engl J Med 1977;1172.
- 133.- Sherbin L, Groff. Treatment of Felty's Syndrome with low dose oral Methotrexate. Arthritis Rheum 1986;29:902-905.
- 134.- Isasi C, Lopez Martinez JA, Trujillo MA, Andreu JC, Palacio S, Mulero J. Felty's Syndrome: response to low oral dose Methotrexate. J Rheumatol 1989;16:7, 983-985.
135. Sherbin L, Geoff G. Treatment of Felty's Syndrome with low oral dose of Methotrexate. Arthritis and Rheum. 1986;29:902-905.
136. Fiechtner JJ, Miller DR, Starkebaum G. Reversal of neutropenia with Methotrexate treatment in patients with Felty's syndrome. Arthritis Rheum.1989;32:194-201.
137. Neish PR, Fuchs H, .Resolution of Felty's Syndrome with Cyclophosphamide. J Rheumatol 1985; 16:709-710.
- 138.- Shumak KH, Rock GA. Therapeutic Plasma exchange. N Engl J Med 1984;310:762-771.
- 139.- Rothwell RS, Davis P, Gordon PA et al. A controlled study of plasma exchange in the treatment of severe Rheumatoid Arthritis. Arthritis Rheum 1980;23:785-790.

- 140.- Clotet B, Argelagues E, Juncá J et al. Plasmapheresis in Felty's Syndrome. *Scand J Rheumatol* 1985; 14:438-441.
- 141.- Wimer BM, Sloan M. Remission of Felty's Syndrome with long term testosterone therapy. *JAMA* 1973, 223:671-673.
- 142.- Gupta RC, Robinson W, Kurnick JE. Felty's Syndrome: Effect of Lithium on granulopoiesis. *Am J Med* 1976; 61:29-31.
- 143.- Kaplan R. Lithium in Felty's Syndrome. *Ann Intern Med* 1976; 84:342.
- 144.- Shapira DV, Gordon PA, Herbert FA. Reduction of infections in Felty's Syndrome through use of Lithium. *Arthritis Rheum* 1977; 20:1556-1557.
- 145.- Mant MJ, Akabutu JJ, Herbert A. Lithium Carbonate Therapy in severe Felty's Syndrome. *Arch Intern Med* 1986, 146:277-280.
- 146.- Breedveld FC, Brand A, Van Aken WC. High dose intravenous Gamma-globulin for Felty's Syndrome. *J Rheumatol* 1985; 12:700-702.
- 147.- Blumfelder TM, Logue GL, Shimm DS. Felty's Syndrome: effects of splenectomy upon granulocyte count and granulocyte-associated IgG. *Ann Intern Med* 1981; 94:623-628.
- 148.- Gibberd FB, Gilbertson C, Jepson EM. Felty's Syndrome: Radioactive isotope studies and splenectomy. *Ann Rheum Dis* 1965; 24: 46-51.
- 149.- Green RA, Fromke V. Splenectomy in Felty's Syndrome. *Ann Intern Med* 1966; 64:1264-1270.
- 150.- Khan MA, Kushner I. Improvement of Rheumatoid Arthritis following splenectomy for Felty's Syndrome. *JAMA*. 1977; 237:1116-1118.
- 151.- Crosby WH. What to treat in Felty's Syndrome?. *JAMA* 1973, 225:1114-1115.



- 152.- O'Neil JA, Scott WH, Billins FT, Foster JH. The role of Splenectomy in Felty's Syndrome. *Ann Surgery* 1968;167:81-84.
- 153.- Tunn EJ, Farr M, Scott DG, Symmons DPM, Bacon PA. Sulphasalazine and Felty's Syndrome- haematological problems. *Brit J Rheumatol* 1986;25:48.
- 154.- Cooper MD, Peterson RDA, Good RA. Delineation of thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. *Nature* 1965;205:143.
- 155.- Cooper MD, Peterson RDA, South MA, Good RA. The functions of the thymus system and the bursa system in the chicken. *J Exp Med* 1966;123:75.
- 156.- Moller GT and B lymphocytes in humans. *Transplant Rev.* 1973;15:1.
- 157.- Szenberg A, Warner NL. Immunological function of thymus and bursa of fabrizio. Dissociation of immunological responsiveness in fowls with a hormonally arrested development of lymphoid tissues. *Nature* 1952;194:145.
- 158.- Reinherz EL, Schlossman SF. The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell* 1980;19:821-827.
- 159.- Morimoto C, Reinherz E, Borel Y, Mantzouranis E, Steinberg A, Schlossman SF. Autoantibody to an immunoregulatory inducer population in patients with juvenile rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1981;67:753-761.
- 160.- Damle NK, Mohaghehpour N, Engelman EG. Soluble antigen primed inducer T cells activates antigen specific suppressor T cells in the absence of antigen pulsed accessory cells: Phenotypic definition of suppressor inducer and suppressor effect cells. *J Immunol* 1984;132:644-650.
- 161.- Biddison WE, Rao PE, Talle A, Goldstein G, Shaw S. Possible involvement of the OMT4 molecule in T cell recognition of class II HLA antigens. *J Exp Med* 1982;156:1065-1076.

162.- Meuer sc, schlossman SF, Reinherz EL. Clonal analysis of cytotoxic T lymphocytes T4+ and T8+ effector T cells recognize products of different major histocompatibility complex region. Proc Natl Acad Sci U.S.A 1982;79:4395-4399.

163.- Fuller TC, Trevithick JE, Fuller AA, Colvin RB, Cosimi AB, Kung PC. Antigen polymorphism of the T4 differentiation antigen expressed on human T helper/inducer lymphocytes. Hum Immunol 1984;9:89-102.

164.- Thomas Y, Rogozinski L, Irigoyen O, King PC, Goldstein G, Chess L. Functional analysis of human cell subsets defined by monoclonal antibodies. J Immunol 1981;126:1948-1951.

165.- Thomas Y, Rogozinski L, Chess L. Relationship between human T cells functional heterogeneity and human T cell surface molecules. Immunol Rev. 1983;74:113-128

166. Winchester RJ. The major histocompatibility complex. Textbook of Rheumatology. Kelley, Harris, Ruddy, Sledge. Saunders Company Philadelphia 1989: 101-137.

167.- Uchiama T, Broder S, Waldman TA. A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells. Production of anti-Tac monoclonal antibody and distribution of Tac+ cells. J Immunol 1981, 126:1393-1397.

168.- Uchiama T, Nelson DL, Fleisher TA, Waldman TA. A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells. Expression of Tac antigen on activated cytotoxic killer T cells, suppressor cells and one type of two types of helper cells. J Immunol 1981 b; 126:1398-1403.

169.- Herberman RB, Ortaldo JR, Timonen T et al. Interferon and natural killer (NK) cells. Texas Rep Biol Med 1981-1982;41:590-595.

170.- Huddlestone JR, Merigan TC, Oldstone MBA. Induction of kinetics of natural killer cells in human following interferon therapy. Nature 1979;282:417-419.

171.- Minato N, Reid L, Cantor H, Lengyel P, Bloom BR. Mode of regulation of natural killer activity by interferon. J Exp Med 1980;152:124-137.

172.- Targan S, Stebbing N. In vitro interaction of purified cloned human interferon on NK cells: enhanced activation. J Immunol 1982;129:934-935.

173.- Jondal M. The Human NK cell- a short over-view and a hypothesis on NK recognition. Clin Exp Immunol 1987;70:255-262.

174.- Lipsky P. Natural killer cell function in Rheumatoid Arthritis. Clin Exp Rheumatol. 1986;4:303-305.

175.- Plater-Zyberk C, Clarke MF, Lam K, Menford PA, Room GRW, Maini RN. In vitro immunoglobulin synthesis by lymphocyte from patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Immunol 1983;52:505-511.

176.- Moutsopoulos HM, Fye KH, Sawada S, Becker MJ, Goldstein A, Talal N. In vitro effect of thymosin on T lymphocyte rosette formation in rheumatic diseases. Clin Exp Immunol 1976;26:563-573.

177.- Slavin S, Strober S. In vitro T cell mediated function in patients with active rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1981;40:60-63.

178.- Raeman F, De Cock W, Debenkelaar T, Decree J, Verhaegen H. Enumeration of T cells and T lymphocyte subsets in autoimmune disease using monoclonal antibodies. Clin Exp Immunol 1981;45:475-479.

179.- Burmester GR, Kalden JR, Peter HH, Shedel I, Beck P, Wittenbog A. Immunological and functional characteristics of peripheral blood and synovial fluid lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. Scand J Immunol 1978;7:405-417.

180.- Keith HI, Currey HLF. Rosette formation by peripheral blood lymphocytes in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1973;32:202-207.

181.- Veys EM, Hermans P, Schindler J. Evaluation of T cell subsets with monoclonal antibodies in patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol 1982;9:25-29.

182.- Kotzin BL, Kansas GS, Engleman EG, Hoppe RT, Kaplan HS, Strober S. Changes in T cell subsets in patients with Rheumatoid Arthritis treated with total lymphoid irradiation. Clin Immunol Immunopathol 1983;27:250-260.

183.- Duke O, Panayi G, Janossy G, Poulter LW, Tidman N. Analysis of T cell subsets in the peripheral blood and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis by means of monoclonal antibodies. Ann Rheum Dis 1983;42:357-361.

184.- Nilsson E, Biberfeld C. Subpopulations of T lymphocytes in patients with ankylosing spondylitis. Ann Rheum Dis 1980;39:566-569.

185.- Forre O, Thoen J, Dobloug J et al. Detection of T lymphocyte subpopulations in the peripheral blood and the synovium of patients with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis using monoclonal antibodies. Scand J Immunol 1982;15:221-226.

186.- Egeland T, Lea T, Mellbye OJ. T cell immunoregulatory functions to rheumatoid arthritis patients. Scand J Immunol 1983;18:355-362.

187.- Fox RI, Adamson TC, D, Frieson I, Vaughan JH. Identification of lymphocyte infiltration synovial membrane in Rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1982;25:550.

188.- Bellamy N, Cairns E, Bell DA. Immunoregulation in rheumatoid arthritis: evaluation of T lymphocyte function in the control of polyclonal immunoglobulin synthesis in vivo. J Rheumatol 1983;10:19-27

189.- Verdickt W, De Queker J, Ceuppens JL, Stevens E, Gantama K, Vermylen C. Effect of lymphoplasmaapheresis on clinical indices and T cells subsets in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1983;26:1419-1425.

190.- Queiros MV, Rocha B. T cell subsets in patients with rheumatoid arthritis reduction of cells with LEU2 phenotype in patients with serum Ig G immunocomplex. Clin Exp Immunol 1983;54:509-514

191.- Haraoni B, Wllder RL, Malone DG, Allen JB, Katona IM, Wahl SM. Immune function in severe, active rheumatoid arthritis. A relationship between peripheral blood mononuclear cell proliferation to soluble antigens and mononuclear cell subset profile. J Immunol. 1984;133:697-701.

192.- 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.

193.- Burmester GR, Yu DTY, Irani A, Kunkel HG, Winchester RJ. Ia + T cells in synovial fluid and tissues of patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1981;24:1370-1376.

194.- Nilsson E, Biberfeld G. T lymphocyte subpopulations defined by monoclonal antibodies in synovial fluid of patients with rheumatic disease. J Clin Lab Immunol 1982;9:93-97.

195.- Duke D, Panayi GS, Janossy G, Poulter LW. An immunohistological analysis of lymphocyte subpopulations and their microenvironment in the synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis using monoclonal antibodies. Clin Exp Immunol 1982;49:22-30.

196.- Traycoff RB, Pascual E, Schumaker HR. Mononuclear cells in human synovial fluid: Identification of lymphoblast in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1976;19:743-748.

197.- Froland SS, Natvig JB, Husby G. Immunological characterization of lymphocytes in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. Scand J Immunol 1973;2:67-72.

198.- Sheldon PJ, Pappmichael M, Holborow EJ. Studies on synovial fluid lymphocytes in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 1974;33:509-514,

- 199.- Utsinger PD. Synovial fluid lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1975;18:595-602.
- 200.- Van Boxel JA, Paget SA. Predominantly T cell infiltrate in rheumatoid synovial membranes. *N Engl J Med* 1975;293:517-520.
- 201.- Loewi G, Lance E, Reynolds J. Study of lymphoid cells from inflamed synovial membranes. *Ann Rheum Dis* 1975;34:524-528.
- 202.- Abarhamsen TG, Froland SS, Natvig JB, Pahle J. Elution and characterization of lymphocyte from rheumatoid inflammatory tissue. *Scand J Immunol* 1975;4:823-830.
- 203.- Bankhurst AD, Husby G, Willaims RC. Predominance of T cells in the lymphocytic infiltrates of synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1976;56:555-562.
- 204.- Kurosaka M, Ziff M. Immunoelectron microscopic study of the distribution of T cell subsets in rheumatoid synovium. *J Exp Med* 1983;158:1191-1210.
- 205.- Klareskog L, Forsum U, Wigren A, Wigzell H. Relationship between HLA-Dr expressing cells and T lymphocytes of different subsets in rheumatoid synovial tissue. *Scand J Immunol* 1982;15:501-507.
- 206.- Kluin-Nelemans HC, Vander Linden JA, Gmelig-Meyling FHJ, Shuurman HJ. HLA DR positive T lymphocytes in blood and synovial fluid in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1984;11:272-276.
- 207.- Silverman SL, Cathart ES. Natural killing in systemic lupus erythematosus: inhibitory effects of serum. *Clin Immunol Immunopathol* 1980;17:219-226.
- 208.- Goto M, Tanimoto K, Horiochi Y. Natural cell mediated cytotoxicity in systemic lupus erythematosus: suppression by antilymphocyte antibody. *Arthritis Rheum* 1980;23:1274-1281.

- 209.- Lynn J, Darnell B, Talal N. The enhancement of natural killer activity in rheumatoid arthritis by interleukin-2 and poly I. *Arthritis Rheum* 1983,(abstract).
- 210.- Karsh J, Dorval G, Osterland CK. Natural cytotoxicity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol Immunopathol* 1981;19:437-446.
- 211.- Doblough JH, Forre O, Kvien TK, Egeland T, Degre M. Natural killer cell activity of peripheral blood, synovial fluid and synovial tissue lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1982;41:490-494.
- 212.- Silver RM, Redelman D, Zvaifler NJ, Niades S. Studies of rheumatoid synovial fluid lymphocytes. I evidence for activated natural killer (NK) like cells. *J Immunol* 1982;128:1758-1763.
- 213.- Isenberg DA, Shoenfeld Y. The Rheumatological complications of hematological disorders. *Semin Arthritis Rheum* 1983;12:348-358.
- 214.- Spilberg I, Meyer GJ. The arthritis of leukemia. *Arthritis Rheum* 1972;15:630-635.
- 215.- Harden EA, Moore JO, Haynes BF. Leukemia associated arthritis: identification of leukemic cells in synovial fluid using monoclonal and polyclonal antibodies. *Arthritis Rheum* 1984,27:1306-1308.
- 216.- Sinclair H. Simultaneous presentation of Rheumatoid Arthritis and acute myeloid leukemia masquerading Felty's Syndrome. *Brit J Rheum* 1986;25:415.
- 217.- Gagnerie F, Taillan B, Euller-Ziegler L, Kermarec J, Commandre F, Ziegler G. Arthritis of the knee in B cell chronic lymphocytic leukemia : a patient with immunological evidence of B lymphocytic synovial infiltration. *Arthritis Rheum* 1988. 815-816.
- 218.- Elkon KB, Hughes GRV, Catovsky D et al. Hairy cell Leukaemia with Polyarteritis Nodosa. *Lancet* 1979:280-282.

- 219.- Gabriel SE, Conn DL, Phyliky R, Pittelkow MR, Scott RE. Vasculitis in Hairy cell Leukemia: Review of Literature and Consideration of Possible Pathogenic Mechanism. J Rheumatol 1986;13:1167-1172.
- 220.- Brouet JC, Flandrin G, Sasportes M, Preud'Homme JL, Seligman M. Chronic Lymphocytic Leukemia of T cell origin. Lancet 1975;890-893.
- 221.- Catovsky, Linch DC, Beverley PCL. T Cell Disorders in Haematological Diseases. Clin Haematol. 1982;11:661-694.
- 222.- Chan WC, Winton EF, Waldmann TA. Lymphocytosis of large granular lymphocytes. Arch Intern Med 1986;146:1201-1203.
- 223.- Kiely JM. Advances in the diagnosis of Leukemia. Mayo Clin Proceed.1983;58:774-775.
- 224.- Tefeeri A, Chin-Yang L, Phyliky RL. Role of immunotyping in Chronic Lymphocytosis: review of the natural history. Mayo Clin Proceed.1988;63:801-806.
- 225.- Bom-Van Norloos AA, Pegels HG, Rien HJ et al. Proliferation of T gamma cells with killer activity in 2 patients with neutropenia and recurrent infections. N Eng J Med 1980;302:933-937.
- 226.- Aisenberg AC, Wilkes BM, Harris NL, Ault KA, Carey RW. Chronic T lymphocytosis with neutropenia: report of a case studied with monoclonal antibodies. Blood.1981;58:818-822.
- 227.- Newland AC, Catovsky D, Linch D et al. Chronic T cell lymphocytosis: a review of 21 cases. Brit J Haematol 1984;58:433-446
- 228.- Wallis WJ, Loughran TP, Kadin M, Clark EA, Starkebaum A. Polyarthritits and neutropenia associated with circulating large granular lymphocytes. Ann Intern Med 1985;103:357-362.



229.- Barton JC, Prasthofer EF, Egan ML, Heck LW, Koopman WJ, Grossi CE. Rheumatoid Arthritis associated with expanded population of granular Lymphocytes. Ann Intern Med.1986;104:314-323.

230.- Loughran TP, Kadin ME, Starkebaum G.et al. Leukemia of large granular lymphocytes:Association with clonal chromosomal abnormalities and autoimmune neutropenia, thrombocytopenia and hemolytic anemia. Ann Intern Med 1985;102:169-175.

231.- Loughran TP, Starkebaum G, Kidd P, Neiman P. Clonal Proliferation of large granular lymphocytes. Arthritis Rheum 1988;31:31-36.

232.- Freimark B, Lanier L, Phillips J, Quertermous T, Fox R. Comparison of T cell receptor gene rearrangement in patients with large granular T cell leukemia and Felty's Syndrome. J Immunol 1987;138:1724-1729.

233.- Sun NCJ. Diagnosis of Leukemia with granulated leukemic cells(excluding eosinophilic leukemias).Mayo Clin Proceed.1987 ;62:1059-1061.

234.- Samanta A, Grant I, Nichol FE, Pringle JH, Wood JK, Campbell AC. Large granular lymphocytosis associated with Rheumatoid Arthritis. Ann Rheum Dis 1988;47:873-875.

235.- Talkov RH, Bauer W, Short CL. Rheumatoid Arthritis associated with splenomegaly. N Engl J med 1942;227:394-399.

236.- Denko CW. Zumpft CW. Chronic Arthritis with splenomegaly and leukopenia. Arthritis Rheum.1962;5:478-491.

237.- Phylly RL, Chinyang L, Lung TY. T cell Chronic lymphocitic leukemia with morphology and immunologic characteristics of Cytotoxic/Suppressor Type. Mayo Clin Proceed. 1983;58:709-720.

238.- Witzig E, Phylly RL, Chin-yang L, Hamburger HA, Dewald GW, Handwerker BS. T cell chronic lymphocitic leukemia with a helper/inducer membrane phenotype:a distinct clinicopathological subtype with a poorer prognosis. Am J Haematol 1986;21:139-155.

- 239.- Linch D, Newland A, Turnbull A, Knott L, Mac Whannel A, Beverley P. Unusual T cell proliferations and neutropenia in Rheumatoid Arthritis: comparison with classical Felty's Syndrome. Scand J Haematol 1984;33:342-350.
- 240.- Linch DC, Cawley JC, Worman CP et al .Abnormalities of T cell subsets in patients with neutropenia and an excess of lymphocytes in the bone marrow. Brit J Haematol.1981;48:137-145.
- 241.- Olivé A, Maddison PJ, Palazón X, Smith A, Smith G, Goulding N. Characteristics of lymphocytes in Felty's Syndrome. Brit J Rheumatol 1988,(Suple 2)27:9.
- 242.- Olivé A. Heterogeneidad del Síndrome de Felty. Rev Esp Reumatol 1988;15:218.
- 243.- Starkebaum G, Loughjran T, Kalyanaraman VS. Serum reactivity to human T cell Leukemia/Lymphoma virus type I proteins in patients with large granular lymphocyte lymphocytic Leukemia. Lancet.1987:596-598.
- 244.- Ritchie DM, Boyle JA, Mc Innes JM et al. Clinical studies with an articular index for the assesment of joint tenderness in patients with Rheumatoid Arthritis. Q J Med 1968,147:393-406.
- 245.- Steinbroker O, Traeger C, Batterman R. Therapeutic criteria in Rheumatoid Arthritis. JAMA 1949;140:659-662.
246. Reichlin M. Antinuclear antibodies. En Textbook of Rheumatology. Kelley WN, Harris ER, Ruddy S, Sledge CB. Saunders Company. Philadelphia 1989,208-225.
247. Ropes M, Bennet G, Cobb S, Jacox R, Jessar R. Revision of diagnostic criteria for rheumatoid arthritis. Bull Rheum Dis.9:175-176. 1985.
248. Cohen MG, Webb J. Antihistone antibodies in rheumatoid arthritis and Felty's Syndrome. Arthritis Rheum 1989;32:1319-1324.

249.Saway PA, Prasthofer EF, Barton JC. Prevalence of granular lymphocyte proliferation in patients with Rheumatoid Arthritis and neutropenia. Am J Med 1989;86:303-307.