

ESTUDIO DEL SISTEMA COMPLEMENTO Y DE
INMUNOCOMPLEJOS CIRCULANTES EN LA
ENFERMEDAD MENINGOCOCICA

Jesús Merino Pérez

TESIS REMITIDA POR JESUS MERINO PEREZ
PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA
POR LA UNIVERSIDAD DE SANTANDER

NOVIEMBRE 1983

Este trabajo es el resultado de la colaboración decidida y la ayuda desinteresada de muchas personas sin la cuales no hubiera sido posible llevarlo a cabo. A ellas quiero expresar mi agradecimiento:

* Al Dr. Vicente Rodriguez Valverde, director de esta Tesis, muy especialmente. Gracias a su dedicación, afán investigador y tenacidad, ha sido posible la realización de este estudio.

* A las A.T.S.: Marisa Garcia Román y Maria José Novo Fernández por su inestimable colaboración técnica.

* Al Dr. Enrique Castillo, Jefe del Dpto. de Matemáticas Aplicadas a la Ingeniería de la E. de Ing. de Caminos, -- por la ayuda y asesoramiento en la realización del análisis matemático.

* A los Dres. J.A. Lamelas, V. Madrigal y M. García-Fuentes así como al personal sanitario de la Sección de Enfermedades Infecciosas de este hospital, por haber contribuido a reunir el material clínico.

A MI PADRE

I N D I C E

I.	INTRODUCCION -----	1
A.	ETIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD MENINGOCOCICA -----	1
A.1.	Las Neisserias -----	1
A.2.	La Neisseria Meningitidis -----	1
A.2.1.	Estructura celular -----	1
A.2.2.	Características epidemiológicas -----	2
B.	MANIFESTACIONES CLINICAS DE LA ENFERMEDAD MENINGOCOCICA -----	4
B.1.	Meningococemia -----	4
B.2.	Afectación del sistema nervioso central -----	5
B.3.	Artritis -----	6
B.4.	Manifestaciones pulmonares -----	7
B.5.	Manifestaciones cardíacas -----	7
B.6.	Manifestaciones urogenitales -----	8
C.	PATOGENIA -----	8
C.1.	Colonización de la nasofaringe -----	9
C.2.	Invasión del sistema circulatorio -----	10
C.2.1.	Componentes antigénicos del meningococo -----	10
C.2.2.	Respuesta inmune frente al meningococo --	13
C.2.2.1.	Desarrollo de inmunidad natural -----	13
C.2.2.2.	Respuesta humoral a la infección -----	14
C.2.2.3.	El sistema complemento -----	16
C.3.	Producción de daño tisular -----	21
C.3.1.	La endotoxina bacteriana -----	22
C.3.1.1.	Interacción de la endotoxina con sistemas mediadores humorales --	24
C.3.1.2.	Interacción de la endotoxina con sistemas mediadores celulares --	33
C.3.1.3.	Peculiaridades de la endotoxina meningocócica -----	37
C.3.2.	Activación del sistema de la coagulación-	39

C.3.3. Liberación de mediadores del sistema complemento -----	40
C.3.3.1. Funciones del fragmento C3a -----	40
C.3.3.2. Funciones del fragmento C5a -----	41
C.3.3.3. Funciones del fragmento Bb -----	42
C.3.4. Formación de inmunocomplejos circulantes --	42
C.3.4.1. Modelos experimentales de enfermedad por ICC -----	43
C.3.4.2. Mecanismo de depósito y lesión de los ICC en la pared vascular -----	47
C.3.4.3. Métodos actuales de detección de ICC -----	48
C.3.4.4. Los ICC en la enfermedad menin- gocócica -----	50
II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS DEL TRABAJO -----	54
III. MATERIAL Y METODOS -----	58
A. POBLACION ESTUDIADA -----	58
B. RADIOINMUNOENSAYO CON CELULAS RAJI -----	61
B.1. Material -----	61
B.2. Método -----	63
B.2.1. Técnica de cultivo de células Raji -----	64
B.2.2. Preparación de las células Raji -----	65
B.2.3. Preparación de IgG nativa y curva estandar de IgG humana agregada -----	67
B.2.4. Realización del test -----	68
C. DETERMINACION DE ICC MEDIANTE RIA CON C1q EN FASE SOLIDA -----	69
C.1. Material -----	71
C.2. Método -----	73
C.2.1. Aislamiento y purificación del C1q -----	73
C.2.2. Fijación del C1q a los tubos de polies- tireno -----	75
C.2.3. Realización del test -----	77
D. ACTIVIDAD HEMOLITICA SERICA MEDIADA POR EL COMPLE- MENTO (CH-50) -----	78
D.1. Material -----	79
D.2. Método -----	81
E. DETERMINACION DE C3 y C4 POR NEFELOMETRIA -----	83
F. DETERMINACION DE C3 y C4 POR INMUNO DIFUSION RADIAL ---	83
G. DETERMINACION DE UN DEFICIT AISLADO DEL COMPLEMENTO ---	84
H. DETECCION DE HETEROCIGOTOS PARA DEFICITS DE FACTORES DEL COMPLEMENTO MEDIANTE CUANTIFICACION DE LA ACTIVIDAD HEMOLITICA DE COMPONENTES AISLADOS DEL COMPLEMENTO ----	85

I. ANALISIS ESTADISTICO -----	86
IV. RESULTADOS -----	89
A. CARACTERISITICAS GENERALES DE LA POBLACION ESTUDIADA -----	89
B. INMUNOCOMPLEJOS CIRCULANTES (ICC) EN LA ENFERMEDAD MENINGOCOCICA -----	104
B.1. ICC en la fase aguda de la enfermedad -----	107
B.2. ICC en la fase de convalecencia -----	110
C. NIVELES DE CH-50 -----	110
C.1. Estudio comparativo del CH-50 entre ambas fases de la enfermedad -----	112
C.2. Estudio comparativo de los grupos I, II y III en la fase aguda -----	114
D. NIVELES DE C3 -----	114
D.1. Niveles de C3 durante la fase aguda del proceso -----	114
D.2. Estudio comparativo de los niveles de C3 duran- te las fases aguda y de convalecencia -----	116
E. NIVELES DE C4 -----	118
E.1. Niveles de C4 durante la fase aguda del proceso -----	119
E.2. Estudio comparativo de los niveles de C4 duran- te las fases aguda y de convalecencia -----	120
F. PREVALENCIA DE DEFICITS DEL COMPLEMENTO -----	122
F.1. Identificación de los déficits de complemento -	122
F.2. Estudio familiar de las estirpes con déficit de C8 -----	125
F.3. Estudio del paciente con déficit adquirido de C3 -----	129
G. PACIENTES CON ARTRITIS MENINGOCOCICA -----	129
G.1. Características serológicas -----	131
V. DISCUSION -----	137
A. SIGNIFICACION DE LOS ICC EN LA INFECCION MENINGOCOCICA -----	141
A.1. ICC en la fase aguda. Ausencia de los mismos en las formas graves -----	142
A.2. Significación de los ICC en la fase de conva- lecencia de la infección meningocócica -----	144
B. SIGNIFICACION DEL COMPLEMENTO EN LA ENFERMEDAD MENINGOCOCICA -----	144
B.1. Niveles de CH-50 -----	144
B.2. Valor del C3 en la infección meningocócica ----	145
B.3. Valor de los niveles de C4 en la enfermedad meningocócica -----	146

C. CARACTERISTICAS PECULIARES DEL GRUPO DE PACIENTES CON ARTRITIS MENINGOCOCICA -----	147
D. CONSIDERACIONES PATOGENICAS SOBRE LA INFECCION MENINGOCOCIA A LA LUZ DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS -----	150
E. DEFICITS DE COMPLEMENTO -----	153
E.1. Peculiaridades de los pacientes con déficit de C8	154
E.2. Peculiaridades del paciente con déficit de C3 asociado a lipodistrofia parcial -----	158
E.3. Interés de la detección de déficits del complemento -----	163
VI. CONCLUSIONES -----	167
VII. BIBLIOGRAFIA -----	170

INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

I.a. Definición de enfermedad meningocócica

La enfermedad meningocócica constituye un síndrome clínico derivado de la invasión del organismo por un diplococo Gram-negativo, la *Neisseria Meningitidis*. Su clínica comprende una serie de manifestaciones de las cuales las más frecuentes son la meningitis y la bacteriemia.

A. ETIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD MENINGOCOCICA

A.1. Las Neisserias.- Son cocos Gram-negativos inmóviles que no forman esporas; crecen en parejas y muy ocasionalmente en tetradas o pequeños racimos (1). El hombre es el único reservorio natural de Neisserias.

Las principales especies incluidas en el género *Neisseria* son la *N. Meningitidis* (meningococo) y la *N. Gonorrhoeae* (gonococo). Existen además un conjunto de especies no patógenas que poseen interés fundamentalmente porque habitan en las vías respiratorias superiores del hombre y pueden por ello confundirse con los meningococos (2). La resistencia de las Neisserias a los agentes físicos (calor, desecación) o químicos (ácidos grasos tóxicos, metales, fármacos antimicrobianos) es muy baja. En un alto porcentaje de los casos no se logra aislar el germen y la mayor parte de los cultivos de laboratorio mueren a los pocos días (2). Su crecimiento se favorece cuando se cultivan en atmósfera de CO₂ del 5 al 10% y los medios más comunmente empleados son agar chocolate, agar sangre, Thayer-Martin, VCN, y agar de Mueller-Hinton (3).

A.2. La Neisseria Meningitidis

A.2.1. Estructura celular.- Su tamaño es de 6 a 8 μ y su organización celular es similar a la de las demás bacterias. Consta de un material nuclear, un citoplasma con orga

nelas y una cubierta que la aisla y la protege del medio externo. En esta cubierta bacteriana residen los rasgos diferenciales del germen que van a determinar su morfología, -- sus características antigénicas, su propia viabilidad y su poder patógeno. Consta de capas diferenciadas (Fig. 1) (3,4).

* Membrana citoplasmática, de unos 50 A de espesor compuesta de una doble capa lipídica con proteínas en su interior, al igual que las membranas celulares de los organismos superiores. Está dotada de permeabilidad selectiva y se encarga principalmente de la regulación de la presión osmótica y de múltiples actividades enzimáticas.

* Pared. Es una estructura ausente en la célula humana, que en las bacterias Gram-negativas tiene un espesor aproximado de 10 nm y constituye el 15% del peso seco de la célula. A causa de la solidez mecánica de la pared celular, la bacteria puede tolerar una amplia gama de condiciones ambientales manteniendo en su interior una concentración de sal superior sin que exista ruptura osmótica. La pared consta de dos capas: Una interna, mucopeptídica, consistente en -- una malla de cadenas de polisacáridos (N-acetil glucosamina y N-acetil murámico) unidos por polipéptidos, denominada capa peptidoglicana. La capa externa está compuesta por proteínas, fosfolípidos y lipopolisacáridos. Estos últimos compuestos son prácticamente inexistentes en las bacterias Gram-positivas, y constituyen la denominada endotoxina bacteriana.

* Cápsula. Compuesta fundamentalmente por polisacáridos y algunos polipéptidos. Su presencia parece asociarse con un aumento en la patogenicidad, probablemente porque dificulta la fagocitosis. No todos los tipos de N. Meningitidis la poseen.

A.2.2.- Características epidemiológicas. La N.Meningitidis es un habitante ocasional de la nasofaringe humana, -

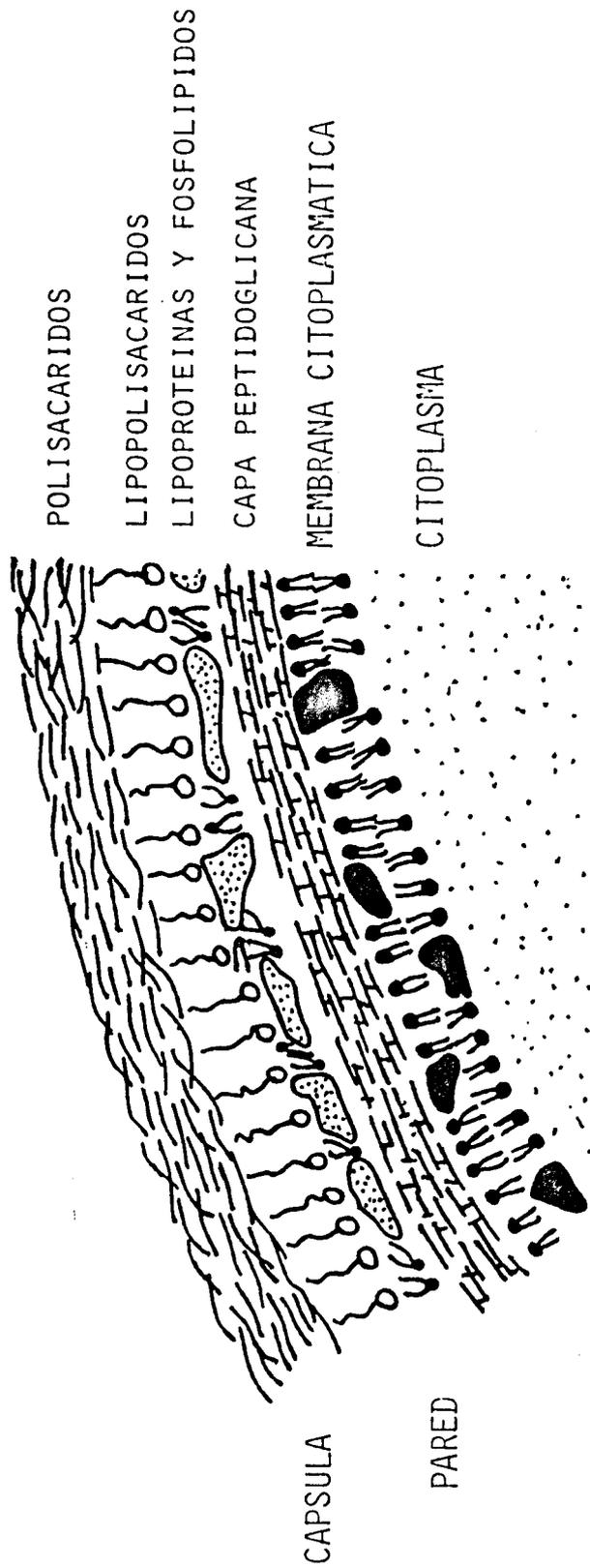


Figura 1.- Organización de la cubierta bacteriana de los gérmenes Gramnegativos.

no conociéndose ningún otro reservorio o vector de la misma. El principal medio de contagio es a través de la inhalación de gotitas de secreciones nasofaríngeas de sujetos infectados, siendo improbable la transmisión mediante el contacto con fomites contaminados (5). Durante los períodos interepidémicos entre un 2 y un 15% de los individuos sanos, habitantes en núcleos urbanos, son portadores del meningococo en la nasofaringe (5,6). Cuando existen casos esporádicos de enfermedad meningocócica, la proporción de portadores entre las personas próximas a los pacientes puede aumentar hasta un 40% y en poblaciones cerradas o durante las epidemias, esta proporción puede aproximarse al 100%.

Aunque algunos individuos son portadores del meningococo durante años, la colonización habitualmente es transitoria y en el 75% de los casos, el organismo desaparece en pocas semanas (8).

La enfermedad meningocócica es mucho más frecuente en niños, existiendo un importante pico de incidencia entre los 6 y los 12 meses de edad. Existe un segundo pico, mucho menor en la adolescencia (9).

B. MANIFESTACIONES CLINICAS DE LA ENFERMEDAD MENINGOCOCICA.

El foco primario de la infección meningocócica es la nasofaringe. En la mayoría de los casos esta infección es subclínica aunque ocasionalmente existe una inflamación localizada capaz de producir una sintomatología leve (5,6). Desde esta localización, la N. Meningitidis es capaz de invadir el sistema circulatorio y dar lugar a las diferentes manifestaciones clínicas que caracterizan a la enfermedad, de las cuales las más frecuentes son la meningococemia y la meningitis.

B.1. Meningococemia.- De un 90 a un 95% de pacientes -

con enfermedad meningocócica presentan meningococemia y/o meningitis y en alrededor de un 30 a 35% aparecen únicamente los signos de meningococemia sin meningitis. Generalmente los pacientes se presentan agudamente enfermos con postración, fiebre elevada, taquicardia, taquipnea e hipotensión. En un 60-75% de los casos se desarrolla una erupción petequeal característica, siendo las axilas, flancos, muñecas y tobillos los lugares de localización preferente (5,6).

La meningococemia fulminante o síndrome de Waterhouse-Friderichsen es una meningococemia asociada con colapso vasomotor y shock. Ocurre en alrededor de un 10% de los pacientes y se asocia con frecuencia a un fatal pronóstico. Tras un comienzo abrupto en pocas horas se desarrolla una profunda postración, lesiones purpúricas y hemorragias extensas en la piel, cianosis labial y frialdad periférica. Sin un tratamiento instaurado en las fases más precoces, generalmente sobreviene el fallecimiento del paciente por fracaso cardiorespiratorio (5,6,7).

La meningococemia crónica es una forma infrecuente de infección meningocócica. Se caracteriza por la aparición de fiebre, rash y artritis o artralgias durante semanas o meses. Su existencia obedece a un diagnóstico insospechado o a un tratamiento suspendido prematuramente. Como complicaciones de la misma pueden sobrevenir meningitis, carditis o nefritis (10).

B.2. Afectación del sistema nervioso central.- La meningitis es una forma frecuente de enfermedad meningocócica. Los síntomas más comunes son fiebre, vómitos, cefalea y confusión o letargia. Entre un 20 a 40% de los pacientes con meningitis no presentan signos clínicos de meningococemia y el diagnóstico depende del examen bacteriológico del líquido cefalorraquídeo. Sin embargo, cuando la meningitis se asocia a petequias o rash purpúrico puede hacerse el diagnóstico de -

presunción de enfermedad meningocócica ya que este patrón - de enfermedad se ve sólo muy raramente en otras infecciones. Desde el empleo de antibióticos en la terapéutica, la evolución de la meningitis es satisfactoria en la mayoría de los casos dada la gran sensibilidad del germen a la penicilina (7).

Otras manifestaciones neurológicas menos frecuentes o raras son episodios convulsivos, que ocurren en alrededor - del 10% de los pacientes y no persisten tras la resolución clínica de la meningitis, hidrocefalia y trombosis de los - senos coronarios (frecuentes en la era preantibiótica), insomnio, amnesia, cefaleas recurrentes y labilidad emocional (7).

B.3. Artritis.- Es una complicación relativamente frecuente de la meningococemia y ocurre en aproximadamente el 7% de los pacientes (11). Las artralgiás, predominantemente de grandes articulaciones y coincidiendo con el cenit del resto de la sintomatología, son bastante más frecuentes. Se -- distinguen clásicamente dos formas clínicas de artritis meningocócica (11): una de comienzo precoz coincidiendo con - el debut del resto de los síntomas en la que con frecuencia se aísla la Neisseria Meningitidis del líquido sinovial. Su tratamiento con antibióticos y drenaje articular diario es efectivo al igual que en el resto de las artritis sépticas. Existe una segunda forma de comienzo tardío entre el 7^a y - el 10^a día de la infección en la que generalmente no se aisla el germen en el cultivo del líquido sinovial y que no responde a antibióticos sino a antiinflamatorios no esteroideos. En la patogenia de este segundo subgrupo de artritis se ha - implicado la presencia de inmunocomplejos circulantes, basándose en el hallazgo de niveles significativos de los mismos en casos aislados y en la presencia de niveles descendidos - de C3 en el suero de los pacientes (12). No existen, sin embargo, estudios sistemáticos al respecto sobre series amplias de enfermos.

En ambas formas se afectan predominantemente grandes - articulaciones con un patrón mono u oligoarticular en la -- gran mayoría de los casos. La recuperación de la función articular generalmente es completa en un período que oscila - entre pocas semanas a algunos meses (13).

B.4. Manifestaciones pulmonares.- Los meningococos pueden ser patógenos respiratorios con una frecuencia mayor a la reconocida generalmente. En un estudio realizado por Putsch y cols (14) sobre una serie de 47 enfermos con neumonia aguda, se aísla N. Meningitidis en el esputo del 30% de ellos. Estos mismos autores encuentran este germen en el mismo porcentage en otro grupo de pacientes con infección aguda respiratoria sin evidencia radiológica de neumonitis siendo estos porcentajes muy superiores a los del grupo control. Los cultivos de esputo positivos generalmente se acompañan de - hemocultivos negativos y los gérmenes encontrados son a menudo no seroagrupables a diferencia de los meningococos aislados generalmente en sangre o en líquido cefalorraquídeo - (15). Así las cepas de meningococo aisladas en las infecciones respiratorias parecen ser menos virulentas que aquellas que originan la meningitis o la meningococemia y este grado de virulencia se relaciona con la posesión de cápsula bacteriana.

B.5. Manifestaciones cardíacas.- La endocarditis bacteriana es bastante rara, pero se ha encontrado evidencia anatomopatológica de miocarditis en el 78% de los casos con -- meningococemia fatal (16) y esto parece jugar un papel importante en el desarrollo del shock. Ocasionalmente una lesión cardíaca localizada puede producir hallazgos infrecuentes como bloqueo A.V. Un roce pericárdico o cambios electrocardiográficos de pericarditis son observados en aproximadamente el 5% de los pacientes a pesar de un tratamiento antibiótico eficaz. Raramente se llega a desarrollar una pericarditis purulenta y el riesgo de taponamiento cardíaco es muy bajo (17). Algunos autores abogan porque el origen de esta -

pericarditis sea una reacción de hipersensibilidad al tejido pericárdico lesionado, el cual se comportaría como antígeno estimulando la formación de anticuerpos. En favor de esto existen varios argumentos: a) la evolución lenta de la pericarditis en el curso de la meningitis; b) la existencia asociada de otras manifestaciones como pleuritis o artritis en las cuales se ha sugerido la presencia de inmunocomplejos circulantes; y c) respuesta a esteroides junto a recaídas tras la suspensión de estos. En algunos casos, sin embargo, se ha aislado el meningococo del líquido pericárdico (18).

B.6. Manifestaciones urogenitales.- La N. Meningitidis es un patógeno infrecuente en las infecciones urogenitales del hombre o la mujer. La mayoría de los casos comunicados fueron asociados con otras manifestaciones de infección meningocócica diseminada. Existen sin embargo comunicaciones de infecciones urogenitales por meningococo en ausencia de otras manifestaciones de la enfermedad (19,20).

C. PATOGENIA

No todos los individuos expuestos al contacto directo con un paciente con enfermedad meningocócica acabarán teniendo el meningococo en su nasofaringe y sólo un porcentaje de estos desarrollará enfermedad meningocócica (21). Además el curso clínico y pronóstico de la enfermedad varían grandemente de unos enfermos a otros. Todo ello implica una serie de complejos mecanismos fisiopatológicos dependientes del germen y del organismo infectado que para su mejor exposición se pueden desglosar en tres apartados:

- 1.- La colonización de la nasofaringe humana por el germen y aquellos factores locales que influyen en --
ello.

- 2.- La posterior invasión del sistema circulatorio con el estudio de las particularidades, dependientes - del propio germen o del huésped, determinantes de esta invasión.
- 3.- Los mecanismos productores de enfermedad, dependientes del parásito y del huésped, que van a originar las diferentes manifestaciones clínicas antes mencionadas.

Revisaremos brevemente cada uno de estos tres apartados:

C.1. Colonización de la nasofaringe. - El primer obstáculo que encuentra el meningococo al llegar a la nasofaringe humana es la barrera de secreciones que recubre todo epitelio interno. En el gonococo se ha asociado la patogenicidad con la posesión de fimbrias en la cubierta externa bacteriana sugiriéndose que probablemente ayudarían al germen a traspasar la barrera mucosa y a fijarse en la superficie epitelial (22) y a resistir mejor la ingestión por los fagocitos (23). A la luz de esto se podría argumentar que las fimbrias facilitarían la adherencia y posterior penetración del meningococo en el epitelio de la nasofaringe por producir la enfermedad sistémica. No obstante, es preciso señalar que otras especies de neisserias como *N. catarrhalis* o *N. perflora* pueden tener fimbria y sin embargo no son patógenas (3).

No existe indicación de como el meningococo traspasa -- las secreciones mucosas del tracto respiratorio superior y se adhiere a la mucosa respiratoria, aunque estudios antiguos (24), indicaron que el moco nasal puede favorecer el crecimiento del meningococo en los medios de cultivo artificiales.

Se ha observado que los individuos que desarrollan enfermedad meningocócica adquieren el organismo en un período inferior a una semana antes del comienzo de la sintomatología (25). Estos datos sugieren que la enfermedad sobreviene des-

pués de una exposición relativamente corta al microorganismo.

Otro factor a valorar en la transformación de la infección meningocócica local en sistémica es el papel de las infecciones respiratorias agudas. Se ha observado en centros militares que las epidemias de enfermedad meningocócica ocurren durante períodos de elevada incidencia de infecciones respiratorias agudas (25). Esta relación ha sido demostrada por otros autores (26,27) que a la luz de sus datos sugieren que la enfermedad por virus influenza es un factor pre-disponente a la meningococemia. Este incremento de la susceptibilidad a la infección se puede explicar en base al efecto que las infecciones virales tienen sobre la función inmune y la inflamación (25,28). Las anteriores premisas sitúan al meningococo en una categoría de patógeno oportunista bajo ciertas circunstancias.

C.2. Invasión del sistema circulatorio.- La entrada del germen al sistema circulatorio pone en marcha todo un sistema de defensa, primariamente destinado a librar al huésped del organismo patógeno.

En primer, lugar aquellas estructuras del meningococo con capacidad antigénica inducirán una respuesta inmune. Secundariamente esta respuesta, a través de sus sistemas mediadores humorales y celulares, será la destinada a intentar dominar la agresión bacteriana.

C.2.1. Componentes antigénicos del meningococo.- Se han reconocido hasta ahora tres estructuras con capacidad antigénica, una en la cápsula (polisacárido) y dos en la pared bacteriana (las proteínas y el lipopolisacárido).

a) Antígenos polisacáridos.- Son aquellos que forman la cápsula bacteriana y de los que depende la clasificación del

Tabla 1.- Composición química de los polisacáridos meningocócicos grupo-específicos.

Grupo	Composición
A	N-acetil,0-acetilmanosamina,6-fosfato
B	Acido N-acetil neuramínico
C	Acido N-acetil,0-acetil neuramínico
X	N-acetil glucosamina,4-fosfato
Y	Acido N-acetil neuramínico:glucosa
Z	Acido 3-desoxi,D-mano-octulosónico
W135	Acido N-acetil neuramínico:galactosa

meningococo en serogrupos (29). La composición química de los polisacáridos meningocócicos grupo-específicos caracterizados hasta la actualidad se expone en la tabla 1.

Es infrecuente que el meningococo aislado del líquido cefalorraquídeo no sea seroagrupable, mientras que tales cepas, frecuentemente autoaglutinables y presumiblemente no capsuladas, son a menudo aisladas de la nasofaringe de portadores sanos (21).

Así la posesión del polisacárido capsular es importante en la producción de enfermedad y se ha demostrado, mediante el desarrollo de vacunas a partir de los polisacáridos de los grupos A y C de meningococo, que la inmunidad frente a este antígeno protege al huésped de la enfermedad producida por el serogrupo homólogo. Aunque exista correlación entre la posesión de la cápsula y la patogenicidad y entre la inmunización frente al polisacárido capsular y la protección contra la enfermedad, no se conoce en que proporción este componente contribuye al poder patógeno del meningococo.

b) Antígenos proteícos.- El meningococo puede ser también subdividido en serotipos en base a diferencias antigénicas detectadas originalmente por reacciones de bacteriolisis (29). Esta especificidad en serotipos viene determinada por las proteínas existentes en la pared bacteriana. En los grupos B, C e Y de meningococos se han identificado varios serotipos diferentes (31). Contrariamente el grupo A tiene un único tipo de proteína, diferente de las del resto de grupos (32). De esta forma se explica como aun teniendo el polisacárido del grupo B un escaso poder antigénico, se puede llegar a desarrollar inmunidad frente a este grupo.

c) Lipopolisacáridos.- Son componentes de la pared bacteriana, y constituyentes de la endotoxina bacteriana; los lipopolisacáridos contribuyen también a la diversidad anti-

génica del meningococo. Su poder antigénico es menor que el de los anteriores, si bien no ha sido sistemáticamente estudiado en este aspecto (33).

C.2.2. Respuesta inmune frente al meningococo. - La respuesta inmune en el hombre frente a la Neisseria Meningitidis puede desglosarse en tres apartados: la existencia de - inmunidad natural, la respuesta humoral a la infección y la función del sistema del complemento. La respuesta celular - es peor conocida y se comentará posteriormente con motivo - de las interacciones de la endotoxina con los mediadores ce lulares.

C.2.2.1. Desarrollo de inmunidad natural. - El hecho de que sólo un bajo porcentaje de individuos contaminados por el meningococo desarrolle enfermedad hace pensar en la exis tencia de un estado de inmunización previa del huésped. Apoya este concepto la correlación existente entre el descenso en la prevalencia de la infección conforme avanza la edad - del individuo (5,6), pudiéndose demostrar un aumento en la presencia de anticuerpos bactericidas paralelo al crecimien to del niño (34). La inmunidad en el recién nacido depende del paso a través de la barrera placentaria de anticuerpos específicos de tipo IgG de la madre al feto (34). Estos anticuer pos, pasivamente adquiridos, desaparecen en pocos meses, ocasionando una marcada susceptibilidad de los lactantes a la enfermedad. El desarrollo de inmunidad natural en relación con la edad se define por la presencia de anticuerpos bactericidas y parece ser el resultado de la exposición a una variedad de antígenos. En este contexto cabe considerar una serie de factores:

a) Papel de la Neisseria Lactámica: El estado de portador de la N. Lactámica, una bacteria estrechamente rela- cionada con el meningococo, resulta en el desarrollo de anticuer pos bactericidas que reaccionan de forma cruzada con el meningococo de los grupos A, B y C (3,5). Ya que la mayo-

ría de los niños adquiere la N. Lactámica durante los dos primeros años de vida (35), este organismo puede ser una fuente importante de inmunización natural. Los antígenos responsables de la inducción de estos anticuerpos en niños y adultos no han sido identificados aunque las proteínas serotipo-específicas son probablemente la causa.

b) Papel de la flora bacteriana normal: Posibles fuentes adicionales de antígenos responsables de la formación de anticuerpos contra los grupos A, B y C son las bacterias que componen la flora normal intestinal o de la faringe (29). Así se ha identificado reactividad antigénica cruzada con una serie de bacterias que se indican en la tabla 2.

c) Papel de la propia Neisseria Meningitidis: En el adulto, el estado de portador de meningococos encapsulados y no encapsulados resulta en el desarrollo de anticuerpos bactericidas, que reaccionan de forma cruzada con los grupos A, B y C (36). Sin embargo, con fines prácticos, el seguimiento rutinario de portadores no ha proporcionado ninguna información predictiva acerca de la incidencia de la enfermedad y por tanto ha sido desechado de los programas de control en los centros militares de EEUU (37).

C.2.2.2. Respuesta humoral a la infección: La respuesta humoral a la infección meningocócica sistémica en adultos y niños mayores de 2 años es muy rápida e intensa. Entre el 4^a y 7^a días de la infección pueden detectarse niveles de anticuerpos (38). Se ha observado asimismo que la respuesta humoral en los niños menores de un año es menor y ello se correlaciona con una mayor incidencia de la enfermedad junto a un peor pronóstico en esta edad (39). Los anticuerpos bactericidas presentes en el suero humano están dirigidos contra una variedad de antígenos, incluyendo el polisacárido, la proteína serotipo-específica y en menor proporción el lipopolisacárido (29). También han sido demostrados en el suero humano -

Tabla 2.- Bacterias con antígenos capaces de reaccionar de forma cruzada con los meningococos de los grupos A, B y C.

Serogrupo de meningococo	Organismo
A	Estafilococo aureus Estafilococo epidérmidis Bacillus púmilis
B	Escherichia coli K1 Estreptococo viridans
C	Escherichia coli K92 Estreptococo viridans

anticuerpos grupo específicos con capacidad opsonizante (40).

Aunque los anticuerpos contra el polisacárido capsular han demostrado proteger contra los grupos A y C , el del -- grupo B es poco antigénico en el hombre, sugiriendo que anticuerpos frente a las proteínas específicas de tipo u otros antígenos de la pared bacteriana estén implicados también - en la protección (29). Así se ha demostrado que en los sujetos portadores de Neisseria Meningitidis del grupo B la mayoría de anticuerpos están dirigidos contra la proteína de la pared celular, siendo más escasos los encontrados frente a los otros antígenos (41). Todo ello podrá explicarse en - base a la escasa importancia de la cápsula bacteriana en el grupo B en comparación con los otros serogrupos de Neisseria Meningitidis.

C.2.2.3. El sistema complemento: El complemento es un - sistema enzimático presente en el suero compuesto de 14 proteínas diferentes más una serie de factores reguladores. Su activación secuencial sobre la membrana de la célula diana - produce la degradación de las proteínas de ésta y la muerte celular (42).

Se conocen dos mecanismos de activación del sistema: la vía clásica y la vía alterna. Las sustancias capaces de activar ambas vías se exponen en la tabla 3. Ambas vías confluyen finalmente en una única vía común que termina con la activación de los dos últimos factores C8 y C9 encargados de producir lisis celular (fig. 2). Además como resultado de las diversas reacciones enzimáticas se van liberando fragmentos -- proteícos, algunos de ellos con propiedades biológicas más - importantes que la propia lisis celular y que serán expues - tas posteriormente.

El ataque de membranas celulares por el sistema del complemento se inicia cuando la molécula de C5 es dividida en -

Tabla 3.- Sustancias capaces de activar el sistema del complemento sérico.

VIA CLASICA

- * Inmunocomplejos constituidos por inmunoglobulina IgM.
- * Inmunocomplejos constituidos por inmunoglobulina IgG de los subtipos 1, 2 y 3.
- * IgG agregada.
- * Proteína A de estafilococo.
- * Endotoxina bacteriana.
- * Proteína C reactiva.
- * Enzimas proteolíticas: kalicreína, plasmina y algunas proteasas tisulares y bacterianas.
- * Algunos virus RNA.

VIA ALTERNA

- * Paredes celulares bacterianas.
 - * Endotoxina bacteriana.
 - * Extractos de fermentos como el zymosán.
 - * Veneno de cobra.
 - * Agregados de inmunoglobulinas de todos los tipos.
 - * Ciertas inmunoglobulinas monoméricas humanas y animales.
 - * C3NeF.
 - * Hematíes de conejo.
 - * Medios de contraste radiográficos.
 - * Membranas de celofán utilizadas en diálisis renal y en circulación extracorpórea.
-

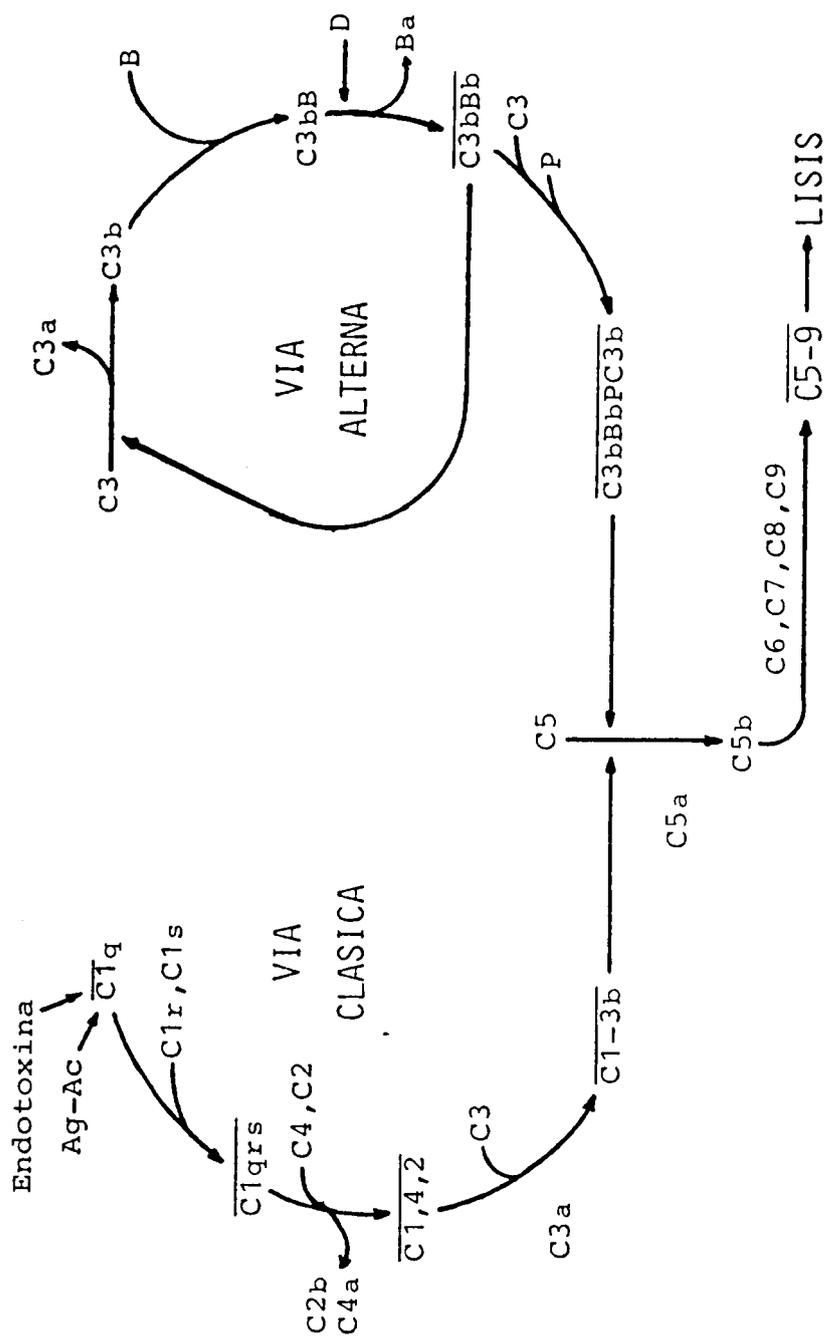


Figura 2.- Secuencia de activación del complemento por las vías clásica y alterna.

dos fragmentos el C5a y el C5b por el enzima $\overline{C1,4b,2a,3b}$ de la vía clásica o el enzima $\overline{C3b,Bb,P,C3b}$ de la vía alterna (43). Las posteriores interacciones entre las proteínas terminales del complemento C5b, C6, C7, C8 y C9 se acompañan de cambios conformacionales, con exposición de los péptidos hidrofóbicos de forma que estas proteínas se transforman de hidrofílicas en anfifílicas (44). Si esta transformación -- ocurre en la inmediata vecindad de una membrana compuesta por una doble capa lipídica, algunos de los péptidos hidrofóbicos se insertan en la misma y forman canales, mientras -- que otros destruyen las moléculas fosfolipídicas de la membrana y forman complejos lipoproteicos en la fase acuosa -- (45). Si la conversión al estado anfifílico ocurre en ausencia de una membrana de las citadas características, las proteínas terminales del complemento forman agregados que son citolíticamente inactivos (43).

El proceso de inserción comienza cuando el $\overline{C5b,6}$ reacciona reversiblemente con la membrana, y se vuelve irreversible en la reacción con el C7 (43). Lentamente se van formando canales de unos 6 n.m. de grosor a través de la membrana por la acción de $\overline{C5b-8}$. Esta reacción se acelera de forma importante por la actuación del C9 (42,46). Así al ponerse en contacto directo el interior de la célula con el medio extracelular se produce, mediante un fenómeno de lisis osmótica, la muerte de la misma (47).

Un segundo mecanismo de ataque de membrana por el complemento consiste en la degradación de los fosfolípidos de la membrana (48). Al igual que la formación de canales, este efecto detergente es una consecuencia de la exposición de los péptidos hidrofóbicos de los últimos componentes del complemento (48). Este mecanismo adquiere relevancia cuando las membranas son atacadas por cantidades importantes de -- complemento y es prácticamente el único que actúa sobre cier

tas bacterias y membranas de envoltura de virus que no funcionan como barrera osmótica (49). En condiciones normales el que actúa es el primer mecanismo descrito, ya que exige menores cantidades de complemento (43).

El sistema complemento y más concretamente sus últimos factores, parecen jugar un papel primordial en aquellas infecciones en las que la bacteriolisis mediada por el suero supone un importante mecanismo de defensa contra los gérmenes que las provocan. Las Neisserias son quizá los microorganismos más implicados en ello ya que se ha observado en repetidas ocasiones como el déficit de cualquiera de los factores terminales de la vía C6, C7 y C8, le supone al individuo afecto un elevado riesgo para el padecimiento de sepsis de repetición por Neisseria Meningitidis o Neisseria Gonorrhoeae (50). Se han descrito también sepsis recurrentes por Neisseria Meningitidis en pacientes con déficit de C3 y C5, no obstante estos individuos están predispuestos preferentemente a infecciones por bacterias Gram negativas y gérmenes encapsulados como el estreptococo pneumoniae (51,52).

En estudios realizados por varios autores (53,54,55) - en pacientes con déficit de los últimos componentes del complemento se ha observado como las funciones de opsonización, fagocitosis y quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares están conservadas. Ello explicaría el que estos individuos no presenten episodios de sepsis por bacterias Gram negativas en los que la función de los polimorfonucleares juega un papel fundamental tal y como se ha visto en los pacientes con déficit de C3 y C5 (51,52). Parece pues que el exceso de infecciones por Neisseria en ellos no se debe primordialmente a un defecto del sistema fagocítico. Se ha demostrado por el contrario que en los casos con déficit de los últimos componentes del complemento siempre existe una profunda disminución en la capacidad bacteriolítica del suero

de estos pacientes, que se restablece tras la adición del componente deficitario purificado (56,57,58,59). Nicholson (60) y Petersen (61) han demostrado la necesidad del C8 en la producción de bacteriolisis, sugiriendo que el único papel de los últimos componentes del complemento en la defensa del huésped contra los gérmenes del grupo de las Neisserias consiste en favorecer la actividad bactericida extrafagocítica (60).

La prevalencia de déficits del complemento en pacientes con enfermedad meningocócica esporádica se ha encontrado -- ser del 7 al 15% (62,63). Sin embargo, aunque todos los autores insisten en la conveniencia de realizar un despistaje de déficits del complemento en pacientes con enfermedad meningocócica recurrente, no existen datos en la literatura -- sobre la prevalencia de déficits del complemento en pacientes con sepsis meningocócica recidivante.

C.3. Producción de daño tisular..- La invasión directa del germen es capaz de originar una reacción inflamatoria -- aguda con infiltración celular de los tejidos e intenso edema seguido de un exudado purulento que a nivel del sistema nervioso central se propaga sobre la superficie del cerebro e incluso puede invadir el parénquima originando un síndrome encefalítico (64). Este mismo mecanismo de invasión directa es el causante de la Neumonía y de la infección géni-- to-anal por este germen (20,65).

Sin embargo, a pesar de la gran sensibilidad del meningococo a los antibióticos la mortalidad de la enfermedad meningocócica sigue siendo considerable. Ello obedece a la -- gran habilidad del meningococo, fundamentalmente a través -- de su endotoxina de poner en marcha los denominados siste -- mas mediadores del organismo, cuya misión primaria es la de -- fensa del propio organismo pero que en determinadas circuns --

tancias son capaces de agredirle y convertirse en los agentes responsables de las manifestaciones clínicas. En este contexto expondremos las características de esta endotoxina para posteriormente comentar las peculiaridades de los dos sistemas mediadores más importantes en la enfermedad meningocócica como son el sistema de la coagulación y los metabolitos activos del complemento. Finalmente se comentará la presencia de Inmunocomplejos circulantes y sus implicaciones en la patogenia de la enfermedad meningocócica.

C.3.1. La endotoxina bacteriana. - Un hallazgo característico de todas las bacterias Gram-negativas conocidas hasta la actualidad es que poseen un glucolípido macromolecular en su cubierta celular denominado lipopolisacárido (LPS) (66). Su síntesis tiene lugar en la membrana citoplasmática aunque su localización posterior se sitúa en la capa externa de la pared bacteriana, es decir donde la bacteria interactúa con el medio externo, jugando así un importante papel en la prevención de la fagocitosis de la bacteria en las formas no capsuladas (66). Su administración parenteral al animal de experimentación origina una variedad de manifestaciones inespecíficas como fiebre, hipotensión, cambios en el recuento leucocitario, coagulación intravascular diseminada y a altas dosis shock irreversible y muerte (67). Los LPS por lo tanto son toxinas bacterianas potentes y esta cualidad se expresa por el término endotoxina que se usa de forma sinónima con el de lipopolisacárido.

La endotoxina bacteriana consta de un polisacárido y un componente lipídico, unido covalentemente, que fue denominado "Lípido A" por Westphal y cols (68) para distinguirlo de los lípidos unidos de forma no covalente, asociados a la molécula de LPS (fig. 3).

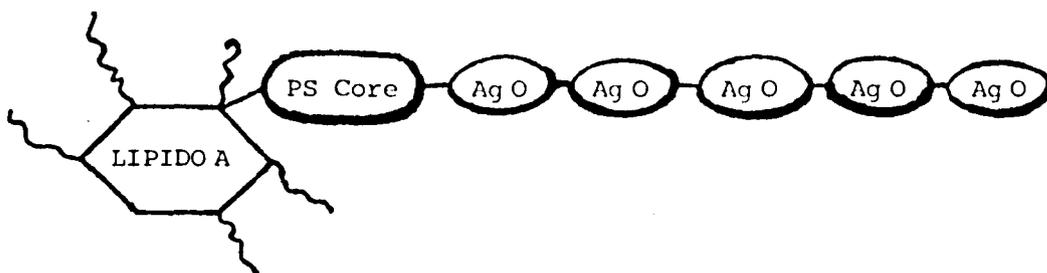


Figura 3.- Estructura básica de los lipopolisacáridos bacterianos.

La porción polisacárida se considera compuesta a su vez por dos regiones diferentes: un polisacárido "core" central, y otro polisacárido, el denominado "antígeno O" (69). La región del core, a menudo idéntica en un gran grupo de bacterias, contiene un único desoxiazúcar, 2 ceto 3-desoxi-octulosonato, así como una heptona, fosforiletanolamina y varias exosas. En contraste, el antígeno -O es químicamente único para cada tipo de organismo y LPS (69,70). Normalmente existen como unidades oligosacáridas repetidas conteniendo tres o cuatro exosas diferentes cada una. El número de estas unidades varía entre 2 y 10, en ocasiones en una misma bacteria (69,70).

El lípido A es único y consiste en una zona axial compuesta por dos glucosaminas unidas en posición β 1-6 a las que se ligan ácidos grasos de cadena larga y grupos fosforilados (71). Su estructura química indica que es una molécula anfipática con regiones hidrofóbicas e hidrofílicas. Además tiene carácter anfótero transportando residuos ácidos y básicos. Su arquitectura única dota al lípido A de diferentes propiedades que le convierten en un constituyente vital de la pared de las bacterias Gram-negativas donde juega un papel funcional y estructural (72). Por otro lado, el lípido A representa una de las toxinas bacterianas más potentes y en él residen casi todas las propiedades de la endotoxina (71,72).

La mayoría de los trabajos sobre endotixina bacterianas se han realizado con endotoxina de Escherichia Coli, -- Salmonella o Proteus, siendo escasas las comunicaciones sobre la endotoxina meningocócica. Sin embargo, la estructura y propiedades biológicas parecen muy semejantes (73,74) y con fines teóricos asumiremos a la endotoxina meningocócica las propiedades generales del resto de endotoxinas bacterianas, comentando finalmente algunos aspectos particulares de la misma.

Las funciones biológicas de los lipopolisacáridos son diversas. Una función importante en la superficie celular bacteriana es servir como barrera con permeabilidad selectiva, controlando el transporte de moléculas al interior de la célula (75). Además la localización del lipopolisacárido en la capa más externa de la bacteria permite la máxima oportunidad para interactuar con el medio externo. Esto puede poner en funcionamiento el amplio espectro de mecanismos de defensa del huésped a fin de protegerle contra la invasión por el germen. Pero es en la mayoría de los casos esta respuesta frente a los microorganismos Gram-negativos la que origina el daño tisular. La interacción entre la endotoxina y los mediadores del huésped se realiza tanto a nivel humoral como celular, existiendo una interconexión entre estos sistemas, tal como se expresa en la figura 4.

C.3.1.1. Interacción de la endotoxina con sistemas mediadores humorales.-

a) Complemento: La endotoxina bacteriana es capaz de activar el sistema complemento por tres mecanismos diferentes de los cuales sólo uno requiere la formación de anticuerpos (fig. 5) (67). El primero compromete la región del lípido A de la molécula del lipopolisacárido, el cual es capaz de unirse directamente al Clq, activarle, y poner así en mar

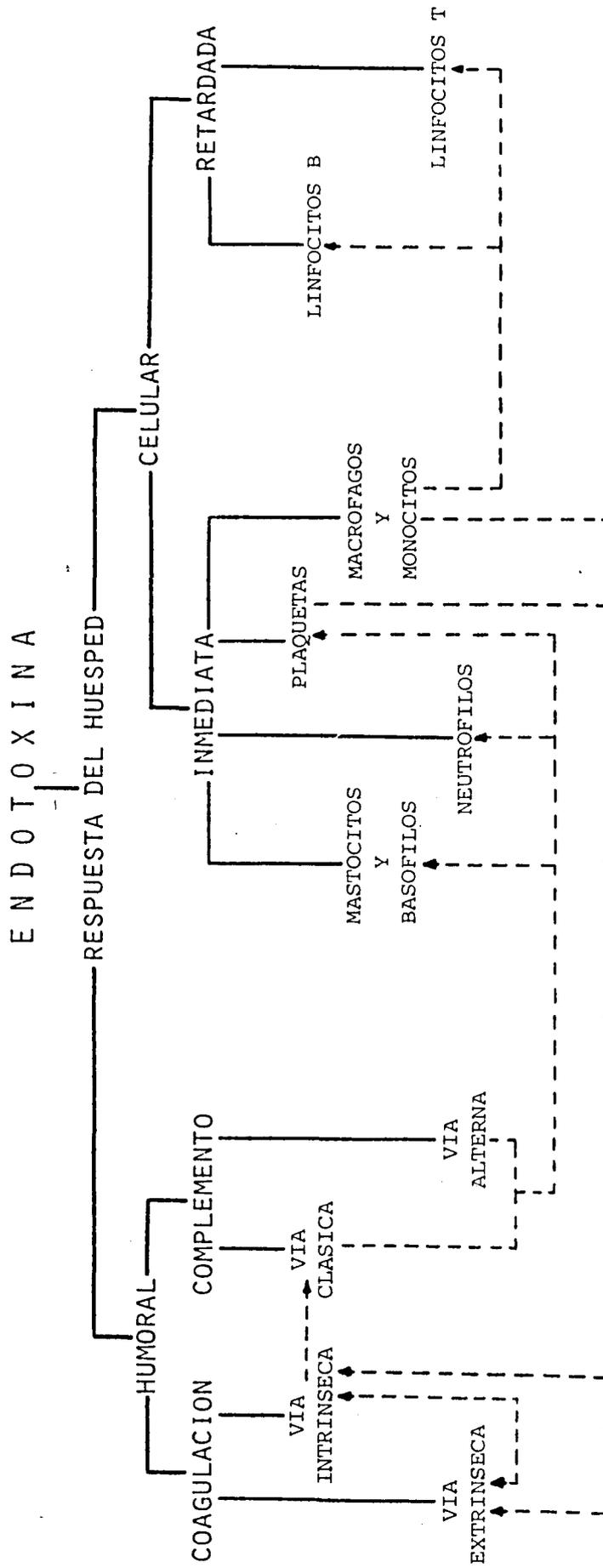


Figura 4.- Interacción de la endotoxina bacteriana con sistemas mediadores celulares y humorales.

cha la vía clásica del complemento (76). Adicionalmente se ha demostrado que la porción polisacárida de la endotoxina puede activar el sistema, sin precisar la participación del lípido A, a través de la vía alterna y modular así la expresión de la activación del Clq por el lípido A (77,78). Finalmente la formación de anticuerpos específicos frente a la endotoxina bacteriana, originará inmunocomplejos que a través de la vía clásica del complemento activará el sistema, dando lugar a la serie de reacciones intermedias que se comentarán posteriormente.

b) Coagulación: Al igual que con el complemento, la endotoxina bacteriana es capaz de activar el sistema de la coagulación a través de los dos mecanismos conocidos, las vías intrínseca y extrínseca (fig. 6) (79). Los dos modelos experimentales más utilizados en las últimas décadas para el estudio de la activación de la coagulación por las endotoxinas bacterianas son los fenómenos de Sanarelli-Shwartzman generalizado y localizado (80,81). En resumen consiste en que tras una simple inyección i.v. de endotoxina se inician cambios en la coagulación que resultan en la formación y deposición de trombos oclusivos de fibrina en los vasos de los tejidos afectados incluyendo pulmones, hígado y bazo.

* Activación de la vía intrínseca: Comienza con la activación del factor XII o factor Hageman que desencadena los fenómenos enzimáticos secuenciales expresados en la figura 7 cuyo último fin es la formación de la red de fibrina (67,82,83). El factor Hageman además está implicado en la activación de otra serie de sistemas biológicos (fig. 8) (84). Así es capaz de activar los sistemas de las quininas y del complemento (85), de estimular directamente la formación de plasmina (84) y como se ha demostrado recientemente es también capaz de activar el factor VII de la vía extrínseca (86). Para que se active el factor Hageman se requiere la forma -

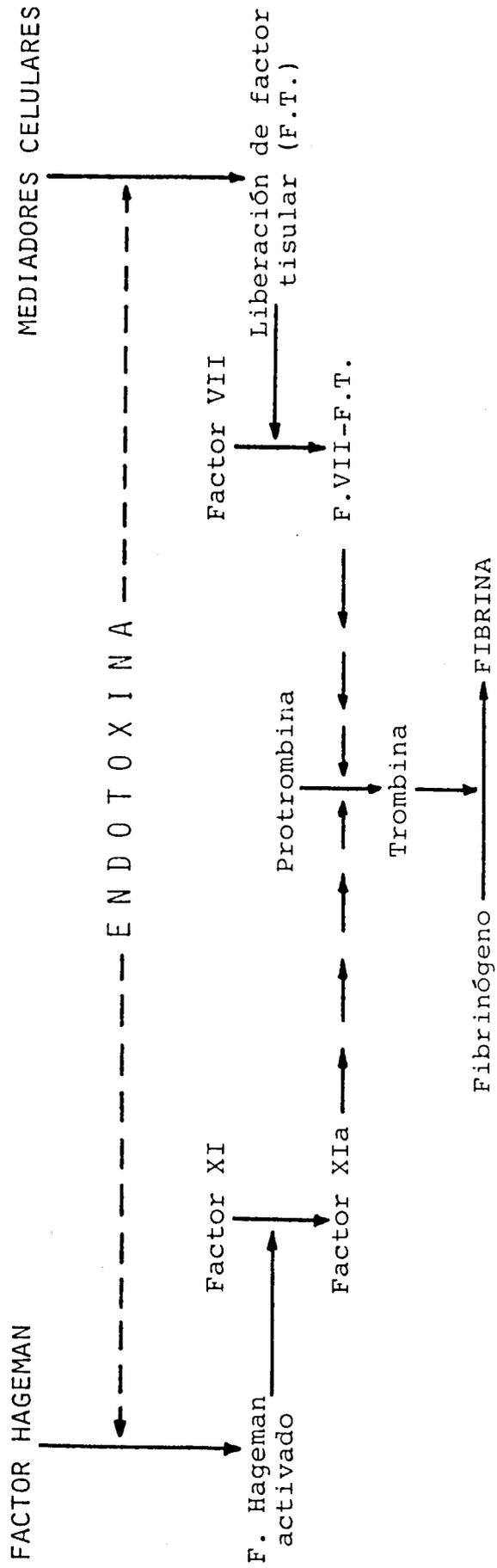
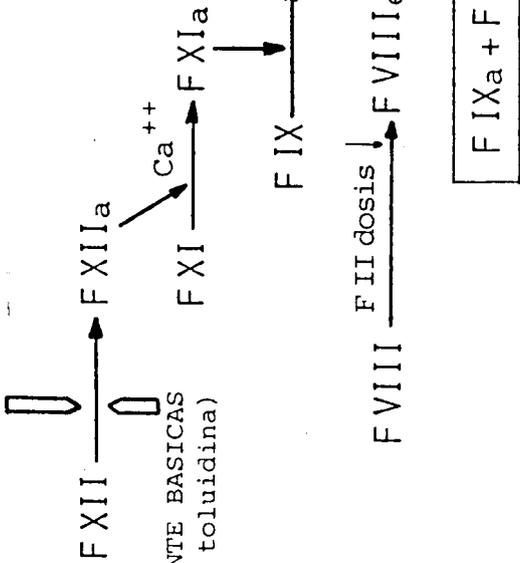


Figura 6.- Interacción de la endotoxina bacteriana con el sistema de la coagulación.

SUPERFICIES DE CARGAS NEGATIVAS
(Tej. conjuntivo subendotelial),
ENDOTOXINAS, INMUNOCOMPLEJOS,
ENZIMAS PROTEOLITICOS (Calicreina,
tripsina, plasmina), VIDRIO.

VIA INTRINSECA



VIA EXTRINSECA

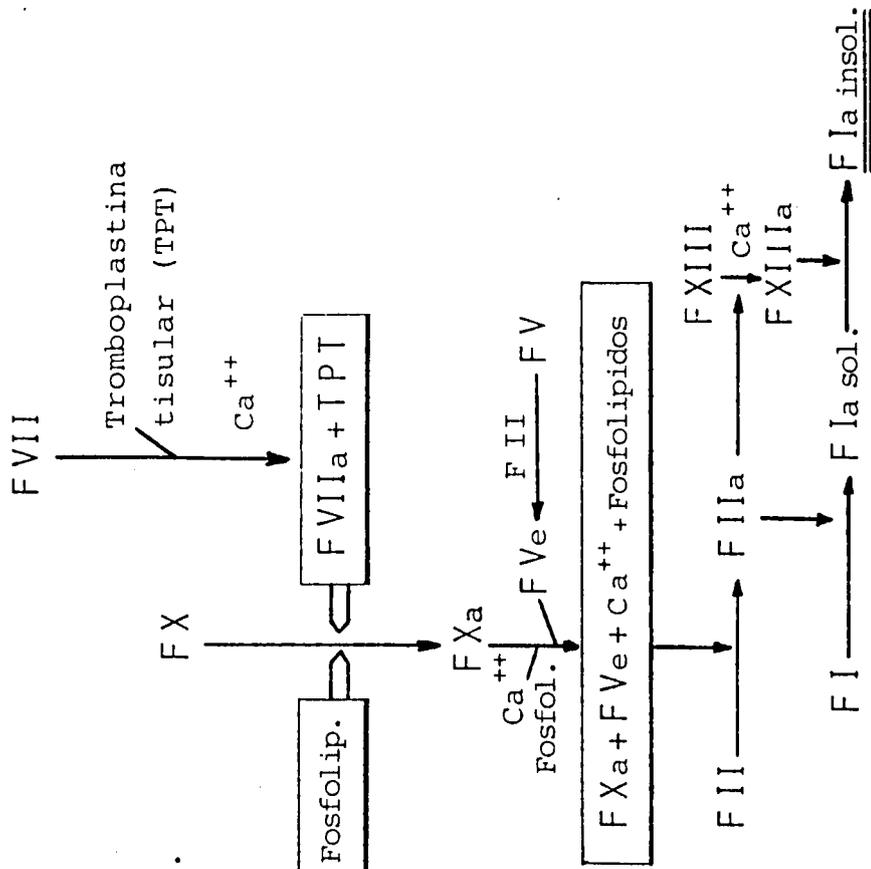


Figura 7.- Representación esquemática de la secuencia de activación de los factores de la coagulación a través de las dos vías conocidas.

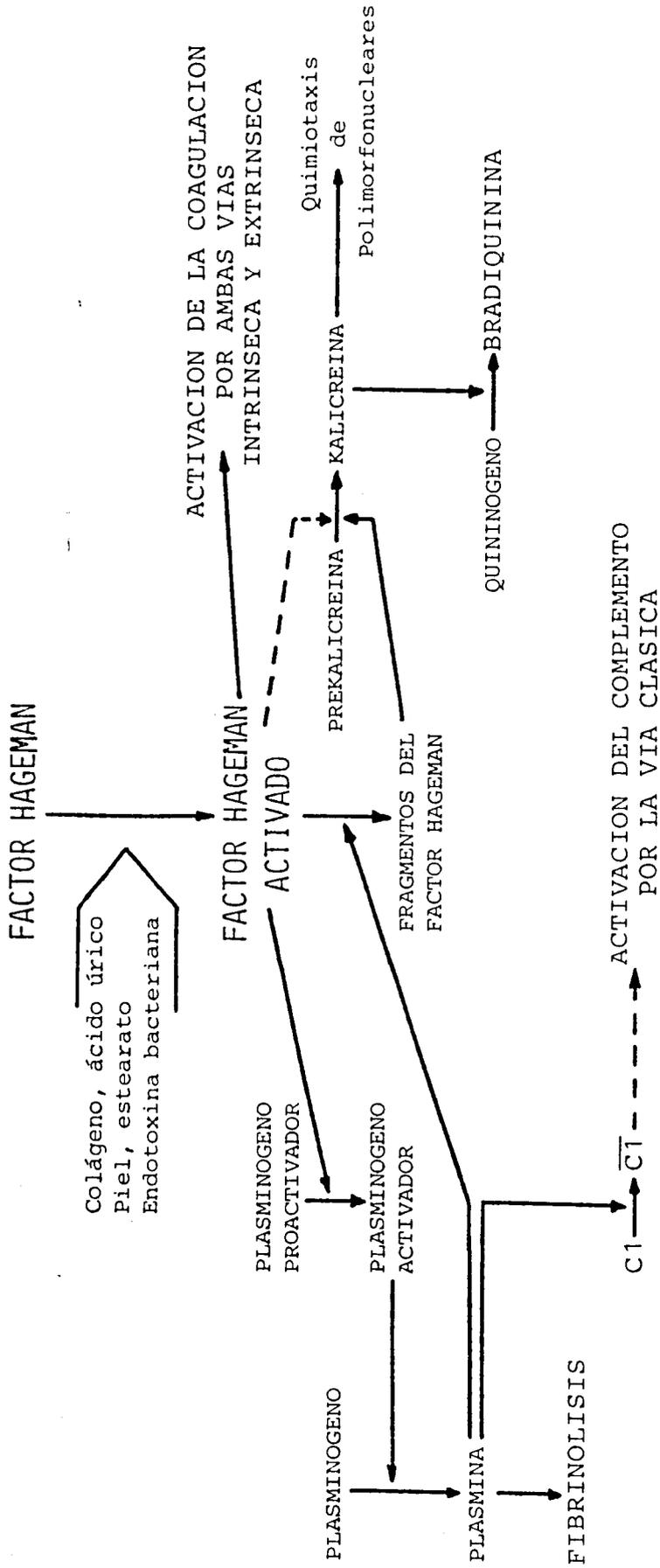


Figura 8.- Interrelaciones entre los sistemas de la coagulación, complemento, fibrinólisis y generación de quininas.

ción de un complejo con la endotoxina; la región del lípido A, imprescindible para la activación, constituye probablemente el lugar de unión entre ambas moléculas (87). Adicionalmente puede existir activación del factor Hageman al ponerse en contacto con colágeno expuesto tras el daño vascular (88).

* Activación de la vía extrínseca: No se ha demostrado aún un efecto directo de la endotoxina en la activación de cualquiera de las proteínas conocidas de la vía extrínseca. Sin embargo, numerosas observaciones han mostrado que tras la inyección de endotoxina descienden los niveles de Factor VII, indicando activación por esta vía (89). Lo que sí se ha demostrado es la participación de células como intermediarias en este fenómeno. Se ha observado que los leucocitos de sangre periférica tienen un papel esencial en ello, siendo los monocitos la principal fuente de actividad procoagulante inducida por la endotoxina (90). Así se ha demostrado que la actividad factor tisular inducida por la endotoxina en una población celular de 10 monocitos/ μ l, excede a la producida por una preparación purificada de 10.000 granulocitos/ μ l (91). Adicionalmente se demostró que a las tres horas de la adición de la endotoxina existían cambios morfológicos importantes en los monocitos consistentes en la aparición de grandes lisosomas (91).

c) Prostaglandinas.- Desde hace tiempo se conoce que varios efectos típicos de las endotoxinas como fiebre, hipotensión precoz, shock y aborto pueden ser inhibidos por ácido acetil salicílico y otros antiinflamatorios no esteroideos como la indometacina (92). Parece posible pues que prostaglandinas y compuestos relacionados (prostaciclina, troboxanos) representen mediadores de endotoxicidad. Para apoyar esta hipótesis existen una serie de hechos: 1: Antagonistas específicos de prostaglandinas inhiben ciertos efectos de la endo-

toxina (93). 2: La concentración de prostaglandinas en la circulación o en los fluidos del tejido afecto, aumenta durante la manifestación del efecto del lipopolisacárido (94). 3: Algunos miembros de la familia de las prostaglandinas inducen reacciones endotóxicas típicas (95) y 4: Ratas alimentadas con dieta libre en ácidos grasos esenciales, precursores en la síntesis de prostaglandinas, son resistentes a la letalidad del lipopolisacárido (94-96).

La mayor fuente de prostaglandinas en el shock endotóxico parecen ser los macrófagos (97) y el lípido A probablemente sea el componente activo de la endotoxina en esta reacción de activación (66). No se conoce sin embargo si las prostaglandinas circulantes son responsables de la expresión de algunas de las manifestaciones sistémicas de la endotoxina, o si ejercen sus efectos sólo localmente.

d) Endorfinas: Estudios recientes han implicado una función de estos compuestos en varios sistemas fisiológicos y patológicos. La β -endorfina y la ACTH derivan de la misma molécula, se almacenan en la hipófisis en lugares comunes y su secreción se regula simultáneamente por "sensores de stress" para liberar ambas sustancias en cantidades equimolares (98,99). Ya que las endotoxinas son capaces de estimular la liberación por la hipófisis de ACTH, parece probable que se liberen también β -endorfinas (100,101). Como las endorfinas, al igual que los opiáceos exógenos, producen hipotensión importante, tras su liberación por la acción de la endotoxina, podrían contribuir a la hipotensión del shock endotóxico. Faden y Holaday (102) han demostrado como un antagonista opiáceo, la naloxona, revierte rápidamente la hipotensión causada por la endotoxina en el perro y la rata a dosis intravenosas de 0.1 mg/kg o intraventrículo cerebral de 10 μ gr/kg. Basándose en estos hallazgos sugieren que las endorfinas pituitarias pueden jugar un papel patogénico en

el shock endotóxico y que el uso de antagonistas opiáceos podría ser de beneficio terapéutico en el tratamiento del shock en humanos.

C.3.1.2. Interacción de la endotoxina con sistemas mediadores celulares:

a) Plaquetas: La respuesta plaquetaria consiste en agregación y/o liberación de sustancias como ADP, factor 3 plaquetario y aminas vasoactivas como histamina y serotonina - (103). La liberación de estos componentes plaquetarios, por secreción o por lisis de la plaqueta, podría contribuir a los efectos patológicos de la endotoxina, incluyendo hipotensión resultante del aumento de permeabilidad vascular y coagulación intravascular mediante activación de la vía extrínseca. La importancia de la respuesta plaquetaria en humanos a la endotoxina no está bien establecida, sin embargo los datos acumulados en la literatura apoyan el concepto de que la mayoría de las endotoxinas bacterianas tienen poco efecto sobre las plaquetas humanas o de otros primates debido a que carecen de receptores para el C3b, a diferencia de lo que ocurre en otros animales de experimentación, en los que estos mecanismos adquieren relevancia (67,104).

b) Leucocitos polimorfonucleares: Las endotoxinas bacterianas son capaces de alterar la función normal de estas células provocando una actividad metabólica anormal, que se manifiesta como una secreción aumentada de enzimas leucocitarios (105), o alterando la capacidad de los neutrofilos para la fagocitosis y la respuesta ante estímulos quimiotácticos (106). También indirectamente a través de la fracción C5a del complemento se estimula la formación de agregados leucocitarios que, como veremos posteriormente, tienen una gran significación en el desarrollo del shock endotóxico (107). Adicionalmente se ha demostrado que los neutrófilos

contribuyen a la detoxificación del LPS probablemente a través de sus lipasas (108,109).

c) Basófilos y mastocitos: La mayoría de los datos disponibles no apoyan un papel primario de la respuesta a la endotoxina por parte de mastocitos y basófilos en el shock endotóxico mediante una interacción directa célula-endotoxina (110,111). La participación potencial de estas células en las interacciones endotoxina-huésped vía mecanismos indirectos, en particular el sistema complemento, podría ser sugerida en base a varios experimentos (112,113), aunque la contribución neta de tales interacciones no ha sido críticamente bien evaluada ya que la naturaleza precisa de los materiales activos secretados por estas células y su relación con componentes del complemento, particularmente los fragmentos C3a y C5a, no ha sido aclarada.

d) Monocitos y Macrófagos: Los fagocitos mononucleares, macrófago tisular o monocito sanguíneo, aparecen como el principal mediador celular del daño tisular orgánico provocado por las endotoxinas bacterianas. El mecanismo de la activación del macrófago por la endotoxina no está perfectamente establecido aunque dos componentes del lipopolisacárido, el lípido A y la proteína asociada al lípido A parecen ser los máximos responsables de la activación (114). Estas células al ser estimuladas pueden liberar al medio externo una serie de productos capaces de alterar los diversos componentes de los tejidos circundantes (Tabla 4) (115). Estos productos actúan sobre los linfocitos potenciando su respuesta celular a la infección (115,116). Asimismo pueden activar el sistema de la coagulación a través de ambas vías, de forma que los macrófagos y monocitos constituyen la fuente celular más importante de tromboplastina celular en la endotoxemia (91). Otros productos celulares como las prostaglandinas o los pirógenos actúan a nivel sistémico contribu-

Tabla 4.- Productos secretados por los macrófagos

1 - Productos que afectan al entorno extracelular y al tejido conectivo:

- * Enzimas lisosómicos
- * Activador de plaminógeno
- * Colagenasa
- * Elastasa
- * Estearasa
- * Factor procoagulante (tromboplastina tisular)
- * Fibronectina

2 - Productos comprometidos en los procesos de defensa:

- * Proteínas del Complemento (C1, C2, C3, C4, factor B)
- * Lisozima
- * Interferón

3 - Proteínas biológicamente activas:

- * Factor activador de los linfocitos
- * Mediador endógeno de los leucocitos
- * Factor estimulador de colonias
- * Factor antagonista de glucocorticoides
- * Pirógeno endógeno
- * Factor necrotizante de tumores
- * Factor de angiogénesis

4 - Compuestos de bajo peso molecular:

- * Prostaglandinas
 - * Nucleótidos cíclicos
 - * Timidina
 - * Radicales derivados de oxígeno
-

yendo en gran medida a las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Finalmente el macrófago elimina también enzimas y otras sustancias tóxicas con capacidad citolítica local - tales como enzimas lisosomales, colagenasa, radicales superóxido etc. que alteran de forma importante el entorno de la célula secretora (117,118).

La síntesis de estos productos es selectiva aunque se puede producir una excreción indiscriminada de los enzimas lisosomales (115). También el sistema lisosomal del macrófago se ha sugerido que participa en la detoxificación de la endotoxina (67).

e) Linfocitos: La endotoxina induce una respuesta específica por parte de los linfocitos B. Se ha demostrado - mediante cuantificación de células secretoras de inmunoglobulinas (plaque forming cell assay) que a los dos o tres días de inyectar endotoxina al ratón existe actividad secretora de anticuerpos antiendotoxina (119). El pico máximo de actividad ocurre hacia el 5º día y luego la respuesta disminuye. Esta respuesta primaria a la endotoxina se detecta en los linfocitos del bazo y más tarde en médula ósea (120). Sin embargo la respuesta secundaria a una inyección posterior con cantidades equivalentes de endotoxina se detecta en sangre periférica, nódulos linfáticos, placas de Peyer y timo. Experiencias adicionales por los mismos autores (121) utilizando ratones esplenectomizados han demostrado que los linfocitos de la médula ósea son capaces de generar una respuesta secretora independiente del bazo y sugieren que tras una inmunización primaria, los linfocitos B "memoria" emigran de la médula ósea y contribuyen a la respuesta detectada en cada órgano tras una segunda inyección de endotoxina.

La respuesta primaria a la endotoxina en ratones está dominada por la IgM con menos del 1% de IgG. Sin embargo - tras hiperinmunización puede observarse una respuesta preferentemente de tipo IgG (119).

En contraste con los bien caracterizados efectos de la endotoxina bacteriana en la respuesta de los linfocitos B, la mayoría de los datos disponibles indican que las endotoxinas no inician directamente la respuesta proliferativa de las células T, como se ha demostrado mediante incorporación de Timidina-tritiada, independientemente de la dosis de endotoxina utilizada y de las condiciones del ensayo (119). Sin embargo se ha observado que la endotoxina puede influenciar profundamente la respuesta de los linfocitos T frente a los activadores selectivos de los mismos. Así se ha observado que la endotoxina puede aumentar de 2 a 10 veces la incorporación de timidina-tritiada inducida con Concanavalina A o Phito-hemaglutinina (122,123,124).

C.3.1.3. Peculiaridades de la endotoxina meningocócica.- Existen pocos estudios en la literatura sobre la endotoxina meningocócica. Ello sorprende en base a la gran evidencia que une las manifestaciones mayores de la meningococemia a la endotoxemia (66,67). El inconveniente que supone la espesa cápsula de la Neisseria Meningitidis ha desanimado probablemente a los investigadores, ya que la contaminación con restos de la cápsula produce importantes modificaciones en los resultados de laboratorio (74).

La composición de la endotoxina meningocócica de los grupos A, B y C es prácticamente idéntica a la descrita para muchos bacilos entéricos (73). Sin embargo tiene ciertas peculiaridades y así como su potencia para desarrollar una reacción de Shwartzman generalizada es similar a la de las enterobacterias, la endotoxina meningocócica, a igual-

dad de dosis, es de 5 a 10 veces más efectiva en provocar una reacción de Shwartzman cutánea que el resto de endotoxinas (74). Esta diferencia no se ha podido explicar en base a la composición del polisacárido de la endotoxina ya que la longitud de las cadenas no se correlaciona con la potencia. Ello sugiere que la composición del lípido A pueda diferir en alguna manera del resto de endotoxinas de forma que incremente su afinidad por la piel. Esta mayor potencia a nivel cutáneo del lipopolisacárido del meningococo podría explicar la prominencia de las lesiones purpúricas en la meningococemia.

En 1968 Ducker y cols (125) observaron que pequeñas dosis de endotoxina meningocócica, inefectivas por vía intravenosa, cuando las introducían en los ventrículos cerebrales de perros, se producían en estos importantes alteraciones hemodinámicas y respiratorias que terminaban con la muerte del animal. El examen anatomopatológico demostraba edema y hemorragia en pulmones, endocardio, válvulas mitral y tricúspide, suprarrenales y congestión visceral, hallazgos similares a los encontrados en sujetos fallecidos tras una infección meningocócica.

Estos experimentos hacen pensar en la existencia de otros mediadores independientes de los anteriormente expuestos humorales y celulares. En este sentido Frankel y cols (126) estudian la actividad simpática en dos pacientes con enfermedad meningocócica que desarrollaron edema de pulmón y la encuentran considerablemente aumentada.

Por todo lo anteriormente expuesto parece posible explicar prácticamente todas las manifestaciones clínicas de la enfermedad meningocócica por el gran poder patógeno de su endotoxina. Sin embargo, Tubbs (127) no encuentra relación entre los niveles de endotoxina circulante o en líqui

do cefalorraquideo y la severidad de la enfermedad, quedando por lo tanto abierta la posibilidad a la existencia de otros factores patógenos independientes de la endotoxina.

C.3.2. Activación del sistema de la coagulación: De crucial importancia en el desarrollo de las manifestaciones clínicas de la enfermedad meningocócica es la activación del sistema de la coagulación que conduce a un síndrome de coagulación intravascular diseminado (C.I.D.). Una diatesis hemorrágica asociada con un número de enfermedades diversas caracterizadas por trombocitopenia y un descenso en la concentración de múltiples factores de la coagulación, incluyendo severa hipofibrinogenemia, ha sido adscrita a este síndrome de C.I.D. de la sangre (128). Diversos estudios han demostrado que esta coagulopatía intravascular de consumo se asocia con activación secundaria del sistema fibrinolítico. Su diagnóstico se basa en la demostración de que el plasma circulante ha sido deplecionado de ciertos factores lábiles de la coagulación como el fibrinógeno la protrombina, los factores V y VIII y las plaquetas (7, 128). Adicionalmente y debido a la fibrinolisis secundaria, pueden demostrarse en el suero productos de degradación del fibrinógeno (128). La gravedad de este cuadro es extrema hasta el punto de ser, con mucho, la principal causa de muerte en la infección meningocócica (5,6,7).

Los mecanismos iniciadores de esta acelerada coagulación intravascular en la meningococemia no son del todo conocidos, aunque la endotoxina meningocócica es uno de los factores principales. Como ya se ha comentado anteriormente la endotoxina es capaz de activar las dos vías de la coagulación (fig. 6).

De esta forma la C.I.D. con subsecuente deposición de fibrina, plaquetas y leucocitos en los pequeños vasos --

juega claramente un importante papel en la patogénesis de las manifestaciones clínicas más severas de la meningococemia fulminante como son por ejemplo las extensas lesiones hemorrágicas y posteriormente necróticas de la piel, la necrosis hemorrágica de las glándulas suprarrenales y la ocasional necrosis renal cortical (128).

Sin embargo, la principal cuestión, de como la coagulación intravascular contribuye de forma significativa a la irreversibilidad del shock, que habitualmente mata al paciente con meningococemia fulminante, permanece sin contestar. Hardaway (129) sugiere que la C.I.D. convierte el shock reversible en irreversible en los animales de experimentación. Sin embargo, este argumento no ha sido secundado por ningún otro autor en la literatura.

C.3.3. Liberación de mediadores del sistema complemento. El complemento como se ha expuesto anteriormente, supone un factor importante en la defensa del organismo frente a la agresión externa. Sus déficits predisponen a enfermedades bacterianas recurrentes (50,130) o a enfermedades autoinmunes (131,132) probablemente secundarias, a un estímulo antigénico continuo derivado de infecciones virales persistentes (42). Aunque el complemento constituye un sistema defensivo, su activación puede conducir a diversas manifestaciones patológicas en enfermedades infecciosas o autoinmunes. En este aspecto, centraremos la exposición en los dos mediadores de la inflamación más importantes liberados por la activación del complemento, el C3a y fundamentalmente el C5a, para finalmente añadir una función biológica recientemente encontrada en el subproducto Bb de la vía alterna del complemento.

C.3.3.1. Funciones del fragmento C3a.- El C3a es un pep

tido con un peso molecular de 8.900 dalton, producido por la escisión en dos fragmentos de la molécula de C3 (133). Se ha mostrado repetidamente su actividad anafilotóxica induciendo a los mastocitos y basófilos a liberar histamina mediante un mecanismo no citotóxico. La liberación de histamina y otros productos de los mastocitos puede producir contracción del músculo liso, vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular lo cual permite la extravasación de leucocitos hacia los tejidos del entorno (133). Así el C3a tiene muchas de las propiedades funcionales de la IgE aunque no ha sido implicado en las enfermedades alérgicas comunes (42). Esta y la otra molécula anafilotóxica, el C5a, pueden jugar un papel relevante en aquellas reacciones alérgicas que acompañan a las enfermedades autoinmunes.

El C3a fue también originalmente considerado como un importante factor quimiotáctico, aunque actualmente hay datos en la literatura, como la ausencia total de actividad quimiotáctica del suero en pacientes con déficit de C5 (134, 135) que ponen muy en duda esta función.

C.3.3.2. Funciones del fragmento C5a.- El C5a es un péptido con un peso molecular de 15.000 dalton, producido tras la escisión del C5. Actúa como el mayor factor quimiotáctico secundario a la activación del complemento (43). Su presencia produce una migración directa de polimorfonucleares y macrófagos. Estas células migran hacia la concentración más alta de factor quimiotáctico a lo largo de un gradiente de concentración (48).

El C5a actúa también como una anafilotoxina y tiene por tanto las mismas propiedades apuntadas al respecto por el C3a (136).

Sin embargo, el efecto más importante de la activación

de C5a, conocido recientemente (107,137), consiste en la capacidad de este subproducto de aumentar la adhesividad de los leucocitos polimorfonucleares y de agregar estas células. Así los granulocitos pueden adherirse más fácilmente a las superficies endoteliales (marginación) especialmente en los sitios de daño tisular (138). Por otra parte los agregados celulares pueden a modo de trombos enclavarse en el árbol capilar, fundamentalmente de la circulación pulmonar. Por cualquiera de los dos mecanismos, la subsiguiente liberación de derivados del ácido araquidónico (139), productos citotóxicos de oxígeno molecular (117) y enzimas lisosomales (140), produce efectos vasoactivos locales adicionales y en la microcirculación y subsiguiente toxicidad de las células endoteliales, resultando en la formación de grietas o fisuras (138). Este mecanismo se ha demostrado de enorme significación en manifestaciones tan importantes del shock endotóxico como el edema pulmonar (107).

C.3.3.3. Funciones del fragmento Bb.- Gotze y cols (141) han demostrado recientemente que la inyección intraperitoneal de factor Bb en los cobayas produce un acúmulo in situ de macrófagos. La importancia de la actuación de este subproducto del factor B de la vía alterna puede ser significativa a la luz de los numerosos mecanismos patógenos mediados por los macrófagos, como hemos comentado anteriormente.

C.3.4. Formación de inmunocomplejos circulantes.- Algunos de los hallazgos clínicos de los pacientes con enfermedad meningocócica, tales como la vasculitis cutánea o la artritis de comienzo tardío, son semejantes a los observados en los modelos experimentales de enfermedad por inmunocomplejos circulantes (ICC), o en enfermedades clásicamente asociadas al depósito de los mismos (142). Otras manifesta-

ciones clínicas menos frecuentes como la pericarditis serosa de evolución lenta, que responde de forma espectacular a los esteroides (18), la glomerulonefritis postmeningocócica, en cuya biopsia renal se encuentran cambios de glomerulonefritis proliferativa exudativa difusa similar a la nefritis de las formas agudas de enfermedad por ICC (143), también son sugestivos de lesiones por inmunocomplejos.

Por todo ello cabe sugerir que los ICC pueden jugar algún papel en el desarrollo de las manifestaciones clínicas de la enfermedad meningocócica.

C.3.4.1. Modelos experimentales de enfermedad por ICC:

a) Reacción de Arthus. El primer modelo experimental - data de 1903 cuando Arthus (144), inyectando en días sucesivos albúmina heteróloga a conejos, observó que a partir del 6º día se producía en la zona de la inyección eritema con posterior hemorragia y necrosis cutánea. La anatomía patológica de esta lesión consiste en una vasculitis local con infiltrado celular constituido inicialmente por polimorfonucleares (145). Además se observa edema, hemorragia y oclusión de la luz vascular de capilares y vénulas. Estas lesiones, que son secundarias al depósito en la pared vascular de complejos antígeno-anticuerpo con posterior activación del sistema del complemento, constituyen la denominada reacción de Arthus activa.

Posteriormente se comprobó que transfiriendo suero de un conejo inmunizado con albúmina heteróloga a otro normal, en éste se producía el mismo fenómeno tras la inyección subcutánea del antígeno. A este fenómeno se le denominó reacción de Arthus pasiva (146).

Los elementos imprescindibles para el desarrollo del -

fenómeno de Arthus son, además de los complejos antígeno-anticuerpo, el complemento y los neutrófilos (147). Así si se depleciona al animal de complemento con veneno de cobra se siguen depositando los complejos Ag-Ac pero no hay acúmulo de neutrófilos (148). Por lo tanto el complemento es probablemente el mediador del acúmulo de neutrófilos. Por otra parte, si se depleciona al animal de neutrófilos con mostazas nitrogenadas se observa el depósito de los complejos y de complemento pero sólo puede observarse un discreto edema, mucho menos significativo que en presencia de neutrófilos y tampoco se produce lesión (149). Por lo tanto los neutrófilos son necesarios para que se desarrolle la reacción de Arthus.

b) Enfermedad del suero. En la década de 1950 los trabajos de Germuth (150) y de Dixon (151) contribuyeron al esclarecimiento de los principales mecanismos patogénicos mediante los cuales los I.C. conducen a la enfermedad del suero experimental. Si se inyecta una cantidad importante (500 mg) de seroalbúmina bovina (BSA) marcada con I^{125} al conejo, se observan los siguientes acontecimientos (Fig. 9). La concentración de antígeno, tras una caída rápida inicial para equilibrarse con el medio extravascular, va declinando gradualmente como resultado del catabolismo. Cuando la respuesta inmune a la BSA se desarrolla después del 8^o día, la concentración de antígeno cae rápidamente debido a la formación de complejos Ag-Ac resultando en un aclaramiento rápido, de naturaleza inmune, de la BSA. Al tiempo que esto último ocurre, se produce un descenso importante de los niveles de -- complemento sérico. Coincidente con el aclaramiento inmune de la BSA el conejo desarrolla glomerulonefritis, vasculitis de varios órganos y sinovitis.

En las lesiones glomerulares pueden detectarse la BSA, la IgG anti BSA y complemento (148). Al igual que en la reac

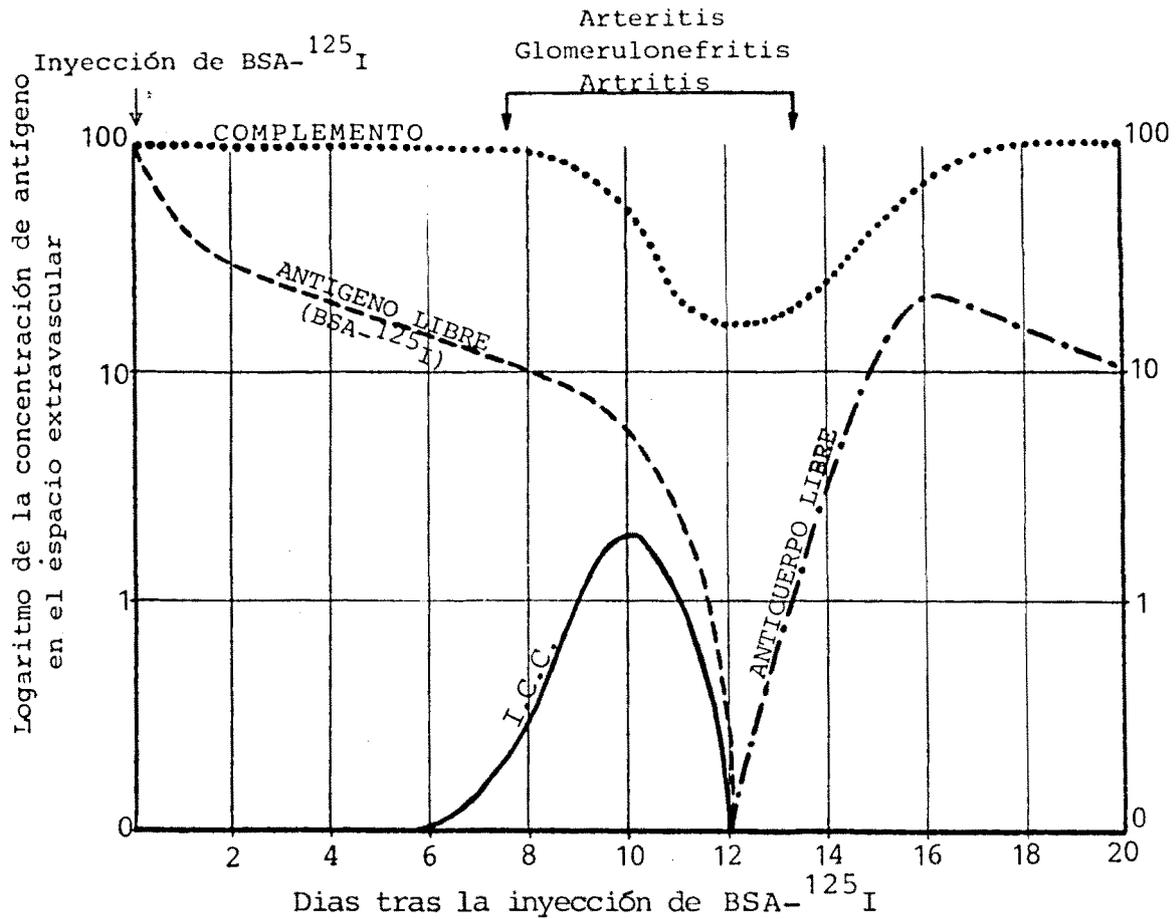


Figura 9.- Resumen de las relaciones entre las concentraciones de antígeno y anticuerpo circulantes, niveles de complemento sérico e inmunocomplejos, respecto a la aparición de una enfermedad del suero aguda, tras la administración de una dosis única elevada de albúmina sérica bovina (BSA).

ción de Arthus, la deplección de C' o de neutrófilos impide el desarrollo de las manifestaciones clínicas salvo a nivel renal donde la liberación de factores solubles por los basófilos, mediada por la IgE, produce agregación plaquetaria y descarga de aminas vasoactivas que contribuyen al desarrollo de lesiones glomerulares (152). El curso natural de la enfermedad del suero aguda es autolimitado recuperándose la función de los órganos afectados (148).

La enfermedad del suero aguda en conejos es fácilmente convertida en un modelo de enfermedad crónica inyectando pequeñas dosis repetidas del mismo antígeno (142,148,153). Si esta dosis de antígeno no se varía de un día a otro, entonces la progresión de la enfermedad variará de acuerdo con la respuesta inmune del conejo. Si éste desarrolla una respuesta inmune vigorosa no padece una enfermedad progresiva, presumiblemente debido a la formación de inmunocomplejos de gran tamaño que son rápidamente eliminados de la circulación. Los animales que producen menores concentraciones de anticuerpos, tienen ICC demostrables en circulación y desarrollan una glomerulonefritis proliferativa difusa con depósitos de ICC en las asas capilares. Algunos animales son inmunológicamente tolerantes, no desarrollan anticuerpos y por lo tanto no presentan ningún tipo de manifestaciones patológicas. De este segundo modelo experimental de enfermedad del suero se obtiene una conclusión confirmada en estudios posteriores (154,155,156), y es que los complejos de menor tamaño son precisamente los que tienen mayor poder patógeno y este requisito lo cumplen aquellos complejos que se forman en moderado exceso de antígeno. Estos inmunocomplejos de pequeño tamaño son eliminados con dificultad por el sistema mononuclear fagocítico por lo que permanecen en circulación mucho más tiempo, siendo capaces de depositarse en los tejidos y por tanto de producir lesión (157).

C.3.4.2. Mecanismo de depósito y lesión de los ICC en la pared vascular.- Se ha comprobado en el animal de experimentación, que los basófilos desempeñan -- una importante misión en el depósito de I.C.C. en la pared vascular (158). Mediante liberación de factor activador de las plaquetas (P.A.F.) contenido en sus gránulos se produce la agregación plaquetaria con liberación de aminas vasoactivas capaces de alterar la permeabilidad vascular (152,159). En el hombre no se ha detectado PAF en los basófilos (160) y por lo tanto se desconoce el mecanismo íntimo de aumento de la permeabilidad vascular, que probablemente entre en relación con la liberación de aminas vasoactivas plaquetarias o la activación del C' (161).

Una vez que los I.C. han alcanzado la membrana basal capilar se inician una serie de fenómenos determinantes en última instancia de la lesión tisular y que dependen en gran medida del complemento. Se ha comprobado que los I.C. cuyo anticuerpo es la IgM o la IgG de los subtipos 1,2 y 3 son -- capaces de activar la vía clásica del complemento (162). -- Adicionalmente complejos formados por IgA son capaces de activar la vía alterna (163).

Una vez activado el complemento se desarrollan los acontecimientos comentados anteriormente, fundamentalmente anafilaxia y atracción de polimorfonucleares. Cuando los neutrófilos se unen a los complejos inmunes a través de su receptor para el fragmento C3b se activan y fagocitan los I.C., liberándose al exterior el contenido granular de los neutrófilos. Entre las sustancias liberadas por estas células, se encuentran: Colagenasas, elastasas y proteasas de composición muy similar a la quimiotripsina. Estas sustancias tienen un importante poder lesivo sobre los tejidos del entorno (42,43).

C.3.4.3. Métodos actuales de detección de I.C.C.- En los últimos años se han desarrollado diversas técnicas de detección de inmunocomplejos. Estas técnicas están basadas en propiedades físico-químicas o propiedades biológicas de los I.C. (164,165).

Los métodos físico-químicos detectan inmunocomplejos por su carga eléctrica, tamaño o su solubilidad (165,166). De estos métodos los más empleados son la determinación de crioglobulinas (167) y la precipitación con polietilen glicol (168). La sensibilidad y especificidad de estos métodos es escasa y por lo tanto su valor en la detección de I.C.C. es sensiblemente menor que el de los métodos biológicos (164).

Los métodos biológicos se basan en la capacidad de interacción entre los inmunocomplejos y receptores celulares o humorales. Entre los primeros están las células Raji o -- las plaquetas y entre los segundos el Clq, el factor reumatoide o la conglutinina (164,165).

Recientemente la O.M.S. (169) ha valorado 18 métodos de detección de I.C.C. basados en sus propiedades biológicas. De ellos los seis métodos más sensibles, reproductibles y específicos son la unión a Clq en fase sólida, la -- unión a Clq en fase líquida, el R.I.A. con células Raji, R. I.A. con conglutinina, R.I.A con factor reumatoide monoclonal y el test de agregación plaquetaria.

La unión a Clq en fase líquida (170) se basa en la propiedad de los inmunocomplejos de unirse al primer factor de la vía clásica del complemento a través de la porción Fc de las inmunoglobulinas. Son varios los inconvenientes de este método: El primero es que los resultados dependen de la pureza del Clq y de si éste se encuentra polimerizado o está - contaminado con pequeñas cantidades de IgG. Todo ello daría

lugar a falsos positivos. El segundo es que existen sustancias que no siendo inmunocomplejos reaccionarían con el Clq como la heparina, lipoproteínas, fibrinógeno, ácido úrico y los lipopolisacáridos. Un tercer inconveniente es que el Clq es incapaz de detectar I.C.C. cuyo anticuerpo esté constituido por IgG4, IgA, IgD e IgE (164).

El Clq en fase sólida (171) aunque se basa en el mismo principio, es más sensible y se influye menos por las -- sustancias antes mencionadas. En este test el suero es incubado con Clq fijado previamente a la superficie de un tubo de poliestireno y la unión de los I.C. al Clq es detectada empleando una antiinmunoglobulina marcada con $^{125}\text{I}^*$.

Las células Raji (172,173) son linfocitos B, procedentes de un tumor de Burkitt, que han perdido sus inmunoglobulinas de superficie pero conservan los receptores fundamentalmente para los fragmentos C3b y C3d del complemento. Debido a estos receptores, las células Raji detectan inmunocomplejos que han activado el complemento. Mediante una antiinmunoglobulina marcada con $^{125}\text{I}^*$ puede detectarse la unión del I.C. a la célula Raji. Este método precisa la realización de cultivos celulares y por otra parte puede dar lugar a falsos positivos ya que no discrimina entre I.C. y anticuerpos linfocitotóxicos dirigidos contra el linfocito B -- (174).

La conglutinina es una proteína sérica bovina que tiene la propiedad de unirse al C3d. De esta forma, al igual que las células Raji, detectan I.C. capaces de activar el complemento (175)

El factor reumatoide monoclonal (176) se basa en la inhibición competitiva entre los inmunocomplejos e IgG agregada y marcada con Iodo 125 con respecto a un receptor (factor

reumatoide monoclonal). La especificidad de este método depende del grado de pureza y avidéz para la IgG del factor reumatoide monoclonal utilizado.

Las plaquetas tienen receptores para la porción Fc de la IgG. El test de agregación plaquetaria se basa en que la unión de los I.C. a las plaquetas determina su activación y secundariamente su agregación. Los inconvenientes de este método residen en que se deben de utilizar plaquetas frescas, en que solamente se detectan I.C. del tipo IgG y que puede haber falsos positivos si en el suero existen anticuerpos antiplaquetarios (177).

C.3.4.4. Los I.C.C. en la enfermedad meningocócica.-

En 1973 Greenwood y cols. (178) encuentran anticuerpos anti meningococo circulantes en tres de cuatro pacientes con enfermedad meningocócica que desarrollaron artritis o vasculitis cutánea, coincidiendo con el comienzo de estas manifestaciones clínicas y demuestran depósito de antígeno meningocócico, IgG y C3 en la membrana sinovial de dos de estos pacientes. Tres años más tarde, los mismos autores (12) demuestran una caída de los niveles de C3 en 13 de 211 pacientes con enfermedad meningocócica, alrededor del 6º día de evolución de la enfermedad y coincidiendo con la desaparición del antígeno de la circulación y el comienzo de artritis o vasculitis cutánea. Posteriormente otros autores (179,180) encuentran una caída de los niveles séricos del complemento en la fase aguda de la enfermedad en pacientes con infección meningocócica. Este descenso del complemento sugiere una activación a través de la vía clásica (179,180) y se correlaciona con la gravedad del cuadro clínico (180). Por todo ello, los autores anteriormente citados sugieren que inmunocomplejos formados tras reacción antigénica frente a los componentes estructurales de la cápsula, la pared bacteriana del meningococo, podrían a través de la activación de la

vía clásica del complemento, intervenir de forma importante en el desarrollo de las diferentes manifestaciones sistémicas de la enfermedad meningocócica.

Sin embargo los hallazgos de Fearon y cols (181) en sujetos con bacteriemia por gram-negativos no apoyan una intervención de los I.C.C. en el desarrollo del shock en estos pacientes. Sus hallazgos sugieren una activación del complemento a través de la vía alterna al haber demostrado descenso de los factores C3 al C9 así como de los niveles de properdina y factor B junto a títulos normales de C1, C4 y C2.

Han sido comunicados algunos casos aislados de pacientes con enfermedad meningocócica en cuyo suero se han detectado I.C.C. (143,182,183,184). Todos ellos desarrollaron artritis, en general de comienzo tardío, con líquido sinovial estéril. A uno de estos pacientes (143) se le realizó biopsia renal a los 10 días de comienzo de la enfermedad y coincidiendo con el debut de la artritis encontrándose lesiones histológicas de glomérulonefritis proliferativa-exudativa, sin proteinuria, hematuria, hipertensión ni retención hidrosalina en ningún momento de la evolución de la enfermedad ni posteriormente.

Sin embargo, no hemos encontrado en la literatura ningún estudio sistemático sobre la presencia de I.C.C. durante la evolución de la enfermedad utilizando los métodos de detección de los mismos recomendados por la O.M.S. El único trabajo existente, empleando precipitación con polietilenglicol, encuentra una positividad del test en 20 de 26 pacientes durante la fase aguda de la enfermedad (170). Sin embargo, dada la escasa especificidad de este método (164, 166), los resultados de este estudio deben ser interpretados con cautela.

Por tanto no hay en la actualidad datos concluyentes so

bre el posible papel patogénico y pronóstico que puedan jugar los I.C.C. en la enfermedad meningocócica, aunque se sugiere que pueden intervenir en aquellas manifestaciones, poco frecuentes, de tipo alérgico como la vasculitis o la artritis meningocócica.

En la enfermedad sistémica producida por un germen muy similar al meningococo como es el gonococo no existe una -- uniformidad de criterios acerca de la presencia de I.C.C. - en el suero de los pacientes. Walker y cols (185) utilizando células Raji y Clq en fase sólida encuentran I.C.C. en - el 76% de sus pacientes con gonorrea diseminada en comparación con el 15% de positividades entre los que tuvieron la infección limitada al tracto genital.

Posteriormente Ludivico y cols (186) mediante factor reumatoide monoclonal y detección de crioglobulinas no obtienen anomalías analíticas consistentes con una mayor incidencia de I.C.C. en la enfermedad, demostrando adicionalmente la no existencia de consumo de complemento.

Recientemente, Manicourt y cols (187), encuentran I.C.C. en 12/12 pacientes con síndrome artritis-dermatitis gonocócica mediante Clq en fase líquida, detectándolos en cambio sólo en 2/12 pacientes con infección gonocócica local. Al no encontrar ninguna positividad en la detección de I.C.C. mediante factor reumatoide monoclonal sugieren que la IgM puede ser la inmunoglobulina de estos I.C. Igualmente, estos -- mismos autores (187) encuentran I.C. en el líquido sinovial en fases tempranas de la artritis y sugieren que la presencia de I.C.C. en la cavidad articular pudiera favorecer la entrada de gérmenes a la misma.

PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS
DEL PRESENTE TRABAJO.

II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

De lo expuesto anteriormente se desprende que la enfermedad meningocócica, a pesar de la gran sensibilidad del germen a la antibioterapia habitual, se acompaña aun de una mortalidad relativamente elevada, sugiriendo que otros factores, diferentes de la propia presencia del huésped, intervienen en el desarrollo de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. En este contexto, se ha demostrado que un componente de la pared bacteriana, el lipopolisacárido o endotoxina, es capaz de poner en funcionamiento diversos sistemas mediadores de enfermedad tanto humorales como celulares, si bien se desconoce cual o cuales de ellos pueden ser los más importantes desde un punto de vista patogénico.

Uno de estos sistemas mediadores, el complemento, podría desempeñar un importante papel en el desarrollo de la enfermedad. Capaz de ser activado por la endotoxina bacteriana a través de las dos vías conocidas puede, mediante los metabolitos activos C3a y C5a fundamentalmente protagonizar fenómenos tan importantes en el desarrollo del shock endotóxico como la agregación leucocitaria o la producción de anafilaxia.

Adicionalmente se ha sugerido que algunas de las manifestaciones de la enfermedad meningocócica puedan estar mediadas por el depósito tisular de inmunocomplejos circulantes, constituidos por diversos antígenos meningocócicos y sus correspondientes anticuerpos los cuales serían capaces de activar el complemento. Estos I.C.C. se han encontrado en casos aislados de pacientes con manifestaciones de tipo inmunológico como vasculitis, artritis, pericarditis o nefritis. No existen sin embargo, estudios en series amplias de pacientes que ayuden a dilucidar la posible intervención de los I.C.C. en las manifestaciones agudas graves de la enfermedad.

medad y la variación de los mismos en las diferentes fases del proceso.

Otro apartado importante en la patogenia de la enfermedad meningocócica es el de los déficits de factores del complemento que, como se ha visto, predisponen a la enfermedad, fundamentalmente en los componentes terminales del sistema. Sin embargo, no existe referencia en la literatura sobre la frecuencia de tales déficits en pacientes con sepsis meningocócica recurrente.

Ante los hechos anteriormente expuestos, el propósito del presente trabajo ha sido estudiar de forma prospectiva una serie amplia de pacientes con enfermedad meningocócica con los siguientes OBJETIVOS:

1.- Estudiar la frecuencia de I.C.C. en la fase inicial y de convalecencia de la infección meningocócica, con objeto de determinar su posible papel patogénico en las manifestaciones iniciales y/o tardías del proceso. Para ello se ha realizado la determinación de I.C.C. en ambas fases con los dos de los métodos recomendados por el comité de expertos de la O.M.S.: el R.I.A. con células Raji y el test de unión a C1q en fase sólida.

2.- Estudiar si existe evidencia de la activación del complemento, la cual podría jugar un papel patogénico en la gravedad de las manifestaciones clínicas. Su activación podría estar inducida bien por la acción directa de la endotoxina meningocócica o alternativamente por la acción de los I.C.C. Por ello se ha realizado la determinación de la actividad hemolítica del suero (CH50) y la cuantificación de los componentes C3 y C4. En caso de activación del complemento, la relación entre los niveles de C3 y C4 permite deducir si esta activación se produce fundamentalmente a través de la vía clásica o de la vía alterna.

3.- Determinación de la frecuencia de déficits de componentes del complemento en pacientes con enfermedad meningocócica. Puesto que la ausencia de un componente del complemento interrumpe la activación secuencial de los diversos factores del sistema, es posible identificar a estos individuos mediante la determinación del CH50, ya que en este caso se observará una ausencia de actividad hemolítica del -- suero.

4.- En caso de déficits del complemento, caracterizar mediante ensayos específicos el componente deficitario.

5.- Estudio completo de los familiares de individuos con déficit del complemento con objeto de identificar otros individuos deficitarios y por tanto con alto riesgo de sepsis meningocócicas recidivantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y METODOS

A. POBLACION ESTUDIADA.

Se han estudiado 138 pacientes en la fase aguda de una enfermedad meningocócica, 63 varones y 75 hembras con edades comprendidas entre un mes y 81 años (media $12.7^{+}16.1$ años). 70 procedían del Servicio de M. Interna, en su mayor parte de la Sección de Enfermedades Infecciosas y 68 del Departamento de Pediatría, ambos del Centro Médico Nacional "Marqués de Valdecilla" de Santander.

La distribución por edades se muestra en la figura 10. Todos ellos cumplen los criterios propuestos por el "Meningococcal Disease Surveillance Group" (188):

1.- Enfermedad en una persona de cuyo LCR o sangre se logra aislar o evidenciar mediante tinción de Gram una Neisseria Meningitidis.

2.- Enfermedad con fiebre y petequias en una persona de cuyo LCR o sangre no se aísla Neisseria Meningitidis.

Estos 138 pacientes han sido divididos en 4 grupos.

GRUPO I : Meningitis: 12 pacientes presentaron un síndrome clínico meníngeo con pleocitosis del LCR, sin signos cutáneos de sepsis, y demostración mediante cultivo o tinción de Gram de Neisseria Meningitidis en sangre o LCR (12 pacientes).

GRUPO II : Meningitis con sepsis: En 74 pacientes se objetivó un cuadro meníngeo con exantema petequial típico y sin datos clínico-analíticos sugestivos de shock o C.I.D.

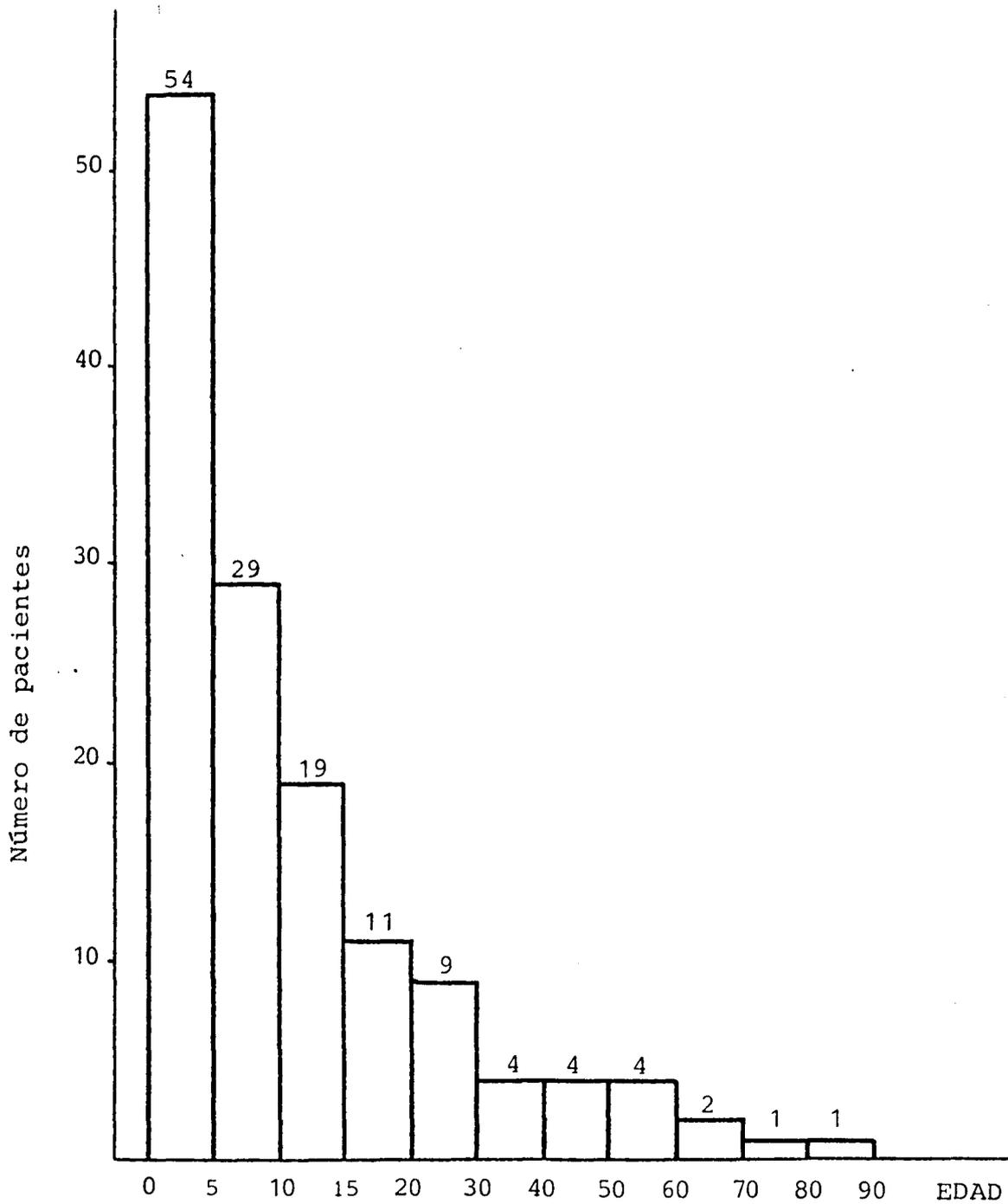


Figura 10.- Distribución de las edades de los pacientes estudiados por décadas. Las dos primeras décadas han sido divididas en dos, dado el gran número de pacientes comprendidos en ellas.

GRUPO III : Sepsis : Este grupo lo componen 20 pacientes que presentaron un síndrome febril con afectación importante del estado general y exantema petequeial típico de enfermedad meningocócica, en ausencia de datos clínico-analíticos de meningitis, shock o C.I.D.

GRUPO IV : Meningococemia severa: Definida por la presencia de sepsis junto a alteraciones clínico-analíticas sugestivas de shock o coagulación intravascular diseminada (32 pacientes). Se interpretó como sugestiva de shock la -- existencia de una cifra de bicarbonato plasmático en sangre arterial inferior a 18 mEq/l o de una presión arterial sistólica inferior a 70 mm Hg en lactantes o de 80 mm Hg en niños y adultos (189,190).

El diagnóstico de un síndrome de coagulación intravascular diseminada se basó en la demostración de hipofibrinogenemia (< 100 mg/dl) alargamiento del TTP ($> 30''$ sobre el control), alargamiento del T.trombina ($> 15''$ sobre el control), productos de degradación del fibrinógeno > 40 μ g/ml y trombopenia (< 150.000 /ml).

Muestras de suero: Se obtuvo una primera muestra de sangre venosa al ingreso en 138 pacientes y una segunda muestra, del día 5^a al 10^a de enfermedad en 79 de estos pacientes. Tras incubación durante 1/2 hora a 37^a C, o una hora a temperatura ambiente, para conseguir la retracción del coágulo, se centrifugó a 400 g durante 10 minutos y el suero se almacenó en alicuotas a -70^aC hasta el momento de su uso.

Estas muestras de suero fueron utilizadas en los siguientes test inmunológicos:

1.- Detección de los niveles de I.C.C. mediante radioinmunoensayo (RIA) con células Raji.

2.- Detección de los niveles de I.C.C. por R.I.A. con Clq en fase sólida.

3.- Determinación de la actividad hemolítica del suero (CH50).

4.- Cuantificación de las fracciones C3 y C4 del complemento por Nefelometría, o por inmunodifusión radial.

5.- Determinación de un déficit aislado de algún componente del complemento.

6.- Detección de heterocigotos para déficits de factores del complemento mediante cuantificación por actividad hemolítica de componentes aislados del complemento.

B. RADIOINMUNOENSAYO CON CELULAS RAJI

Según la técnica de Theofilopoulos (172) excepto la sustitución anti-IgG marcada con Iodo 125 por proteína A de estafilococo-I125.

B.1. Material:

* Suero de los pacientes y controles sanos, obtenido y almacenado según se indicó anteriormente y descongelado a 37° C durante 30 minutos con objeto de redissolver posibles I.C.C. en forma de crioglobulinas.

* Pool de suero humano normal, utilizado como fuente de complemento, procedente del personal del laboratorio.

* Células Raji: Linfocitos B procedentes de un linfoma de Burkitt. (Flow Laboratories U.K.).

* IgG humana (Fracción II de Cohn): Gamma globulin Kabi (A.B. Kabi - Stockholm).

* Proteína A de estafilococo aureus liofilizada, cepa I de Cowan (Sigma Chem. Comp. - St. Louis).

* Suero de ternera fetal (FCS) estéril (Flow Lab. UK)

* Albúmina sérica humana (BSA) fracción V en polvo - (Sigma)

* L-Glutamina 200 mM (Flow Lab.)

* Medium RPMI-1640 estéril con 2 gr/l de bicarbonato (Flow Lab.)

* Agar Noble (Difco Laboratories. Detroit USA).

* Iodo 125 (I^{125}) (Radiochemical Centre. Amersham, England).

* Celulosa DEAE-52 (Whatman Biochemical Ltd. Springfield Mill-Kent).

* Sephadex G-25 (Pharmacia Fine Chemical. Uppsala. Sweden).

* Azul tripan (Difco Lab. West Molesey. Surrey U.K.)

* Gevramycin (Schering Corp. USA).

* Dimetil sulfóxido (DMSO) (Sigman Chem.).

* Metabisulfito sódico (Mallinckrodt Chem. Works, St. Louis).

* Cloramina T (Riedel de Haenag. Seelze. Hannover).

* Acido tricloroacético (E. Merck, Darmstadt. Germany).

* Buffers: - fosfato sódico pH 7.3 0.01 M
- fosfato buffer salino (PBS) pH 7.3 0.001 M

Aparatos:

* Centrífuga refrigerada. Sorvall RC-2B

* Centrífuga refrigerada. Beckman mod. J. 21B

* Nefelometro. Beckman Immuno Chemistry Analyzer Mod 6624.

* Congelador. Forma Bio-Freezer. Forma scientific. Morietta, Ohio.

* Nevera a 4°C Frost. Trol

* Espectrofotómetro Beckman Mod 24.

* pH metro Zeromatic SS-3. Beckman

* Balanza de precisión. Sartorius

* Agitador magnético. Selecta Agimatic

* Agitador de tubos Vortex. Ciclomixer. Clay-Adams USA.

* Contador Gamma. Beckman. Gamma 4.000 U.S.A.

* Etufa de cultivo celular con atmósfera saturada de humedad y 5% de CO₂. Heraeus tipo B-50.

* Baño de agua. Selecta-P.

Material de laboratorio

* Membrana de diálisis. Scientific Instrument Centre Ltd. London.

* Columna de cromatografía de 39 x 2 cm

* Microscopio óptico. Nikon. Japan

* Cámara de Newbauer. Brand. Germany.

* Micropipetas manuales. Nichiryo. Japan.

* Pipetas graduadas. Brand.

* Tubos de - Poliestireno PS-3 de 2,5 cm³
- Polipropileno de 50 cm³

* Frascos de Roux de cultivo celular, de 25,75 y 300 cm² de área de crecimiento celular. Falcon. California. U.S.A.

B.2. Método: Distinguiremos 4 partes:

1.- Cultivo y almacenaje de las células Raji

2.- Preparación de la proteína A de estafilococo marca da con I125.

3.- Preparación de la IgG humana nativa y confección de la curva standard de IgG agregada.

4.- Realización del test propiamente dicho.

B.2.1. Técnica de cultivo de células Raji: Para la de terminación de I.C.C. por esta técnica, se precisa una línea estable de cultivo de las células Raji.

Partiendo de la suspensión celular inicial (Lab. Flow) se comprueba, en primer lugar, viabilidad y concentración celular con Azul Tripan al 1% en PBS. Se ajusta a una densidad óptima para cultivo de 5×10^5 cel/ml. El medio empleado es RPMI-1640 con 10% de FCS inactivado en baño a $56^\circ\text{C}/30$ min y con 1% de L-glutamina 200 Mm. Tras la adición del FCS al medio, este puede utilizarse durante 15 días. La glutamina se añade cada 3 días. Siempre que se pone en contacto con las células, el medio se calienta previamente a 37°C .

Una vez las células en cultivo en estufa a 37°C , 5% de CO_2 y atmósfera húmeda se realizan controles de viabilidad y densidad celular cada 72-96 horas que es el período óptimo de replicación. A la vez que se realiza el control, las células se cambian de frasco de cultivo ajustando, con medio nuevo, a la concentración idónea de 5×10^6 cel/ml. Ello tiene por objeto el evitar el efecto nocivo de los detritus liberados en el crecimiento celular que se adhieren y acumulan en la superficie del frasco de cultivo.

Tras 3-4 semanas en cultivo las células van perdiendo progresivamente viabilidad. Por ello es necesario mantener un stock de células Raji frescas congeladas.

Congelación de células Raji

Se cuenta el número de células para determinar el nú-

mero total disponible para congelación. La densidad óptima para ello es de 15×10^6 cel/ml. Usando técnicas estériles se transfieren las células desde los frascos de cultivo a tubos estériles de 50 ml, centrifugando a 250 g durante 5 minutos a 4°C, se desecha el sobrenadante y se rellena sucesivamente el mismo tubo, hasta que las células formen un botón celular en el fondo del tubo. Se añaden 2 ó 3 ml de medio RPMI frío, resuspendiendo las células suavemente mediante agitación breve. Una vez que las células están en suspensión uniforme se añade medio frío, exactamente hasta la mitad del volumen requerido para tener las células a una concentración final de 15×10^6 cel/ml. A continuación se añade un volumen igual de 20% de DMSO en medio frío y se distribuye en alícuotas de 1 ml en criotubos estériles de propileno, congelándose inmediatamente a -80°C. Esto último debe hacerse muy rápidamente ya que el DMSO, que evita la formación de cristales intracelulares en la congelación, es muy tóxico a temperatura ambiente.

Descongelación de las células Raji

Los tubos se descongelan rápidamente en baño a 37°C. Tan pronto como se vea desaparecer el último cristal de hielo, se aspira el contenido con una jeringa estéril de 1 ml. sin aguja y se vierte en 30-35 ml de medio RPMI a temperatura ambiente, con objeto de diluir el DMSO. Se centrifuga a temperatura ambiente durante 5 minutos, decantando el sobrenadante y las células se resuspenden en un volumen de 2 ó 3 ml de medio, completándose posteriormente hasta un volumen total de 20 ml y colocándose en frascos de cultivo en las condiciones previamente descritas.

B.2.2. Preparación de la proteína A de estafilococo-

125
I: La proteína A de estafilococo tiene la propiedad de unirse a las inmunoglobulinas de varios mamíferos rápida y avidamente. Utilizando inmunoglobulinas mono-

pecíficas de mieloma se ha comprobado que la proteína A de estafilococo es capaz de unirse a los subtipos IgG1, IgG2, e IgG4 así como a la IgM siendo la unión más fuerte con la IgG2 (191).

Para poner de manifiesto la unión entre los inmunocomplejos y los receptores biológicos, ya sean las células Raji o el primer componente del complemento C1q, se han utilizado antiinmunoglobulinas humanas totales marcadas con ^{125}I . Nosotros, al igual que otros autores y debido a las propiedades de la proteína A de estafilococo y mayor sencillez de empleo, hemos sustituido las antiinmunoglobulinas por proteína A de estafilococo marcada con ^{125}I .

Técnica de marcaje de la proteína A con ^{125}I

60 μgr de proteína A de estafilococo, diluida en PBS 0.01 M pH 7.4, se ponen en contacto con 0.5 microcuries de ^{125}I . A esto se añade 18 μgr de cloramina T agitándose a 4°C con agitador magnético recubierto de teflon. Exactamente a los 15 minutos se añaden 18 μgr de metadisulfito sódico y se deja agitar 1 minuto más, tras el cual se añade 1 ml de PBS-1% BSA, pH 7,3.

Para separar el ^{125}I unido a la proteína A del ^{125}I libre se realiza cromatografía en Sephadex G-25 con PBS-1% BSA, 0.01 M. Se recogen en fracciones de 0.5 ml y se cuentan 10 μl de cada fracción en un contador gamma, haciéndose un pool con las fracciones de máxima radioactividad. Este pool se dializa contra 4 litros de PBS 0.001 M pH 7.4 durante 24 horas a 4°C .

La cantidad de ^{125}I unido a la proteína A se determina tras la diálisis mediante precipitación en 2 alícuotas de 10 μl con ácido tricloroacético al 10%. En todos los casos el porcentaje de ^{125}I libre fue inferior al 10%.

La proteína A se diluye en PBS-1% BSA 0.01 M pH 7.3 a una concentración óptima para el ensayo de 1 μ gr/ml y se guarda en congelador a -70°C .

B.2.3. Preparación de IgG nativa y curva estándar de IgG humana agregada (IgG-HA): Se utiliza IgG humana purificada por cromatografía en celulosa DEAE y ultracentrifugación preparativa para eliminar pequeños -- agregados de IgG. Esta IgG nativa se conserva en alícuotas en congelador a -70°C hasta el momento de su uso.

Cromatografía en celulosa DEAE-32

Se emplea una columna de 100 cc de volumen (39x2 cm). En esta columna se pueden aplicar hasta 4 gr de fracción II de Cohn. Se disuelve 1 gr de fracción de Cohn en 20 ml de - fosfato Buffer 0.01 M pH 7.3. Antes de aplicarla a la columna se centrifuga a 700 g durante 20 min, se desecha el precipitado y el sobrenadante se aplica a la columna, eluyéndose con tampón fosfato 0.01 M pH 7.3, recogándose en colector de fracciones en alícuotas de 10-12 ml por tubo. La densidad óptica de cada fracción es determinada mediante lectura en espectrofotómetro a 280 nm con luz U.V. El pico obtenido es exclusivamente IgG, comprobándose mediante inmunodifusión en Agar al 1% con antisueros específicos anti IgG, IgA e IgM.

Con los tubos conteniendo IgG se hace un pool que se dializa contra 2 litros de PBS 0.001 M pH 7.3 durante 12 horas a 4°C , con un cambio de buffer. Con objeto de eliminar pequeños agregados de IgG y obtener IgG nativa, se centrifuga a 150.000 g durante 4 horas.

Cálculo de la concentración de IgG nativa obtenida

Tras la centrifugación se recoge con pipeta Pasteur la mitad superior del tubo, desechando el resto. Lo obteni-

do contiene IgG nativa. Para determinar la concentración de proteína se diluye en ácido acético 0.25 M y se lee en espectrofotómetro a 277 nm. La cantidad de proteína se calcula según la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{O.D. (277)} \times \text{Factor de dilución} \times 6,25}{0.009} = x \mu\text{gr/ml}$$

Con objeto de comprobar la exactitud de la cuantificación se realiza una medición adicional por nefelometría. Una vez que la concentración de proteína ha sido determinada se ajusta a 20 mgr/ml en PBS y para su uso posterior se congela en alícuotas de 0.5 ml a -70°C .

Preparación de la curva estandar de IgG agregada

Tras descongelar la IgG humana nativa, se calienta - en baño de agua durante 30 minutos a 63°C . Posteriormente - se preparan 8 diluciones seriadas en tubos numerados conteniendo: 1000, 800, 600, 400, 200, 100, 50 y 20 $\mu\text{gr/ml}$ de Ig GHA. De estas diluciones se utilizan 100 μl de cada tubo y se mezclan con una cantidad igual de suero humano normal, - previamente diluido a 1/2. Estos tubos se incuban a 37°C durante 45 minutos y posteriormente se añaden 5 μl de suero humano normal.

Para la curva estandar se utilizan 25 μl de cada una de estas diluciones.

B.2.4. Realización del test: Una suspensión de 2×10^6 células Raji en 50 λ de RPMI-1640 se añade a 25 μl de las diferentes diluciones de la curva estandar o de los sueros -- problema previamente diluidos a 1/4 en Cl Na 0.15 M ph 7.0. Se añaden 10 μl de suero humano normal como fuente de complemento, a cada tubo y se incuban con agitación continua en baño de agua durante 45 minutos a 37°C . A continuación se lavan tres veces en PBS - 2% BSA 0,001 M pH 7.3, a 4°C añaden

diéndose 2 ml por tubo y centrifugando a 4°C durante 5 minutos a 700 g. Se aspira el sobrenadante y tras cada lavado se resuspenden las células mediante agitación cuidadosa con Vortex. Tras estos lavados se añaden 100 μ l de RPMI-2% de BSA frío y 20 μ l de 125 I-proteína A a concentración óptima de 1 μ gr/ml, incubándose a 37°C con agitación continua durante 30 minutos. Después de tres nuevos lavados con PBS-2% BSA se mide la radioactividad del botón celular en un contador gamma.

La cantidad de I.C.C. presente en los sueros problema se determina con referencia a la curva estandar de IgGH agregada mediante test de regresión polinómica (fig. 11). Todos los sueros son testados por triplicado empleando sueros controles en la realización de cada test.

C. DETERMINACION DE I.C.C. MEDIANTE R.I.A. CON Clq EN FASE SOLIDA (171)

Este método se basa en la capacidad de ciertos inmunocomplejos para reaccionar con el componente Clq del complemento. Sin embargo, existen otras sustancias capaces de reaccionar con el Clq como son las lipoproteínas, la heparina, el DNA, el fibrinógeno. Por ello este test debe interpretarse con cautela. Una variante de este método, el Clq en fase sólida, aunque basado en el mismo principio, es mucho más sensible y menos influenciado por la unión del Clq a las sustancias antes mencionadas.

En este método el suero a estudiar es incubado con Clq adsorbido a la pared de tubos de poliestireno y la unión de los posibles inmunocomplejos al Clq es puesta de manifiesto utilizando una antiinmunoglobulina marcada con I^{125} . Nosotros hemos sustituido ésta por proteína A de estafilococo marcada con I^{125} .

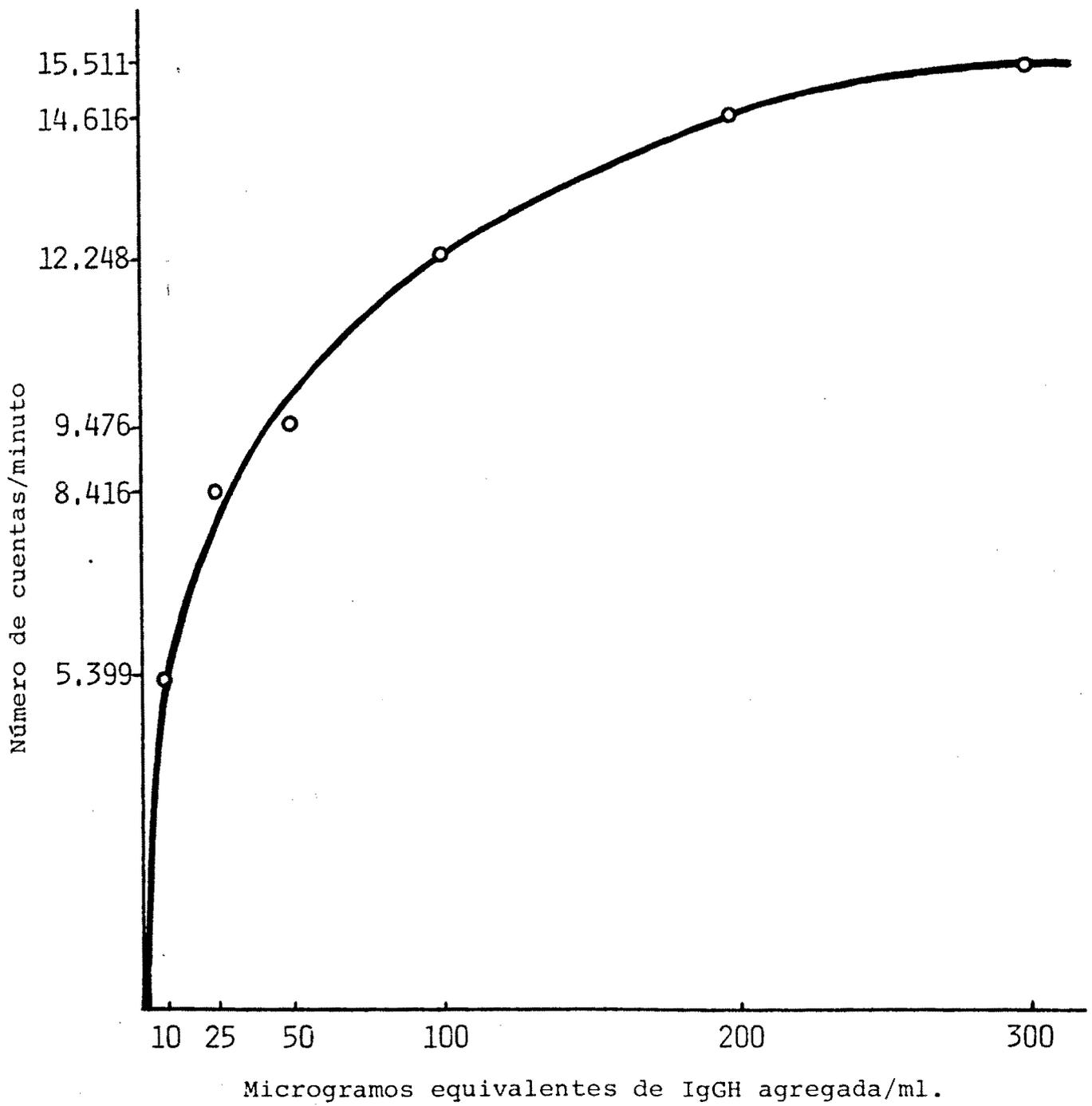


Figura 11.- Ejemplo de curva estandar de IgGH agregada
R= 0,99.

Otra dificultad técnica del método radica en la extrema pureza química que debe tener el Clq a emplear. Pequeñas contaminaciones del Clq con IgG o un Clq polimerizado - dan lugar a falsos positivos. Por ello nosotros hemos utilizado el método de purificación de Clq humano de Zubler y Lambert (170). Este método se basa en la precipitación de Clq a partir de suero fresco humano total con tampones de diferente fuerza iónica.

C.1. Material:

- Suero de los pacientes y controles sanos, obtenido y almacenado según se indicó anteriormente.
- Pool de suero humano normal procedente del personal del laboratorio.
- Sangre humana fresca de un sólo donante para la obtención del Clq puro. Se precisan unos 150-200 ml.
- IgG humana (Fracción II de Cohn): (A.B. Kabi. Stockholm).
- Proteína A de estafilococo. (Sigma. St. Louis)
- Antisueros anti IgG, IgM, IgA y suero total humano. (Behring Institut)
- Antisuero anti Clq humano de conejo (Behring)
- Bovine seroalbumin (BSA) Fracción V en polvo (Sigma)
- Agar Noble (Difco Laboratories Detroit, USA).
- Iodo 125 (I^{125}) (Radiochemical Centre. Amersham. England).
- Celulosa DEAE (Watman Biochem. Springfield)
- Sephadex G-25 (Pharmacie Chem. Uppsala)
- EDTA- Na_2 (Sigma Chem. St. Louis)
- Metabisulfito sódico (Mallinckrodt Chem. St. Louis)

- Cloramina T (Riedel de Haenag, Seelze. Hannover)
- Acido Tricloroacético (E. Merck. Darmstadt, Germany).
- Buffers.- Fosfato buffer salino (PBS) pH 7.3 0.001 M
 - Na₂ EDTA 0,2 M pH 7.5.

Aparatos

- Centrífuga refrigerada. Sorvall RC 2B con SS-34 y SM-24 rotors.
- Centrífuga refrigerada Beckman mod J-21 B
- Nefelometro. Beckman Immunochemistry Analyzer mod. 6624.
- Congelador Forma Bio-Freezer. Morietta Ohio
- Nevera a 4°C Frost-Trol
- Espectrofotómetro Beckman mod 24
- Peachimetro Zeromatic SS-3 Beckman
- Balanza de precisión Sartorius
- Agitador de tubos Vortex. Ciclomixer Clag-Adams USA
- Agitador magnético Selecta Agimatic
- Contador gamma Beckman Gamma 4000. USA
- Baño de agua

Material de laboratorio

- Membrana de diálisis. Scientific Instrument Centre Ltd. London
- Columna de cromatografía de 39 x 2 cm
- Micropipetas manuales Nichiryo. Japan
- Pipetas graduadas Brand

- Tubos de centrifuga de 50 ml de policarbonato y polipropileno (Sovall Inc Norwalk, Conn)
- Tubos de poliestileno PS-3 de 5 cm³
- Varilla de vidrio
- Tubos de vidrio de 50 ml. Duran-50. Jena Glas-Schott

C.2. Método: La técnica se realiza en tres etapas:

- 1.- Aislamiento y purificación de Clq humano
- 2.- Fijación del Clq a los tubos de poliestileno
- 3.- Realización del test propiamente dicho.

C.2.1. Aislamiento y purificación del Clq:

Preparación del suero: La extracción de sangre fresca (entre 150 y 200 ml) es seguida de coagulación en tubos de vidrio de 40 ml al menos una hora a temperatura ambiente. Después de otra hora a 4°C, el suero es obtenido por centrifugación a 1.500 g durante 15 minutos a 4°C. Este suero se recentrifuga a 30.000 G durante 30 minutos a 4°C. Una capa lipídica queda en la parte alta del tubo, que se elimina por aspiración con pipeta Pasteur. El resto del sobrenadante es usado para la purificación del Clq bien inmediatamente o después de almacenar el suero a -70°C.

Composición de las soluciones tampón precisas para el aislamiento:

Solución A	500 ml de EDTA 0.1 M pH 7.5
Solución B	950 ml H ₂ O destilada + 50 ml de solución A.
Solución C	700 ml H ₂ O destilada + 200 ml de solución A.
Solución D	100 ml de 0.75 M ClNa, 0.01 M EDTA pH 5.0

- Solución E 2 litros de 0.1 M EDTA a pH 5.0. Una vez ajustado el pH completar hasta 3 litros con H₂O.
- Solución F 100 ml de 0.3 M ClNa, 0.01 M EDTA a pH 7.5.

Técnica de aislamiento del Clq:

a) 40 ml de suero se mezclan con 10 ml de solución A y se incuban a 37°C durante 10 minutos. Inmediatamente después la mezcla se sitúa en baño de hielo y se ajusta a pH 7.5.

A partir de este momento todas las manipulaciones se hacen en baño de hielo, con soluciones a 4°C.

b) Lentamente y mientras se agita suavemente con varilla de vidrio se añaden 200 ml de Sol. B a la mezcla suero-EDTA. La mezcla final se deja en baño de hielo durante una hora. Se debe agitar suavemente con varilla de vidrio durante 1 minuto cada 20 minutos.

c) Esta mezcla se centrifuga en tubos translúcidos de policarbonato a 12.000 g/30 min/4°C. Se desecha el sobrenadante y el precipitado visible se resuspende suavemente de la pared del tubo con varilla de vidrio roma en solución C.

Se centrifuga nuevamente a 12.000 g/30 min/4°C y se repite dos veces más la resuspensión del precipitado con varilla de vidrio en solución C con posterior centrifugación. En estas manipulaciones se van reagrupando las soluciones hasta reducir las a un solo tubo.

d) El último precipitado se resuspende de la misma forma en 12 ml de solución D y se deja de 16 a 18 horas en nevera a 4°C.

e) A continuación se centrifuga a 30.000 g/30 min/4°C, y se utiliza el sobrenadante dializándolo durante 4 horas a 4°C contra 1 litro de solución E con agitador magnético. La solución E se cambia a mitad de la diálisis.

f) La solución dializada se centrifuga a 12.000 g/30 min/4°C y se desecha el sobrenadante. El precipitado por -- dos veces se resuspende con varilla de vidrio en solución E y se centrifuga a 12.000 g/30 min/4°C.

g) El precipitado de la segunda centrifugación se resuspende con varilla en 2 ml de solución F y se incuba a 4° C durante dos horas. A continuación se centrifuga a 30.000 g/30 min/4°C. En el sobrenadante se encuentra el Clq aislado.

Control de producción y pureza:

Se comprueba la densidad óptica con espectrofotóme - tro de luz ultravioleta a 280 nm. Para el cálculo se parte de que 1 gr/100 ml ofrece una D.O. de 6.820.

$$\frac{10 \times \text{D.O. leída}}{6.820} = x \text{ mg/ml obtenidos}$$

De 40 ml de suero humano se suelen obtener de 1 a 2 mg de Clq.

La pureza se comprueba mediante inmunodifusión en -- gel de agarosa al 2.4% contra anti Clq, anti IgG y antisue - ro humano total (fig. 12). El Clq se almacena a -70°C hasta el momento de su utilización, antes de 1 mes de su aislamiento.

C.2.2. Fijación del Clq a los tubos de poliestireno:

El punto de partida es la preparación de una solución del - Clq puro en PBS 0.001 M, pH 7.3 a una concentración de 5 µgr/ ml. En tubos de poliestireno de 5 ml se deposita 1 ml de es-

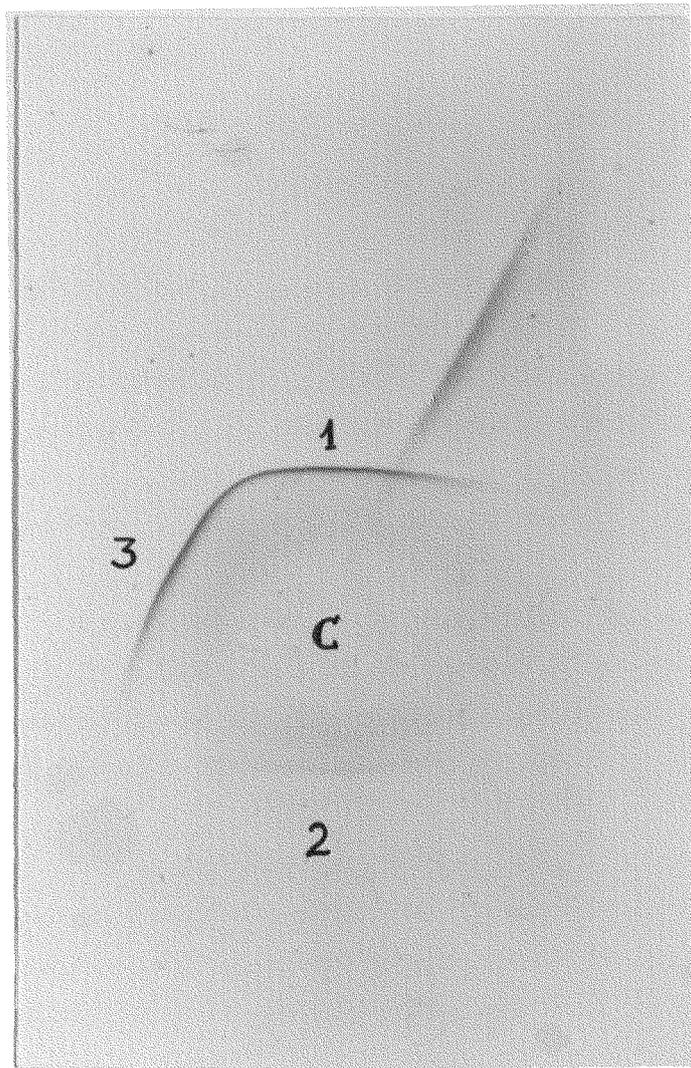


Figura 12.- Placa de inmunodifusión para comprobación de la pureza del C1q obtenido.

C: preparación de C1q obtenida.

1: anti-C1q

2: anti-IgG

3: anti-suero humano total

ta solución y se deja durante 14 a 18 horas a 4°C. A continuación se decanta y se lava x 3 cada tubo con PBS frío, -- centrifugándose a 400 g/10 min/4°C. Posteriormente se añaden a cada tubo 1.5 ml de PBS-1% BSA, se incuban dos horas a temperatura ambiente y se lava de nuevo x 3 en PBS frío.

Los tubos se guardan en congelador a -70°C hasta el momento de su uso. El Clq mantiene su actividad a -70°C durante 1 mes como máximo.

C.2.3. Realización del test: Se dispondrá de proteína de estafilococo marcada con ^{125}I y de IgG humana nativa - obtenida siguiendo idéntico procedimiento al señalado en la anterior técnica (R.I.A. con cel. Raji).

El primer paso es la preparación de una curva standard de IgGH agregada.

La agregación de la IgG se realiza de nuevo cada día incubando la IgG nativa a una concentración de 6 mg/ml durante 30 min. a 63°C. Tras su agregación se centrifuga a -- 1.500 g/30 min/4°C para eliminar agregados de gran tamaño.

Para preparar las diferentes diluciones se parte de -- una solución de IgGHA de 1 mg/ml. Para ello se diluyen 100 μl de IgGHA en 330 μl de un pool de sueros humanos normales -- (SHN). A partir de esto se realizan diluciones sucesivas -- en SHN conteniendo 500, 300, 200, 100, 50, 25 y 10 $\mu\text{gr/ml}$.

Posteriormente se mezclan 100 μl de las anteriores -- soluciones con 200 μl de Na_2 EDTA 0,2 pH 7.5. Asimismo, se preparan sendos tubos con 100 μl del control positivo y el negativo y 200 μl de Na_2 EDTA. El control positivo se diluye previamente a 1/2 en SHN. Los sueros de los pacientes se usan sin diluir e igualmente 100 μl de los mismos se mezclan con 200 μl de Na_2 EDTA.

Todos los tubos, curva estandar, controles y problemas, se agitan en agitador vortex y se incuban a 37°C durante 30 minutos. A partir de este momento se utilizan tubos - con Clq fijados a su pared, guardados en congelador.

En cada uno se depositan 60 μ l de la anterior incubación y 940 μ l de PBS. Los tubos deberán estar previamente - rotulados y se hará por triplicado para cada una de las -- muestras. Agitar e incubar una hora a 37°C, tras la cual se dejan en nevera a 4°C de 14 a 18 horas.

A continuación se decanta y se lava x 3 con PBS en - centrífuga refrigerada a 400 g/10 min/4°C. Tras el último lavado se añaden 20 μ l de proteína A de estafilococo- I¹²⁵ y 1 ml de PBS suplementado con 1% de BSA. La proteína A estará diluida al 1/25 en PBS con 1% de BSA.

Incubar 60 minutos a 37°C y a continuación lavar 3 - veces con PBS centrifugando a 400 g/10 min/4°C.

Decantar y contar la radiactividad de los tubos en - contador gamma. Los resultados se refieren a la curva estandar de IgG agregada mediante test de regresión polinómica y se expresan en μ gr equivalentes de IgG-HA/ml de suero.

D. ACTIVIDAD HEMOLITICA SERICA MEDIADA POR EL COMPLEMENTO (CH-50) Según técnica de Mayer (192).

El CH-50 expresa en unidades hemolíticas la capacidad de los factores del complemento contenidos en el suero, de hemolizar hematies de carnero previamente sensibilizados - con concentraciones subaglutinantes de anticuerpos de conejo anti-hematies de carnero.

Mediante esta técnica se puede poner de manifiesto - un consumo importante de factores del complemento, que se -

refleja en un descenso del valor del CH-50, o bien la ausencia congénita o adquirida de algún factor aislado, que ofrece una ausencia de la actividad hemolítica del suero.

D.1. Material:

- Suero del paciente y controles sanos.- Obtenido según se ha descrito previamente y almacenado a -70°C . Para evitar el consumo de factores y la obtención posterior de valores falsamente descendidos, es importante que el suero se almacene antes de 2 horas desde la extracción de la sangre del paciente.

- Hematíes de carnero.- Se obtiene sangre de carnero mediante punción de la vena yugular y se diluye al 50% en solución Alsever estéril suplementada con 100.000 de Penicilina-G sódica y 100 mg de Estreptomina-sulfato por cada 100 cc de mezcla. Esto se guarda en nevera a 4°C hasta el momento de su uso, siempre una semana después de su obtención y antes de los 2 meses.

- Amboceptor.- Anticuerpos IgM de conejo anti hematíes de carnero (Microbiological Associates. Walkersville, Maryland).

- Gelatina: Bacto-Gelatin. Difco Lab. Detroit.

- EDTA, sal tetrasódica, Sigma, St. Louis.

- Dextrano P.M. 264.000. Sigma St. Louis

- Penicilina. G. Sódica. Penilevel. Lab. Level S.A. Barcelona.

- Estreptomina sulfato.

- Reactivos para los buffers: Barbital sódico, ácido barbitúrico, citrato sódico, ácido cítrico monohidrato, ClNa , Cl_2Ca , Cl_2Mg y NaOH . Todos suministrados por Merck (Darmstadt)

Buffers y soluciones:

- Alsever: Para 1 litro de agua destilada: 20.5 gr. Dextrano, 8 gr citrato sódico, 4.2 gr ClNa y 0.44 gr ácido cítrico monohidrato. Ajustar a pH 6.1 con ácido cítrico al 5%.

- Veronal: Para 5 litros: 212.5 gr ClNa, 9.375 Barbi tal sódico, y 14.37 ácido barbitúrico ajustado a pH 7.4-7.6.

- Gelatina veronal buffer con EDTA (EDTA-GUB=): Preparar GVB= (200 ml veronal + 50 ml de gelatina al 2% y completar hasta 1 litro con agua destilada), y EDTA (44.6 gr EDTA en 500 ml de agua destilada, ajustar a pH 7.4 con NaOH 0.3M y completar hasta 1 litro). Mezclar 115 ml de EDTA con 885 ml de GVB=.

- Gelatina veronal buffer con Ca^{++} y Mg^{++} (GVB⁺⁺): 200 ml de veronal, 50 ml gelatina al 2%, 5 ml Cl_2Ca , 5 ml Cl_2Mg y completar hasta 1 litro con agua destilada. El pH debe ser 7.4-7.6

Aparatos:

- congelador forma BIO-Freezer. Morietta. Ohio.
- Nevera a 4°C Frost-Trol.
- Espectrofotómetro de luz ultravioleta. Beckman Mod 24.
- pHmetro Zeromatic SS-3 Beckman.
- Centrífuga refrigerada Beckman mod J-21 B.
- Baño con agitación continua Unitronic 320. Selecta

Material de laboratorio:

- Pipetas volumétricas de 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 y 10 ml. Ionodur. Brand. W. Germanay.
- Tubos de cristal de 10 ml para centrífuga y 50 ml. Duran-50. Jena Glas. Schott. Mainz.

D.2. Método: Durante la realización del test tanto - los tubos como los reactivos deben estar en baño de hielo, las centrifugaciones se harán a 4°C y se utilizarán sólo pipetas volumétricas.

En primer lugar se lavan los hematíes de carnero una vez en EDTA-GVB= y 3 veces en GVB⁺⁺. Tras los lavados se prepara una suspensión de los hematíes en GVB⁺⁺ a una concentración del 5% aproximadamente, de tal forma que tras hemólisis completa en H₂O ofrezca una densidad óptica de 0.700, leído a 541 nm de longitud de onda. Para ello 1 ml de hematíes empacados se mezclan con 18 ml de GVB⁺⁺. 1 ml de esta suspensión se añade a 14 ml de agua destilada y se lee la hemólisis. El volumen de GVB⁺⁺ que deberá añadirse a la suspensión inicial viene determinado por la siguiente ecuación:

$$\text{Vol. GVB}^{++} = \frac{\text{D.O. obtenido}}{0.700} \times \text{Vol. inicial} - \text{Vol. inicial}$$

Una vez ajustados los hematíes se mezclan con un volumen igual de una dilución al 1:1.500 del amboceptor en -- GVB⁺⁺. Se obtienen así hematíes sensibilizados (E-A).

En tubos de 50 ml se preparan 4 diluciones de cada - suero problema y del suero control, previamente diluidos al 1:101, siguiendo el siguiente esquema:

Tubo a	:	2.5 ml de suero diluido	+	4 ml de GVB ⁺⁺
tubo b	:	3 " " "	+	3.5 " "
tubo c	:	3.5 " " "	+	3 " "
tubo d	:	4 " " "	+	2.5 " "

Asimismo, se prepara el control negativo, conteniendo 6.5 ml de GVB⁺⁺ y el control del 100% de hemólisis con - 6.5 ml de H₂O.

A todos ellos se añade 1 ml de la suspensión de hematies sensibilizados (E.A) y se incuba a 37°C durante 60 minutos con agitación continua. Tras la incubación se vierte el contenido de cada tubo en tubos de centrifuga, previamente marcados y se centrifuga durante 15' a 500 g y 4°C de temperatura. La densidad óptica del sobrenadante se lee en el espectrofotómetro a 541 nm usando GVB⁺⁺ como blanco.

Cálculo del CH-50

A partir de la D.O. se calcula para cada tubo el valor de "y" según la fórmula

$$y = \frac{\text{D.O. del tubo}}{\text{D.O. del 100\% de hemólisis}}$$

El 100% de hemólisis se considera la media de las dos lecturas de los tubos en que se hizo la hemólisis con agua destilada (hemólisis total). El tanto por ciento de hemólisis será "y" x 100 y para que la determinación sea válida este porcentaje debe de estar, al menos en dos tubos, entre el 20% y el 80%. Si no se cumple este requisito se deberá repetir el test.

A partir de "y" se halla el valor $\frac{y}{1-y}$.

En papel semilogarítmico se representan en ordenadas los valores y/1-y y en abscisas el volumen de suero diluido puesto en cada tubo. Se unen con una línea recta los puntos representados y el punto en el que la línea corta el valor 1.000 de y/1-y (50% de hemólisis) corresponde en ordenadas al CH-50 de esa dilución del suero utilizada en el test. -- 101 que es la dilución usada en principio se divide por el valor obtenido y nos da las unidades hemolíticas por ml.

Los valores normales en 20 individuos normales fueron 36[±]4.7 UH/ml. Valores inferiores a 27 (media ± 2 SD) se consideran patológicos.

E. DETERMINACION DE C3 Y C4 POR NEFELOMETRIA

La nefelometría se basa en la dispersión lumínica a través de una suspensión de células o agregados moleculares (193). Así la formación de complejos antígeno-anticuerpo produce un aumento de dicha dispersión, a través del medio líquido en que se produce la reacción, proporcional al número de agregados moleculares formados. A una concentración fija del anticuerpo, la rapidez y magnitud de esta reacción variará con respecto a la cantidad de antígeno presente en el medio. Determinando la velocidad de cambio de la señal nefelométrica producida durante la formación de los complejos, proceso registrado en el microprocesador del nefelómetro, se puede llegar a conocer la concentración de la proteína investigada en la muestra, en este caso las fracciones C3 y C4 del complemento sérico.

El nefelómetro utilizado en este ensayo ha sido el "Immunochemistry Analyzer Mod 6624" de Beckman con el método y reactivos propios de este aparato.

F. DETERMINACION DE C3 Y C4 POR INMUNODIFUSION RADIAL.

Se ha realizado según el método clásico descrito por Mancini y cols en 1965 (194), basado en la formación de un halo de inmunoprecipitado, tras un período de incubación, alrededor de un pocillo excavado en el gel de agarosa conteniendo un antisuero específico contra la proteína que interesa valorar y que es colocada previamente en dicho pocillo. El diámetro del área de inmunoprecipitado es proporcional a la concentración de la proteína y su cuantificación se realiza con referencia a una curva confeccionada con soluciones standard de dicha proteína.

En la realización de dicho ensayo hemos empleado kits para las fracciones C3 y C4 del complemento, suministradas por Kallestad Laboratories Inc., Chaska, Mn, USA.

G. DETERMINACION DE UN DEFICIT AISLADO DEL COMPLEMENTO.

Se trata de una microtécnica hemolítica basada en el CH-50. Consiste en añadir componentes purificados del complemento a un suero con una actividad hemólítica nula y comprobar si alguno de ellos logra restablecerla, poniendo así de manifiesto el déficit de dicho factor (61).

Material: Se utiliza el mismo material que para el CH-50 y:

- Componentes purificados del complemento (C2, C4, C5, C6, C7 y C8. Lab. Cordis Michigan).
- Micropipetas manuales. Nichiryo. Japan.

Método: Los hematies de carnero se lavan y resuspenden en buffer GVB⁺⁺ a la concentración óptima apuntada en la determinación de CH-50 y se sensibilizan con el amboceptor. Todas las manipulaciones se harán en baño de hielo con soluciones frías.

En tubos de cristal de 10 ml se añaden:

- 0.4 ml de suero problema diluido al 1/50
- 0.8 ml de buffer

Los tubos estarán por duplicado para cada factor purificado del complemento, añadiéndose 100 y 200 unidades del mismo respectivamente a cada tubo. Se preparan asimismo controles del 100% de hemólisis (1.2 ml de agua destilada) y -- del 0% (1.2 ml de GVB⁺⁺) por duplicado. A todos los tubos se

añaden 0.2 ml de la suspensión de hematies sensibilizados y a semejanza del CH-50 se incuba durante una hora a 37°C con agitación continua, se centrifugan los tubos a 500 g/15 min/4°C y se lee la densidad óptica del sobrenadante a 541 nm. Referido en tanto por ciento de hemólisis con respecto a la hemólisis total con H₂O, todas las parejas de tubos deberán mostrar una actividad hemolítica nula a excepción de aquella en que se añadió el factor deficitario, que demostrará una reconstitución de la actividad hemolítica.

H. DETECCION DE HETEROCIGOTOS PARA DEFICITS DE FACTORES DEL COMPLEMENTO MEDIANTE CUANTIFICACION DE LA ACTIVIDAD HEMOLITICA DE COMPONENTES AISLADOS DEL COMPLEMENTO.

Al igual que la anterior es una microtécnica basada en el CH-50 (195).

Consiste en la adición al suero de un individuo homocigoto con déficit de un factor concreto del complemento, - de cantidades progresivamente mayores de una serie de diluciones del suero problema (familiares o controles sanos). - La cantidad de factor deficitario aportado por el suero problema es proporcional a la hemólisis que el suero del individuo homocigoto es capaz de producir tras la adición.

Material:

- El mismo que para el CH-50
- Suero carente del factor del complemento a testar
- Micropipetas manuales Nichiryo. Japan.

Método: En primer lugar los hematies se lavan, se re-suspenden en GVB⁺⁺ y se sensibilizan con amboceptor de forma

similar al CH-50.

En tubos de 10 ml se añaden:

- 0.4 ml del suero carente del factor a testar diluido a 1/50 en GVB⁺⁺.

- 0.4 ml de diluciones progresivas del suero problema a 1/5.000, 1/10.000, 1/20.000, 1/30.000 y 1/40.000 en GVB⁺⁺.

- 0.4 ml de GVB⁺⁺.

También se preparan dos tubos con 1.2 ml de agua destilada y otros dos con 1.2 ml de GVB⁺⁺ como controles. A todos se añaden 0.2 ml de la suspensión de hematies sensibilizados, se incuban 1 hora a 37°C con agitación continua, se centrifuga a 500 g/15 min/4°C y se lee en espectrofotómetro a 413 nm.

Cálculo: En una escala gaussiana de representación normal se expresan en abscisas los recíprocos de las unidades de millar de las diferentes diluciones de los sueros -- problemas y en ordenadas se refieren los porcentajes de hemólisis correspondientes a dichas diluciones. La recta que una estos puntos cortará a la línea del 50% en un punto tal que en abscisas refleje aquella dilución del suero capaz de producir un 50% de hemólisis. El inverso de esta dilución -- expresa las unidades del factor del complemento a estudiar, que el suero problema aporta al suero carente del mismo.

Aquellos valores alrededor del 50% de los controles normales se consideran indicativos de un déficit heterocigoto.

I. ANALISIS ESTADISTICO

El estudio estadístico se ha realizado en líneas ge-

nerales según fuese aplicable en cada caso con los métodos siguientes:

a) En el análisis comparativo de la frecuencia de inmunocomplejos entre los diferentes subgrupos clínicos de la enfermedad meningocócica, se ha empleado un contraste de homogeneidad para varias proporciones mediante un "chi-cuadrado" (196).

b) El análisis comparativo entre los niveles de complemento en las dos fases de la enfermedad meningocócica - se ha realizado mediante test de Student (196).

c) Y por último en el estudio de los niveles de complemento en la fase aguda de la enfermedad meningocócica - se ha empleado el análisis de la varianza mediante la F de Snedecor.

Para la realización de estos test estadísticos se - ha utilizado una computadora Hewlett-Packard mod HP-41CV.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

A. CARACTERISTICAS GENERALES DE LA POBLACION ESTUDIADA.

Se estudiaron 138 pacientes con enfermedad meningocócica aguda, diagnosticada según los criterios del "Meningococcal Disease Surveillance Group" (M.D.S.G.) expuestos anteriormente (188). En 87 de los pacientes se evidenció la *Neisseria Meningitidis* mediante estudio bacteriológico del líquido cefalorraquídeo y/o sangre periférica, en dos casos se logró aislar de lesiones cutáneas pustulosas y en uno de líquido sinovial. En los 48 pacientes restantes no se pudo demostrar el germen en las pruebas bacteriológicas utilizadas. Sin embargo presentaban un cuadro clínico caracterizado por fiebre elevada, exantema petequeal típico y en la mayoría de los casos meningitis purulenta, cumpliendo así el segundo criterio del "M.D.S.G" para el diagnóstico de enfermedad meningocócica.

Los pacientes han sido clasificados, según sus caracteres clínicos en cuatro grupos, como se muestra en la tabla 5.

El grupo I lo componen 12 pacientes, seis varones y seis hembras, con edades comprendidas entre los 7 y los 53 años (media 25.3 ± 13.8 años) que presentaron meningitis como única manifestación de la enfermedad. En todos ellos se aisló *Neisseria Meningitidis* en el cultivo del L.C.R.

El grupo II fue el más numeroso: 74 pacientes, 36 varones y 38 hembras, con edades comprendidas entre un mes y 81 años (media 15.8 ± 18.9 años) en los que se observó un exantema petequeal típico de sepsis meningocócica junto a un cuadro meníngeo clínico y analítico y en ausencia de -

GRUPO	CARACTERISTICAS	Nº PTES.	RELACION V/H	EDAD MEDIA
I	MENINGITIS	12	6/6	25,3±13,8
II	MENINGITIS Y SEPSIS	74	36/38	15,8±18,9
III	SEPSIS	20	9/11	8,8±7,1
IV	SHOCK CON O SIN C.I.D.	32	12/10	3,9±3,2

Tabla 5.- Características generales de los cuatro grupos de pacientes con enfermedad meningocócica aguda.

shock o coagulación intravascular diseminada.

El grupo III comprende 20 pacientes, 9 varones y 11 hembras, de edades comprendidas entre los 8 meses y los 28 años (media 8.8 ± 7.1) que desarrollaron un síndrome agudo - de fiebre y signos cutáneos típicos de sepsis meningocócica, sin sintomatología meníngea, shock ni coagulación intravascular diseminada.

Finalmente en el grupo IV se incluyeron los pacientes con una enfermedad más severa. Este grupo está compuesto por 32 pacientes, 12 varones y 20 hembras, con edades comprendidas entre los 6 meses y los 13 años (media 3.9 ± 3.2 años). Todos ellos presentaron un cuadro de shock caracterizado por acidosis metabólica (bicarbonato plasmático inferior a 18 mEq/l) y/o presión arterial sistólica inferior a 70 mm Hg en los lactantes o a 80 mm Hg en niños. Veintinueve de estos pacientes desarrollaron meningitis y en 10 casos se demostró la existencia de coagulación intravascular diseminada. Este fue el único grupo en el que se produjeron defunciones en 6 de los 10 niños en que se desarrolló un síndrome de coagulación diseminada.

Ocho pacientes presentaron artritis mono u oligoarticular, coincidiendo con el inicio de la enfermedad en tres pacientes o entre el 7^a y el 10^a días de evolución en los otros cinco. Las características clínico-serológicas de este grupo de pacientes se expondrán más adelante.

Se obtuvieron muestras de suero durante la fase aguda de la enfermedad en los 138 casos y entre el 5^a y 10^a días de evolución (fase de convalecencia) en 79 casos. Los resultados de las determinaciones inmunológicas realizadas en estos sueros con las técnicas anteriormente descritas - se exponen en los siguientes cuadros (páginas 92 a 103 - La presencia del signo (-) en la casilla correspondiente a los inmunocomplejos indica un valor inferior a 40 μ gr/ml -

Tabla 6.- GRUPO I: PACIENTES CON MENINGITIS AISLADA. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

NO	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALECENCIA				
			ICC RAJI ugr/ml	ICC CIQ ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC CIQ ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%
1	14	H	-	38	23	186	47	ND	ND	ND	ND	ND
2	14	H	-	-	38	162	20	-	31	157	19	19
3	34	V	-	-	48	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	16	V	-	20	48	181	25	17	44	172	26	26
5	48	H	-	-	30	217	33	-	46	193	28	28
6	18	V	-	-	39	163	21	ND	ND	ND	ND	ND
7	7	V	-	-	34	74	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	36	H	40	43	33	128	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	23	H	-	-	45	91	15	27	32	145	17	17
10	16	V	-	-	34	91	17	-	33	132	32	32
11	53	H	-	-	51	203	27	-	ND	186	42	42
12	24	V	-	-	< 5*	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

(ND): No determinado. (*): Déficit homocigoto de C8

Tabla 7.- GRUPO II : PACIENTES CON SEPSIS Y MENINGITIS. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALESCENCIA					
			ICC RAJI ugr/ml	ICC Clq ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC Clq ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	
1	10	V	-	-	34	179	40	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	8	H	-	-	44	253	56	ND	ND	50	ND	ND	ND
3	14	V	-	-	51	148	74	-	20	51	301	72	72
4	78	V	-	21	31	113	30	-	31	46	184	41	41
5	60	H	-	52	51	177	58	-	97	48	212	56	56
6	20	V	-	10	27	215	53	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	55	H	-	-	46	ND	ND	ND	14	46	238	37	37
8	16	V	-	-	40	215	20	-	-	44	197	31	31
9	49	V	-	-	< 5*	51*	37	-	10	< 5*	59*	26	26
10	81	H	-	-	44	132	22	-	15	44	152	29	29
11	14	V	-	-	27	94	19	-	-	27	168	32	32
12	10	V	-	-	43	165	28	-	-	49	163	28	28
13	8	H	-	-	26	164	24	-	-	28	213	25	25

(ND): No determinado. (*): Deficit adquirido de C3.

Tabla 7 (cont).- GRUPO II : PACIENTES CON SEPSIS Y MENINGITIS. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALECENCIA				
			ICC RAJI ugr/ml	ICC C1Q ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC C1Q ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%
14	13	V	-	-	32	117	20	-	-	ND	88	17
15	19	H	-	-	34	167	ND	-	-	48	ND	ND
16	19	V	-	-	37	185	33	-	-	48	99	19
17	13	H	-	-	50	142	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	27	H	-	-	33	90	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	31	H	-	-	34	109	20	-	-	42	156	28
20	50	H	-	-	50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	47	H	-	-	37	132	25	-	-	35	141	27
22	69	H	-	-	37	203	50	-	-	42	139	23
23	12	V	-	-	36	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24	8	H	-	-	35	224	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	8	H	-	-	28	117	22	ND	ND	ND	ND	ND
26	9	H	-	-	32	102	ND	ND	ND	ND	ND	ND

(ND): No determinado.

Tabla 7 (cont).- GRUPO II : PACIENTES CON SEPSIS Y MENINGITIS. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALECENCIA				
			ICC RAJI ugr/ml	ICC C1Q ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC C1Q ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%
27	24	H	-	-	37	147	31	-	-	39	157	24
28	50	V	-	-	31	55	19	-	-	39	199	53
29	10	V	-	-	40	158	ND	ND	ND	ND	ND	ND
30	19	H	-	14	32	122	24	-	10	27	148	25
31	10	V	-	-	36	181	13	ND	ND	ND	ND	ND
32	22	V	-	-	40	169	ND	-	-	39	ND	ND
33	31	H	-	-	< 5*	88	ND	-	-	< 5*	103	22
34	14	V	-	14	36	184	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35	46	H	-	-	40	136	ND	ND	ND	ND	ND	ND
36	14	H	-	-	63	161	ND	ND	ND	ND	ND	ND
37	16	H	-	-	35	123	28	-	-	44	178	32
38	7	H	-	-	44	133	ND	-	-	44	152	19
39	7	V	-	-	44	108	ND	ND	ND	ND	ND	ND

(ND): No determinado. (*): Déficit homocigoto de C8.

Tabla 7 (cont).-- GRUPO II : PACIENTES CON SEPSIS Y MENINGITIS. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4 .

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALECENCIA						
			ICC RAJI ugr/ml	ICC Clq ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC Clq ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%		
40	8	H	-	-	50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
41	11	V	-	-	50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
42	15	V	-	-	27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
43	23	V	-	-	40	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
44	12	V	-	-	43	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND
45	1 M	V	40	-	21	107	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
46	8 M	H	-	-	50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
47	1	H	-	-	40	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
48	3	H	-	-	37	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
49	6	H	-	-	30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
50	2	V	40	-	35	162	27	ND	ND	ND	ND	ND	186	44
51	1	V	-	40	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
52	5	V	-	-	ND	264	65	ND	ND	ND	ND	ND	185	30

(ND): No determinado.

Tabla 7 (cont).- GRUPO II : PACIENTES CON SEPSIS Y MENINGITIS. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALECENCIA						
			ICC RAJI ugr/ml	ICC C1Q ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	III RAJI ugr/ml	ICC C1Q ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%		
53	3	H	-	-	ND	241	47	-	-	ND	-	-	336	50
54	4	V	-	-	ND	172	47	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
55	10 M	V	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	-	-	ND	ND
56	6	V	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	-	-	ND	ND
57	1	V	-	-	ND	142	23	-	ND	ND	-	-	142	48
58	2	H	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
59	4	V	-	-	ND	294	56	-	ND	ND	-	10	319	53
60	6	V	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	-	-	346	56
61	1	H	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
62	2	H	-	50	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
63	2	H	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
64	5	V	-	-	ND	112	21	-	ND	ND	-	-	320	51
65	2	V	-	62	ND	241	36	-	ND	ND	14	ND	256	18

(ND): No determinado.

Tabla 7 (cont).- GRUPO II : PACIENTES CON SEPSIS Y MENINGITIS. NIVELES DE ICC,CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALECENCIA					
			ICC RAJI ugr/ml	ICC C1Q ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC C1Q ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	
66	3	H	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	-	ND	ND
67	2	H	-	-	ND	ND	ND	10	ND	ND	241	51	ND
68	6	V	-	-	ND	220	42	ND	ND	ND	179	22	ND
69	4	V	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
70	10 M	H	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
71	2	H	-	-	ND	186	16	-	ND	ND	220	29	ND
72	1	H	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
73	2	H	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND
74	6	V	-	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND

(ND): o determinado.

Tabla 8.- GRUPO III : PACIENTES CON SEPSIS AISLADA. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALECENCIA				
			ICC RAJI ugr/ml	ICC Clq ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC Clq ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%
1	11	V	-	-	44	237	50	-	-	44	210	43
2	13	V	-	-	25	131	29	-	-	56	269	50
3	28	H	-	-	36	152	36	ND	ND	ND	ND	ND
4	8	V	-	-	44	181	43	40	-	40	131	30
5	19	V	-	-	< 5*	155	38	-	-	< 5*	132	29
6	9	V	-	-	48	123	20	-	-	27	243	37
7	9	H	-	-	56	123	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	9	H	-	-	29	149	31	ND	ND	ND	ND	ND
9	20	H	-	-	40	131	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	16	H	-	-	51	190	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	8	H	-	-	27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	1	V	-	-	48	260	35	ND	ND	ND	ND	ND
13	3	H	-	-	37	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

(ND): No determinado. (*): Déficit homocigoto de C8.

Tabla 8 (cont). - GRUPO III : PACIENTES CON SEPSIS AISLADA. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA						FASE DE CONVALECENCIA					
			ICC RAJI ugr/ml	ICC ClQ Ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC ClQ ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%		
14	3	H	-	-	ND	ND	ND	ND	13	ND	ND	ND	47	
15	6	V	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
16	8 M	V	43	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
17	3	H	-	-	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	
18	2	H	-	-	ND	141	21	ND	-	ND	ND	12	ND	
19	3	V	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
20	5	H	-	-	ND	55	36	ND	-	ND	166	62	ND	

(ND): No determinado.

Tabla 9.- GRUPO IV : PACIENTES CON SHOCK Y/O C.I.D. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALESCENCIA				
			ICC RAJI ugr/ml	ICC CIQ ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC CIQ ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%
1	11	V	-	-	50	ND	ND	-	-	50	226	42
2	13	V	-	-	36	58	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	9	V	-	-	35	136	28	ND	ND	ND	ND	ND
4	2	H	-	-	ND	26	7	ND	ND	ND	ND	ND
5	2	V	-	-	ND	95	39	ND	ND	ND	ND	ND
6	2	V	-	-	ND	154	32	-	-	ND	319	50
7	1	V	-	-	ND	185	31	-	-	ND	271	37
8	6	H	-	-	ND	226	48	-	-	ND	154	50
9	4	H	-	-	ND	206	20	-	-	ND	219	44
10	4	H	-	-	ND	179	34	-	-	ND	154	26
11	6 M	H	-	-	ND	112	22	-	-	ND	ND	ND
12	6 M	H	-	-	ND	186	36	ND	ND	ND	ND	ND
13	5	H	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

(ND): No determinado. (*): Paciente con C.I.D. (+): Paciente fallecido.

Tabla 9 (cont).-- GRUPO IV : PACIENTES CON SHOCK Y/O C.I.D. NIVELES DE ICC, CH50, C3 Y C4

Nº	EDAD	SEXO	FASE AGUDA					FASE DE CONVALECENCIA							
			ICC RAJI ugr/ml	ICC ClO ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%	ICC RAJI ugr/ml	ICC ClO ugr/ml	CH50 U.H./ml	C3 mgr%	C4 mgr%			
14	8 M	V	-	-	ND	95	8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(*) (+)
15	2	V	-	-	ND	95	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(*) (+)
16	2	H	-	-	ND	405	52	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
17	9 M	H	-	-	ND	214	42	ND	ND	ND	180	29			
18	7 M	H	-	-	ND	292	34	ND	ND	10	91	27			
19	1	H	-	-	ND	145	22	ND	ND	10	314	33			
20	1	V	-	-	ND	250	62	ND	ND	-	188	37			
21	2	H	-	-	ND	310	56	ND	ND	-	264	31			
22	5	H	-	-	ND	95	12	ND	ND	-	220	58			
23	7	V	-	-	ND	112	22	ND	ND	-	186	32			(*)
24	1	H	-	-	ND	55	36	ND	ND	-	199	52			(*)
25	2	H	-	-	ND	135	35	ND	ND	-	148	42			(*)
26	3	H	-	-	ND	135	29	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	(*)

(ND): No determinado. (*): Paciente con C.I.D.

en las determinaciones realizadas mediante células Raji o a 10 μ gr/ml en la detección mediante Clq, límites superiores de la normalidad de ambos métodos respectivamente.

B. INMUNOCOMPLEJOS CIRCULANTES (ICC) EN LA ENFERMEDAD MENINGOCOCICA.

Como puede comprobarse en las tablas anteriores, sólo en una minoría de las muestras se pudo demostrar la existencia de niveles patológicos de ICC. Además en aquellos casos en que se obtuvieron niveles anormales, éstos fueron de escasa cuantía, prácticamente siempre inferiores a 100 μ gr/ml, por cualquiera de las dos técnicas utilizadas. Se consideró positiva la detección de inmunocomplejos cuando se obtenían niveles patológicos por una sola o por las dos técnicas.

De esta forma, como muestra la tabla 10, se demostraron ICC en 4 pacientes del grupo I, 17 del grupo II, 3 del grupo III y 5 del grupo IV. La prevalencia de positividad es mayor en los dos primeros grupos. Sin embargo, el test de contraste de homogeneidad χ^2 no demostró diferencias significativas de ninguno de ellos. La frecuencia total de I.C.C. en pacientes con enfermedad meningocócica fue del 21%.

Estos datos no aclaran nada sobre el papel de los I.C.C. en la enfermedad meningocócica, sin embargo un análisis comparativo entre la frecuencia de niveles patológicos de I.C.C. entre las fases aguda y de convalecencia permite obtener diferencias entre ambas como muestra la figura 13. Así sólo 14 de las 138 muestras estudiadas en la fase aguda presentaban I.C.C., lo que representa un 10% frente a los 21 pacientes con I.C.C. de los 77 sueros estudiados en la fase de convalecencia (27% de la muestra). La diferencia entre ambas proporciones es altamente significativa ($p < 0.005$)

GRUPO	Nº DE PTES.	Nº DE PTES. CON ICC	% POSITIVIDAD
I (M)	12	4	33%
II (M+S)	74	17	23%
III (S)	20	3	15%
IV (SHOCK)	32	5	16%
TOTAL	138	29	21%

Tabla 10.- Detección de ICC en la enfermedad meningocócica en algún momento del proceso.

Contraste de homogeneidad, $\chi^2 = 2,260$; $p > 0,5$.

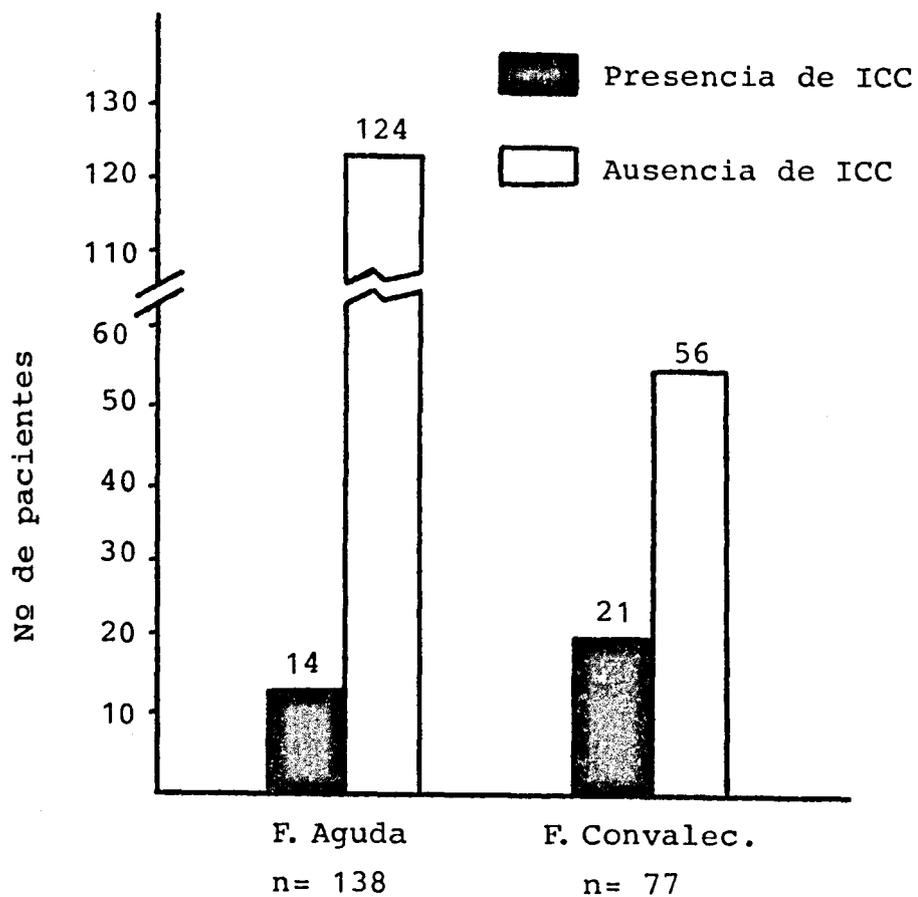


Figura 13.- Análisis comparativo de la presencia de ICC en las fases aguda y de convalecencia de la enfermedad meningocócica.

$\chi^2 = 10,638$; $p < 0,005$.

lo que indica una mayor incidencia de niveles patológicos de I.C.C. en la fase de convalecencia de la enfermedad meningocócica.

B.1. I.C.C. en la fase aguda de la enfermedad.- Se ha realizado un análisis comparativo de la presencia de ICC en la fase aguda entre los cuatro grupos de pacientes. Los resultados se exponen en la tabla 11. En el grupo I tres de los pacientes tuvieron I.C.C. lo que supone un 25% del total del grupo; en el grupo II un 14% (10 pacientes) mostraron niveles significativos, mientras que sólo un paciente del grupo II (5%) y ninguno del grupo IV presentaron I.C.C. Se ha realizado la comparación de estos 4 grupos mediante un test de contraste de homogeneidad para varias proporciones (χ^2), obteniéndose un valor $\chi^2 = 8.05$ que permite rechazar la hipótesis de igualdad entre los grupos a un nivel de significación inferior a 0.05. Sin embargo, si se excluye del análisis comparativo al grupo IV se obtiene -- que entre los grupos I, II y III existe una igualdad a un nivel de significación superior a 0.25. Parece pues que el grupo IV se diferencia del resto en el sentido de tener -- una menor prevalencia de inmunocomplejos.

Para discernir entre que grupos existía diferencia, se analizó el contraste bilateral de igualdad de 2 proporciones para datos independientes, mediante un χ^2 obteniéndose los siguientes resultados (tabla 12): Sólo hay diferencias estadísticamente significativas entre el grupo IV respecto a los grupos I y II, en tanto que el grupo III, a pesar de tener sólo un paciente con I.C.C., no se diferencia de ninguno de los demás. Se aprecia pues una tendencia de los grupos de menor gravedad clínica a presentar con -- una mayor frecuencia I.C.C. en la fase aguda de la enfermedad.

Finalmente se ha analizado si existen diferencias en

GRUPO	Nº DE PTES	Nº DE PTES. CON ICC	% POSITIVIDAD
I (M)	12	3	25%
II (M+S)	74	10	14%
III (S)	20	1	5%
IV (SHOCK)	32	0	0%
TOTAL	138	14	10%

Tabla 11.- Inmunocomplejos circulantes en la fase aguda de la enfermedad meningocócica.

Contraste de homogeneidad de los 4 grupos: $\chi^2 = 8,05$,
 $p < 0,05$.

Contraste de homogeneidad de los grupos I, II y III :
 $\chi^2 = 2,63$, $p > 0,25$.

GRUPOS	χ^2	SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA
I vs. II	1,06	$p > 0,25$
I vs. III	2,74	$p > 0,1$
I vs. IV	8,58*	$p < 0,005$
II vs. III	1,10	$p > 0,25$
II vs. IV	4,77*	$p < 0,05$
III vs. IV	1,63	$p > 0,1$

Tabla 12.- Inmunocomplejos circulantes en la fase aguda de la enfermedad meningocócica. Contraste bilateral de igualdad de proporciones entre los diferentes grupos.

(*): Diferencia estadísticamente significativa.

la positividad de I.C.C. en la fase aguda, entre los 23 pacientes con edad comprendida entre los 6 y los 24 meses, en los que se ha dicho que el nivel de inmunoglobulinas está considerablemente disminuido (203), y el resto. Sin embargo entre el 8.6% de positividades entre estos niños (2 pacientes con I.C.C.) y el 10.4% de los 115 pacientes restantes (12 pacientes con I.C.C.) no existen diferencias -- significativas ($\chi^2 = 0.06$ $p > 0.8$).

B.2. I.C.C. en la fase de convalecencia.- En la fase de convalecencia los I.C.C. se comportan de una forma diferente a la fase aguda, como puede observarse en la tabla 13. Así en el grupo I se detectaron I.C.C. en 2 de los 6 pacientes, lo que supone un 33%, en el grupo II se encontraron en 12 de 40 pacientes (30%), en el grupo III en 2 de 9 (22%) y en el grupo IV en 5 pacientes de los 22 estudiados que suponen un 23%. Por tanto se puede observar como en la fase de convalecencia se hallan con mayor frecuencia I.C.C. y que la proporción de pacientes con I.C.C. es muy similar en los cuatro grupos, no observándose diferencias significativas ($p > 0.85$).

C. NIVELES DE CH-50

Se determinó el CH-50 en 74 sueros de la fase aguda y en 31 de la fase de convalecencia de nuestros pacientes con enfermedad meningocócica. En el análisis de estos datos se han excluido 4 pacientes con déficits aislados de factores del complemento, los cuales serán comentados posteriormente. La edad media de los enfermos estudiados fue de $19.8^{+}18.0$ años. Esta edad difiere de la edad media del total de pacientes comprendidos en el presente estudio. El motivo de ello es que, por razones técnicas, sólo se pudieron incluir en el presente apartado los pacientes procedentes del Departamento de Medicina Interna, cuya edad fue superior en todos los casos a los 7 años.

GRUPO	Nº DE PTES.	Nº DE PTES. CON ICC	% POSITIVIDAD
I	6	2	33%
II	40	12	30%
III	9	2	22%
IV	22	5	23%
TOTAL	77	21	27%

Tabla 13.- Inmunocomplejos circulantes en la fase de convalecencia de la enfermedad meningocócica. Contraste de homogeneidad entre los cuatro grupos, $\chi^2 = 0,601$; $p > 0,85$.

La distribución de los sueros estudiados por grupos de actividad clínica fue: en el grupo I 11 sueros de la fase aguda y 5 de la fase de convalecencia; en el grupo II - 48 y 21 sueros respectivamente; en el grupo III 12 y 4 sueros y finalmente del grupo IV sólo se pudieron estudiar 3 sueros de la fase aguda y 1 de la fase de convalecencia. - Esta escasez de pacientes en el grupo IV se debe a que la mayoría de los enfermos con DIC y/o shock incluidos en el presente estudio procedieron del Departamento de Pediatría. Esto junto a la pequeñez de la muestra de la fase de convalecencia de los grupos I y III han sido los motivos de que realicemos el análisis comparativo de los niveles de CH-50 entre ambas fases de la enfermedad en el conjunto de la totalidad de los pacientes y no por grupos como hubiera sido de desear.

C.1. Estudio comparativo del CH-50 entre ambas fases de la enfermedad.- La media y desviación estandar de los títulos de CH-50 en la fase aguda fue de 38.8 ± 8.4 U.H./ml, mientras que los pacientes estudiados en la fase de convalecencia presentaron un valor medio de 41.4 ± 7.8 U.H/ml, tal como se representa gráficamente en la figura 14. Es decir, existe una diferencia entre ambos valores, siendo menor el título en la fase aguda del proceso, pero esta diferencia no llega a alcanzar significación estadística. Por otra parte los valores en ambas fases se encuentran dentro de los valores normales obtenidos en nuestro laboratorio sobre 30 controles sanos procedentes del banco de sangre (26-46 U.H./ml).

Si se analizan independientemente los datos de la determinación de CH-50 en el grupo más numeroso (grupo II), los resultados son similares que en el conjunto de la población, siendo 38.8 ± 8.1 U.H./ml y 41.9 ± 7.1 U.H./ml, respectivamente las medias y desviaciones estandar de los niveles

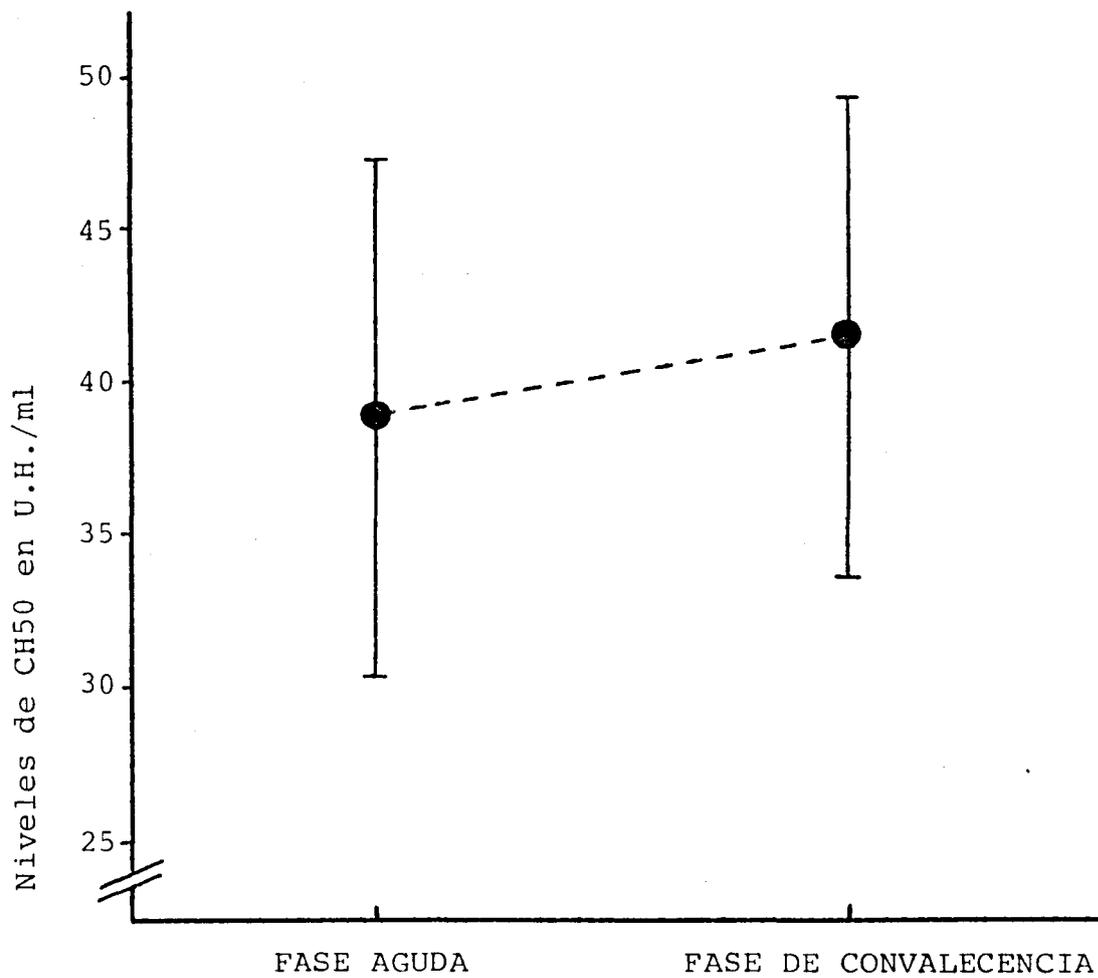


Figura 14.- Representación gráfica de los niveles de CH50 en ambas fases de la enfermedad. Niveles normales: 28 - 40 U.H./ml.

$t = 1,47$; $p > 0,1$.

de CH-50 en las fases agudas y de convalecencia ($p > 0.05$).

C.2. Estudio comparativo de los grupos I, II y III en la fase aguda.- Finalmente, se ha realizado el análisis comparativo entre los niveles de CH-50 obtenidos en la fase aguda en aquellos grupos con un tamaño de muestra suficiente como para permitir el cálculo (grupos I, II y III). La media y desviación estándar en el grupo I fue de 38.45 ± 8.73 U.H./ml, en el grupo II de 38.8 ± 8.1 U.H./ml y en el grupo III de 40.4 ± 9.9 U.H./ml siendo el número de pacientes estudiados en cada grupo 11, 48 y 12 respectivamente. Entre estos 3 grupos se ha realizado el análisis de la varianza obteniéndose un valor de la F de Snedecor de 0.28 que no es estadísticamente significativa. Por tanto los 3 grupos se comportan, en la fase aguda, de una forma similar.

D. NIVELES DE C3.

Se determinaron los niveles de C3 mediante inmunodifusión radial o nefelometría, en 99 sueros de la fase aguda y 63 de la fase de convalecencia de un total de 102 pacientes con enfermedad meningocócica aguda. La cuantificación mediante inmunodifusión radial se utilizó en aquellos sueros que presentaban un aspecto macroscópico turbio, lo cual pudiera dar origen a anomalías en la dispersión de la luz a su través y ocasionar error en la lectura nefelométrica.

D.1. Niveles de C3 durante la fase aguda del proceso.- En el grupo I se estudiaron 10 pacientes cuya media y desviación estándar fue de 149.6 ± 48.1 mg%, en el grupo II fueron 46 los pacientes estudiados en la fase aguda con un valor medio de 159.7 ± 51.4 mg%, los 13 pacientes del grupo III ofrecieron un valor medio de 164.4 ± 42.8 mg% y los 30 del grupo IV una media de 156.1 ± 85.4 mg% (Fig. 15).

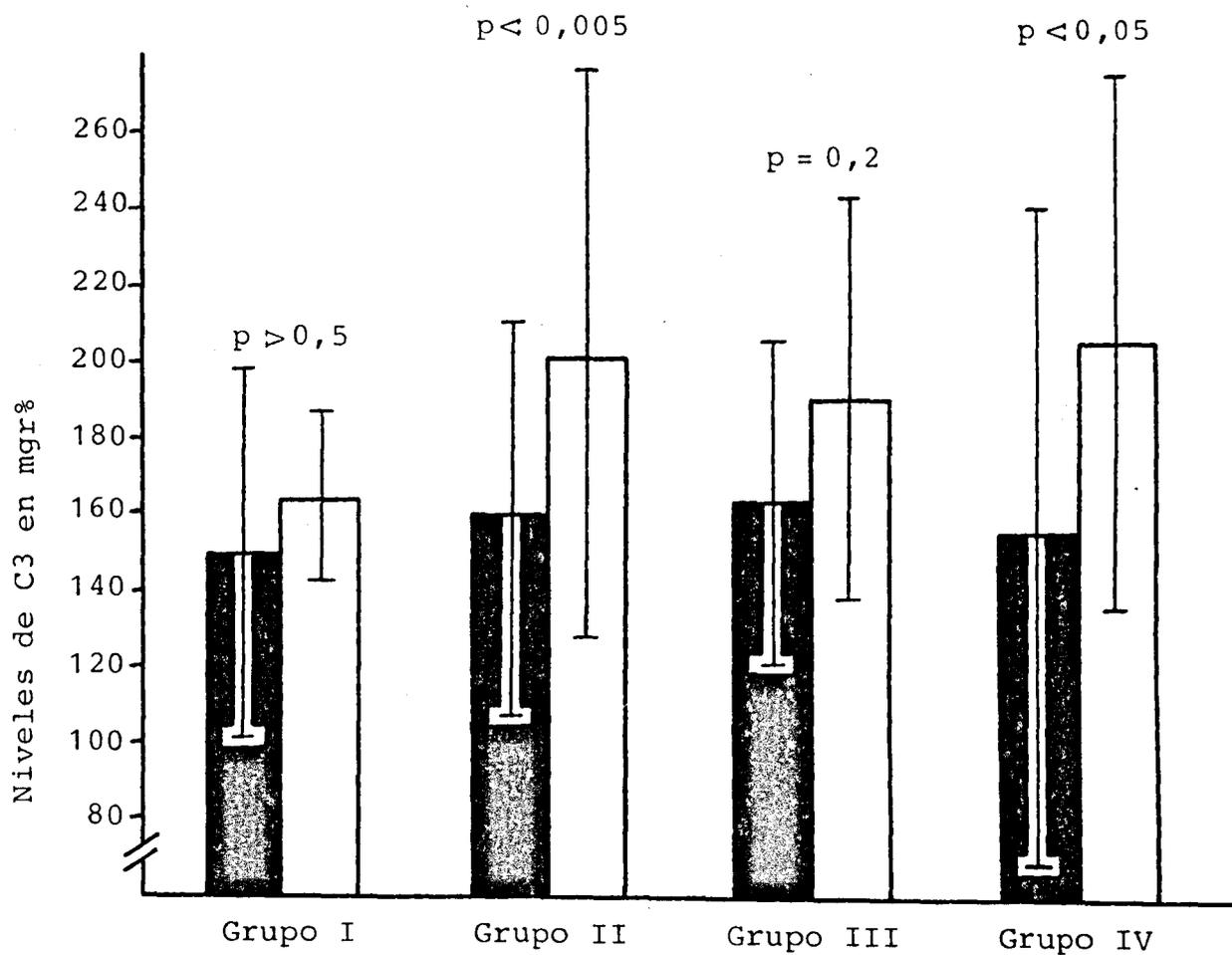


Figura 15.- Niveles de C3 en los pacientes con enfermedad meningocócica. Valores normales. 83 - 177 mgr%.

(■): fase aguda. (□): fase de convalecencia.

El análisis de la varianza entre estos cuatro grupos mostró una gran similitud entre ellos, siendo la F de Snedecor de 0.11 y no mostrando por lo tanto diferencias significativas entre ellos.

Sin embargo en el grupo IV, el subgrupo compuesto -- por aquellos pacientes que desarrollaron C.I.D. se comportó de forma diferente, como puede observarse en la figura 16. La media y desviación estandar de los 10 pacientes con CID fue de 87.0 ± 46.3 mg% que difería de forma muy significativa ($p < 0.005$) de los 185.8 ± 81.9 mg% de media del resto de su grupo, estando la media de los pacientes con CID muy próxima al límite inferior de los valores normales de C3.

Se han analizado comparativamente también los niveles de C3 durante la fase aguda de la enfermedad en 59 pacientes con signos de sepsis pero sin criterios de shock, con respecto a los 30 pacientes con sepsis y shock. La media de los primeros fue de 157.5 ± 50.5 mg% y en los enfermos -- con shock de 156.1 ± 85.4 mg%, valores muy semejantes y sin diferencias significativas ($p > 0.5$). Si se excluyen del grupo con shock los 10 pacientes con CID, tampoco se observan diferencias estadísticamente significativas (157.5 ± 50.5 mg% versus 185.8 ± 81.9 mg%; $p > 0.05$).

Nuestros hallazgos sólo aprecian una tendencia hacia los niveles bajos de C3 en el subgrupo de pacientes con CID, comportándose en el resto de los enfermos de una manera más uniforme.

D.2. Estudio comparativo de los niveles de C3 durante las fases aguda y de convalecencia. -- Los resultados de este análisis comparativo se representan gráficamente en la figura 15 y como puede observarse no existen di-

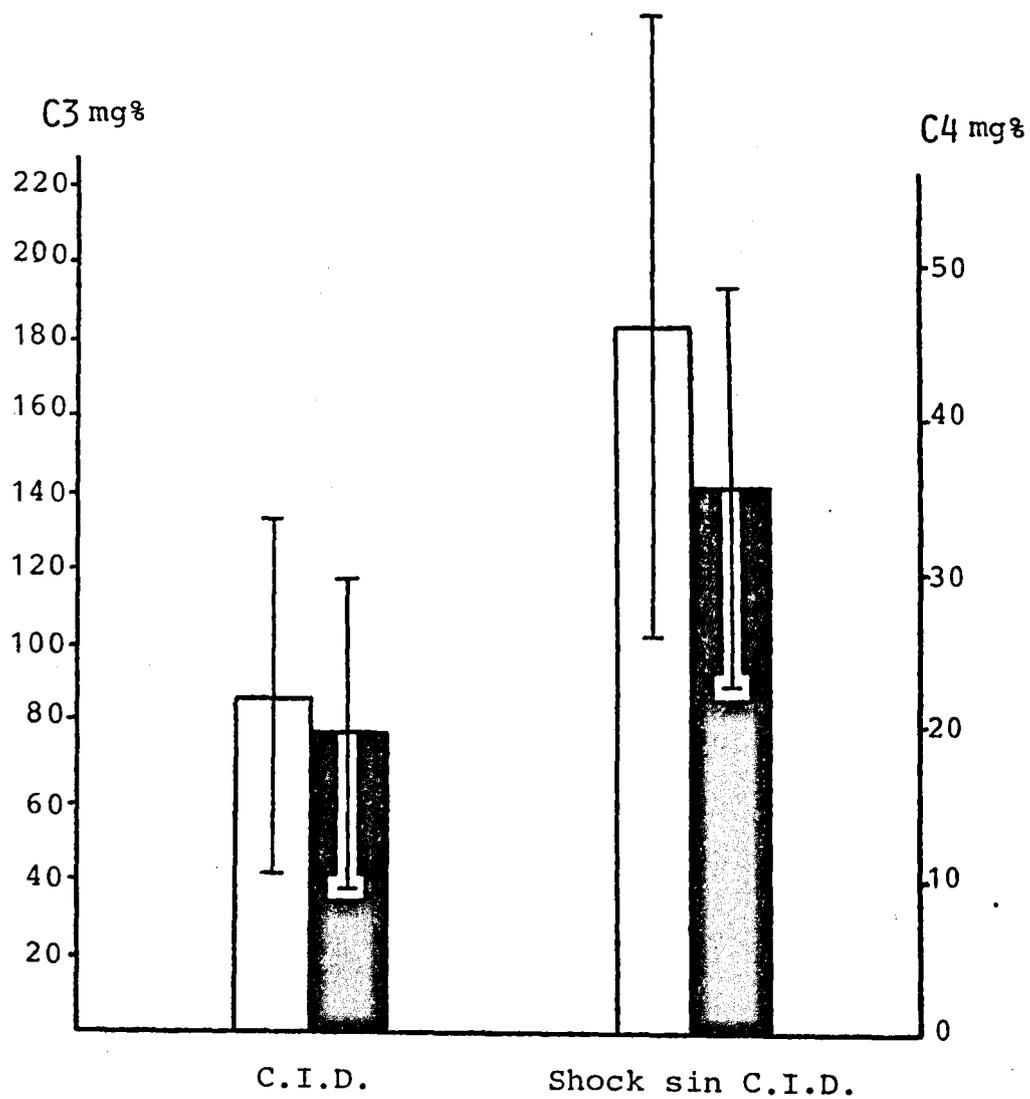


Figura 16.- Niveles de C3 y C4 en los pacientes del grupo IV. Análisis comparativo entre los pacientes de este grupo con C.I.D. y el resto. (fase aguda).

(□): niveles de C3, $t = 3,42$; $p < 0,005$.

(■): niveles de C4, $t = 3,33$; $p < 0,005$.

ferencias significativas en los grupos I y III con valores medios y de desviación estandar de 149.6 ± 48.1 mg% en la fase aguda de los 10 pacientes del grupo I y de 164.2 ± 21.7 mg% en los 6 estudiados en el período de convalecencia (t de Student = 0.66; $p > 0.5$). En el grupo III los valores fueron de 164.4 ± 42.8 mg% en 13 pacientes en la fase aguda y de 191.8 ± 74.2 mg% en 6 de la fase de convalecencia ($t = 1.34$, $p = 0.2$).

Sin embargo en los grupos II y IV existían diferencias entre ambas fases. En el grupo II los 46 enfermos analizados en la fase aguda presentaban una media de 159.7 ± 51.4 mg% y los 32 de la fase de convalecencia una media de 203.1 ± 74.2 mg% siendo el valor de la t de Student de 3.01 ($p < 0.005$). Finalmente en el grupo IV los niveles en 30 pacientes de la fase aguda fueron de 156.1 ± 85.4 mg% que diferían de los 206.1 ± 69.9 mg% de los 19 estudiados en la fase de convalecencia ($t = 2.22$; $p < 0.05$). Sin embargo cuando en este último grupo se excluían del análisis comparativo aquellos pacientes con CID, la diferencia entre los niveles de la fase aguda y de convalecencia, apuntada anteriormente, deja de existir. Así se comprobó que entre los 185.8 ± 81.9 mg% de los 20 pacientes con shock y sin CID de la fase aguda y los 213.6 ± 72.2 mg% de la fase de convalecencia en 16 pacientes existía un valor de la t de Student de 1.04 a la que correspondía un valor de p superior a 0.2.

Sólo se ha observado pues diferencia entre ambas fases de la enfermedad en el grupo II, tras la exclusión de los pacientes con CID del análisis estadístico.

E. NIVELES DE C4

Se determinaron los niveles de C4 en 81 sueros de la fase aguda y 67 de la fase de convalecencia de un total de 87 pacientes con enfermedad meningocócica aguda. Se han em-

pleado las mismas técnicas y con los mismos criterios que en la determinación de los niveles de C3 y los resultados se expresan de forma gráfica en las figuras 16 y 17.

E.1. Niveles de C4 durante la fase aguda del proceso. - En el grupo I se estudiaron 8 pacientes - en la fase aguda con una media y desviación estandar de 25.6 ± 9.7 mg%; en el grupo II fueron 34 los enfermos estudiados en esta fase con una media de 33.4 ± 15.9 mg%; los 10 pacientes del grupo III ofrecían una media de 33.9 ± 8.7 mg% y finalmente en los 23 del grupo IV fue de 30.2 ± 14.4 mg%. El análisis de la varianza entre los niveles de C4 en estos 4 grupos no muestra diferencias significativas entre ellos - (F de Snedecor = 0.81). Sin embargo, al igual que ocurría con el C3 en el grupo IV, el subgrupo de pacientes con CID se comportaron de forma diferente al resto de pacientes -- (fig. 16). La media y desviación estandar de los 10 pacientes con CID fue de 19.5 ± 10.1 mg%, muy próxima a los límites inferiores de la normalidad, y la media del resto del grupo (19 pacientes) fue de 35.7 ± 13.0 mg%, significativamente superior al primero ($p < 0.005$).

Finalmente se han analizado las diferencias existentes en 73 pacientes con sepsis meningocócica en fase aguda, entre aquellos 44 sin criterios de shock y los 29 enfermos que presentaron shock. La media del primer grupo es de 33.5 ± 14.6 mg% y la del segundo 30.2 ± 14.4 mg%, no existiendo entre ambas una diferencia estadísticamente significativa -- ($p > 0.2$). Los resultados son comparables si se eliminan -- del grupo IV aquellos pacientes que presentaron CID ($p > 0.5$). Por tanto, al igual que con el C3, el único grupo que presenta diferencias con el resto es el de los pacientes con un síndrome de CID.

E.2. Estudio comparativo de los niveles de C4 durante las fases aguda y de convalecencia (fig. 17).-

En el grupo I se estudiaron 8 pacientes en la fase aguda con media y desviación estandar de 25.6 ± 9.7 mg% y en la fase de convalecencia 6 enfermos con un valor medio de 27.3 ± 8.3 mg%. El análisis estadístico ofrece una gran igualdad entre ambos grupos ($t = 0.32$; $p > 0.5$).

En el grupo II también existe gran similitud entre las muestras estudiadas. Los 34 pacientes de la fase aguda presentaban una media de 33.4 ± 15.9 mg% y los 32 de la fase de convalecencia 34.9 ± 14.0 mg% ($t = 0.41$; $p > 0.5$).

Tampoco en el grupo III existen diferencias. En la fase aguda se estudiaron 10 enfermos con media de 33.9 ± 8.7 mg% y en la fase de convalecencia 7 pacientes con una media de 38.7 ± 14.3 mg% ($t = 0.83$; $p > 0.4$) (Fig. 17).

Sin embargo, en el grupo IV existe una diferencia -- entre ambas medias (30.2 ± 14.4 mg% y 37.3 ± 13.4 respectivamente para las fases aguda y de convalecencia) que adquiere -- significación estadística ($t = 2.30$; $p < 0.05$). Pero esta -- diferencia deja de existir cuando se excluyen del análisis comparativo los pacientes con CID, de forma similar a como -- ocurría con el C3. Así puede comprobarse que los 19 pacientes de la fase aguda con una media de 35.7 ± 13.0 mg% no se -- diferencian de los 16 de la fase de convalecencia que presentaban un valor medio de 39.9 ± 12.3 mg% ($t = 0.93$; $p > 0.2$).

Se aprecia pues una igualdad en todos los grupos entre las dos fases de la infección meningocócica, mayor a -- la existente cuando se estudiaban los niveles de C3, una -- vez excluidos los pacientes con CID.

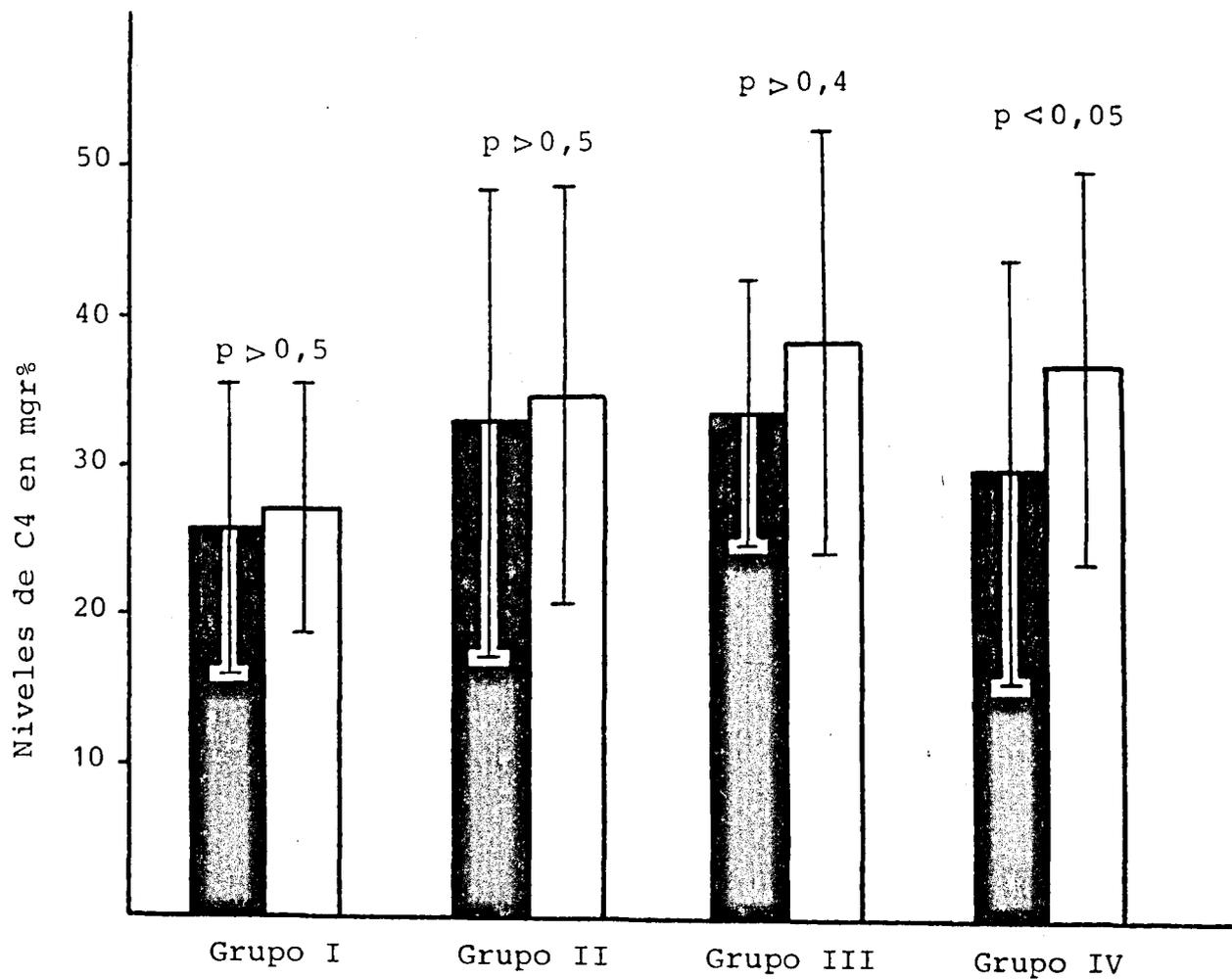


Figura 17.- Niveles de C4 en los pacientes con enfermedad meningocócica. (■): fase aguda; (□): fase de convalecencia. Niveles normales: 15 - 45 mgr%.

F. PREVALENCIA DE DEFICITS DEL COMPLEMENTO.

Para determinar la prevalencia de déficits de factores del complemento en pacientes con enfermedad meningocócica y más concretamente entre aquellos con meningococemia recidivante, hemos realizado la determinación del CH-50 en 84 pacientes con enfermedad meningocócica, 70 de los cuales procedían del Departamento de Medicina Interna y 14 -- del Departamento de Pediatría.

Con estos pacientes se realizaron 4 grupos atendiendo al número de infecciones meningocócicas padecidas (tabla 14), quedando distribuidos de la siguiente forma: 71 - pacientes con un solo episodio infeccioso, 10 con dos episodios, 2 enfermos con un total de tres y 1 paciente al -- que estudiamos en su cuarta infección meningocócica.

En 80 de los pacientes se demostró una actividad -- normal salvo en 4 individuos en que el suero carecía de actividad hemolítica (CH-50 < 5 U.H./ml). Esta ausencia de actividad hemolítica se confirmó en muestras obtenidas una vez repuesto el individuo del proceso infeccioso, y por -- ello fueron considerados portadores de un déficit de uno o varios factores del complemento.

F.1. Identificación de los déficits de complemento.-

En un primer paso para la identificación del -- presunto déficit del complemento, se procedió a la adición de diversos componentes purificados del complemento: C2, C4, C5, C6, C7 y C8, según técnica descrita previamente. De esta forma, tal como muestra la figura 18, se logró restablecer a límites normales la actividad hemolítica de tres de -- los 4 pacientes tras la adición de 100 U. de C8 purificado. A estos tres pacientes se les consideró poseedores de un dé -- ficit completo de C8 y por lo tanto portadores, con carácter

Nº DE PACIENTES	EDAD MEDIA	Nº IFEC./PTE.	Nº PTES. CON CH50 5UH/ML	TIPO DE DEFICIT
71	12	1	0	-
10	9	2	2	CONGENITO DE C8
2	20	3	1	CONGENITO DE C8
1		4	1	ADQUIRIDO DE C3

Tabla 14.- Distribucion de los pacientes estudiados según el número de infecciones - meningocócicas padecidas, nº de pacientes con déficit de algún factor del complemento en cada grupo y tipo de déficit.

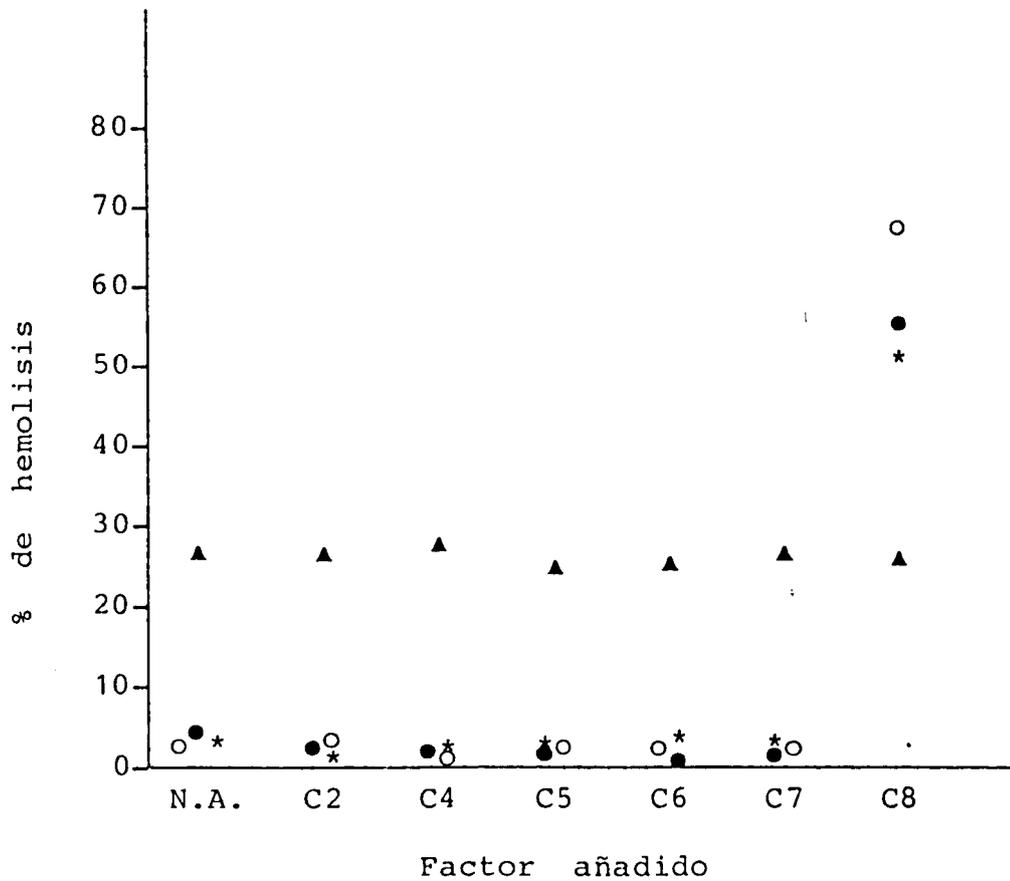


Figura 18.- Porcentajes de hemólisis de los sueros de los cuatro pacientes con CH50 inferior a 5 UH/ml, tras la adición de 100 U. de diversos componentes purificados del complemento. Valores normales: 42-63% (N.A.): No adición de factores.

homocigoto, de dicho déficit. En el cuarto paciente con CH-50 \leq 5 U.H./ml, no se consiguió restablecer la actividad hemolítica tras la adición de ninguno de los factores purificados del complemento previamente citados. Sin embargo, por nefelometría se demostraron niveles muy descendidos de C3 con un C4 normal, tratándose de un paciente con una lipodistrofia parcial, entidad asociada a un déficit adquirido de C3 como se comentará posteriormente al exponer las peculiaridades de este último paciente.

La distribución de la población estudiada de acuerdo con el número de infecciones meningocócicas padecidas por cada paciente y la prevalencia de déficits de componentes del complemento con el tipo de déficits se representa en la tabla 14. Puede observarse que mientras en los 71 pacientes que presentaron un único episodio de infección meningocócica no se detectó ningún caso con déficit de complemento, entre los 13 enfermos con infección recidivante se descubrió que 4 de ellos eran portadores de un déficit aislado, congénito en 3 casos y adquirido en el cuarto caso. Esto supone una incidencia del 30.7% de déficits entre los pacientes con infección meningocócica recidivante.

F.2. Estudio familiar de las estirpes con déficit de C8.- Los tres pacientes identificados en el presente estudio con déficit completo de C8 pertenecen a dos estirpes (Figuras 19 y 20). Dos de ellos son hermanos (estirpe A) mientras que el otro paciente es miembro de una familia no relacionada con la anterior (estirpe B).

En la estirpe A se estudiaron un total de 9 miembros pertenecientes a tres generaciones. En ellos se determinó el título de CH-50 y posteriormente, utilizando suero deficiente en C8 y según técnica previamente descrita, los títulos hemolíticos de C8 (C8H50) en cada uno de ellos. Los va-

lores se expresan en la tabla 15 en la que puede observarse como además de los dos "casos índice" aparece un tercer miembro con ausencia de actividad hemolítica en su suero, mientras que el resto de individuos muestran unos valores de CH-50 dentro de límites normales. Sin embargo, los títulos de C8H50 en estos individuos oscilan alrededor del 50% de los valores normales, determinados sobre 20 donantes sanos.

El restante individuo de esta estirpe homocigoto para el déficit de C8, es una mujer de 22 años, hermana de los casos índice, que tiene historia de 2 meningitis meningocócicas a las edades de 16 y 18 años respectivamente. -- Los demás miembros de la estirpe con niveles de C8 alrededor del 50% de los valores normales y por tanto heterocigotos para el déficit de C8, no tenían historia de infecciones por Neisseria. De esta forma puede confeccionarse el árbol genealógico de la estirpe tal y como se muestra en la figura 19. Adicionalmente se determinaron mediante nefelometría las concentraciones de C3, C4, IgG, IgA, e IgM de todos los miembros de la estirpe, sin que se registrasen anomalías en sus niveles (Tabla 15).

En la estirpe B se estudiaron 5 miembros pertenecientes a dos generaciones. Los niveles de CH-50 fueron normales en todos los miembros a excepción del propositus (tabla 16). Sin embargo, los títulos de C8H50 determinados en los padres y una hermana del propositus, alcanzaron niveles del 50% de los valores normales, por lo que pueden ser considerados como heterocigotos para el déficit de C8. Al igual -- que como sucedía en la estirpe A con los sujetos heterocigotos, ninguno de ellos presentaba historia previa de infección por Neisseria. La figura 20 muestra el árbol genealógico de la estirpe. Los niveles de C3, C4 e inmunoglobulinas en todos los miembros fueron normales.

Miembro	CH50	C8H50	C3 y C4	Ig.
I-1	33	4.000	N.	N.
I-2	35	5.500	N.	N.
II-1*	<5	<5	N.	N.
II-2*	<5	<5	N.	N.
II-3	20	2.500	N.	N.
II-4	<5	<5	N.	N.
II-5	37	6.000	N.	N.
III-1	50	6.000	N.	N.
III-2	30	5.500	N.	N.
Valores normales	26-46 UH/ml	9.000-14.000 UH/ml		

Tabla 15.- Niveles de CH50 , C8H50, C3, C4 e inmunoglobulinas en los miembros de la estirpe A con déficit de C8.

(*): casos índice. (N): valores normales.

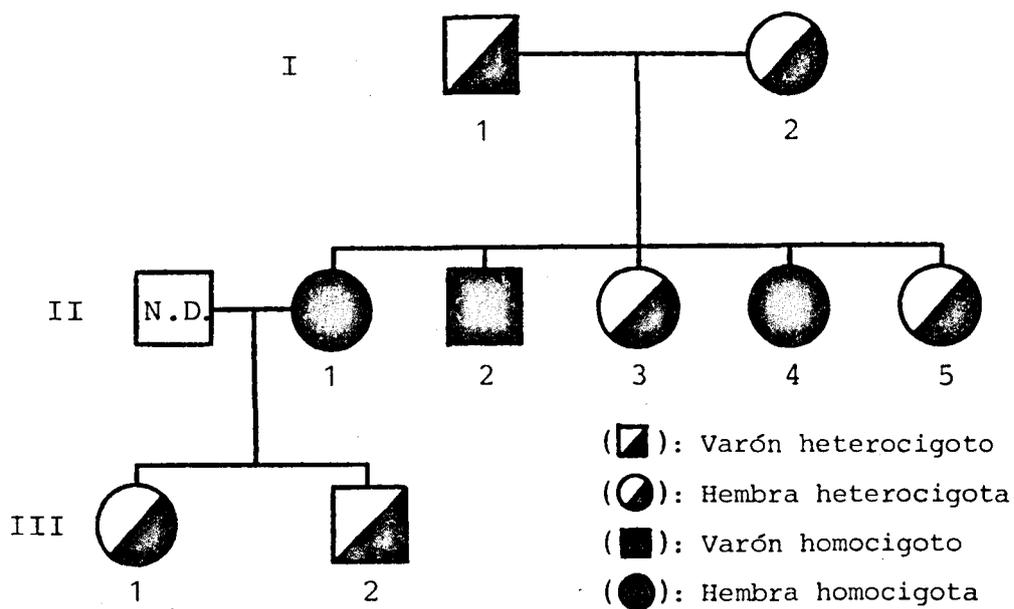


Figura 19.- Estirpe A con déficit de C8.

(N.D.): no determinado.

Miembro	CH50	C8H50	C3 y C4	Ig.
I-1	39	5.000	N.	N.
I-2	21	4.600	N.	N.
II-1*	<5	<5	N.	N.
II-2	38	4.800	N.	N.
II-3	32	N.D.	N.D.	N.D.
Valores normales	26-46 UH/ml	9.000-14.000 UH/ml		

Tabla 16.- Niveles de CH50, C8H50, C3, C4 e inmunoglobulinas en los miembros de la estirpe B
 (*): caso índice. (N): valores normales.

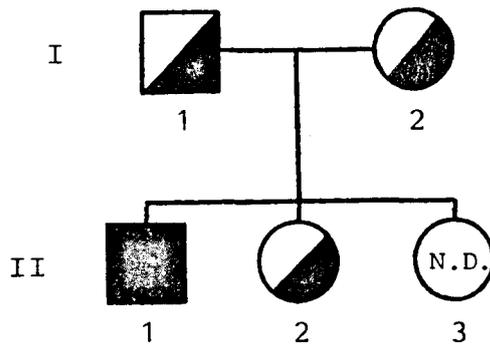


Figura 20.- Estirpe B con déficit de C8.

(◻): varón heterocigoto (■): varón homocigoto
 (◐): hembra heterocigota (N.D.): no determinado

F.3. Estudio del paciente con déficit adquirido de

C3.- El cuarto paciente con ausencia de actividad hemolítica sérica se trata de un varón de 49 años -- con historia de infecciones severas recurrentes (4 meningitis meningocócicas y 2 neumonías) desde la edad de 9 años. A partir de esta edad comenzó a notar cambios tróficos en el tejido subcutáneo de la cara y cintura escapular consistentes en disminución importante de la grasa subcutánea (fig. 21), típicos de lipodistrofia parcial, entidad asociada al déficit de C3, nefropatía y presencia de una inmunoglobulina con capacidad de activar la vía alterna del complemento, conocida como factor nefrítico o C3NeF (198).

En este paciente se han determinado, en cuatro ocasiones, los niveles de CH-50, C3, C4 y la presencia de actividad C3NeF. Los resultados se exponen en la tabla 17 y como puede observarse la actividad hemolítica del suero -- fue siempre indetectable y los niveles de C3 estuvieron -- siempre muy descendidos. En todas las muestras de suero -- analizados se demostró actividad C3NeF.

El estudio familiar de este paciente, realizado en 3 hijos y una hermana, no demostró anomalías en el sistema complemento ni presencia de actividad C3NeF. Ninguno de -- ellos presentaba antecedentes de infecciones severas.

G. PACIENTES CON ARTRITIS MENINGOCOCICA.

En ocho de los pacientes incluidos en este estudio, se desarrolló artritis. Las características clínico serológicas de estos pacientes se exponen en las tablas 18 y 19. En tres de los 8 enfermos, la artritis debutó con el resto de la sintomatología, mientras que en los otros cinco se -- inició en la fase de convalecencia del proceso, entre el -- 7^º y el 10^º días de evolución. Ninguno de los tres pacien-

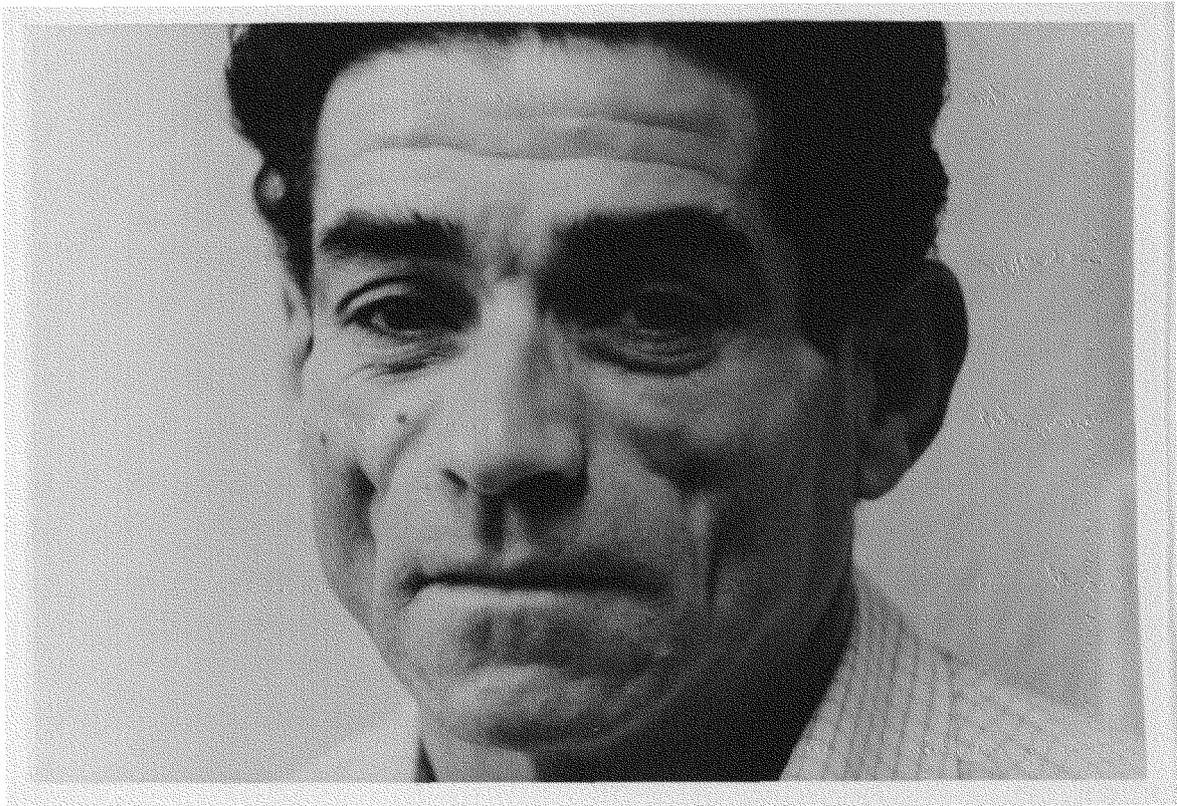


Figura 21.- Aspecto típico del paciente con lipodistrofia parcial. Puede observarse la pérdida de la bola adiposa de Bichat.

Actividad clínica	CH50	C3	C4	C3NeF
Fase aguda	< 5	51	37	+
1 semana después	< 5	59	26	+
1 mes después	< 5	34	32	+
1 año después	< 5	37	33	+

Tabla 17.- Niveles de CH50, C3 y C4 y actividad C3-Nef del paciente con lipodistrofia parcial, en las muestras de suero analizadas. Valores normales de C3: 83-177 mgr% y de C4: 15-45 mgr%.

tes con artritis de comienzo precoz tuvo meningitis y por tanto pertenecen al grupo III de nuestra clasificación. - De los cinco pacientes con artritis tardía, tres pertenecen al grupo II (meningitis más sepsis) y dos al grupo IV, uno de los cuales tampoco llegó a desarrollar meningitis. La duración de la artritis en los pacientes con comienzo precoz osciló entre 3 días y 1 mes (media 12 días) mientras que en el otro grupo varió entre 2 semanas y 2 meses (media 26 días). La afectación fue mono u oligoarticular en todos los casos, siendo las rodillas y los tobillos -- las articulaciones más frecuentemente afectadas.

Se logró aislar la *Neisseria Meningitidis* en siete de los ocho casos mientras que en el restante se llegó al diagnóstico de enfermedad meningocócica por un cuadro clínico típico de fiebre, exantema petequial y criterios de shock endotóxico. El cultivo fue positivo en el líquido cefalorraquídeo de los cuatro pacientes que desarrollaron meningitis, en dos pacientes se aisló el germen del exudado de lesiones cutáneas pustulosas, uno de los cuales presentó hemocultivos positivos, mientras que sólo en uno de los 6 pacientes en que se cultivó el líquido sinovial se logró aislar el germen de la articulación afecta.

G.1. Características serológicas..- Se han determinado los niveles de I.C.C., C3 y C4 en todos los pacientes - en la fase aguda y en 6 de ellos en la fase de convalecencia. Los resultados se exponen en las tablas 19 y 20. No se detectaron I.C.C. en ninguna de las fases de la enfermedad en los 3 pacientes con artritis de comienzo precoz. En cambio en los pacientes del segundo grupo se comprobó la existencia de I.C.C. en la fase aguda en 2 de los 5 casos, mientras que en la fase de convalecencia se demostraron en 3 de los 4 casos estudiados. A pesar de que la muestra es muy reducida y no permite obtener conclusiones significati-

Grupo	Comienzo de la artritis		Duración artritis	Articulaciones afectas	Demostración del meningococo	Tratamiento
	Tipo	Días evol.				
1 - III	Precoz	19	1 mes	(2): Rodilla y metacarpofalángica	Sangre y exudado de heridas	Penicilina-G
2 - III	Precoz	29	3 días	(1): Rodilla	Exudado heridas	Penicilina-G
3 - III	Precoz	19	5 días	(1): Tobillo	Liq. sinovial	Penicilina-G
4 - II	Tardío	79	2 meses	(2): Muñeca y rodilla	L.C.R.	A.I.N.E.
5 - IV	Tardío	99	3 sem.	(4): Rodillas y tobillos	No se aisló	Penicilina-G y esteroides
6 - II	Tardío	79	3 sem.	(1): Rodilla	L.C.R.	A.I.N.E.
7 - IV	Tardío	89	2 sem.	(1): Tobillo	L.C.R.	A.I.N.E.
8 - II	Tardío	109	2 sem.	(1): Codo	L.C.R.	A.I.N.E.

Tabla 18.- Características clínicas de los pacientes con artritis meningocócica.
(A.I.N.E.): antiinflamatorios no esteroideos.

Paciente	Comienzo de la artritis	FASE AGUDA			FASE DE CONVALECENCIA				
		ICC Raji	ICC C1q	C3	ICC Raji	ICC C1q	C3	C4	
1	Precoz	-	-	237	50	-	-	210	43
2	Precoz	-	-	152	36	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3	Precoz	-	-	155	38	-	-	132	29
4	Tardio	-	52	177	58	-	97	212	36
5	Tardio	-	-	136	28	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
6	Tardio	40	-	162	27	192	-	186	44
7	Tardio	-	-	86	18	40	-	204	34
8	Tardio	-	-	197	28	-	-	N.D.	N.D.

Tabla 19 .- Características serológicas de los pacientes con artritis meningocócica. (N.D.): No determinado.

GRUPO	FASE AGUDA		FASE DE CONVALECENCIA	
	Nº Ptes. estudiados	Nº Ptes. con ICC %	Nº Ptes. estudiados	Nº Ptes. con ICC %
Pacientes sin artritis	132	12 9%	89	18 20%
Artritis de comienzo precoz	3	0 0%	2	0 0%
Artritis de comienzo tardío	5	2 40%	4	3 75%

Tabla 20.- Análisis comparativo de la presencia de ICC entre los pacientes sin artritis y los dos subgrupos de enfermos con artritis meningocócica.

vas, se aprecia una tendencia a la ausencia de I.C.C. en los pacientes con artritis de comienzo precoz y a la presencia de estos, en ambas fases de la enfermedad, en aquellos con artritis de comienzo tardío, siendo ello más frecuente y - sus niveles más elevados en la fase de convalecencia.

Los niveles de C3 y C4 estuvieron dentro de límites normales en todos los casos, no permitiendo el tamaño de - la población realizar un análisis comparativo entre ambas fases de la enfermedad en ambos grupos de pacientes.

V. DISCUSIÓN

V.- DISCUSION

La infección meningocócica tiene aún una mortalidad considerable (5-10%) a pesar del importante desarrollo de la antibioterapia (6,8). Una característica peculiar de esta enfermedad es que su curso evolutivo varía grandemente de unos pacientes a otros. Así entre el individuo que padece una simple meningitis que evoluciona favorablemente en 3 ó 4 días y el que presenta una coagulación intravascular diseminada y fallece antes de las 24 horas de -- iniciado el proceso, existen todos los grados de afectación clínica. Ello probablemente dependa de la actuación de los diversos sistemas humorales y celulares que intervienen en la patogenia de la enfermedad.

Autores como Niklasson y cols (199), Lewis (200) o Andersen (201), han propuesto una serie de factores pronósticos en la meningococemia aguda. Así Lewis encuentra una elevada mortalidad en aquellos pacientes que desarrollaron shock o coma (93%), sobre aquellos que no presentaron ninguna de estas complicaciones (mortalidad del 6%). Niklasson y cols. señalan que la concurrencia de 3 ó más de los siguientes hallazgos: ausencia de meningitis, hipotensión, aparición de petequias antes de 12 horas, temperatura rectal superior a 40°C, trombopenia y ausencia de leucocitosis marcada, se acompañan de un pronóstico desfavorable en un elevado porcentaje de los casos. Posteriormente Andersen (201) utilizando estos mismos criterios de Niklasson, en un estudio sobre 124 pacientes, encuentra -- que el factor pronóstico más desfavorable, de los anteriormente mencionados, es la presencia de hipotensión sistólica a la admisión del paciente.

En el presente estudio apoyándonos en los trabajos de estos autores, hemos confeccionado 4 categorías de pa-

cientes, atendiendo a criterios exclusivamente clínicos:

En primer lugar se han considerado aquellos pacientes que presentaron exclusivamente meningitis sin signos cutáneos o de afectación de órganos internos sugestivos de sepsis meningocócica. Representa teóricamente el grupo de menor gravedad. En los 12 pacientes que componen este grupo la evolución del proceso infeccioso fue satisfactoria tras la instauración de la terapéutica antibiótica.

En un segundo grupo se han incluido los enfermos que, además de la meningitis, presentaron signos cutáneos de sepsis, independientemente del número o la extensión de las lesiones petequiales. Al igual que el grupo anterior estos pacientes no representan en principio un elevado riesgo y de hecho los 74 enfermos incluidos en esta categoría evolucionaron a la curación total con tratamiento médico.

En un tercer grupo se han incluido 20 pacientes que presentaron signos cutáneos de sepsis pero su líquido cefalorraquídeo no mostró leucocitosis superior a 100 células/mm³, y no mostraban signos clínicos de meningitis. Este grupo representaría una mayor gravedad según Niklasson y cols (199) y Stiehm y cols (202). Hemos de señalar no obstante que ninguno de los pacientes estudiados en este grupo tuvo un pronóstico fatal.

Finalmente con aquellos pacientes que presentaron shock aislado o en asociación a una coagulación intravascular diseminada (CID) se ha formado un cuarto grupo, considerado como el de mayor gravedad. Este ha sido el único grupo en el que se han registrado defunciones (6 de los 32 pacientes) objetivándose en todos los que fallecieron un síndrome de CID.

La distribución por edades de los individuos incluidos en el presente estudio se corresponde con la de la mayoría de los autores (205,206). El 40% de los enfermos eran menores de 5 años (Fig. 10) y de éstos el 44% (23 pacientes) tenían entre 6 y 24 meses de edad. Por otro lado sólo el 11% tiene una edad superior a los 30 años. Además de esta mayor frecuencia de la enfermedad en los niños de edad reducida, se aprecia entre ellos una tendencia a una mayor severidad del proceso. Así puede comprobarse como la edad media del grupo IV (3.1 ± 3.1 años) es sensiblemente inferior a la de los otros tres grupos. En este sentido autores como Goldschneider y cols (204) y Geiseler y cols (205) encuentran que entre los 6 meses y los 2 años de edad ocurre la mayor frecuencia de enfermedad meningocócica y que la gravedad del proceso en estas edades es máxima. La causa de esta especial predisposición de los niños menores de 2 años al proceso y su mayor gravedad residiría, como se comentará más adelante, en una inmadurez del sistema inmunitario, predominantemente humoral (203).

En el presente trabajo hemos determinado los niveles séricos de inmunocomplejos circulantes (ICC) en la fase aguda de 138 pacientes con enfermedad meningocócica, repitiéndose la determinación en la fase de convalecencia en 77 de los casos. Los resultados obtenidos se han relacionado con los niveles de CH-50, C3 y C4.

Para la determinación de los niveles de I.C.C. se han empleado dos técnicas diferentes: Radioinmunoensayo (R.I.A.) con células Raji y R.I.A. mediante Clq en fase sólida. Recientemente un comité de la Organización Mundial de la Salud (OMS) evaluó 18 métodos de determinación de I.C.C. (169). De estos se seleccionaron 6 métodos como los más sensibles y específicos: Unión a Clq en fase líquida, unión a Clq en fase sólida, el R.I.A. con células Raji, el

R.I.A. con factor reumatoide monoclonal, el test con conglutinina y el test de agregación plaquetaria. A pesar de los inconvenientes y limitaciones que cada una de estas técnicas tiene, hemos escogido, de estos métodos recomendados por la OMS, los dos antes reseñados (RIA con células Raji y unión a Clq en fase sólida) por ser los de mayor fiabilidad y los más ampliamente utilizados por la mayoría de los autores.

En enfermedades mediadas por el depósito de I.C.C. un excelente punto de referencia y señal indirecta de su presencia son los niveles de complemento (207,208). Por ello se han determinado en los pacientes con infección meningocócica los niveles de CH50, C3 y C4. En primer lugar mediante el CH50 realizamos una valoración en conjunto de la cascada del sistema complemento. Es una prueba muy sensible y su utilidad se ha puesto de manifiesto en el seguimiento de procesos de naturaleza autoinmune como la nefritis lúpica (209). Por otra parte permite la detección de un déficit aislado de cualquiera de los factores del sistema.

El C3 al estar en una posición de "bisagra" entre las dos vías permite valorar cualquier activación del sistema a través de la vía clásica o de la vía alterna, si bien no es capaz de discernir cual es el origen de la activación. Finalmente, se ha realizado también la cuantificación del C4 ya que este factor determinado conjuntamente con el C3 permite diferenciar si un consumo de este último se realiza a través de una u otra vía del complemento. Un descenso de C3 y de C4 orientará hacia una activación a través de la vía clásica y podrá sugerir, entre otros agentes activadores, la presencia de I.C.C. En cambio niveles normales de C4 y descendidos de C3 hablan en favor de una activación por la vía alterna.

A. SIGNIFICACION DE LOS ICC EN LA INFECCION MENINGOCOCICA.

En 29 de los 138 pacientes estudiados se encontraron niveles patológicos de I.C.C. en algún momento de la enfermedad, no demostrando el análisis estadístico diferencias entre ninguno de los 4 grupos. Un hecho significativo es que los niveles de I.C.C. en aquellos pacientes en que se lograron demostrar, fueron siempre de escasa cuantía no -- llegando prácticamente nunca a sobrepasar los 100 μ gr Equiv. de IgGHA/ml por cualquiera de las 2 técnicas utilizadas.

Al analizar comparativamente los resultados obtenidos en la fase aguda respecto a los encontrados en la fase de convalecencia se observa un dato importante. En la fase de convalecencia del proceso, aun no alcanzándose una frecuencia elevada de individuos con I.C.C. (27%), es no obstante muy superior que en la fase aguda ($p < 0.005$). Considerando que a partir de los 2 años de edad el porcentaje de individuos con anticuerpos frente a las estructuras antigénicas del meningococo es elevado (34,204), sería de esperar una frecuencia mayor de I.C.C. en la fase aguda de la infección. Sin embargo, los resultados obtenidos obligan a considerar al menos tres posibilidades: a) que los IC sean de gran tamaño (IC formados en exceso de anticuerpos), con lo cual son rápidamente aclarados por el sistema mononuclear fagocítico, siendo pues poco nocivos para el organismo y por lo tanto no detectados en los ensayos de laboratorio. b) Una segunda posibilidad sería el que los I.C.C. se depositen rápidamente en los tejidos, con lo cual tampoco serían detectables pero podrían producir lesiones en los lugares donde se depositen. Como se comentará posteriormente, el hecho de no encontrarse un descenso en los niveles de C3 y fundamentalmente de C4 no favorece esta posibilidad. c) Finalmente puede argumentarse que la escasa

incidencia de I.C.C. en la fase aguda de la enfermedad meningocócica obedece a que el nivel de anticuerpos existentes con anterioridad al comienzo de la infección sea probablemente bajo, siendo necesario un estímulo antigénico más potente para que se produzcan en cantidad suficiente como para producir niveles detectables de I.C.C.

A.1. I.C.C. en la fase aguda. Ausencia de los mismos en las formas graves.- Los resultados de la detección de I.C.C. en la fase aguda de la enfermedad de los 138 pacientes incluidos en este estudio, ofrecen también datos interesantes: La incidencia de positividad en los grupos III y IV, considerados como de mayor gravedad, es bastante menor que en los grupos I y II, clínicamente más benignos. Esta menor frecuencia alcanza significación estadística sólo en el grupo IV.

La primera idea que se desprende de estos datos es que los I.C.C. no parecen jugar un papel relevante en el desarrollo de las manifestaciones más severas de la enfermedad meningocócica, puesto que su frecuencia es menor en los grupos de mayor gravedad. La existencia de niveles normales de C3 y C4 en estos pacientes, salvo en el subgrupo de enfermos con CID, apoya este concepto.

En segundo lugar y valorando estos hallazgos junto a la diferencia en la detección de I.C.C. entre ambas fases de la enfermedad podría sugerirse : a) Que los pacientes en los que se desencadena la infección son precisamente aquellos con bajos niveles de anticuerpos previos a la enfermedad, estando por lo tanto desprotegidos frente a la colonización nasofaríngea del meningococo. Este argumento se ve apoyado por el hecho de que los niños con edad comprendida entre los 6 y los 24 meses, en los que el nivel de anticuerpos frente a la N. Meningitidis es bajo (34), -

presente con mayor frecuencia la enfermedad y por el hallazgo de títulos elevados de anticuerpos en portadores asintomáticos de los serogrupos B, C o Y, entre personal militar (204). En nuestra serie dos de los 23 niños con edades entre los 6 meses y los 2 años presentaron niveles valorables de I.C.C. en la fase aguda lo cual supone un 8.6%. -- Aunque esta proporción es inferior a la del resto del grupo (10.4%), la diferencia no es estadísticamente significativa. Sin embargo, ninguno de estos 2 niños desarrolló una forma severa de infección meningocócica. b) Adicionalmente la presencia de niveles bajos de anticuerpos, previos al inicio de la enfermedad no sólo podría predisponer al desencadenamiento de ésta sino también a que se desarrolle un cuadro clínico mucho más severo.

Otro aspecto a tener en cuenta dentro del papel de los I.C.C. en la fase aguda de la infección meningocócica es el de su posible intervención en el desarrollo de las manifestaciones cutáneas en la meningococemia. Estas cumplen los criterios histológicos de una reacción de Shwartzman local tales como presencia de trombos compuestos de -- leucocitos, plaquetas y fibrina en la luz vascular con progresión a necrosis hemorrágica. Sin embargo, Sotto y cols (210) utilizando microscopía electrónica encuentran depósitos de material floculento, que interpretan como complejos antígeno-anticuerpo, entre las células endoteliales. Estos autores sugieren que factores inmunológicos, tales como -- I.C.C., probablemente contribuyen de forma adicional a la patogénesis de las lesiones cutáneas en la meningococemia. Nuestros hallazgos no vienen a corroborar esta teoría ya que sólo el 8.7% de nuestros pacientes con exantema petequial presentaba niveles detectables de I.C.C. en la fase aguda de la enfermedad.

A.2. Significación de los I.C.C. en la fase de convalecencia de la infección meningocócica.- El porcentaje de pacientes con I.C.C. en la fase de convalecencia es significativamente superior al de la fase aguda como se ha comentado previamente. Existe además otra diferencia importante con respecto a la fase aguda y es que la incidencia de positividades en la detección de I.C.C. aunque sigue siendo mayor en los grupos de menor gravedad, no existen diferencias estadísticamente significativas respecto a los grupos III y IV, mostrando en cambio una gran uniformidad entre los cuatro grupos. Por lo tanto los resultados obtenidos no diferencian ningún subgrupo clínico en esta fase de convalecencia.

Adicionalmente estos hallazgos sugieren la formación de niveles de anticuerpos superiores a la fase aguda como resultado de la exposición a dosis importantes de antígeno. En este sentido Goldschneider y cols (204), Artenstein y cols (211) y Wyle y cols (38) encuentran niveles importantes de anticuerpos a partir del 4^a a 7^a días tras el comienzo de la sintomatología.

B. SIGNIFICACION DEL COMPLEMENTO EN LA ENFERMEDAD MENINGOCOCICA.

B.1. Niveles de CH-50.- Los niveles de CH-50 en ambas fases de la enfermedad estuvieron dentro de límites normales, si bien en el período de convalecencia el valor medio es más elevado. Sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa. Estos hallazgos pueden sugerir la existencia de un consumo de complemento en la fase aguda de la enfermedad. El grado de consumo es difícil de predecir debido a la propiedad que tienen los factores del complemento de comportarse como reactantes de fase aguda (42). En efecto, la síntesis de las proteínas del -

complemento, que en condiciones normales tiene lugar en el hígado, puede ante determinadas situaciones de stress producirse por otras células, fundamentalmente los macrófagos (116). Así Ruddy y cols (212) demuestran la síntesis de C3 en la membrana sinovial de pacientes con artritis reumatoide y en este sentido están también los trabajos de Littman y cols (213) que encuentran una síntesis de C2 por los monocitos humanos, estimulados por una linfoquina producida por linfocitos sensibilizados, tras exposición a un antígeno.

A pesar de esta circunstancia, el hecho de que los niveles de CH-50 se encuentren muy por encima del límite inferior de la normalidad, sugiere que aun en caso de existir consumo de complemento, no es demasiado importante. No obstante nuestros resultados no pueden ser contrastados -- con otros datos de la literatura ya que no hemos encontrado otros trabajos en que se estudien de forma sistemática los niveles de CH-50 en pacientes con enfermedad meningocócica.

B.2. Valor del C3 en la infección meningocócica.-

No existen diferencias en los niveles de C3 entre los cuatro grupos de pacientes del presente estudio, a excepción del subgrupo constituido por los 10 pacientes con C.I.D. - en los que existe un notable descenso de los niveles de este componente del complemento. De esta forma, similar a como ocurría con el CH-50, los valores se encuentran dentro de los límites normales de nuestro laboratorio, lo cual -- apoya la idea de que el consumo de complemento en la fase aguda de la enfermedad meningocócica no es importante.

El descenso de los niveles de complemento en pacientes con coagulación intravascular ya ha sido comunicado en varias ocasiones en la literatura (214,215,216). En nues -

tros pacientes, el descenso de C3 se ha acompañado de una disminución en los niveles de C4, también estadísticamente significativo en comparación con el resto de pacientes. La activación del complemento a través de sus dos vías, - clásica y alterna, es conocida en estos pacientes por los mecanismos expuestos en otra sección del presente trabajo (76,78,85). Este descenso importante del C4 apoya fundamentalmente una activación a través de la vía clásica mediante un efecto directo de la plasmina, producida tras activación del factor Hageman, sobre el primer componente de la vía clásica del complemento, el C1q (84).

El análisis comparativo de los niveles de C3 entre las fases aguda y de convalecencia entre los cuatro grupos de pacientes permitió obtener diferencias significativas solamente en los grupos II y IV. La diferencia en este último grupo dejó de existir tras la exclusión de los pacientes con C.I.D. La diferencia significativa que existe en el grupo II se debe fundamentalmente a unos niveles más elevados del C3 en la fase de convalecencia que en el resto de los grupos, unido probablemente al hecho de que en este grupo el tamaño de la muestra estudiada fue mayor que en el resto. Estos datos al igual que los del CH-50 sugieren una activación del complemento durante la fase aguda del proceso, cuya cuantía es difícil de valorar por el carácter del C3 de reactante de fase aguda, aunque como se apuntó anteriormente no parece muy importante.

B.3. Valor de los niveles de C4 en la enfermedad meningocócica.- Un comportamiento similar al C3 en la fase aguda se observa con los niveles de C4. Mediante análisis de la varianza no hemos obtenido diferencias significativas entre los 4 grupos. Es decir ni el C3 ni el C4 diferencian ningún subgrupo clínico, a excepción de los pacientes con CID.

Sin embargo, el análisis comparativo de los niveles de C4 entre las fases agudas y de convalecencia permite - obtener unos datos algo distintos del C3. La diferencia - entre ambas fases del proceso es mínima en los 4 grupos - (en el grupo IV, naturalmente tras exclusión de los pacientes con CID), no existiendo diferencia estadísticamente - significativa en ningún caso. Esta igualdad en los nive - les de C4 sugiere que salvo en los pacientes con CID en - los que parece existir claramente una actividad del com - plemento a través de la vía clásica, en el resto se respe - ta la integridad de esta vía. Así pues la posible activa - ción del complemento, sugerida ante los hallazgos del CH - 50 y C3, se tendría que realizar a través de la vía alterna, probablemente por acción de la endotoxina meningocócica. Nuestros resultados están de acuerdo con los de Fea - ron y cols (181) que demuestran activación de la vía al - terna del complemento en pacientes con bacteriemia por -- Gram-negativos, con integridad de la vía clásica, pero di - fieren de los de García-Fuentes y cols (180), que encuen - tran un descenso en los niveles de C1q y C4 en todos sus pacientes con infección meningocócica.

C. CARACTERISTICAS PECULIARES DEL GRUPO DE PACIENTES CON ARTRITIS MENINGOCOCICA.

En el presente apartado se analizan 8 pacientes que - presentaron artritis en algún momento de la evolución de su en - fermedad. En 3 de ellos el comienzo fue precoz y respondían al tratamiento con antibióticos. Pertenecen pues al primer gru - po de artritis meningocócicas de las clasificaciones de - Pinals y cols (11) o de Fam y cols (217). Estas artritis - se caracterizan por estar mediadas por la presencia direc - ta del germen en la cavidad articular y constituyen un fo - co séptico más de la diseminación hematógica del germen. - La detección de I.C.C. en estos pacientes fue negativa lo - cual concuerda con lo que cabía esperar. Sin embargo, nues -

tros datos no pueden ser contrastados con otros existentes en la literatura ya que no existe ninguna serie publicada de pacientes con artritis meningocócica en los que se haya buscado la presencia de I.C.C. y lo único que se encuentra son casos aislados, todos con artritis de aparición tardía.

Probablemente, más interesantes sean los otros cinco pacientes con artritis de comienzo entre el 7^a y el 10^a días de evolución de la enfermedad, cuando se encontraban prácticamente asintomáticos del proceso agudo infeccioso. En ninguno de estos casos se logró aislar el germen de la articulación afecta y en todos se produjo el restablecimiento completo de la función articular tras tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos en 4 casos y tras pauta corta -- con dosis bajas de corticosteroides en el quinto. Estos pacientes pertenecen al segundo grupo de la clasificación de los autores antes citados (11,217), que abarca aquellas artritis de comienzo después de la primera semana de evolución del proceso y en las que generalmente no se aísla el germen de la cavidad articular. Por la cronología y el tipo de manifestación recuerda al modelo experimental de enfermedad del suero aguda (148) y es por ello que se ha sugerido que los I.C.C. pudieran ser el factor desencadenante de la artritis. En nuestros pacientes hemos observado niveles patológicos de I.C.C. en la fase aguda en 2 de los 5 pacientes mientras que en la fase de convalecencia se encontraron en 3 de los 4 en que se pudo disponer de suero en esta fase, coincidiendo aproximadamente la toma de la muestra del suero con el debut de la artritis. En dos pacientes en que se detectaron I.C.C. en ambas fases del proceso, los niveles fueron claramente más elevados en la fase de convalecencia. Los niveles de C3 y C4 fueron también normales en todos los casos.

El escaso número de pacientes con artritis no permite extraer conclusiones a nivel estadístico pero se aprecia --

una clara tendencia de los pacientes con artritis de comienzo tardío a presentar I.C.C. coincidiendo con el inicio de la artritis, cuando se compara con los pacientes que presentaron artritis precoz o con aquellos que no llegaron a padecer esta complicación. Greenwood y cols (12) encuentran un descenso en los niveles de C3 en los pacientes que desarrollan artritis de comienzo tardío o vasculitis cutánea y sugiere que los I.C.C. pudieran jugar un papel importante en el desarrollo de estas manifestaciones que tienen un perfil similar a las reacciones de hipersensibilidad. Aunque en nuestros pacientes no se objetivó una caída en los títulos de C3 o C4, la demostración de niveles patológicos de I.C.C. apoya la sugerencia de estos autores. Adicionalmente los casos aislados descritos en la literatura de pacientes con I.C.C. en la infección meningocócica (143,182, 183,184) pertenecen, salvo en uno, (182) a enfermos con artritis de comienzo tardío.

En la artritis producida en la infección diseminada por el otro germen patógeno del grupo de las Neisserias, - el gonococo, autores como Walker y cols (185) o como Manicourt y cols (187) encuentran una elevada incidencia de -- I.C.C. Manicourt sugiere que los I.C.C. mediante la producción de vasodilatación local, facilitarían la entrada de gérmenes a la cavidad articular. En la artritis meningocócica de comienzo tardío en que clásicamente se ha dicho que el líquido sinovial es estéril, este argumento no sería -- aplicable. Nuestros hallazgos de negatividad en los estudios bacteriológicos del líquido sinovial de los enfermos estudiados apoyan el concepto de artritis de comienzo tardío como una artritis reactiva, posiblemente mediada por - el depósito de I.C.C.

D. CONSIDERACIONES PATOGENICAS SOBRE LA INFECCION MENINGOCOCICA A LA LUZ DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

Bajo el término de enfermedad meningocócica se agrupan una serie de manifestaciones clínicas producto de la interacción de una variedad de sistemas biológicos, humorales y celulares, que confieren al proceso una personalidad diferenciada dentro del espectro de las enfermedades infecciosas.

El alto nivel de inmunidad natural en neonatos frente a la *Neisseria Meningitidis*, la elevada susceptibilidad en niños mayores de 6 meses coincidiendo con la disminución de inmunoglobulinas y el descenso del número de casos en niños mayores y adultos, sugieren que los anticuerpos humorales juegan un papel preponderante en la protección frente a la enfermedad meningocócica (203). Adicionalmente se ha comprobado un incremento importante en la tasa de anticuerpos tras el desencadenamiento de la infección (38).

Dada la gran importancia de la presencia de anticuerpos, se ha sugerido que los I.C.C. pudieran jugar algún papel en la sepsis meningocócica. Sin embargo, hasta la actualidad no existía ningún estudio sistemático sobre I.C.C. en infección meningocócica que ayudase a esclarecer el tema. Por ello nuestros datos, al ser los únicos existentes al respecto, no pueden ser contrastados con los de otros autores.

Un hecho importante destaca de los resultados obtenidos y es que los I.C.C. circulantes no parecen tener un papel patogénico relevante en aquellas manifestaciones agudas de la enfermedad, que en definitiva van a condicionar su pronóstico, como es el desarrollo de shock o de coagula

ción intravascular diseminada. Otros factores, como la endotoxina bacteriana parecen tener una intervención más destacada en estas manifestaciones. Tampoco sugieren nuestros datos una acción de los I.C.C. en el desarrollo de las lesiones cutáneas típicas de la sepsis meningocócica, apoyando el concepto de que una reacción de Shwartzman localizada es el sustrato patogénico de estas lesiones (80,81). La presencia de I.C.C. justificaría únicamente una serie de manifestaciones menos severas de la meningococemia, de escasa trascendencia pronóstica, que aparecen en la fase de convalencia del proceso y que recuerdan a las lesiones mediadas por mecanismos de hipersensibilidad como son la denominada artritis post-meningocócica o la vasculitis cutánea de la fase de convalecencia como apuntan Greenwood y cols (12).

Los datos obtenidos en el presente estudio sobre los niveles de C3 y C4 en la enfermedad meningocócica están en consonancia con la ausencia de I.C.C. ya que salvo en un grupo muy especial de pacientes con C.I.D. no se demuestra activación del complemento a través de su vía clásica en ningún momento. En todos los grupos, los niveles de C3 están más elevados en la fase de convalecencia. Esta diferencia entre ambas fases, sólo alcanza significación estadística en el grupo II, pero dado que este grupo es, con mucho el más numeroso, pensamos que en conjunto se aprecia una diferencia valorable entre ambas fases y ello puede sugerir, a la vista de la igualdad de los niveles de C4 la existencia de una activación a través de la vía alterna, probablemente causada por la endotoxina bacteriana. En todo caso esta activación no parece muy importante a la vista de la ausencia de niveles descendidos de C3 en la fase aguda.

Los pacientes con CID presentan un comportamiento especial del sistema complemento respecto al resto. En ellos

hemos demostrado una activación importante del complemento fundamentalmente a través de la vía clásica aunque posiblemente también exista activación a través de la vía alterna. Esto, en principio, no puede ser atribuido a la presencia de I.C.C. ya que no se han demostrado en ninguno de los pacientes con C.I.D. Aquí vuelve a tomar relevancia de nuevo el papel de la endotoxina bacteriana activando la vía clásica, como se ha demostrado anteriormente que puede ocurrir a través del factor Hageman y de la plasmina (83,84).

Así pues destaca sobre todos los posibles mecanismos patogénicos conocidos en la infección meningocócica la acción de la endotoxina bacteriana. La capacidad de este lipopolisacárido de la pared bacteriana de poner en funcionamiento toda una serie de mecanismos biológicos tanto humorales como celulares, puede por si misma explicar todo el espectro de manifestaciones clínicas del proceso. En efecto, la endotoxina es capaz de activar tanto el complemento como el sistema de la coagulación a través de todos los mecanismos conocidos (76,78,79,89). Además el lipopolisacárido es capaz de activar los sistemas de las prostaglandinas y de las endorfinas, puestos de relevancia por varios autores en el desencadenamiento de manifestaciones severas del shock endotóxico (66,95,97,102). Junto a esto se ha demostrado la capacidad de la endotoxina de estimular receptores celulares de los leucocitos, fundamentalmente macrófagos, e inducir así una respuesta celular capaz de provocar daño tisular a varios niveles (114,115,116). Sin embargo, no está absolutamente definido el papel de la endotoxina como único responsable de las manifestaciones graves de la enfermedad. Así Tubbs (127) aunque detecta endotoxina en el líquido cefalorraquídeo y el plasma de todos sus pacientes con infección meningocócica, no encuentra una relación entre los niveles de endotoxina con respecto al curso clínico de la enfermedad o a los parámetros

patofisiológicos y sugiere que o bien la endotoxina sólo contribuye en parte al desarrollo del shock, la C.I.D. y la activación del complemento o si es el factor principal no exista una relación cuantitativa y quizá la endotoxina ejerza su efecto máximo a bajos niveles. Esto iría de acuerdo con los trabajos de Ducker y cols (125) los cuales observan que cantidades ínfimas de endotoxina meningocócica administradas en los ventrículos cerebrales de perros, -- son capaces de producir serias manifestaciones sistémicas como shock o edema agudo de pulmón.

E. DEFICITS DE COMPLEMENTO.

Existen numerosos datos en la literatura que asocian el déficit de los últimos factores del complemento con infecciones recidivantes por Neisserias (50,53,54,55). Así mismo se ha apuntado en algunos trabajos que la incidencia de déficits de algún factor del complemento entre individuos con infección meningocócica esporádica oscila entre el 7 y el 15% (62,63,218). Sin embargo, la frecuencia de déficits de factores del complemento en pacientes con enfermedad meningocócica recurrente es desconocida.

En el presente trabajo hemos determinado el CH-50 en 84 pacientes con enfermedad meningocócica, en 13 de los -- cuales existía historia previa de otro episodio similar, -- encontrándose que los 71 pacientes con un solo episodio de enfermedad meningocócica tenían valores normales de CH-50, mientras que en 4 de los 13 individuos con infección recidivante existía una ausencia de actividad hemolítica. Esto supone una frecuencia del 30.7% de los individuos con sepsis de repetición.

Posteriormente se han identificado los tipos de déficit, resultando ser en un caso un déficit adquirido de C3 y

en los otros tres un déficit congénito de C8.

E.1. Peculiaridades de los pacientes con déficit de

C8.- Dos de los tres pacientes con déficit de C8 eran hermanos. Nos encontramos pues con dos estirpes - familiares en las que existe un déficit aislado de un fac tor del C' y en las que interesaba comprobar si existían sujetos homocigotos para este déficit que no hubieran pre sentado enfermedad por Neisseria o bien si existían sujetos heterocigotos con antecedentes de enfermedad.

En la estirpe A se estudiaron un total de 9 miembros y además de los dos casos índice se detectó otro miembro - mas con déficit completo de C8. Se trataba de una hembra - que había presentado anteriormente dos episodios de meningitis meningocócica. Los 6 miembros restantes eran heterocigotos para el déficit y ninguno de ellos tenía antecedentes de infección por Neisserias. En la estirpe B los 4 -- miembros estudiados, además del caso índice, presentaban - una actividad hemolítica sérica normal y en los tres en -- que se pudo realizar la cuantificación del C8 se encontró que eran heterocigotos para el déficit, aunque ninguno de ellos tenía historia previa de infecciones severas.

El déficit congénito de C8 ha sido comunicado en los últimos años en varias estirpes (61,219,55,220,221,222,223, 59,224). Un resumen de los datos existentes en la literatu ra se recoge en la tabla 21. En la mayoría de los casos, - como puede comprobarse, se ha observado la asociación con infecciones recurrentes por N. Meningitidis y N. Gonorrhoeae. En el resto de los casos se ha asociado a procesos no infe ciosos tales como xeroderma pigmentosum, lupus eritematoso sistémico, drepanocitosis y un síndrome mal definido consis tente en hepatoesplenomegalia, elevación de la V.S.G., hi pergammaglobulinemia y eosinofilia. En cinco de los pacien

AUTOR	Nº casos	Enfermedad asociada
PETERSEN (1976)	1	Infección gonocócica recurrente
GIRALDO (1977)	3	Xeroderma pigmentosum
JASIN (1977)	1	Lupus eritematoso sistémico
SNYDERMAN (1978)	1	Endocarditis gonocócica y sepsis estafilocócica
AGNELLO (1978)	1	Drepanocitosis
TEDESCO (1980)*	2	Cuadro indefinido (hepatoespleno- megalia, VSG alta, eosinofilia, e hipergammaglobulinemia).
MATTHEWS (1980)*	1	Infec. meningocócica recurrente
VEEDER (1981)**	1	Infec. meningocócica recurrente
TSCHOPP (1981)*	3	Infec. meningocócica rec. (2 casos) Infec. gonocócica rec. (1 caso).
PRESENTE TRABAJO	4	Infec. meningocócica recurrente.

Tabla nº 21.- Resumen de los casos publicados con déficit congé-
nito de C8. (*): molécula de C8 defectuosa, detectable antigéni-
camente. (**): déficit de IgA asociado.

tes se han detectado, mediante anticuerpos específicos, - cantidades apreciables de C8 circulante, aunque sin actividad funcional, sugiriendo la existencia de una molécula defectuosa (222,223,224). En todos los casos de déficit - de C8 como en el resto de los déficits congénitos del complemento se ha observado un patrón de herencia de carácter autosómico codominante (61,219,222).

En el presente trabajo se presentan 4 pacientes de dos estirpes familiares con ausencia total de actividad hemolítica de C8. Al no haberse realizado estudio inmunológico desconocemos si esta ausencia de actividad hemolítica se debe a la carencia de C8 o a la presencia de una molécula no funcionante. Todos los individuos homocigotos para este déficit presentaron episodios repetidos de sepsis meningocócica. Por el contrario no se produjeron infecciones similares en ningún familiar, que como se ha visto son todos heterocigotos para dicho déficit, a pesar de que en algún caso los títulos de C8H50 estaban muy disminuidos. La ausencia de enfermedad en los portadores heterocigotos de un déficit congénito de cualquier factor del complemento - es un hecho que se repite en prácticamente todos los casos descritos (61,219,222,59). Ello hace suponer que cada una de las proteínas que componen el sistema complemento posee un gran poder enzimático ya que mínimas cantidades de la misma son suficientes para proteger al individuo de la enfermedad asociada en sus familiares homocigotos.

En estudios realizados por varios autores (50,56,58, 223) en pacientes con déficit de los últimos componentes - del complemento se ha observado como las funciones de opsonización, fagocitosis y quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares están conservadas. Ello explicaría el que - estos individuos no presenten episodios repetidos de sepsis por bacilos Gram negativos y gérmenes encapsulados -

en los que la función de los polimorfonucleares juega un papel fundamental, tal y como se ha visto en los pacientes con déficit de C3 y C5 (51,52,225). Parece pues que el exceso de infecciones recurrentes por Neisserias en ellos no se debe primordialmente a un defecto del sistema fagocitario. Se ha demostrado por el contrario que en los casos con déficit de los últimos componentes, siempre existe una profunda disminución en la capacidad de lisar bacterias por el suero de estos pacientes, que se restablece tras la adición del componente deficitario purificado (56,58,61,59). Nicholson (60) y Petersen (61) han demostrado la necesidad del C8 en la producción de bacteriolisis, sugiriendo que el único papel de los últimos componentes del complemento en la defensa del huésped -- contra los gérmenes del grupo de las Neisserias consiste en favorecer la actividad bactericida extrafagocítica (60).

El proceso meningocócico en nuestros 4 pacientes siguió un curso clínico benigno caracterizado por la ausencia de signos clínicos y analíticos de shock endotóxico o de coagulación intravascular diseminada. Este hecho resulta llamativo en una serie de pacientes inmunológicamente disminuidos a causa de su déficit. Matthews (223) también señala este hecho y atribuye el fenómeno a dos posibles razones: tras la primoinfección se desarrolla una memoria inmunológica en el huésped que en posteriores infecciones desencadenaría una respuesta humoral potente capaz de estimular fuertemente la fagocitosis, reduciendo el número de gérmenes libres y disminuyendo por lo tanto los fenómenos de anafilaxia e hipercoagulabilidad derivados de la activación de los primeros componentes del complemento. Una segunda posibilidad es que la liberación de los complejos $\overline{C567}$ sería menos peligrosa para el individuo en tanto que su unión a receptores de membrana de polimorfonucleares, células endoteliales o plaquetas no produciría la lisis de estos ya que para ello se requiere la interven

ción adicional de C8 y C9. De esta forma los disturbios - proteolíticos o del sistema de la coagulación que pudie - ran derivarse de este mecanismo lítico, quedarán muy atenuados debido a la falta de C8 y las consecuencias sistémicas con colapso vascular serán menos probables.

E.2. Peculiaridades del paciente con déficit de C3 asociado a lipodistrofia parcial.- La lipodistrofia parcial (L.P.) es un desorden infrecuente del tejido subcutáneo, de etiología desconocida y más frecuente en mujeres, caracterizado por atrofia del estrato adiposo de la piel, de distribución simétrica generalmente y localizado en la cara y extremidades superiores en prácticamente todos los casos (226). Se asocia a otros trastornos como hipertrigliceridemia, diabetes mellitus, hipocomplementemia y glomerulonefritis membranoproliferativa (198,226,227). Es característico, aunque no constante, el hallazgo en el suero de estos pacientes de un activador de la vía alterna del complemento, el denominado factor nefrítico o C3NeF -- (198), que consiste en una inmunoglobulina capaz de unirse al complejo $\overline{C3bBb}$ de la vía alterna del complemento y de esta forma impedir la acción sobre dicho complejo de las proteínas inactivadoras (β_{1H} y C3b-inhibidor) y por lo tanto producir una activación incontrolada del sistema, manifestada principalmente por un consumo importante de C3 (Fig. 22).

Nuestro paciente además de las manifestaciones cutáneas típicas de la lipodistrofia (Fig. 21), presentaba hepatomegalia con una discreta alteración en las pruebas hepáticas y cumplía los criterios diagnósticos de diabetes mellitus del "National Diabetes Data Group" (228). En cambio no tenía evidencia clínica de nefritis. Sin embargo, el hallazgo más significativo en este paciente es el antecedente de dos neumonías bacterianas y otras tres meningitis

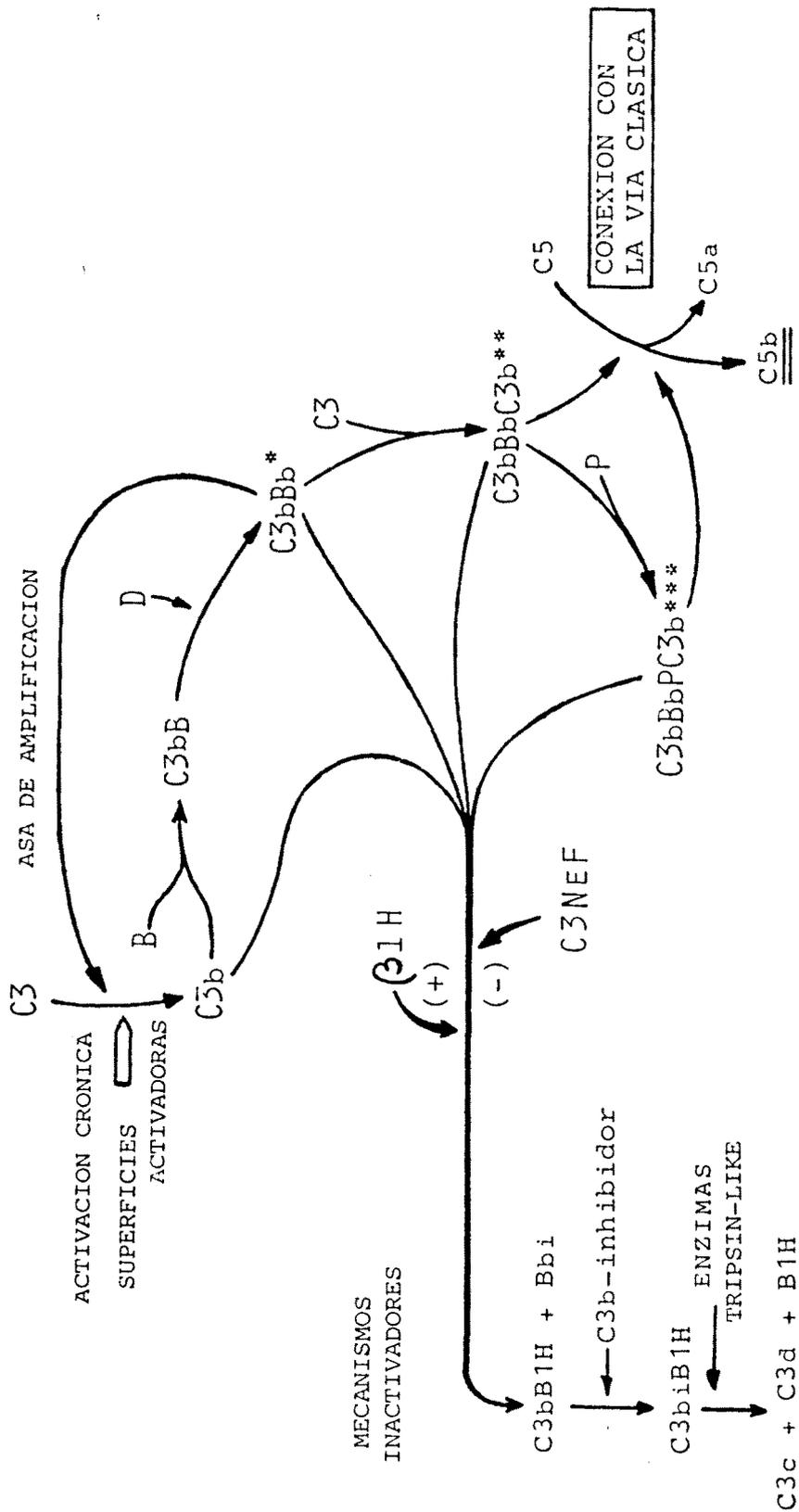


Figura 22.- Secuencia de activación e inhibición de la vía alterna del complemento. Mecanismo de acción del C3NeF. (*) : C3 convertasa labil. (**) : C5 convertasa labil. (***) : C5 convertasa estable

meningocócicas previas a la que motivó su inclusión en el presente estudio.

Aunque en la mayoría de los casos descritos de L.P. con hipocomplementemia, no se hace referencia a infecciones recurrentes (226,227,229,230) en algunas ocasiones se han comunicado casos aislados asociados con infecciones severas frecuentes (231,232,233,234). Un resumen de los datos encontrados en la literatura sobre infecciones asociadas a esta entidad se recoge en la tabla 22. Como puede comprobarse, los gérmenes causales más frecuentes son meningococo, neumococo y estafilococo.

El déficit congénito de C3 predispone a infecciones bacterianas diversas, predominantemente por bacterias Gram-negativas y neumococos (51,133,235). El déficit de C3b-inhibidor produce un efecto similar a la falta congénita de C3, debido al hiperconsumo de dicho factor, esperándose además un consumo de los demás factores, al producirse una activación continua del sistema. Sin embargo, los valores de C5 a C9 estaban dentro de límites normales en los dos casos descritos en la literatura con este defecto (236,237), uno de los cuales presentó dos meningitis meningocócicas (237). Una situación de hiperconsumo de C3 semejante al déficit de C3b-inhibidor es la que se produce en los pacientes con L.P. e hipocomplementemia por presencia de C3NeF.

Por cualquiera de los mecanismos se llega a una situación de carencia total o parcial de C3, factor pivote entre las vías clásica y alterna y por lo tanto llave para la activación del resto de los factores. Además, como se expuso anteriormente los subproductos de este factor, el C3a y el C3b, cumplen importantes funciones biológicas. De esta forma, en los sujetos con déficit importante de C3 se encuentran profundas alteraciones de la quimiotaxis de poli-

AUTOR	Infecciones asociadas	Gérmenes causales
ARKY R.A.*	Osteomielitis	?
	Infecciones urinarias recurrentes	?
ALPER C.A.*	Meningitis (1)	Neisseria meningitidis
	Neumonía (1)	Estreptococo pneumoniae
JASIN H.E.*	Otitis (1)	Estafilococo aureus
	Meningitis (1)	Neisseria meningitidis
	Neumonía (7)	?
	Infecciones urinarias (2)	?
EDWARDS K.M.**	Meningitis (3)	Neisseria meningitidis
	Neumonía (2)	Estafilococo aureus y
		Estreptococo pneumoniae

Tabla 22.- Resumen de los casos publicados con déficit adquirido de C3 por C3NeF asociados a procesos infecciosos recurrentes.

(*): pacientes con lipodistrofia parcial. (**): paciente sin lipodistrofia.

morfonucleares y de la opsonización y fagocitosis de bacterias (51,235). Asimismo Ballow y cols (235) encuentran una disminución de la movilización de neutrófilos in vivo en una lesión inflamatoria de un paciente con déficit de C3. La inmunoadherencia sin embargo está conservada, probablemente por la acción de C1 y C4 (51,235).

Todas estas circunstancias pueden explicar la predisposición de estos pacientes a padecer procesos infecciosos recurrentes. Sin embargo en los sujetos con L.P. e hipocomplementemia que padecen infecciones frecuentes, los niveles de C3 no son más bajos que en aquellos otros, más numerosos, que no tienen infecciones severas.

Para tratar de explicar este hecho se puede argumentar que estos últimos pueden no haber estado expuestos a la contaminación por gérmenes patógenos o bien que la respuesta humoral de formación de anticuerpos, tan importante como hemos expuesto en la enfermedad meningocócica, sea -- más débil entre los individuos que desarrollan infecciones.

Por último, en este paciente hay un hecho que llama la atención y es que a pesar de no tener una ausencia absoluta de C3 (su valor oscila entre 34 y 59 mg/dl en las 4 determinaciones) el CH-50 fue siempre inferior a 5 U.H./ml. Podría argumentarse la posibilidad de la existencia del déficit asociado de otro factor. Sin embargo, como se muestra en la figura 18, la adición de diversos componentes purificados del complemento diferentes del C3 no logró modificar la tasa de hemólisis.

La explicación de este dato hay que buscarla en la obtención matemática de la cifra de CH-50 a partir de las cifras de hemólisis obtenidas en el ensayo. Si en la representación gráfica de la curva formada con los porcentajes

de hemólisis no se obtiene un cruce entre esta curva y la línea del 50% de hemólisis, el CH-50 será siempre inferior a 5 U.H/ml. Esta es una característica que le da al método gran sensibilidad en cuanto a la detección del déficit -- del complemento, pero que no le capacita para diferenciar un déficit absoluto, de un déficit parcial. El hecho de -- que los sujetos heterocigotos para el déficit de C8 muestren valores normales de CH-50 apoya este último concepto.

Para diferenciar déficits absolutos de déficits parciales es preciso utilizar variantes del método clásico de CH-50 de Mayer, como puede ser el test microhemolítico descrito en el presente trabajo para la determinación del tipo de déficits.

Así, y volviendo a la figura 18, puede observarse como los porcentajes de hemólisis del paciente con déficit - de C3 oscilan alrededor del 25% mientras que en los pacientes con déficit completo de C8, salvo con la adición de este factor, son siempre insignificantes.

E.3. Interés de la detección de déficits del complemento.- La descripción de pacientes con déficit de algún factor del complemento ha contribuido de forma importante al mejor conocimiento de las funciones biológicas del sistema. El déficit de los primeros factores predispone a enfermedades de tipo autoinmune y ello ha dado pie a suponer que los primeros factores tienen una importante -- función frente a las infecciones víricas, ya que una infección vírica mantenida supone un estímulo antigénico continuo, capaz de desencadenar un proceso autoinmune. Los déficits de C3 y C5 han permitido valorar lo importantes que son las funciones de quimiotaxis y opsonización en la defensa del organismo frente a la agresión bacteriana. Finalmente los déficits de los últimos factores han puesto de -

manifiesto que una función bacteriolítica sérica deficiente deja al individuo afecto en un alto riesgo de padecer infecciones recurrentes por Neisserias.

Sin embargo, a nivel práctico, el interés del conocimiento de un déficit del complemento en un paciente determinado estriba en la posibilidad de hacer una profilaxis intensa de todas aquellas infecciones a que se encuentra predispuesto.

Algunos autores como Alper y cols (231) o como Matthews y cols (223) han utilizado con éxito la profilaxis con 1 a 2 millones de unidades de bencil penicilina administrada cada 3 ó 4 semanas.

Otro tipo de profilaxis de la infección meningocócica, que ha demostrado ser efectiva en comunidades cerradas, como centros militares, es la administración de vacunas -- (206,211). Dichas vacunas están preparadas con polisacáridos grupo-específicos altamente purificados (238). La vacunación con polisacáridos capsulares de los grupos A, C e Y ha mostrado gran efectividad (211,238,239). En cambio los intentos de inmunización frente a los meningococos del grupo B no han tenido tanto éxito probablemente por el escaso poder antigénico del polisacárido de este grupo (240). Los niveles de anticuerpos logrados mediante vacunación, persisten en adultos a títulos elevados, al menos durante 5 años no siendo recomendable la vacunación de niños menores de 6 años (241).

Por tanto ante todo paciente con infección meningocócica recurrente se debe descartar la existencia de un déficit congénito o adquirido del complemento, lo cual se puede hacer sencillamente con la realización del CH-50. Así en todos los individuos portadores de déficits de complemento,

y por lo tanto en situación de riesgo, es necesario establecer una profilaxis con vacunas o si no es posible con antibióticos, especialmente durante los meses del año de mayor incidencia de infección meningocócica.

CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

1 .- La frecuencia de niveles patológicos de inmunocomplejos circulantes en la fase aguda de la infección meningocócica, detectado por RIA con células Raji y fijación a C1q - en fase sólida, es muy baja (10%), siendo esta frecuencia menor en el subgrupo de mayor gravedad clínica.

2.- Niveles patológicos de inmunocomplejos circulantes se encuentran con mayor frecuencia en la fase de convalecencia (27%), no habiéndose observado diferencias entre los diversos subgrupos clínicos. Aunque la muestra es pequeña, los ICC han sido especialmente frecuentes en los pacientes con artritis de comienzo tardío.

3.- El estudio de los valores de C3 y C4 durante las fases aguda y de convalecencia de la enfermedad, demostrando un descenso selectivo de C3 y valores constantes de C4 en todos los grupos estudiados, apoya la existencia de una activación del complemento por la vía alterna. Ello, junto con la baja frecuencia de niveles patológicos de ICC, sugiere que la activación del sistema complemento se realiza por la acción de la endotoxina bacteriana.

4.- En los pacientes con shock endotóxico no se han observado datos que apoyen un papel patogénico de los ICC o del sistema del complemento en el desarrollo de esta grave manifestación clínica.

5.- En los pacientes con un síndrome de coagulación intravascular diseminada se observa un patrón de consumo importante de complemento que, al menos parcialmente, se inicia por la vía clásica. Dado que en los demás subgrupos no --- existe activación por la vía clásica, es razonable pensar que en estos pacientes el consumo de complemento estaría - mediado fundamentalmente por factores de la coagulación.

6.- Las conclusiones anteriormente expuestas no apoyan un papel patogénico de los inmunocomplejos circulantes en las manifestaciones sistémicas de la fase aguda del proceso. - Tampoco parecen participar en el desarrollo de las lesiones purpúricas típicas de la sepsis. Es posible no obstante, que sean responsables de manifestaciones tardías como - la artritis.

7.- El 30% de los pacientes con enfermedad meningocócica - recurrente presentaba déficit congénito o adquirido de algún componente de sistema complemento. Por tanto el despig - taje de déficits del complemento es obligado ante todo individuo con infección meningocócica recurrente.

8.- Aunque la integridad del sistema complemento es importante para la defensa del huésped contra la infección meningocócica, evidenciado por la alta frecuencia de infecci - ón recidivante en los individuos con déficit congénito o - adquirido de complemento, su consumo durante el proceso in - feccioso, excepto en el grupo con CID, no parece tener con - secuencias perjudiciales para el huésped.

VII. BIBLIOGRAFÍA

VII . BIBLIOGRAFIA

1. SMITH DT, CONANT NF, WILLETT HP:
El grupo "Neisseria" y la meningitis cerebroespinal epidémica. En Microbiología de Zinsser. Ed Hispanoamericana, 4ª ed , pp 577-586 (1971).
2. DAVIS BD, DULBECCO R, EISEN HN, GINSBERG HS, WOOD WB:
Neisserias. En Tratado de Microbiología. Ed Salvat, Barcelona, pp 759-771 (1976).
3. BENNER EJ, HOEPRICH PD:
Acute bacterial meningitis. In Hoeprich PD.: Infectious diseases. Harper Row Pub., pp 931-944 (1972).
4. PREVOT AR:
Acute bacterial meningitis. In Dumas J.: Bacteriologie medicale. Ed Med Flammarion, Paris, pp 9-21 (1969).
5. ARTENSTEIN MS:
Meningococcal meningitis. In Winken PJ, Bruyn GW: Hand book of clinical neurology. vol 33, pp 21-33 (1979).
6. BEATY HN:
Meningococcal infections. In Isselbacher KJ, Adams RD, Braunwald E, Petersdorf RG, Wilson JD: Harrison's principles of Internal Medicine. Mc Graw-Hill book Co. New York. 9ª Ed , pp 620- 624 (1980).
7. Mc GEHEE WG, RAPAPORT SI, HJORT PF:
Intravascular coagulation in fulminant meningococemia. Ann Int Med 67: 250-260 (1967).
8. JACOBSON JA, WEAVER RE, THORNSBERRY C:
Trends in meningococcal disease 1974. J Infect Dis 132: 480-484 (1975).
9. Mc CORMICK JB, BENNETT JV:
Public health considerations in the management of meningococcal disease. Ann Int Med 83: 883-886 (1975).
10. BENOIT FL:
Chronic meningococemia. Am J Med 35: 103-112 (1963).
11. PINALS RS, ROPES MW:
Meningococcal arthritis. Arthritis Rheum 7: 241-258 (1964).

12. GREENWOOD BM, ONYEWOTU II, WHITTLE HC:
Complement and meningococcal infection.
Brit J Med 1: 797-799 (1976).
13. MUÑOZ AJ:
Gonococcal and meningococcal arthritides.
Clin Rheum Dis 4: 169-180 (1978).
14. PUTSCH RW, HAMILTON JD, WOLINSKY E:
Neisseria meningitidis, a respiratory pathogen?
J Infect Dis 121: 48-54 (1970).
15. ARTENSTEIN MS, SCHNEIDER H, TINGLEY MD:
Meningococcal infections. 1. Prevalence of serogroups
causing disease in U.S. Army personal in 1964-1970.
Bull Wld Hlth Org 45: 279-282 (1971).
16. HARDMAN JM, EARLE KM:
Myocarditis in 200 fatal meningococcal infections.
Arch Path 87: 318-325 (1969).
17. PIERCE HI, COOPER EG:
Meningococcal pericarditis: clinical features and the
rapy in five patients.
Arch Int Med 129: 918-922 (1972).
18. MORDOWICZ M, BRUSSIEUX J, BONNETTE J, BOISIVON A:
Les péricardites au cours des méningites a meningoco-
ques. Description d'un cas et revue de la literature.
Ann Pediat 28: 279-284 (1981).
19. WILLMOTT FE:
Meningococcal salpingitis.
Brit J Vener Dis 52: 182-183 (1976).
20. BECK A, FLUKER JL, PLATT DJ:
Neisseria meningitidis in urogenital infection.
Brit J Vener Dis 50: 367-369 (1974).
21. FALLON RJ:
Meningococcal diseases; Pathogenesis and prevention.
In Reeves D, Geddes A: Recent advances in infection.
Ed Churchill Livingstone, pp 77-90 (1979).
22. SWANSON J, KRAUS SJ, GOTSCHLICH EC:
Studies on gonococcus infection. I. Pili and zones of
adhesion: their relation to gonococcal growth patterns.
J Exp Med 134: 886-906 (1971).
23. WITT K, VEALE DR, SMITH H:
Resistance of Neisseria gonorrhoeae to ingestion and
digestion by phagocytes of human buffy coat.
J Med Microbiol 9: 1-12 (1976).

24. MEDICAL RESEARCH COUNCIL, 1916:
Report of the Special Advisory Committee upon bacteriological studies of cerebrospinal fever during the epidemic of 1915. Special Report series n^o 50. H.M. Stationery Office, London.
25. EDWARDS EA, DEVINE LF, SENGBUSCH CH, WARD HV:
Immunological investigations of meningococcal disease. III. Brevity of group C acquisition prior to disease occurrence.
Scand J Infect Dis 9: 105-110 (1977).
26. EICKOFF TC:
Seroepidemiologic studies of meningococcal infections with the indirect hemmagglutination test.
J Infect Dis 123: 519-526 (1971).
27. YOUNG LS, LA FORCE FM, HEAD JH, FEELEY JC, BENNETT JV:
A simultaneous outbreak of meningococcal and influenza infections.
N Engl J Med 287: 5-9 (1972).
28. WHEELOCK EF, TOY ST, STJERNHOLM RL:
Interaction of viruses with human lymphocytes. In -- Amos B: Progress in immunology. Academic Press, New York, pp 787-801 (1971).
29. LEPOW ML, GOLD R:
Immunology of Neisseria meningitidis. In Nahmias AS, Oreilly RJ: Immunology of human infection. Ed Plenum Publishing, New York. vol I, pp 139-155 (1981).
30. GOTSCHLICH EC, GOLDSCHNEIDER I, ARTENSTEIN MS:
Human immunity to the meningococcus. IV. Immunogenicity of group A and group C meningococcal polysaccharides in human volunteers.
J Exp Med 129: 1367-1384 (1969).
31. KASPER DL, WINKELHAKE JL, BRANDT BL, ARTENSTEIN MS:
Antigenic specificity of bactericidal antibodies in antisera to Neisseria meningitidis.
J Infect Dis 127: 378-387 (1973).
32. FRASCH CE:
Role of protein serotype antigens in protection against disease due to Neisseria meningitidis.
J. Infect Dis 136: S 84-S 90 (1977).
33. BERTRAM MA, GRIFFISS JM, BRAND DD:
Response to antigenic determinants on Neisseria meningitidis lipopolysaccharide investigated with a new radioactive antigen-binding assay.
J Immunol 116: 842-846 (1976).

34. GOLDSCHNEIDER I, GOTSCHLICH EC, ARTENSTEIN MS:
Human immunity to the meningococcus. I. Role of humo
ral antibodies.
J Exp Med 129: 1307-1326 (1969).
35. GOLD R, GOLDSCHNEIDER I, LEPOW ML, DRAPER T, RANDOLPH M:
Carriage of Neisseria meningitidis and Neisseria lac
tamica in infants and children.
J Infect Dis 137: 112-121 (1978).
36. MUNFORD RS, TAUNAY A, DE MORAIS JS, FRASER DW, FELDMAN RA:
Spread of meningococcal infection within households.
LANCET 1: 1275-1278 (1974).
37. ARTENSTEIN MS, WINTER PE, GOLD R, SMITH CD:
Immunoprophylaxis of meningococcal infection.
Milit Med 139: 91-95 (1974).
38. WYLE FN, ARTENSTEIN MS, BRANDT BL, TRAMONT EC, KASPER DL,
ALTIERI PL, BERMAN SL, LOWENTHAL LP:
Immunologic response of man to group B meningococcal
polysaccharide vaccines.
J Infect Dis 126: 514-522 (1972).
39. BALTIMORE RS, HAMMERSCHLAG M:
Meningococcal bacteremia. Clinical and serologic stu
dies of infants with mild illness.
Am J Dis Child 131: 1001-1004 (1977).
40. ROBERTS RB:
The relationship between group A and C meningococcal
polysaccharides and serum opsonins in man.
J Exp Med 131: 499-513 (1970).
41. ZOLLINGER WD, PENNINGTON CL, ARTENSTEIN MS:
Human antibody response to three meningococcal outer
membrane antigens: Comparison by specific hemmagglu
tination assays.
Infect Immunol 10: 975-984 (1974).
42. ATKINSON JP, FRANK MM:
Complement. In Parker CW: Clinical immunology. Ed W.
B. Saunders, Philadelphia. vol I, pp 219-271 (1980).
43. MAYER MM:
Membrane damage by complement.
Johns Hopkins Med J 148: 243-258 (1981).
44. BHAKDI S, BJIRUM OJ, BHAKDI-LEHNEN B, THANUM-JENSEN J:
Complement lysis. Evidence for an amphiphilic nature
of the terminal membrane C5b-9 complex of human com
plement.
J. Immunol 121: 2526-2532 (1978).

45. HAMMER CH, SHIN ML, ABRAMOVITZ AS, MAYER MM:
On the mechanism of cell membrane damage by complement: Evidence on insertion of polypeptide chains from C8 and C9 into the lipid bilayer of erythrocytes.
J Immunol 119: 1-8 (1977).
46. MICHAELS DW, ABRAMOVITZ AS, HAMMER CH, MAYER MM:
Characterization of the complement lesion: The formation of trans-membrane channels and their mechanism of assembly.
J Immunol 120: 1785 Abstract (1978).
47. HUNSICKER LG, WINTROUB BV, AUSTEN KF:
Humoral amplification systems in inflammation. In - Bach FH, Good RA: Clinical immunobiology. Academic Press, New York. pp 179-192 (1972).
48. SHIN ML, PAZNEKAS WA, ABRAMOVITZ AS, MAYER MM:
On the mechanism of membrane damage by C: Exposure of hydrophobic sites on activated C proteins.
J Immunol 119: 1358-1364 (1977).
49. INOUE K, KINOSHITA T, OKADA M, AKIYAMA Y:
Release of phospholipids from complement-mediated lesions on the surface structure of escherichia coli.
J Immunol 119: 65-72 (1977).
50. PETERSEN BH, LEE TJ, SNYDERMAN R, BROOKS GF:
Neisseria meningitidis and Neisseria gonorrhoeae bacteremia associated with C6, C7 or C8 deficiency.
Ann Int Med 90: 917-920 (1979).
51. HSIEH KH, LIN CY, LEE TC:
Complete absence of the third component of complement in a patient with repeated infections.
Clin Immunol Immunopathol 20: 305-312 (1981).
52. MILLER ME, SEALS J, KAYE R, LEVITSKY LC:
A familial plasma associated deficit of fagocytosis. A new cause of recurrent bacterial infections.
LANCET 2: 60-63 (1968).
53. LOIRAT C, BURIOT D, PELTIER AP, BERCHE P, AUJARD Y, GRISCELLI C, MATHIEU H:
Fulminant meningococemia in a child with hereditary deficiency of the seventh component of complement -- and proteinuria.
Acta Paediatr Scand 69: 553-557 (1980).

54. CLOUGH JD, CLOUGH ML, WEINSTEIN A, CALABRESSE LH, MANSFIELD LR, GULICK P, GAVAN T, BRAUN WE:
Familial late complement component (C6,C7) deficiency with chronic meningococemia.
Arch Int Med 140: 929-933 (1980).
55. JASIN HE:
Absence of the eighth component of complement in association with systemic lupus erythematosus-like disease.
J Clin Invest 60: 709-715 (1977).
56. KERNBAUM S, BASTIN R, WAUTIER JL, BURE A, GOUGEROT M, PELTIER AP:
Human deficiency of the sixth component of complement in a patient with meningococcal meningitis and no haemostasis abnormality.
Biomedicine 33: 197-201 (1980).
57. LIM D, GEWURZ A, LINT TF, GHAZE M, SEPHERI B, GEWURZ H:
Absence of the sixth component of complement in a patient with repeated episodes of meningococcal meningitis.
J Pediatrics 89: 42-47 (1976).
58. LEE TJ, UTSINGER PD, SNYDERMAN R, YOUNT WJ, SPARLING PF:
Familial deficiency of the seventh component of complement associated with recurrent bacteremic infections due to Neisseria.
J Infect Dis 138: 359-368 (1978).
59. VEEDER MH, FOLDS JD, YOUNT WJ, LEE TJ:
Recurrent bacterial meningitis associated with C8 and IgA deficiency.
J Infect Dis 144: 399-402 (1981).
60. NICHOLSON A, LEPOW IH:
Host defense against Neisseria meningitidis requires a complement dependent bactericidal activity.
Science 205: 298-299 (1979).
61. PETERSEN BH, GRAHAM JA, BROOKS GF:
Human deficiency of the eighth component of complement. The requirement of C8 for serum Neisseria gonorrhoeae bactericidal activity.
J Clin Invest 57: 283-290 (1976).
62. ELLISON RT, KOHLER PF, CURD JG, JUDSON FN, RELLER LB:
Prevalence of congenital or acquired complement deficiency in patients with sporadic meningococcal disease.
N Engl J Med 308: 913-916 (1983).
63. EDWARDI MS, BAKER CJ:
Complications and sequelae of meningococcal infections in children.
J Pediatrics 99: 540-545 (1981).

64. SMITH AL:
Diseases of central nervous system. In: Microbiology and Pathology. Ed Mosby Co. Saint Louis. 11 edition, pp 621-631 (1976).
65. IRWIN RS, WOELK WK, COUDON WL:
Primary meningococcal pneumonia.
Ann Int Med 82: 493-498 (1975).
66. RIETSCHER ET, SCHADE U, JENSEN M, WOLLENWEBER HW, LÜDERITZ O, GREISMAN SG:
Bacterial endotoxins: Chemical structure, biological activity and role in septicemia.
Scand J Infect Dis Suppl 31: 8-21 (1982).
67. MORRISON DC, ULEVITCH RJ:
The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems.
Am J Pathol 93: 527-617 (1978).
68. WESTPHAL O, LÜDERITZ O:
Chemische erforschung von lipopolysacchariden gram-negativer bakterien.
Angew Chem (Engl) 66: 407-417 (1954).
69. JANN B, RESKE K, JANN K:
Heterogeneity of lipopolysaccharides. Analysis of polysaccharide chain lengths by sodium dodecylsulphate-polyacrylamide gel electrophoresis.
Eur J Biochem 60: 239-246 (1975).
70. GMEINER J:
The isolation of two different lipopolysaccharide fractions from various Proteus mirabilis strains.
Eur J Biochem 58: 621-626 (1975).
71. BURTON AJ, CARTER HE:
Purification and characterization of the lipid A component of the lipopolysaccharides from Escherichia coli.
Biochemistry 3: 411-418 (1964).
72. HASE S, RIETSCHER ET:
Isolation and analysis of the lipid A backbone: Lipid A structure of lipopolysaccharides from various bacterial groups.
Eur J Biochem 63: 101-107 (1976).
73. MERGENHAGEN SE, MARTIN GR, SCHIFFMANN E:
Studies on an endotoxin of a group C Neisseria meningitidis.
J Immunol 90: 312-315 (1963).

74. DAVIS CE, ARNOLD K:
Role of meningococcal endotoxin in meningococcal purpura.
J Exp Med 140:159-171 (1974).
75. LEIVE L:
Release of lipopolysaccharide by EDTA treatment of E. Coli.
Biochem Biophys Res Commun 21:290-296 (1965).
76. LOOS M, BITTER-SUERMAN D, DIERICH M:
Interaction of the first (C1), the second (C2) and the fourth (C4) component of complement with different preparations of bacterial lipopolysaccharides and with lipid A.
J Immunol 112:935-940 (1974).
77. GALANOS C, RIETSCHEL ET, LUDERITZ O, WESTPHAL O:
Interaction of lipopolysaccharides and lipid A with complement.
Eur J Biochem 19:143-152 (1971).
78. MORRISON DC, KLINE LF:
Activation of the classical and properdin pathways of complement by bacterial lipopolysaccharides (LPS).
J Immunol 118:362-368 (1977).
79. BELLER FK:
The role of endotoxin in disseminated intravascular coagulation.
Thromb Diath Haemorrh 36:(Suppl):125-149 (1969).
80. SANARELLI G:
De la pathogénie du choléra (neuvieme memoire). Le cholera expérimental.
Ann Inst Pasteur Lille 38:11-72 (1924).
81. SHWARZMAN G:
Studies on bacillus typhosus toxic substances. I. Phenomenon of local skin reactivity to B. typhosus culture filtrate.
J Exp Med 48:247-268 (1928).
82. MASON JW, COLMAN RW:
The role of Hageman factor in disseminated intravascular coagulation induced by septicemia, neoplasia or liver disease.
Thromb Diath Haemorrh 26:325-331 (1971).

83. ROBINSON JA, KLODNYCKY ML, LOEB HS, RACIC MR, GUNNAR RM:
Endotoxin, prekallikrein, complement and systemic
vascular resistance: Sequential measurements in man.
Am J Med 59:61-67 (1975).
84. RUDDY S, GIGLI I, AUSTEN KF:
The complement system of man.
N Engl J Med 287:489-494 (1972)
85. NIES AS, MELMON KL:
Variation in endotoxin induced kinin production and
effect between the rabbit and the rhesus monkey.
Am J Physiol 225:230-233 (1973).
86. RADCLIFFE R, BAGDASARIAN A, COLMAN R, NEMERSON Y:
Activation of bovine factor VII by Hageman factor frag-
ments.
Blood 50:611-617 (1977).
87. MORRISON DC, COCHRANE CG:
Direct evidence for Hageman factor (factor XII) acti-
vation by bacterial lipopolisaccharides (endotoxins).
J Exp Med 140:797-811 (1974).
88. NOSSEL HL:
The contact system. In Biggs R.: Human Blood coagulation,
Haemostasis and thrombosis Ed Blackwell Sci. Pub. Oxford
2nd Ed pp 81-142 (1976).
89. MCKAY DG:
Vessel wall and thrombogenesis endotoxin.
Thromb Diath Haemorrh 29:11-26 (1973).
90. NIEMETZ J, FANI K:
Thrombogenic activity of leucocytes.
Blood 42:47-59 (1973).
91. HILLER E, SPAL JG, OSTENDORF P, GRIFFITHS GW:
The procoagulant activity of human granulocytes, lympho-
cytes and monocytes stimulated by endotoxin.
KlinWochenschr 55:751-757 (1977).
92. FLETCHER JR, RAMWELL PW:
Lidocaine or Indomethacin improves survival in baboon
endotoxin shock.
J Surg Res 24:154-160 (1978).
93. THORNE LJ, KUENZIG M, SCHWARTZ S:
Effects of acetylsalicylic acid and prostaglandin on
endotoxin-induced pulmonary platelet sequestration.
Acta Chir Scand 147:161-162 (1981).

94. COOK JA, WISE WC, HALUSHKA PV:
Elevated thromboxane levels in the rat during endotoxic shock. Protective effects of imidazole, 13-azaprostanoic acid or essential fatty acid deficiency.
J Clin Invest 65:227-230 (1980).
95. SAMUELSSON BM, GOLDYNE E, GRANSTROM E, HAMBERG M, HAMMARSTROM S, MALMSTEN C:
Prostaglandins and thromboxanes.
Annu Rev Biochem 47:997-1029 (1978).
96. COOK JA, WISE WC, CALLIHAN C:
Resistance of essential fatty acid deficient rats to endotoxic shock.
Circ Shock 6:333-342 (1979).
97. KURLAN JI, BOCKMAN R:
Prostaglandin E production by human blood monocytes and mouse peritoneal macrophages.
J Exp Med 147:952-957 (1978).
98. BLOMM F, BATTENBERG E, ROSSIER J, LING N, LEPPALUOTO J, VARGO TM, GUILLEMIN R:
Endorphins are located in the intermediate and anterior lobes of the pituitary gland, not in the neurohypophysis.
Life Sci 20:43-47 (1977).
99. GUILLEMIN R, VARGO T, ROSSIER J, MINICK S, LING N, RIVIER C, VALE W, BLOOM F:
 β -Endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland.
Science 197:1367-1369 (1977).
100. MOBERG GP:
Site of action of endotoxins on hypothalamus-pituitary-adrenal axis.
Am J Physiol 220:397-400 (1971).
101. YASUDA N, GREER MA:
Evidence that the hypothalamus mediated endotoxin stimulation of adrenocorticotropic hormone secretion.
Endocrinology 102:947-953 (1978).
102. FADEN AI, HOLADAY JW:
Experimental endotoxin shock: The pathophysiologic function of endorphins and treatment with opiate antagonists.
J Infect Dis 142:229-238 (1980).
103. BORN GVR, HARDISTY RM:
Platelets. In Biggs R: Human Blood coagulation, Haemostasis and thrombosis. Ed Blackwell Sc Pub, Oxford. pp 168-201 (1976).
104. BALIS JV, GERBER LI, RAPPAPORT ES, NEVILLE WE:
Mechanisms of blood-vascular reactions of the primate lung to acute endotoxemia.
Exp Mol Pathol 21:123-137 (1974).

105. GRAHAM RC, KARNOVSKY MJ, SHAFER AW, GLASS E, KARNOVSKY ML:
Metabolic and morphological observations on the effect of surface-active agents on leukocytes.
J Cell Biol 32:629-647 (1967).
106. ISSEKUTZ AC, BIGGAR WD:
Influence of serum-derived chemotactic factors and bacterial products on human neutrophil chemotaxis.
Infect Immun 15:212-220 (1977).
107. JACOB HS, CRADDOCK PR, HAMMERSCHMIDT DE, MOLDOW CF:
Complement-induced granulocyte aggregation. An unsuspected mechanism of disease.
N Engl J Med 302:789-794 (1980).
108. COLLINS RD, WOOD WB:
Studies on the pathogenesis of fever. VI. The interaction of leukocytes and endotoxin in vitro.
J Exp Med 110:1005-1016 (1959).
109. GOIHMAN-YAHR M, RODRIGUEZ-OCHOA M, ARANZAZU N, CONVIT J:
Polymorphonuclear activation in leprosy. I. Spontaneous and endotoxin-stimulated reduction of nitroblue tetrazolim: Effect of serum and plasma on endotoxin-induced activation.
Clin Exp Immunol 20:257-264 (1975).
110. GLAUSER FL, PALMER J, CECCONI S, SCHOOLCRAFT W, WELLS I, NOVEY H, EGAN P, SMELTZER D:
The effect of endotoxin on the mast cell AMP system.
Ann Allergy 38:104-107 (1977).
111. MORRISON DC, BETZ ST:
Chemical and biological properties of a protein-rich fraction of bacterial lipopolysaccharides. II. The in vivo rat peritoneal mast cell response.
J Immunol 119:1790-1795 (1977).
112. LICHTENSTEIN LM, GEWURZ H, ADKINSON NF, SHIN HS, MERGENHAGEN SE:
Interactions of the complement system with endotoxic lipopolysaccharide: The generation of an anaphylatoxin.
Immunology 16:327-336 (1969).
113. HOOK WA, SNYDERMAN R, MERGENHAGEN S:
Further characterization of a factor from endotoxin-treated serum which releases histamine and heparin from mast cells.
Infect Immun 5:909-914 (1972).

114. DOE WF, YANG ST, MORRISON DC, BETZ SJ, HENSON PM:
Macrophage stimulation by bacterial lipopolysaccharides.
II. Evidence for independent differentiation signals
delivered by lipid A and a protein rich fraction of
LPS.
J Exp Med 148:557-568 (1978)
115. UNANUE ER:
The regulatory role of macrophages in antigenic
stimulation. Part two: Symbiotic relationship between
lymphocytes and macrophages.
Adv Immunol 31:1-136 (1981).
116. PIERCE CW:
Macrophages: Modulators of Immunity.
Am J Pathol 98:10-28 (1980).
117. FANTONE JC, WARD PA:
Role of Oxygen-derived free radicals and metabolites in
leukocyte-dependent inflammatory reactions.
Am J Pathol 107:397-418 (1982).
118. METZGER Z, HOFFELD JT, OPPENHEM JJ:
Macrophage-mediated suppression. I. Evidence for parti-
cipate of both hydrogen peroxide and prostaglandins in
suppression of murino lymphocyte proliferation.
J Immunol 124:983-988 (1980).
119. MORRISON DC, RYAN JL:
Bacterial endotoxins and host immune responses.
Adv Immunol 28:293-450 (1979).
120. BENNER R, VAN OUDENAREN A:
Antibody formation in mouse bone marrow. V. The influence
of splenectomy on the bone marrow plaque-forming cell
response to sheep red blood cells.
Cell Immunol 19:167-182 (1975).
121. BENNER R, VAN OUDENAREN A:
Antibody formation in mouse bone marrow. VI. The regu-
lating influence of the spleen on the bone marrow plaque-
forming cell response to Escherichia coli lipopolysaccha-
ride.
Immunology 32:513-519 (1977).
122. SCHMIDTKE KR, NAJARIAN JS:
Synergistic effects on DNA synthesis of phytohemagglu-
tinin or concanavalin A and lipopolysaccharide in human
peripheral blood lymphocytes.
J Immunol 114:742-746 (1975).

123. FORBES JT, NAKAO Y, SMITH RT:
T-mitogens trigger LPS responsiveness in mouse thymus cells.
J Immunol 114:1004-1007 (1975).
124. OZATO K, ADLER WH, EBERT JD:
Synergism of bacterial lipopolysaccharides and concanavalin-A in the activation of thymic lymphocytes.
Cell Immunol 17:532-541 (1975).
125. DUCKER TB, SIMMONS RL:
The pathogenesis of meningitis. Systemic effects of meningococcal endotoxin within the cerebrospinal fluid.
Arch Neurol 18:123-128 (1968).
126. FRANKEL RJ, BENNETT ED, BORLAND CD:
Pulmonary oedema in meningococcal meningitis.
Postgrad Med J 52:529-531 (1976).
127. TUBBS HR:
Endotoxin in meningococcal infections.
Arch Dis Child 55:808-819 (1980).
128. EVANS RW, GLICK B, KIMBALL F, LOBELL M:
Fatal intravascular consumption coagulopathy in meningococcal sepsis.
Am J Med 46:910-918 (1969).
129. HARDAWAY RM:
The role of intravascular clotting in the etiology of shock.
Ann Surg 155:325-338 (1962).
130. AGNELLO V:
Complement deficiency states.
Medicine 57:1-23 (1978).
131. JACKSON CG, OCHS HD, WEDGWOOD RJ:
Immune response of a patient with deficiency of the fourth component of complement and systemic lupus erythematosus.
N Engl J Med 300:1124-1129 (1979).
132. AGNELLO V:
Association of systemic lupus erythematosus and SLE-like syndrome with hereditary and acquired complement deficiency states.
Arthritis Rheum 21:146-152 (Suppl) (1978).
133. BOKISCH VA, DIERICH MP, MULLER-EBERHARD HJ:
Third component of complement (C3). Structural properties in relation to functions.
Proc Natl Acad Sci 72:1989-1993 (1975).

134. ROSENFELD SI, BAUM J, STEIGBIGEL RT, LEDDY JP:
Hereditary deficiency of the fifth component of complement in man. II. Biological properties of C5-deficient human serum.
J Clin Invest 57:1635-1643 (1976).
135. McLEAN RH, PETER G, GOLD R, GUERRA L, YUNIS EJ, KREUTZER DL:
Familial deficiency of C5 in humans: Intact but deficient alternative complement pathway activity.
Clin Immunol Immunopathol 21:62-76 (1981).
136. SHIN HS, SNYDERMAN R, FRIEDMAN F, MELLORS A, MAYER MM:
Chemotactic and anaphylatoxic fragment cleaved from the fifth component of guinea pig complement.
Science 162:361-363 (1968).
137. JACOBS HS:
Granulocyte-complement interaction: A beneficial anti-microbial mechanism that can cause disease.
Arch Int Med 138:461-467 (1978).
138. SHEAGREN JN:
Septic shock and corticosteroids.
N Engl J Med 305:456-458 (1981).
139. WEKSLER BB, GOLDSTEIN IM:
Prostaglandins: interaction with platelets and polymorphonuclear leukocytes in hemostasis and inflammation.
Am J Med 68:419-428 (1980).
140. WEISSMANN G, SMOLEN JE, KORCHAK HM:
Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils.
N Engl J Med 303:27-34 (1980).
141. GOTZE O, BIANCO C, COHN ZA:
The induction of macrophage spreading by factor B of the properdin system
J Exp Med 149:372-386 (1979).
142. CHRISTIAN CL, SERGENT JS:
Vasculitis syndromes: Clinical and experimental models.
Am J Med 61:385-392 (1976).
143. RAINFORD DJ, WOODROW DF, SLOPER JC, DE WARDENER HE, GRIFFITHS I:
Post meningococcal acute glomerular nephritis.
Clin Nephrol 9:249-253 (1978).
144. ARTHUS M:
Infections répétées de serum de cheval chez le lapin.
Comp Rend Soc Biol 55:817 (1903).

145. COCHRANE CG, JANOFF A:
The Arthus reaction: A model of neutrophil and complement mediated injury. In: Zweifach B.W. Grant L. Mc Cluskey R.T: The inflammatory process. Academic Press New York pp 85-162 (1974).
146. NICOLLE M:
Contribution a l'étude du "phenomene d'Arthus"
Ann Inst Pasteur 21:128-137 (1907).
147. FRANK MM, ELIMAN L, GREEN I, COCHRANE CG:
Site of deposition of C3 in Arthus reactions of C4 deficient quinea pigs.
J Immunol 110:1447-1451 (1973).
148. LAWLEY TJ, FRANK MM:
Immune complexes and immune complex disease. In: Parker CW: Clinical Immunology. Ed WB Saunders. Philadelphia Vol I. pp 143-172 (1980).
149. ISHIZAKA K:
Gamma globulin and molecular mechanism in hypersensitivity reactions. In: Kallos P, Waksman BH: Progress in allergy. Ed S. Karger. New York Vol VII pp 32-106 (1963).
150. GERMUTH FG:
A comparative histologic and immunologic study in rabbits of induced hypersensitivity of the serum sickness type.
J Exp Med 97:257-268 (1957).
151. DIXON FJ, VAZQUEZ JJ, WEIGLE WO, COCHRANE CG:
Pathogenesis of serum sickness.
Arch Pathol Lab Med 65:18-27 (1958).
152. BENVENISTE J, LE CONEDIC JP, POLANSKY J, TENCE M:
Structural analysis of purified platelet activity factor by lipases.
Nature 269:170-171 (1977).
153. DIXON FJ, FELDMAN JD, VAZQUEZ JJ:
Experimental glomerulonephritis. The pathogenesis of a laboratory model resembling the spectrum of human glomerulonephritis.
J Exp Med 113:899-920 (1961).
154. LIGHTFOOT RW, DRUSIN RE, CHRISTIAN CL:
Properties of soluble immune complexes.
J Immunol 105:1493-1500 (1970).

155. VAN ES LA, KNUTSON DW, KAYSER BS, GLASSOCK RJ:
Soluble oligovalent antigen-antibody complexes. I.
The effect of antigen valence and combining ratio
on the composition of fluorescein-carrier anti-fluo-
rescein complexes.
Immunology 37:485-493 (1979).
156. AREND WP, TELLER DC, MANNIK M;
Molecular composition and sedimentation characteristics
of soluble antigen-antibody complexes.
Biochemistry 11:4063-4072 (1972).
157. INMAN RD, DAY NK:
Immunologic and clinical aspects of immune complex
disease.
Am J Med 70:1097-1106 (1981).
158. COCHRANE CG, HAWKINS D:
Studies on circulating immune complexes. III. Factors
governing the ability of circulating complexes to
localize in blood vessels.
J Exp Med 127:137-154 (1968).
159. HENSON PH:
Activation and desensitization of platelets by platelet-
activating factor (P.A.F.) derived from IgE - sensitized
basophils.
J Exp Med 143:937-952 (1976).
160. BENVENISTE J:
Platelet-activating factor, a new mediator of anaphy-
laxis and immune complex deposition from rabbit acid
human basophils.
Nature 249:581-582 (1974).
161. PEREZ HD, WEISSMAN G:
Lysosomes as mediators of inflammation. In Kelley W.N.
Harris RD, Ruddy S, Sledge CB: Textbook of Rheumato-
logy. Ed W.B. Saunders Co. Philadelphia pp 179-194 (1981).
162. BORSOS T:
Immunoglobulin classes and complement fixing. In Progress
in Immunology. Ed Academic Press New York pp 841-848
(1971).
163. EHRNST A:
Complement activation by measles virus cytotoxic
antibodies: Alternative pathway C activation by
hemagglutination inhibition antibodies.
J Immunol 118:535-539 (1977).

164. KLEIN M, SIMINOVITCH K:
The significance and limitations of current methods for detecting circulating immune complexes.
J Rheumatology 8:188-192 (1981).
165. RITZMANN SE, DANIELS JC:
Immune complexes: Characteristics, clinical correlations, and interpretive approaches in the clinical laboratory.
Clin Chem 28:1259-1271 (1982).
166. BARNETT EV, KNUTSON DW, ABRASS CK, CHIA DS, YOUNG LS, LIEBLING MR:
Circulating immune complexes: Their immunochemistry detection, and importance.
Ann Int. Med 91:430-440 (1979).
167. MOROZ LA, ROSE B:
The cryopathies. In Samter M. Immunological diseases. Ed Little, Brown & Co. Boston. pp 570-591 (1978).
168. DIGEON M, LAVER M, RIZA J, BACH JF:
Detection of circulating immunecomplexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol.
J Immunol Methods 16: 165-183 (1977).
169. LAMBERT PH, DIXON FJ, ZUBLER RH, AGNELLO V, CAMBASO C, CASALI P, CLARKE J, COWDERY J, McDUFFIE F, HAY F, McLENNAN I, MASSON P, MULLER-EBERHART H, PENTTINEN R, SMITH M, TAPPEINER G, THEOFILOPOULOS A, VERROUST P:
A WHO collaborative study for the evaluation of eighteen methods for detecting immune complexes in serum.
J Clin Lab Immunol 1:1-15 (1978).
170. ZUBLER RH, LAMBERT PH:
The ^{125}I -C1q binding test for the detection of soluble immune complexes, in vitro methods in cell. In: Bloom B.R., David J.R. Mediated and tumor immunity. Ed Academic Press pp 565-572 (1976).
171. HAY FC, NINEHAM LJ, ROITT IM:
Routine assay for the detection of immune complexes of known immunoglobulin class using solid phase C1q.
Clin Exp Immunol 24:396-400 (1976).
172. THEOFILOPOULOS AN, WILSON CB, DIXON FJ:
The Raji cell radioimmune assay for detecting immune complexes in human sera.
J Clin Invest 57:169-182 (1976).

173. GUPTA RC, McDUFFIE FC, TAPPEINER G, JORDAN RE:
Binding of soluble immune complexes to Raji lymphocytes. Role of receptors for complement components, C1q and C3-C3b.
Immunology 34:751-761 (1978).
174. ANDERSON CL, STILLMAN WS:
Raji cell assay for immune complexes. Evidence for detection of Raji directed immunoglobulin G antibody in sera from patients with systemic lupus erythematosus.
J Clin Invest 66:353-360 (1980).
175. CASALI P, BOSSUS A, CARPENTIER NA:
Solid phase enzyme immunoassay of radioimmunoassay for the detection of immune complexes based on their recognition by conglutinin: Conglutinin binding test.
Clin Exp Immunol 29:342-354 (1977).
176. LUTHRA MS, McDUFFIE FC, HUNDER GG:
Immune complexes in sera and synovial fluids of patients with rheumatoid arthritis. Radioimmunoassay with monoclonal rheumatoid factor.
J Clin Invest 56:458-466 (1975).
177. PENTTINEN K:
The platelet aggregation test.
Ann Rheum Dis 36:55-58 (Suppl 1) (1977).
178. GREENWOOD BH, WHITTLE HC, BRYCESON ADM:
Allergic complications of meningococcal disease. II. Immunological investigations.
Brit Med J II: 737-740 (1973).
179. BLANCO A, SOLIS P, ALVAREZ-GUISASOLA FJ, VALBUENA C, GOMEZ C, PRIETO P, RUIZ C:
Modificaciones de los factores del complemento y de sus inhibidores en el curso de sepsis meningocócicas.
An Esp Pediat 18:679-688 (1980).
180. GARCIA-FUENTES M, RUBIO A, BUREO E, RODRIGUEZ-VALVERDE V, LOZANO MJ, MADRIGAL V, ARCE JL:
Los sistemas del complemento y de la coagulación en la infección meningocócica.
Bol Soc Cast-Ast-Leon de Pediatría 12:501-511 (1981).
181. FEARON DT, RUDDY S, SCHUR PH, McCABE WR:
Activation of the properdin pathway of complement in patients with Gram-negative bacteremia.
N Engl J Med 292:937-940 (1975).

182. DAVIS JAS, PETERS N, MOHAMMED I, MAJOR GAC, HOLBOROW EJ:
Circulating immune complexes in a patient with meningococcal disease.
Brit Med J I:1445-1446 (1976).
183. LARSON HE, NICHOLSON KG, LOEWI G, TYRRELL DAJ, POSNER J:
Arthritis after meningococcal meningitis.
Brit Med J I:618 (1977).
184. JARRET MP, MOSES S, BARLAND P, MILLER MH:
Articular complications of meningococcal meningitis.
An immune complex disorder.
Arch Intern Med 140:1665-1666 (1980).
185. WALKER LC, AHLIN TD, TUNG KSK, WILLIAMS RC:
Circulating immune complexes in disseminated gonorrhoeal infection.
Ann Int Med 89:28-33 (1978).
186. LUDIVICO CL, MYERS AR:
Survey for immune complexes in disseminated gonococcal arthritis-dermatitis syndrome.
Arthritis Rheum 22:19-24 (1979).
187. MANICOURT DH, ORLOFF S:
Gonococcal arthritis-dermatitis syndrome: Study of serum and synovial fluid immune complex levels.
Arthritis Rheum 25:574-578 (1982).
188. MENINGOCOCCAL DISEASE SURVEILLANCE GROUP, 1974:
Meningococcal disease. Secondary attack rate and chemoprophylaxis in the United States, 1974.
JAMA 235:261-265 (1976).
189. HOFFMAN WS:
Shock, In: The biochemistry of clinical medicine.
Year Book Medical Publishers. Chicago. 4th Ed. pp 217-220 (1970).
190. GREENFIELD LJ:
Shock, In: Artz CP Hardy JD.: Management of surgical complications. W.B. Saunders Co. Philadelphia 3rd Ed. pp 33-54 (1975).
191. LANGONE JA, BOYLE MDP, BORSOS T:
125-I protein A: Application to the quantitative determination of fluid phase and cell-bound IgG.
J Immunol Methods 18:281-293 (1977).
192. MAYER MM:
Complement and complement fixation, In: Kabat EA, Mayer MH. Experimental Immunochemistry. Charles C. Thomas Pub. Springfield Ill. 2nd Ed p 133-240 (1961).

193. STERNBERG JC:
A rate nephelometer for measuring specific proteins by immunoprecipitin reactions.
Clin Chem 18:1041-1045 (1975).
194. MANCINI G, CARONARA AO, MERHANS JF:
Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion.
Immunochemistry 2:235-254 (1965).
195. HEUSINKVELD RS, LEDDY JP, KLEMPERER MR, BRECKENRIDGE RT:
Hereditary deficiency of the sixth component of complement in man. II. Studies of hemostasis.
J Clin Invest 53:554-558 (1974).
196. DOMENECH JM:
Bioestadística. Métodos estadísticos para investigadores.
Editorial Herder Barcelona (1980).
197. COLQUHOUN D:
Lectures on Biostatistics.
Clarendon Press. Oxford (1971).
198. SISSONS JGP, WEST RJ, FALLOWS J, WILLIAMS DG, BOUCHER BJ, AMOS N, PETERS DK:
The complement abnormalities of lipodystrophy.
N Engl J Med 294:461-465 (1976).
199. NIKLASSON PM, LUNDBERGH P, STRANDELL T:
Prognostic factors in meningococcal disease.
Scand J Infect Dis 3:17-25 (1971).
200. LEWIS LS:
Prognostic factors in acute meningococcaemia.
Arch Dis Child 54:44-48 (1979).
201. ANDERSEN BM:
Mortality in meningococcal infections.
Scand J Infect Dis 10:277-282 (1978).
202. STIEHM ER, DAMROSCH DS:
Factors in the prognosis of meningococcal infection.
J Pediat 68:457-464 (1966).
203. THOMAS L, SMITH HW, DINGLE JH:
Investigation of meningococcal infection. II. Immunological aspects.
J Clin Invest 22:361-373 (1943).

204. GOLDSCHNEIDER I, GOTSCHLICH EC, ARTENSTEIN MS:
Human immunity to the meningococcus II. Development
of natural immunity.
J Exp Med 129:1327-1348 (1969).
205. GEISELER PJ, NELSON KE, LEVIN S, REDDI KT, MOSES VK:
Community-acquired purulent meningitis: A review
of 1.316 cases during the antibiotic era, 1954-1976.
Rev Infect Dis 2:725-745 (1980).
206. PELTOLA H, MAKELA PH, KAYHY H, JOUSIMIES H, HERVA E,
HALLSTROM K, SIVONEN A, RENKONEN OV, PETTAY O, KARANKO V,
AHVONEN P, SARNA S:
Clinical efficacy of meningococcus group A capsular
polysaccharide vaccine in children three months to
five years of age.
N Engl J Med 297:686-691 (1977).
207. GOLDSTEIN IM:
Clinical application of complement measurements in
rheumatic diseases.
Am J Med Sci 269:172-182 (1975).
208. RITTS RE:
Clinical utility of immunologic test.
Ann Int Med 96:779-781 (1982).
209. GINZLER EM, BOLLET AJ, FRIEDMAN ED:
The natural history and response to therapy of
lupus nephritis.
Ann Rev Med 31:463-487 (1980).
210. SOTTO MN, LANGER B, HOSHINO-SHIMIZU S, BRITO T:
Pathogenesis of cutaneous lesions in acute meningo-
cocemia in humans: Light, immunofluorescent, and
electron microscopic studies of skin biopsy specimens.
J Infect Dis 133:506-514 (1976).
211. ARTENSTEIN MS, BRANCHE WC, ZIMMERLY JG, COHEN RL, TRAMONT EC,
KASPER DL, HARKINS C:
Meningococcal infections. 3. Studies of the group A
polysaccharide vaccines.
Bull WHO 45:283-286 (1971).
212. RUDDY S, COLTEN HR:
Rheumatoid arthritis: Biosynthesis of complement pro-
teins by synovial tissues.
N Engl J Med 290:1284-1288 (1974).

213. LITTMAN BH, RUDDY S:
Production of the second component of complement by human monocytes: Stimulation by antigen-activated lymphocytes or lymphokines.
J Exp Med 145:1344-1352 (1977).
214. BRANSON HE, WYATT LL, SCHMER G:
Complement consumption in acute disseminated intravascular coagulation without antecedent immunopathology.
Amer J Clin Pathol 66:967-975 (1976).
215. BATLLE FJ, LOPEZ MF, VICENTE V, SAN MIGUEL J, LOPEZ BORRASCA A:
Relaciones entre complemento y coagulación en la C.I.D. humana. I. Papel del complemento.
Sangre 24:367-375 (1979).
216. BROWN DL:
Complement and coagulation.
Brit J Haemat 30:377-382 (1975).
217. FAM AG, TENENBAUM J, STEIN JL:
Clinical forms of meningococcal arthritis: A study of five cases.
J Rheumatol 6:567-573 (1979).
218. LEE TJ, SNYDERMAN R, PATTERSON J, RAUCHBACH AS, FOLDS JD, YOUNT WJ:
Neisseria meningitidis bacteremia in association with deficiency of the sixth component of complement.
Infect Immun 24:656-660 (1979).
219. GIRALDO G, DEGOS L, BETH E, SASPORTES M, MARCELLI A, CHARBI R, DAY NK:
C8 deficiency in a family with xeroderma pigmentosum. Lack of linkage to the HLA region.
Clin Immunol Immunopathol 8:377-384 (1977).
220. SNYDERMAN R, PIKE MC, McCARTY GA, WARD FE:
Isolated deficiencies of the fifth and eighth components of complement (C) in two families: Clinical genetics and biological correlation.
J Immunol 120:1729 (1978).
221. AGNELLO V, PARISER KM, BABOTT D:
Association of C8 deficiency with sickle-thalassemia hemoglobinopathy.
J Immunol 120:1799 (Abstracts) (1978).

222. TEDESCO F, BARDARE M, GIOVANETTI AM, SIRCHA G:
A familial dysfunction of the eighth component of complement (C8).
Clin Immunol Immunopathol 16:180-191 (1980).
223. MATTHEWS N, STARK JM, HARPER PD, DORAN J, JONES DM:
Recurrent meningococcal infections associated with a functional deficiency of the C8 component of human complement.
Clin Exp Immunol 39:53-59 (1980).
224. TSCHOPP J, ESSER AF, SPIRA TJ, MULLER-EBERHARD HJ:
Occurrence of an incomplete C8 molecule in homozygous C8 deficiency in man.
J Exp Med 154:1599-1607 (1981).
225. ALPER CA, COLTEN HR, ROSEN FS, RABSON AR, NACNAB GM, GEAR GSS:
Homozygous deficiency of C3 in a patient with repeated infections.
Lancet II:1179-1181 (1972).
226. SENIOR B, GELLIS SS:
The syndromes of total lipodystrophy and of partial lipodystrophy.
Pediatrics 33:593-612 (1964).
227. PETERS MS, WINKELMANN RK:
Localized lipoatrophy (atrophic connective tissue disease panniculitis)
Arch Dermatol 116:1363-1368 (1980).
228. NATIONAL DIABETES DATA GROUP:
Classification and prognosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance.
Diabetes 28:1039-1057 (1979).
229. LJUNGHALL S, FJELLSTROM KE, WIBELL L:
Partial lipodystrophy and chronic hypocomplementemic glomerulonephritis.
Acta Med Scand 195:493-497 (1974).
230. PETERS DK, CHARLESWORTH JA, SISSONS JGP, WILLIAMS DG, BOULTON-JONES JM, EVANS DJ, KOURILSKY O, MOREL-MAROGER L:
Mesangio capillary nephritis, partial lipodystrophy, and hypocomplementaemia.
Lancet 2:535-538 (1973).
231. ALPER CA, BLOCH KJ, ROSEN FS:
Increased susceptibility to infection in a patient with type II essential hypercatabolism of C3.
N Engl J Med 288:601-606 (1973).

232. ARKY RA, McCULLY KS:
Lipoatrophic diabetes in a young woman.
N Engl J Med 292:35-41 (1975).
233. JASIN HE:
Systemic lupus erythematosus, partial lipodystrophy
and hypocomplementemia.
J Rheumatol 6:43-50 (1979).
234. EDWARDS KM, ALFORD R, GEWURZ H, MOLD C:
Recurrent bacterial infections associated with C3
nephritic factor and hypocomplementemia.
N Engl J Med 308:1138-1141 (1983).
235. BALLOW M, SHIRA JE, HARDEN L, YANG SY, DAY NK:
Complete absence of the third component of complement
in man.
J Clin Invest 56:703-710 (1975).
236. ABRAMSON N, ALPER CA, LACHMANN PJ, ROSEN FS, JANDL JH:
Deficiency of C3 inactivator in man.
J Immunol 107:19-27 (1971).
237. THOMPSON RA, LACHMANN PJ:
A second case of human C3b inhibitor (KAF) deficiency.
Clin Exp Immunol 27:23-29 (1977).
238. GOTSCHLICH EC, LIU TY, ARTENSTEIN MS:
Human immunity to the meningococi. III. Preparation
and immunochemical properties of the group.
J Exp Med 129:1349-1365 (1969).
239. ROBBINS JB:
Vaccines for the prevention of encapsulated bacterial
diseases: Current status, problems and prospects for
the future.
Immunochemistry 15:839-854 (1978)
240. WYLE FA, ARTENSTEIN MS, BRANDT BL, TRAMONT EC, KASPER DL,
ALTIERI PL, BERMAN SL, LOWENTHAL LP:
Immunologic response of man to group B meningococcal
polysaccharide vaccines.
J Infect Dis 126:514-522 (1972).
241. BRANDT BL, ARTENSTEIN MS:
Duration of antibody responses of vaccination with
group C Neisseria meningitidis polysaccharide.
J Infect Dis 131:S69-S72 (1975).