



# Universidad Nacional Autónoma de México

---

FACULTAD DE QUIMICA

**DEFICIENCIAS EN LA CAPACIDAD DE OPSONIZACION**

**T E S I S**

**NIMBE TORRES Y TORRES**

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**1 9 8 2**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

	página
1. INTRODUCCION	1
2. LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES	
Origen	6
Características	7
Función	9
Fagocitosis	12
Metabolismo	14
Defectos	26
Importancia	27
3. SISTEMA DEL COMPLEMENTO	
Sistema del Complemento	29
Propiedades fisicoquímicas	30
Activación	32
Alteraciones	36
Disfunción de C5	42
4. OPSONIZACION	
Definición y función	46
Defectos	47
Opsonización y desnutrición	48
5. MATERIAL Y METODOS	
Diseño del estudio	51
Material biológico	52
Preparación de levaduras	54
Obtención de leucocitos PMNs	54
Prueba de opsonización	57
Análisis estadístico	57

6. RESULTADOS Y DISCUSION	60
7. CONCLUSIONES	77
8. BIBLIOGRAFIA	79

## C a p í t u l o .

### 1. INTRODUCCION.

El cuerpo humano esta en contacto con agentes infecciosos y sus defensas inmunológicas que están compuestas por elementos específicos como los anticuerpos y linfocitos sensibilizados, e inespecíficos como el complemento y las células fagocíticas, lo protegen de estos agentes.

La fagocitosis juega un papel importante y decisivo en el delicado balance entre el huésped y los microorganismos patógenos. La virulencia de algunos organismos es debida en parte a su capacidad de resistir la ingestión por fagocitos, mientras que la de otros está relacionada a su capacidad de resistir la destrucción intracelular así como la ingestión. Una fagocitosis efectiva en el curso de una infección bacteriana limita el desarrollo de estas.

El proceso fagocítico esta dividido en cuatro fases que se relacionan entre si:

1. Quimiotaxis.
2. Opsonización.
3. Ingestión.
4. Digestión.

Através de la quimiotaxis los fagocitos migran hacia la bacteria adheriendola a su superficie por medio de moléculas quimiotácticamente activas. Estas moléculas son fragmentos generados a partir del quinto componente del complemento (C5) (11).

Durante la opsonización las bacterias se combinan con componentes del suero y así son más susceptibles a la fagocitosis.

Este mecanismo de opsonización es de gran importancia principalmente en bacterias encapsuladas, ya que estas producen graves infecciones debido a su gran virulencia (61).

Durante la ingestión la bacteria se fija a la superficie celular o al interior del fagocito por la invaginación de la membrana celular y la formación de vacuolas fagocíticas.

La destrucción intracelular del microorganismo es un complejo mecanismo que involucra la ruptura de gránulos lisosomales, y la liberación de su contenido dentro de la vacuola fagocítica.

El sistema del complemento juega un papel directo en la opsonización y en la quimiotaxis. La quimiotaxis de fagocitos se estimula por tres productos de la activación del complemento: C5a, y el complejo trimolecular C5a,6,7. C5a es el más potente de estos fragmentos para la atracción de leucocitos a los tejidos, la opsonización generada por la ruta clásica y alterna del complemento, la liberación de enzimas lisosomales, la función de anafilotoxina y la liberación de histamina de las células cebadas (40).

Por lo tanto, es de gran importancia el fenómeno de opsonización como mecanismo de defensa del huésped hacia agentes infecciosos, principalmente en los lactantes, ya que no tienen completamente desarrollado su sistema in-

munológico también en niños desnutridos, los cuales tienen un aumento en la susceptibilidad a infecciones debido a un desequilibrio entre su inmunidad y su nutrición que ocasiona alteraciones en diferentes proteínas del suero, así como disminución de sus actividades (7,8,25,42,61,74).

También se ha reportado, la disminución en la capacidad de opsonización en el síndrome de Leiner, en algunas inmunodeficiencias y en infecciones de repetición, generalmente ocasionadas por microorganismos gram negativos. Este defecto en la capacidad de opsonización, se asocia a una disfunción del quinto componente del complemento, el que se comprueba "in vitro" al añadir suero de ratones funcionalmente eficientes respecto a C5 lo que aumenta la fagocitosis, mientras que el suero de ratones deficientes en C5 no lo hace (15,39,43,44,45,46,49,50,52,58,60).

En el caso del síndrome de Leiner las manifestaciones son falta de desarrollo, diarrea, infecciones de repetición, dermatitis seborreica y un defecto en la capacidad de opsonización de su suero hacia partículas de levaduras por leucocitos polimorfonucleares de personas normales. En esta prueba la opsonización depende en forma primordial de la activación directa de C3 por los constituyentes de la pared celular de las levaduras, sin la necesidad de la presencia de anticuerpos (19,29,39).

El objetivo de este trabajo es demostrar si existe defecto en la capacidad de opsonización del suero de dos casos de niños con características semejantes al síndrome de Leiner, estos casos se localizaron en el Instituto Nacional de Pediatría. En el caso de existir tal defecto, demostrar que tiene un antecedente hereditario y por úl-

4.

timo si este defecto se encuentra presente en los siguientes grupos: lactantes eutróficos sanos, lactantes eutróficos infectados, lactantes desnutridos sin infecciones, lactantes desnutridos infectados, niños mayores y en una familia con candidiasis mucocutánea.

## Capítulo 11

### II. LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES (NEUTROFILOS)

#### 2.1 ORIGEN

#### 2.2 CARACTERISTICAS

#### 2.3 FUNCION

##### 2.3.1 FAGOCITOSIS

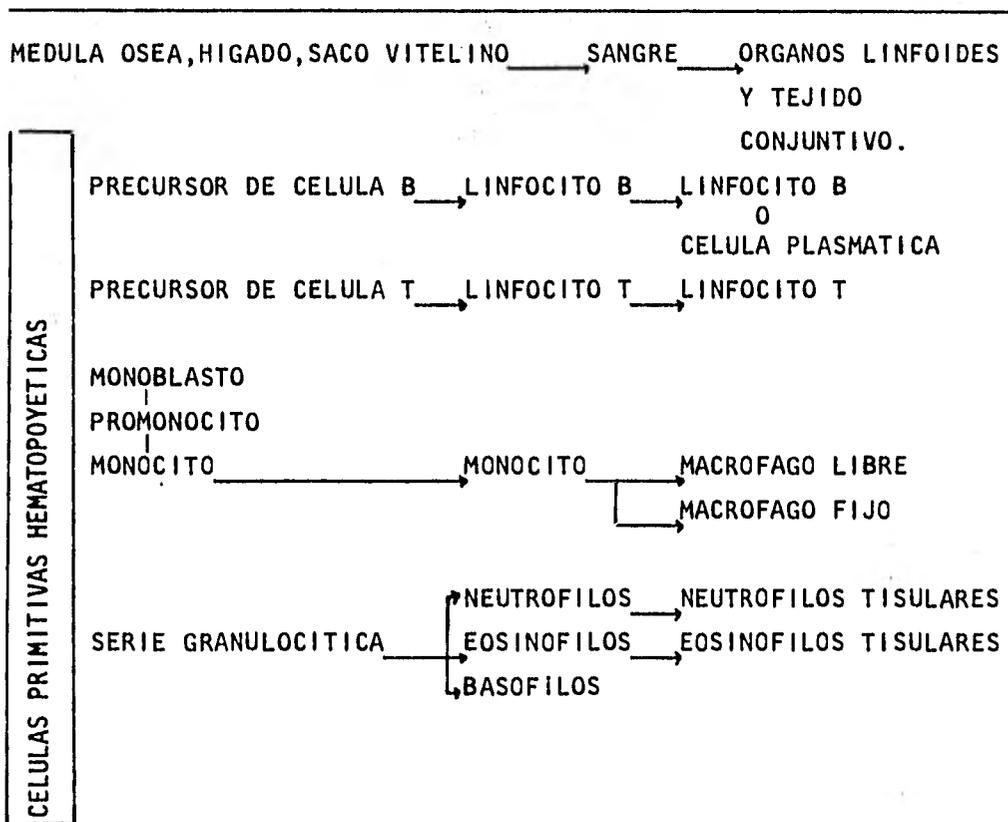
##### 2.3.2 METABOLISMO

##### 2.3.3 IMPORTANCIA

##### 2.3.4 DEFECTOS

## 2.1 ORIGEN

Los leucocitos tienen su origen en el tejido hematopoyético, como se presenta en el siguiente cuadro.\*



\* Bellanti, A.J. Inmunología 11, 2 Ed.; Interamericana. México. 1981.

## 2.2 CARACTERISTICAS

Los neutrófilos polimorfonucleares comprenden aproximadamente el 60% de los leucocitos circulantes en humanos. El neutrófilo tiene de 10 a 20 micras de diámetro en un frotis y de 7 a 9 micras de diámetro en secciones. Los núcleos tienen de 3 a 5 lóbulos unidos por filamentos delgados de cromatina. El neutrófilo maduro es primariamente una célula fagocítica con dos tipos distintos de gránulos, los primarios o azurófilos que contienen hidrolasas ácidas, mieloperoxidasas, lisozima y proteínas catiónicas y los secundarios o específicos que contienen lactoferrina y algunas lisozimas (20,29).

En neutrófilos maduros del 80 al 90% de los gránulos son específicos y del 10 al 20% son azurofílicos. Los neutrófilos tienen una vida media de alrededor de 6 a 20 horas en sangre periférica y sobreviven en tejidos cerca de 4 a 5 días, los granulocitos se producen en un promedio de  $1.6 \times 10^9$  células/kg/día.

Se ha encontrado una gran variedad de constituyentes en los neutrófilos polimorfonucleares, los que se muestran en la tabla 1.

Los PMN tienen un movimiento en zig-zag, pueden emigrar a través de las paredes de los capilares y de las vénulas, e ingieren bacterias y otros materiales extraños. A este fenómeno se le llama fagocitosis y es una de las funciones más importantes de los leucocitos PMN (4,6,53).

T A B L A I  
CONSTITUYENTES ASOCIADOS CON LOS GRANULOS CITOPLASMATICOS  
DE LOS NEUTROFILOS (20,73,75)

---

---

GRANULOS PRIMARIOS AZUROFILOS.

Ac. glicerofosfato, proteasa neutral, mieloperoxidasa, beta-glucuronidasa, aril sulfatasa, lisozima, alfa-manosidasa, N-acetil-beta-glucosa, minidasa, proteinas catiónicas bactericidas.

GRANULOS SECUNDARIOS ESPECIFICOS.

Lactoferrina, fosfatasa alcalina (en conejos y cobayos)

NO DETERMINADOS (\*).

Fosfolipasa A<sub>2</sub>, fosfatasa alcalina (humana), lipoproteínlipasa, proteinas fungicidas, factor incrementador de la permeabilidad bacteriana, ribonucleasa, desoxiribonucleasa.

LISOSOMA (ORGANELO).

Fosfatasa ácida, lipasa ácida, arilsulfatasa A y B, ribonucleasas, catepsina B, C, D, E, colagenasa fosfoproteinas, fosfatasas del ác. fosfatídico, fosfolipasa, esterasa resistente a organofosfatos, beta-glucuronidasa, beta-galactosidasa, N-acetilglucosaminidasa, alfa-L-fucosidasa, alfa-1,4 glucosidasa, alfa-manosidasa, hialuronidasa.

---

(\*) se ha demostrado su presencia, pero no su localización.

### 2.3 FUNCION

Los PMN tienen diversas funciones y propiedades que son importantes para el mecanismo de defensa del huésped contra agentes extraños y es de particular interés su participación en la destrucción intracelular de microorganismos.

Sus funciones y propiedades son las siguientes:

- a) DIAPEDESIS
- b) MOVIMIENTO AMIBOIDE
- c) QUIMIOTAXIS
- d) FAGOCITOSIS
- e) INGESTION
- f) DEGRANULACION
- g) DESTRUCCION
- h) FUENTE PRINCIPAL DE PIROGENO ENDOGENO
- i) REACCION INFLAMATORIA

**DIAPEDESIS.** Los PMN pueden deslizarse através de los poros de los vasos sanguíneos por un proceso de diapedesis (paso de los leucocitos através de las paredes celulares). A pesar de que el poro es mucho menor que el volumen de las células, una pequeña parte de esta se desliza através del mismo, y la porción que se desliza momentaneamente se reduce a las dimensiones del poro.

**MOVIMIENTO AMIBOIDE.** Una vez que las células han alcanzado los espacios tisulares, los PMN, se desplazan hacia los tejidos con un movimiento de toda la célula en relación con el medio que la rodea, este movimiento comienza con un alargamiento de un pseudópodo desde un extremo de la célula. El pseudópodo se proyecta hacia afuera, separándose el cuerpo celular; luego el resto

cuerpo celular; luego el resto de la célula se mueve hacia el pseudópodo (20,27).

**QUIMIOTAXIS.** Proceso por el cual las células fagocíticas son atraídas a la vecindad de microorganismos patógenos invasores. La quimiotáxis representa un cambio en la dirección de la movilidad del leucocito (polarización). La quimiotaxis se refleja por una atracción lineal de células fagocíticas o más precisamente un proceso por medio del cual se inhibe la migración al azar de los neutrófilos (27, 49).

Aunque algunas bacterias elaboran factores quimiotácticos en ausencia de suero, muchos de estos factores son originados en el huésped. El sistema del complemento tiene importancia en el origen de estos factores quimiotácticos.

Como se muestra en la figura 2.3.1, la activación quimiotáctica se lleva a cabo por dos caminos. Cuando los anticuerpos específicos reaccionan con la superficie de un microorganismo, el complejo antígeno-anticuerpo activa secuencialmente los componentes C1, C4 y C2 de la vía clásica del complemento. El complejo Ag-Ac-C142, la vía alterna o ambas, atacan C3 y C5 para producir C3a y C5a, teniendo únicamente este último actividad quimiotáctica. Un complejo de proteínas del complemento que actúa más tarde en la secuencia lítica, C567, se reúnen y tienen actividad quimiotáctica también. Este factor leucotáctico puede también ser generado por la acción de la tripsina sobre el complejo nativo (biológicamente activo).

Las enzimas no relacionadas con el complemento tales como proteasas tisulares, bacterianas y trombina, pueden hidrolizar C3 y C5 para producir fragmentos leucotácticos.



FIGURA 2.3.1  
 GENERACION MEDIADA POR FACTORES QUIMIOTACTICOS DEL SUERO  
 Y OPSONIZACION DE MICROORGANISMOS. (20,69,77)

**FAGOCITOSIS.** Es una de las funciones más importantes de los polimorfonucleares que se describirá más a fondo en el siguiente capítulo, junto con ingestión y degranulación. La fagocitosis se refiere a la ingestión de partículas grandes incluyendo bacterias.

### 2.3.1. FAGOCITOSIS (20,34,62,69).

En especies primitivas, las células fagocíticas sirven como un mecanismo para el englobamiento y procesamiento de alimentos. En especies más avanzadas Metchnikoff (1893) demostró que los leucocitos eliminan bacterias y otras partículas de la sangre por fagocitosis y sirven como una defensa primaria contra enfermedades bacterianas. El dividió el sistema fagocítico en dos tipos de células, las células fagocíticas circulantes y las células fagocíticas fijas a la superficie de los vasos sanguíneos y sinusoides.

Los leucocitos PMN y los monocitos comprenden el grupo de células circulantes, mientras que las células fagocíticas fijas llamadas sistema retículo endotelial (Aschoff, 1924), incluyen a macrofagos también llamados histiocitos. Así los dos sistemas son capaces de defender al huésped de la invasión microbiana. Por lo tanto la función de las células fagocíticas circulantes es la de defensa de infecciones locales, y la de las células fagocíticas fijas es la de proteger contra agentes infecciosos circulantes.

La pinocitosis se refiere a la ingesta de moléculas o partículas muy pequeñas y la fagocitosis a la ingesta de partículas más grandes incluyendo bacterias. Tanto la pinocitosis como la fagocitosis involucran la invaginación de la membrana celular alrededor del material extraño, con la subsecuente fusión de la membrana y su reparación creando así una vacuola fagocítica.

Hirsch (1962) usando técnicas de cinemicrofotografía para registrar la fagocitosis en intervalos de 1/10 de segundo, estableció varias observaciones clave a cerca de la secuencia de eventos durante la fagocitosis. Primero, la bacteria comienza adherirse al leucocito PMN en segundo

la membrana celular comienza invaginarse alrededor de la bacteria y finalmente en un lapso de 30 segundos a 2 minutos dependiendo de la actividad de las células y el tamaño de la bacteria, la incorpora completamente dentro del citoplasma del neutrófilo y la rodea por una porción de la membrana celular externa(69).

Inicialmente la fagocitosis se considero un proceso pasivo que no requería energía para el englobamiento celular. Recientemente, se ha aclarado que el acto de englobamiento es un proceso activo que requiere de energía, específicamente energía glucolítica. Es evidente que la mayoría de las estimulaciones metabólicas se lleven a cabo cuando la célula fagocítica entre en contacto con el material extraño.

El mecanismo por el cual las células fagocíticas reconocen a las partículas extrañas y bacterias es extremadamente sensible, debido a que estas poseen una carga electropositiva y así son fácilmente atraídas y fagocitadas, mientras que la mayor parte de las sustancias naturales del cuerpo tienen cargas de superficie electronegativas, y en consecuencia son repelidas por los fagocitos. (20, 36, 61, 62, 73, 80, 85)

### 2.3.2 METABOLISMO Y MECANISMO DE LA FAGOCITOSIS

Mucho se ha aprendido desde que Metchnikoff (1893) se hizo la pregunta "¿Que sustancias dentro del fagocito dañan y destruyen los microbios?". El pH ácido de las vacuolas citoplásmicas se considero importante para la destrucción de ciertos microorganismos (Metchnikoff, 1901). Actualmente se sabe que un pH ácido es esencial para el funcionamiento del sistema de la mieloperoxidasa, y para la actividad de enzimas lisosomales liberadas dentro de las vacuolas fagocíticas.

Hay otras sustancias que dañan, son las proteínas catiónicas granulares en los leucocitos, como la "leucin" (Skarnes y Watson, 1956; Skarnes, 1967). La leucin es rica en arginina y su acción óptima bactericida es a pH alcalino. La fagocitina descrita por Hirsch (1956-1960) que es una mezcla de proteínas catiónicas con un pH ácido activo contra especies gram positivas y contra muchas, pero no todas, las especies gram negativas (Hirsch, 1956 b).

La muramidasa (lisozima) y mieloperoxidasa, son dos enzimas granulares con actividad antibacteriana. La muramidasa hidroliza los mucopéptidos de la pared celular de bacterias gram positivas, pero unicamente unas cuantas especies bacterianas son susceptibles a ésta, sugiriendo que la enzima, como otras hidrolasas lisosomales probablemente participan en la digestión de bacterias destruyéndolas por otros mecanismos. La mieloperoxidasa está presente en los gránulos en altas concentraciones y se libera dentro de las vacuolas fagocíticas durante la degranulación. La mieloperoxidasa no tiene una acción bactericida directa, pero actúa en conjunto con el peróxido de hidrógeno y haluros para destruir a las

bacterias y hongos.

INGESTION Y DESTRUCCION. la sobreposición de una partícula con la propia configuración de superficie de un fagocito resulta en el movimiento de la célula de modo que la partícula empieza a penetrar, después se inmoviliza por el fagocito y se llevan a cabo ciertos eventos en la membrana plasmática, antes de esto es importante considerar lo concerniente a la estructura y función de las membranas plasmáticas en las células fagocíticas.

La membrana plasmática está constituida por una bicapa de lípidos compuesta de moléculas de fosfolípidos con grupos hidrofóbicos orientados cabeza a cabeza y con extremidades hidrofílicas dirigidas hacia afuera intercalando en medio de las moléculas de fosfolípidos, moléculas de colesterol y flotando en la bicapa lipídica están las proteínas. Algunas proteínas se encuentran en la superficie de la bicapa y otras sobre la superficie citoplásmica. La heterogeneidad en composición y movilidad son consistentes con una gran diversidad de estructuras.

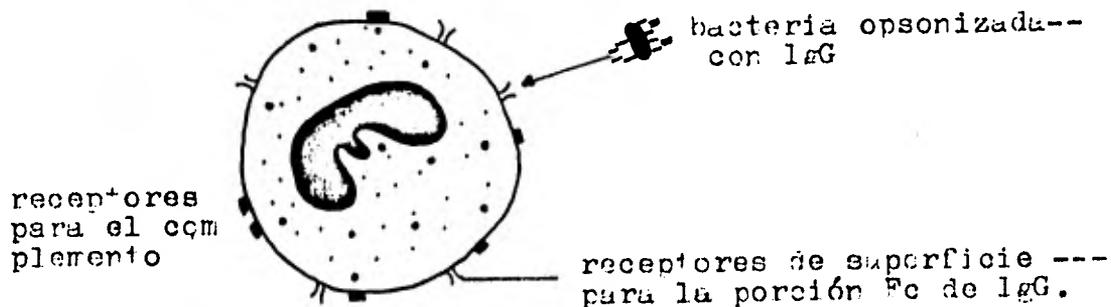


FIGURA 2.3.2.1  
REPRESENTACION ESQUEMATICA DE RECEPTORES SOBRE LA SUPERFICIE DE UN NEUTROFILO (20).

Una posibilidad de explicar la respuesta de los fagocitos a opsoninas o a partículas limitadas con determinadas configuraciones de superficie es que, ellas se adhieren a receptores sobre la membrana citoplasmica. Tales receptores reconocen a un efector e imparten ese reconocimiento a otras moléculas que directa o indirectamente generan una respuesta celular en los fagocitos, la función biológica es sobre todo la razón de la ingestión claro que las opsoninas aumentan el grado de ingestión de varias partículas. El concepto de "fagocitosis de superficie" descrito por Wood y col. representa un ejemplo de una proporción fagocítica basal que es baja pero finita y es llevada a cabo al óptimo por un contacto íntimo célula-partícula. Este efecto puede ser demostrado por medición del grado de ingestión por fagocitos suspendidos con partículas(2,71,73).

Los cationes juegan un papael interesante en la ingestión de una variedad de partículas por los PMN, uno de los principales cationes es el magnesio y el calcio que junto con las opsoninas termolábiles, parecen acelerar la velocidad de ingestión y por la acción de un mecanismo contractil, presentandose sin embargo un efecto inhibitorio a altas concentraciones de estos cationes divalentes(70).

La adhesión sellevará a cabo si las potentes fuerzas repulsivas electrostáticas entre células/sustratos, y células/partícula puedan vencerse y así permitan que las fuerzas electrostáticas débiles interactuen (Van der Waals e hidrofóbicas).

Ahora si el PMN encuentra una partícula que posteriormente ingerirá se alarga una área del ectoplasma para formar un pseudopódo el cual fluye alrededor de la partícula,

la rodea y se funde a su polo distal.

Hay una gran similitud morfológica entre el esparcimiento del ectoplasma hialino periférico y el proceso de englobamiento, el ectoplasma es semejante a una sábana aplanada sobre el sustrato mientras que el pseudopodo rodea partículas, la superficie de la membrana se sobrepone a la partícula, empieza a aplanarse y la estructura del englobamiento del pseudopodo toma la apariencia de una taza.

El ectoplasma hialino esta compuesto de filamentos y túbulos , el pseudopodo ( o lamelopodium) formado en el PMN consiste de filamentos de 4-6 nm de diámetro y partículas de glucógeno. En los PMN existen otras estructuras llamadas microtúbulos y microfilamento que penetran al ectoplasma hialino procedentes de la región centriolar y que son necesarios en el movimiento requerido para la ingestión de partículas.

Estos filamentos estan constituidos por polimeros de actina con propiedades semejantes estructurales y funcionales a la actina del músculo y comprende una fracción sustancial del total de protefnas celulares . La presencia de actina y miosina permite el movimiento e ingestión de los fagocitos (62,70,73,74,75,77).

**METABOLISMO CELULAR.** Se ha observado la importancia que tienen los nucleótidos principalmente el ATP, como fuente de energía para la generación de fuerza por la miosina y como posible cofactor en reacciones de polimerización (34).

La energía del metabolismo es indudablemente importante en el englobamiento , los leucocitos humanos aumentan su

grado de consumo de glucosa (o en ausencia de glucosa de glucogenólisis) y producción de lactato durante la ingestión de partículas, sugiriendo esto un aumento en el grado glucolítico llevado a cabo por el trabajo de englobamiento (75).

Después de la ingestión del organismo se llevan a cabo una serie de diferentes eventos dentro de los PMN, los cuales permiten la destrucción de mecanismos invasores.

Esta secuencia incluye:

1. La fusión de la membrana del fagosoma con la de los gránulos citoplásmicos adyacentes.
2. La ruptura de la membrana y la descarga del contenido granular dentro de la vacuola fagocítica.
3. La actividad metabólica.
4. La destrucción

Existen mecanismos antimicrobianos de los PMN y están divididos dentro de 2 categorías (36):

- I Dependientes de oxígeno.
- II Independientes de oxígeno.

I. Sistemas dependientes de oxígeno. Mecanismos oxidativos de destrucción divididos en :

- A. Los que son mediados por el sistema de la mieloperoxidasa.
- B. Los que no están mediados por el sistema de la mieloperoxidasa.

**MIELOPEROXIDASA.** Se encuentra en los gránulos primarios (azurófilos). Es una enzima con un grupo hemo que cataliza la acción de un número de sustancias por peróxido. Se encuentra en vacuolas lisosomales de los PMN y en combinación con el peróxido y un haluro ( $I^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $F^-$ )

forman un sistema antimicrobiano potente, aun en un medio libre de células (77,84).

FIGURA 2.3.2.2  
SISTEMAS ANTIMICROBIANOS DE LOS NEUTROFILOS  
POLIMORFONUCLEARES (36)

---

I. DEPENDIENTES DE OXIGENO.

A. Mediados por mieloperoxidasa MPO:

- a. mieloperoxidasa.
- b. peróxido de hidrógeno.
- c. pH ácido.
- d. cofactor oxidable (generalmente haluros).
- e. otros

B. Independientes de mieloperoxidasa:

- a. peróxido de hidrógeno.
- b. anión superóxido.
- c. oxígeno "singlet "
- d. radicales hidroxilo.

II. INDEPENDIENTES DE OXIGENO.

- |                          |                        |
|--------------------------|------------------------|
| A. proteínas catiónicas. | D. pH ácido.           |
| B. lactoferrina.         | E. histonas nucleares. |
| C. lisozima.             | F. elastasa.           |
-

Peróxido de hidrógeno. Se considera que el  $H_2O_2$  en este sistema procede de eventos metabólicos en el neutrófilo. Con deficiente producción de  $H_2O_2$  (enfermedad granulomatosa crónica), ciertos microorganismos proporcionan el  $H_2O_2$ , el cual regula su destrucción. Entre éstos están neumococos y estreptococos. Las oxidaciones terminales de microorganismos clasificados como lactobacilos, son catalizadas por flavoproteínas las cuales reducen el oxígeno a  $H_2O_2$  porque carecen de catalasas, el  $H_2O_2$  acumulado puede ser utilizado en el sistema MPO. Esto explica porque los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica no muestran particular predisposición a infecciones estreptococcicas (69).

HALUROS. El ion cloro está presente en los neutrófilos a un nivel considerablemente superior al requerido para la participación en la destrucción mediada por MPO. El ion cloro puede entrar en la vacuola fagocítica junto con la partícula fagocitada o puede ser transferido por medio de la membrana del fagolisosoma.

La concentración del ion yodo en el suero es de 100 mcg por 100 ml, las hormonas tetrayodotiroxina (T4) y la triiodotironina (T3) pueden reemplazar como cofactor en el sistema mediado por MPO, las hormonas tiroideas se unen a los leucocitos intactos por medio de sitios sobre la membrana plasmática, la T4 y T3 son degradadas liberando yodo como ion yodo inorgánico.

pH ACIDO. El sistema mediado por MPO tiene un pH ácido óptimo (pH 4.5-5.0). El pH en la vacuola fagocítica es también ácido (77).

El mecanismo de acción del sistema microbicida mediado por MPO involucra la reacción de  $H_2O_2$  con el hierro de los grupos prostéticos del hemo de la MPO para producir un complejo enzima-sustrato con capacidad oxidativa. Cuando el haluro es  $I^-$ , el daño microbicida se lleva a cabo a través de la iodación directa de proteínas microbianas, oxidación de grupos sulfhidrilos de enzimas o peroxidación de lípidos.

En el caso del cloruro, la oxidación por el complejo MPO- $H_2O_2$  produce un intermediario  $OCl^-$  o  $Cl_2$ . A pH ácido, actúa en forma semejante al ácido hipocloroso que es formado subsecuentemente y constituye un germicida efectivo (14,15,20,23,36,62,69).

Hay un número de mecanismo por medio de los cuales el cloruro activado daña a los microorganismos:

1. Oxidación de grupos sulfhidrilos.
2. Oxidación del haluro  $I^-$  a iodo
3. Producción de oxígeno
4. Formación de cloramina.

OXIGENO "SINGLET". El oxígeno diatómico se encuentra en ocasiones como una molécula en que los spins de los dos electrones de valencia de más baja energía no están apareados; ( $1.\bar{0}-\bar{0}.1$ ) es decir, su nivel de estado se encuentra en la forma triple. El oxígeno molecular "singlet" se forma cuando una absorción de energía transfiere un electrón de valencia a un orbital de energía más alto en el cual los spins de los electrones están apareados, este estado electrónicamente excitado emite luz (quimiluminiscencia), cuando éste regresa al nivel del estado triple. Se conocen dos formas de oxígeno "singlet", el oxígeno "singlet"delta ( $\Delta$  g  $O_2$ ) donde ( $\bar{0}-\bar{0}\uparrow\uparrow$ ), y el oxí-

geno "singlet" sigma ( $\Sigma_g^- O_2$ ) donde los electrones ocupan diferentes orbitales ( $\downarrow \bar{0} - \bar{0} \uparrow$  (23,73,75 ).

Cuando se incuban los leucocitos intactos con partículas, emiten luz indicando que se forma el oxígeno diatómico en la célula intacta. Esta quimioluminiscencia no se observa en ausencia de fagocitosis o cuando se emplean leucocitos de pacientes con granulomatosis crónica. Cuando se añade hipoclorito a un exceso de  $H_2O_2$ , el oxígeno es liberado en una cantidad equivalente a la cantidad de hipoclorito añadido.



Una débil quimioluminiscencia roja acompaña esta reacción. La quimioluminiscencia resulta de la disminución de energía de grupos carboxilos excitados electrónicamente, generada por el  $O_2$  durante la oxidación de los microorganismos ingeridos, esta oxidación trae como consecuencia la muerte de los microorganismos.

La quimioluminiscencia está estrechamente relacionada con la oxidación de la glucosa por la vía colateral de hexosa monofosfato.

**SISTEMAS INDEPENDIENTES DE MIELOPEROXIDASA.** Existe otro sistema aparte del sistema antimicrobiano MPO como es el sistema independiente de MPO. Los leucocitos que no tienen cantidades detectables de peroxidasa mantienen cierta actividad microbicida, principalmente en personas deficientes en el sistema MPO.

El peróxido de hidrógeno tiene una actividad antimicrobiana directa. Algunos microorganismos son más susceptibles al  $H_2O_2$  que otros, dependiendo de su capacidad de producir catalasas o peroxidasa.

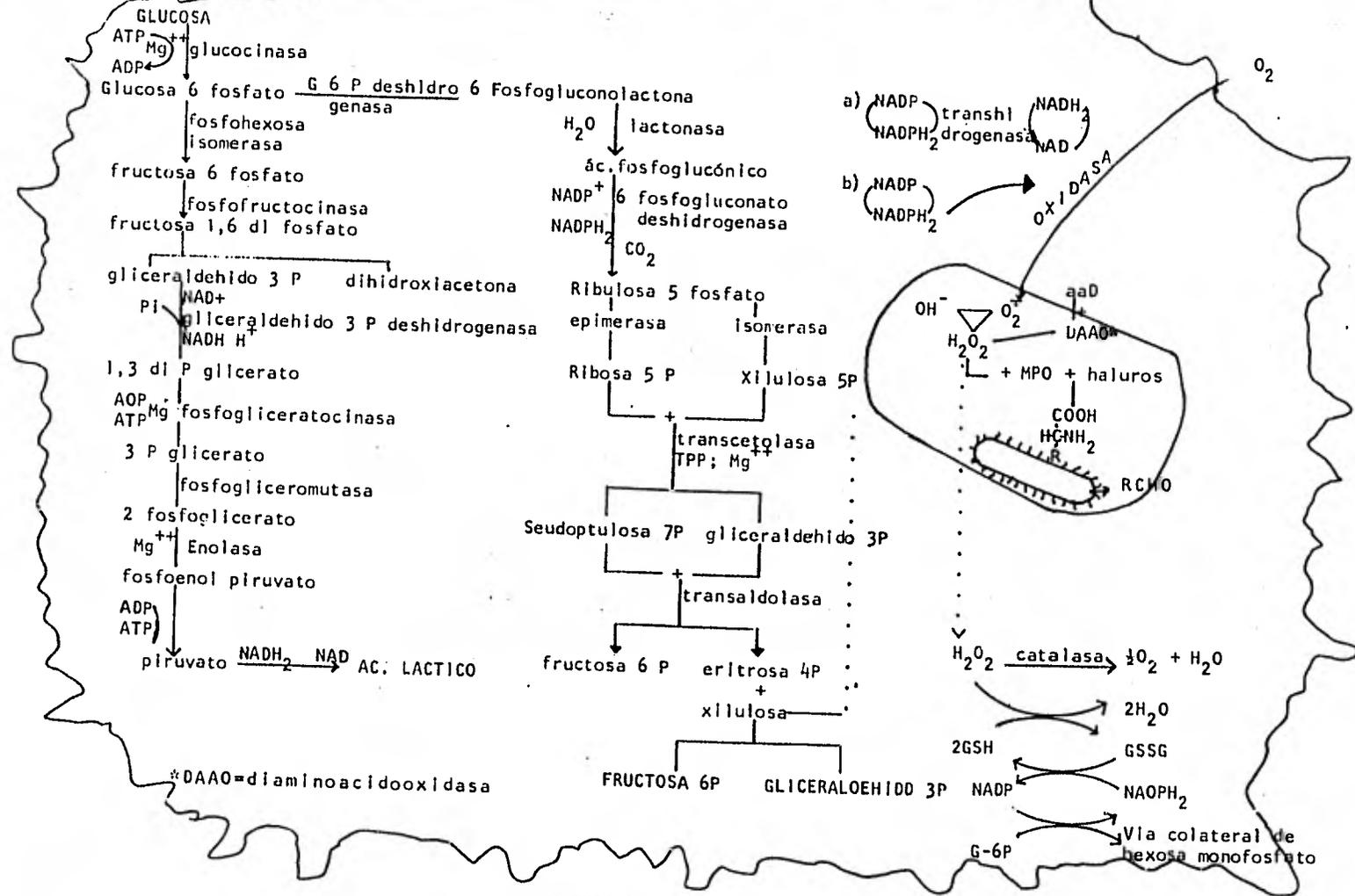
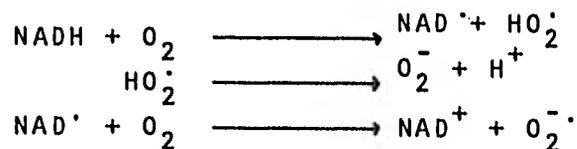


FIGURA 2.3.2.3  
METABOLISMO DE UN LEUCOCITO POLIMORFONUCLEAR

ANION SUPEROXIDO. Tiene un efecto directo sobre los microorganismos, sin embargo existen algunos que contienen superóxido dismutasa y resisten la acción de este radical en la vacuola fagocítica.



OXIGENO "SINGLET". El oxígeno "singlet" está presente en cantidades reducidas en PMNs deficientes en MPO.

RADICALES HIDROXILO. Los radicales hidroxilo están formados por la interacción de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y el anión superóxido como sigue:



La combinación de superóxido y  $\text{H}_2\text{O}_2$  produce moléculas muy tóxicas a un cierto número de especies bacterianas (23).

Todos los sistemas antes descritos se presentan en la figura 2.3.2.3.

II SISTEMAS INDEPENDIENTES DE OXIGENO. Los sistemas de actividad microbicida independientes de oxígeno incluyen: proteínas catiónicas, lactoferrina, lisozima, histonas nucleares, elastasa y pH ácido.

PROTEINAS CATIONICAS. Se mencionaron anteriormente.

LACTOFERRINA. Es una proteína unida al fierro la cual tiene propiedades microbiostáticas cuando no está completamente enlazada al fierro, inhibe el crecimiento por enlaza

miento del hierro requerido como un nutrimento esencial para los microorganismos. La lactoferrina esta presente en los gránulos de los polimorfonucleares y se libera dentro de la vacuola fagocítica.

**LISOZIMA.** Ataca a los mucopéptidos de la pared celular de las bacterias. Las bacterias que son intrínsecamente insensibles a la lisozima empiezan a sensibilizarse a éstas por la presencia de complemento hemolítico o de ácido ascórbico y  $H_2O_2$ .

**pH ACIDO.** La acidez (pH 3.5-4.0) puede resultar de la producción de ácido láctico en la glucólisis durante la fagocitosis o refleja la producción de ácido carbónico por la presencia de anhidrasa carbónica. Sin embargo los polisacáridos microbianos tienen un papel importante en el cambio de pH mediante intercambio iónico.

**HISTONAS NUCLEARES.** Son liberadas en los alrededores de los tejidos muertos y tienen actividad antimicrobiana directa (20).

**ELASTASA.** La elastasa de gránulos primarios, ataca a los mucopéptidos de ciertas paredes celulares y son más importantes en la digestión que en la destrucción.

## 2.3.3.

## DEFECTOS DE LOS LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES.

Existen diversos defectos de interés en los fagocitos de los que únicamente se mencionarán aquí: (4,49,84)

1. Neutropenias.
2. Síndrome de Chediak Higashi (presencia de gránulos gigantes positivos a la peroxidasa).
3. Defectos en la quimiotáxis (68).
4. Síndrome del leucocito perezoso.
5. Enfermedad granulomatosa crónica.
6. Deficiencia de mieloperoxidasa.
7. Alteraciones clínicas de opsonización. Este defecto se tratará posteriormente en el capítulo de opsonización (67).

## 2.3.4

## IMPORTANCIA DEL LEUCOCITO POLIMORFONUCLEAR Y DE LA FAGOCITOSIS.

Los leucocitos polimorfonucleares juegan un papel esencial en la defensa del organismo contra agentes patógenos. Recientemente se ha incrementado la importancia de su estudio debido a que se han encontrado varios defectos en los leucocitos polimorfonucleares, principalmente en niños recién nacidos y en niños menores de 2 años. Uno de los defectos más frecuentes que se presenta en los leucocitos de los recién nacidos o de los niños de bajo peso al nacer es el de la fagocitosis, y es deficiente en un número significativo de ellos, teniendo neutrófilos que son transitoriamente deficientes en su capacidad bactericida. Es posible que ciertos sistemas de enzimas de leucocitos no estén totalmente desarrollados en los neonatos, como es el caso también de otros tejidos corporales. Donell y col. de mostraron que la producción por leucocitos de  $CO_2$  marcado, a partir de glucosa  $1-C^{14}$ , es considerablemente menor en los recién nacidos que en los adultos, por lo tanto resulta una deficiencia relativa en la fagocitosis por los leucocitos del recién nacido. Actualmente se realizan muchos estudios sobre fagocitosis, debido en parte a los hallazgos de Forman y Stiehm, quienes encontraron actividad de fagocitos deficiente en seis de nueve niños a término conjuntamente con varias alteraciones clínicas o inmunodeficiencias (1,7,8,9,19,32,46,68,84).

## CAPITULO III

### SISTEMA DEL COMPLEMENTO

#### 3.1 SISTEMA DEL COMPLEMENTO

#### 3.2 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS

#### 3.3 ACTIVACION

#### 3.4 ALTERACIONES

#### 3.5 QUINTO COMPONENTE DEL COMPLEMENTO

## 3.1

## SISTEMA DEL COMPLEMENTO (C)

El complemento fué descubierto en el siglo XIX cuando se reconoció que la actividad bactericida de un suero fresco requería la participación de por lo menos dos factores, un factor termoestable (anticuerpos) y un factor termolábil denominado complemento al cual originalmente se le llama alexina.

Alrededor de 1950 se desarrollaron los métodos de estudio de la química de las proteínas, lo que permitió la elaboración de pruebas funcionales adecuadas para la determinación de los componentes del complemento facilitando así la elucidación de las propiedades químicas, físicas y funcionales de éste.

El sistema del complemento consiste de 18 proteínas séricas que son química e inmunológicamente distintas, y capaces a su vez de interactuar unas con otras, con los anticuerpos y con las membranas celulares. Estas interacciones generan fragmentos que poseen actividad biológica y que ejercen efectos específicos, por lo que las interacciones de los componentes del complemento pueden ser divididas dentro de varios grupos: (a) Anafilotoxinas. C3a y C5a son anafilotoxinas, las cuales provocan liberación de histamina de leucocitos, basófilos y plaquetas causando contracción del músculo liso e incrementando la permeabilidad de capilares. (b) Cininas. Una sustancia semejante a la cinina, C2b, causa un incremento en la permeabilidad vascular, y se libera durante la acción de C1s sobre C2. (c) Quimiotaxis. C3a, C5a y C5b67 son quimiotácticos para

los leucocitos al lugar de la reacción inmune. (d) Inmuno adherencia. Leucocitos, macrófagos, plaquetas y linfocitos B, tienen receptores en su membrana para C3b, C3d y C4b. Estos receptores causan que dichas células se adhieran a otras células o partículas. (13,20,28,64,86).

Las proteínas del complemento que están normalmente presentes en la circulación como precursores o proenzimas (zimógeno), representan aproximadamente el 15% del total de las globulinas del suero.

Nomenclatura. En 1968, se estandarizó una nomenclatura adecuada para el sistema del complemento, en la que los componentes individuales se designan numéricamente en orden a su secuencia de reacción como sigue: C1, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9. Las formas activadas se designan añadiendo una barra por encima del símbolo ( $\overline{C1}$ ). Los fragmentos de los componentes se indican por medio de una letra minúscula, por ejemplo C3a, C3b, C5a, etc.

### 3.2 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL COMPLEMENTO.

El primer componente (C1) es una macromolécula con un peso molecular de aproximadamente  $1 \times 10^6$ , puede disociarse en tres subunidades proteicas distintas denominadas C1q, C1r y C1s. C1 esta compuesta de 18 cadenas polipeptídicas, cada 6 de 3 cadenas diferentes A, C y C, las 18 cadenas polipeptídicas están unidas por puentes disulfuro de la siguiente manera: 6 dímeros A-B y 3 C-C, para formar la estructura semejante a la de un ramo de flores. C1q tiene un peso molecular de aproximadamente 400,000, una movilidad electroforética en la región gamma y su coeficiente de sedimentación es de 11S, posee un sitio de unión que es ca-

paz de interactuar con una región de la fracción Fc de las inmunoglobulinas del tipo de las IgG (IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>) y de IgM<sub>1</sub>, y también con polímeros de IgA, pero no con la IgD o IgE. C1q tiene una concentración en el suero de aproximadamente 20 mg/100 ml. La interacción de C1q con las inmunoglobulinas probablemente resulta de interacciones iónicas con la región CY de IgG o CM de IgM. C1r tiene un coeficiente de sedimentación de 7S, movilidad electroforética en la región beta, se presenta en el suero normalmente unido no covalentemente a C1q; dos moléculas de C1r se unen al tallo de C1q y dos moléculas de C1s se unen a C1r en una interacción dependiente de calcio. Esta asociación causa la autoactivación de C1r a serina proteasa ( $\overline{\text{C1r}}$ ) la cual hidroliza a C1s para dar la serina proteasa C1s el cual es el sitio activo del complejo C1. C1s es una alfa 2 globulina que se encuentra presente en una concentración aproximada de 2 mg/100 ml. C4 es una beta globulina con peso molecular de 250,000 aproximadamente, y está formada por tres cadenas polipeptídicas, es hidrolizada por C1s a C4b con la liberación de un pequeño péptido C4a. C2 tiene un peso molecular de 120,000 y es el menos abundante (20 mcg/ml), cuando C2 esta asociado a C4b se genera la enzima C3 convertasa, C2 es hidrolizado en dos fragmentos C2a y C2b. C2b regula la unión a C4b y C2a contiene el sitio activo proteasa. Ya que C2a tiene afinidad por C4b se libera del complejo, y su separación es la causa de la disminución rápida de la actividad de C3 convertasa. C3 es una proteína polimórfica con un peso molecular de 185,000 se encuentra en una concentración en el suero de  $150 \pm 50$  mg/100 ml. C5 es una beta globulina con peso molecular de 180,000, coeficiente de sedimentación de 9S y con una concentración de 8 mg/100 ml. C3 y C5 contienen dos cadenas de peso molecular de alrededor de 105,000 y 75,000, ambas pierden un péptido C3a y C5a y en cada caso los péptidos pequeños tienen

tienen actividad anafiláctica y únicamente C5a tiene actividad quimiotáctica. C6 tiene un peso molecular de 130,000 y una concentración sérica de 70 mcg/ml. C6 se une a C5b sin hidrolizarlo y lo estabiliza. El complejo C5b6 se disocia de  $\overline{C423}$  y reacciona con C7 el cual tiene un peso molecular de 110,000 y una concentración en el suero de 65 mcg/ml. El complejo  $\overline{C5b67}$  se debe unir rápidamente a la membrana para no perder su actividad quimiotáctica, el penúltimo componente del sistema del complemento es C8, que es una gamma I-globulina, la cual tiene un peso molecular de 163,000 y una concentración en el suero de 80 mcg/ml, esta proteína junto con el complejo  $\overline{C5b67}$  y C9 que es una alfa-globulina cuyo peso molecular es de 79,000 y su concentración sérica es de 200 mcg/ml, contienen una proteína de función desconocida, llamada proteína S con peso molecular de 88,000 y se une a una molécula de C5, C6, C7, C8 y seis moléculas de C9, que tienen un peso molecular aproximado de un millón. El complejo produce daño estructural de la membrana por la formación de un "embudo", a través del cual pueden pasar libremente iones, y la célula no puede reparar este daño. La incompetencia osmótica induce turgencia, y por último ruptura de la célula. (28,33,34,35,43,54,55,57,83,86).

Además, por otro lado la destrucción de la membrana por el complemento, se lleva a cabo por el complejo que ataca a la membrana (MAC), el cual es un dímero de un producto de fusión de un complejo de 5 proteínas con una fórmula probable  $(C5b, C6, C7, C8, C9_6)_2$ . Las 20 subunidades unidas no covalentemente, contienen un total de 26 cadenas polipeptídicas, de las cuales 4 están unidas por puentes disulfuro (C5 alfa a C5 beta y C8 alfa a C8 gamma).

El MAC ejerce una fuerte capacidad de unirse con la bicapa lipídica, lo que resulta en una reorientación de los lípidos de la bicapa. Se ha sugerido (Podack, Stoffer, Esser y Müller-Eberhard, 1981) que la porción del MAC que esta expuesta a la fase hidrocarbonada de la membrana blanco, esta compuesta de 12 subunidades de C9. Tal exposición ocasiona una reorganización dinámica de la parte hidrofóbica en las subunidades durante la unión con el MAC y también las subunidades de C9 están en contacto con la fase acuosa.

Por otro lado C5b dentro del MAC se expone primero al agua del medio, mientras que C6, C7 y C8 alfa-gamma tienen menos acceso a la fase acuosa. Por la visualización con el microscópio electrónico del MAC y sus complejos precursores, se ha demostrado que el complejo C5b-7 aparece como un medio anillo el cual une 399 moles de fosfolípidos por mole de complejo, y esta directamente unido a la superficie de la membrana blanco. Al unirse C8, este medio anillo es liberado arriba de la superficie de la membrana, sugiriendo esto que C8 se inserta entre C5b-7 y la membrana. El complejo C5b-8 une 841 moles de fosfolípidos por mole de complejo. C9 complementa este proceso incrementando la masa de la estructura del complejo que esta en contacto directo con la membrana, y el cual une 1443 moles de fosfolípidos por mole de complejo  $(C5b-9)_2$  (Biesecker y Müller-Eberhard, 1980) ocasionando así la lisis de la membrana.

### 3.3 SECUENCIA DE ACTIVACION.

Existen dos mecanismos o rutas paralelas pero enteramente independientes que permiten la activación de la secuencia del complemento, estos mecanismos de activación se

denominan vía clásica y vía alterna o ruta de la properdina activandose por diferentes sustancias, involucrando cada una diferentes pasos en su inicio.

Las dos rutas convergen en un punto, C3, y el resto de la secuencia que involucra a las reacciones desde C5 hasta C9 es común para ambas rutas. La fase terminal de la secuencia también se activa por algunas enzimas celulares sin que exista la participación de los factores que inician la reacción como enzimas similares a la tripsina, p. ej. la plasmina y ciertas enzimas lisosomales (13,20,28,35,54).

RUTA CLASICA. La secuencia de activación del complemento por la vía clásica se inicia por la unión de C1 a un complejo Ag-Ac. Una molécula de IgM con su respectivo Ag es capaz de unirse a una molécula de C1, mientras que por los menos 2 moléculas de IgG subclases IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> y IgG<sub>3</sub> son requeridas para la fijación de C1. Como consecuencia de la unión, C1 sufre un cambio conformacional y una activación autocatalítica. El C1 activado divide C4 y C2, formando la enzima C4<sub>2</sub> o C3 convertasa. La naturaleza enzimática de C1 permite la división de muchas moléculas C4 y C2 por molécula de C1. El siguiente paso consiste en la activación de C3 por C3 convertasa. De aquí en adelante la secuencia de activación es similar a la ruta alterna, por lo que posteriormente se describe.

RUTA ALTERNA. Esta ruta fué descrita originalmente como el sistema de la properdina y se relacionó con un grupo de proteínas involucradas en la destrucción de ciertas bacterias y neutralización de algunos virus. En este sistema no se ha observado que se requiera de un anticuerpo específico. La properdina es una glucoproteína con peso molecu-

lar de 185,000 y una movilidad electroforética de gamma globulina.

Los diferentes componentes de la ruta alterna son: factor A, factor B, factor D, factor iniciador y enzimas extremadamente lábiles cuya actividad enzimática decae en pocos minutos, sus propiedades se muestran en la tabla 3.3.1.

La ruta alterna involucra la unión secuencial de componentes a 3 distintos sitios sobre la membrana celular. La unidad de reconocimiento de la ruta es el factor iniciador (IF), la cual se activa al unirse al sitio 1. IF se une con C3 y B para depositar C3 nativo y B sobre la membrana (B es activado en presencia de  $Mg^{2+}$  y D). Este complejo de IF,  $\bar{B}$  y C3, es la enzima formadora del receptor para properdina, la cual divide en 2 a C3, depositando estas moléculas en el sitio 2.  $\bar{B}$  se une a las dos moléculas de C3b, formando el activador de la properdina (P).  $\bar{P}$  empieza a unirse a este.

La enzima  $\overline{C3bPB}$  activa a C5, la cual se deposita en el sitio 3, ensamblandose C6-C9, y causando la lisis. La enzima  $\overline{C3bPB}$  también deposita más C3b sobre los alrededores de la membrana, formando más receptores para la properdina, o sea que se efectúa un sistema de retroalimentación positiva. Este proceso es controlado por C3b inactivador, el cual destruye C3b, convirtiendolo en productos inactivos C3c y C3d.

### 3.4 COMPONENTES INDIVIDUALES DEL COMPLEMENTO Y ALTERACIONES.

C1. Primera unidad funcional de la ruta clásica del

TABLA 3.3.1

PROPIEDADES DE LOS COMPONENTES DE LA RUTA ALTERNA (20)

Nombre	sinónimo	Peso Molecular	Movilidad Electroforética	Conc. aprox en el suero (mcg/ml)
IF	Factor iniciador	170,000	beta	
Properdina		185,000	gamma 2	25
Factor B	C3 proactivador (C3PA) Glucoproteína rica en glicina (GBG)2 glucoproteína II	95,000	beta 2	200
Factor D	C3 proactivador convertasa (C3PAsa) glucoproteínasa rica en glicina (GBGasa)	25,000	alfa	1-5
C3	Factor A factor sensible a la hidrazina	180,000	beta 1	1600
C3 factor nefrítico	C3 NeF NF	170,000	gamma	

complemento que esta presente en la circulación como una macromolécula C1q-C1r-C1s y cuyas subunidades se encuentran unicamente en condiciones patológicas. C1 puede ser disociado y reasociado por la presencia de iones calcio.

C1q. Es una de las proteínas más catiónicas del suero humano, su estructura es químicamente muy parecida a la colágena, contiene grandes cantidades de glicina, hidroxilisina, hidroxiprolina, glucosa, galactosa y contiene un total de 18 cadenas de polipéptidos de 3 tipos diferentes que consisten de 6 porciones globulares periféricas conectadas por una especie de cuerda enroscada a la estructura central. (35,55).

La molécula de C1q presenta sitios que facilitan a la molécula de C1 unirse a la región Fc de la molécula de IgG o IgM.

C1r. Tiene la capacidad de activar enzimáticamente a C1s.

C1s. Después del rompimiento de un simple péptido de la molécula de C1s por medio de C1r, C1s adquiere actividad de enzima proteolítica del tipo serina esterasa (35).

#### DEFICIENCIAS DE C1.

Se han reportado deficiencias de C1q en lupus eritematoso diseminado e hipogammaglobulinemia; de C1r en glomerulonefritis crónica y en infecciones recurrentes; de C1s en lupus eritematoso diseminado (30,54).

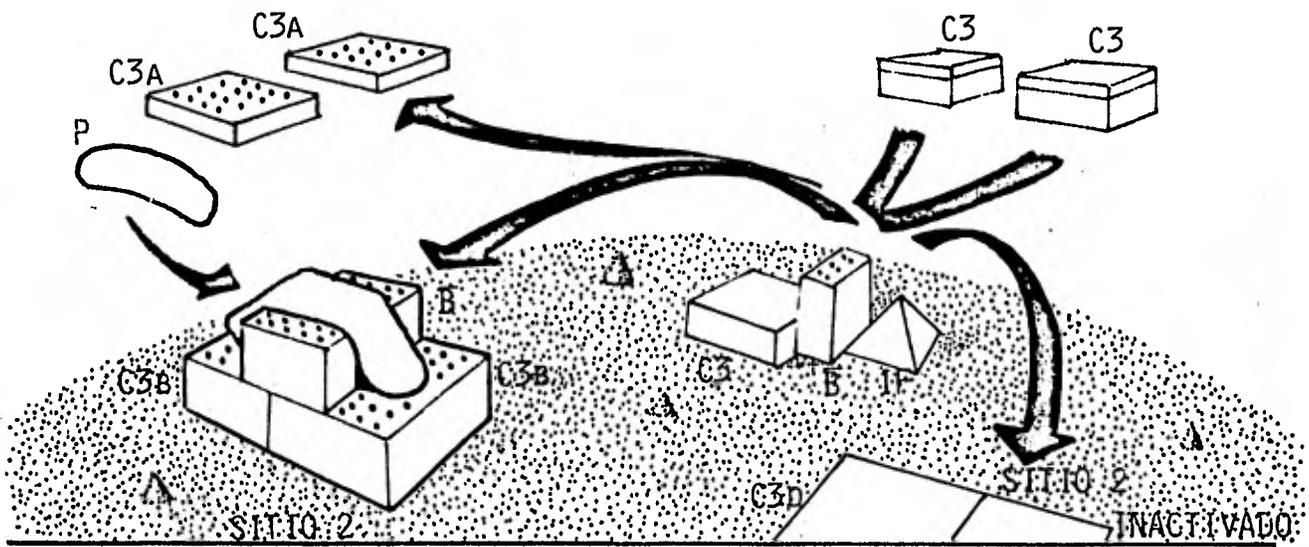


FIGURA 3.3.1

ACTIVACIÓN DE LA RUTA ALTERNA DEL COMPLEMENTO (FASE INICIAL) \*

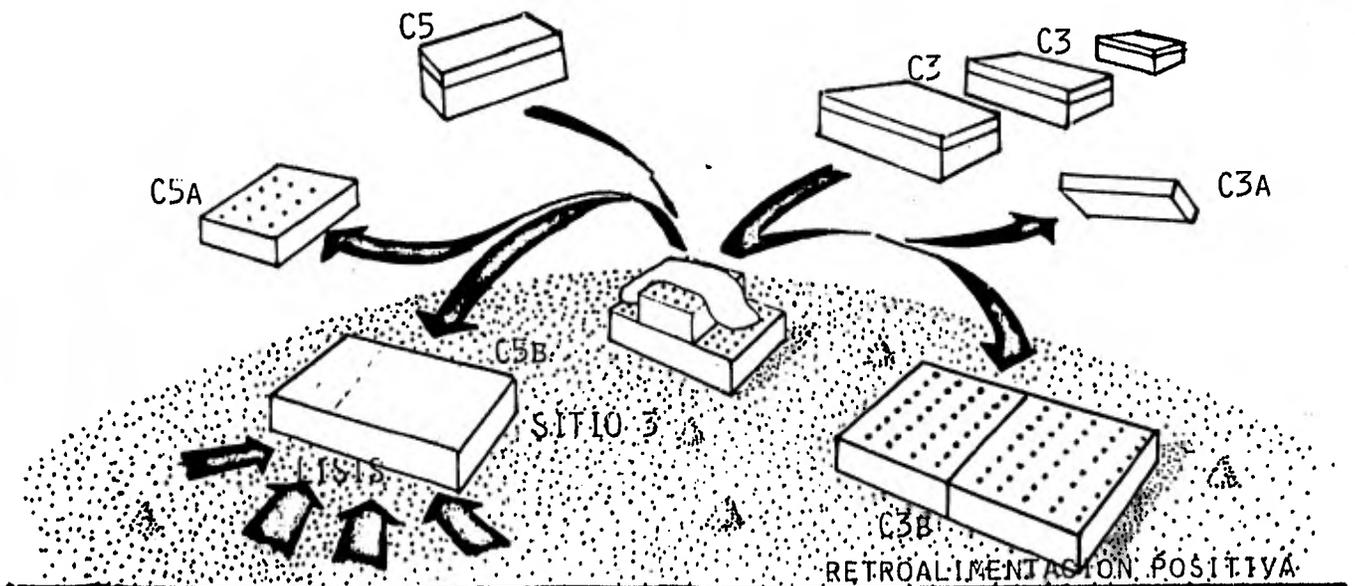


FIGURA 3.3.2

ACTIVACIÓN DE LA RUTA ALTERNA DEL COMPLEMENTO (FASE FINAL)\*\*

\*,\*\* WHICHER, J.T. The value of Complement assay in clinical chemistry. *Clin. Chem.* 24:7 (1978).

#### DEFICIENCIAS DE C2 Y C4.

Se han descrito varias deficiencias de C2 en enfermos con antralgia, lupus eritematoso diseminado, susceptibilidad a infecciones, dermatomiositis, neutropenia, artritis inflamatoria, fenómeno de Raynaud, vasculitis crónica, púrpura de Henoch-Schönlein. Con respecto a C4 se ha reportado una niña con deficiencia de C4 cuya madre tenía aproximadamente la mitad de la cifra normal de C4 descrita por Hauptmann y col en 1974. La niña presentaba un síndrome semejante al lupus (35,54,83).

#### DEFICIENCIAS DE C3.

Se han encontrado en personas que padecen infecciones bacterianas recurrentes (30).

#### DEFICIENCIA DE C6.

Se ha reportado un solo caso con deficiencia de C6, quien tenía un 50% del valor normal de C6, y además presentó episodios repetidos de meningitis meningococcica.

## DEFICIENCIA DE C7.

Se han descrito varios pacientes con deficiencia de C7. Únicamente uno tenía una enfermedad asociada: fenómeno de Raynaud y telangiectasia.

## DEFICIENCIA DE C8.

Se ha descrito solamente un paciente con deficiencia de C8 con una infección diseminada por gonococo. Este paciente careció de C8 tanto funcional como inmunquímicamente detectable.

## 3.5 QUINTO COMPONENTE (C5).

El quinto componente del complemento está compuesto de un 15% de carbohidratos, principalmente hexosas, hexosaminas y una pequeña cantidad de ácido siálico. La activación de C5 ya sea por la ruta clásica o alterna, o por acción de ciertas proteasas da como resultado la producción de dos fragmentos, C5a y C5b. C5a es un glucopéptido, con un peso molecular de aproximadamente 120,000, y C5b de 70,000 (53). La mitad de C5a contiene 73 residuos de aminoácidos cuyo peso molecular es de 8,200.

C5a tiene un residuo arginina en su molécula el cual es esencial para su actividad de anafilotoxina. La secuencia parcial amino terminal es (5,17,18):



BIOSINTESIS DE C5. C5 es un beta globulina basada tanto en sus características inmunoelectroforéticas como cromatográficas (51,53,59,60).

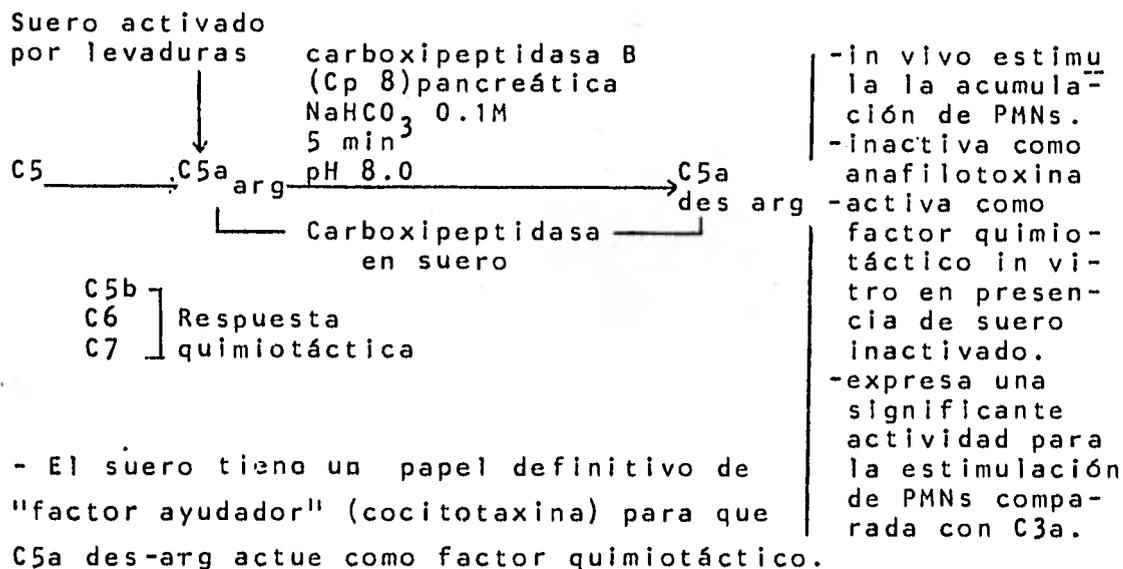
Se ha encontrado que el suero de ciertas cepas de ratones, como son: C57L/J, C57B1/6J, DBA/1J, B10.D2/Sn línea nueva, presentan una proteína análoga a C5 humano y la ausencia de esa proteína esta acompañada por una deficiencia de la actividad hemolítica del complemento. La producción de C5 biológicamente activo, se lleva a cabo en la médula ósea. Levy y col. (1973) demostraron que las células adherentes de bazo de ratón B10.D2 línea nueva (cepa con un sistema del complemento intacto), fueron las únicas capaces de sintetizar C5 debido a la aparición de C5 hemolíticamente activo en medios de recolección de cultivo de células de bazo. En 1973 Colten también detectó C5 en pulmón, hígado, bazo e intestino fetal, y en otro estudio Kohler por medio de incorporación de aminoácidos marcados lo detectó en timo, placenta y células peritoneales (10,22,28).

**FUNCION.** C5 da origen a múltiples actividades biológicas, tales como: Inducción a la agregación bifásica de los granulocitos debido a reducción en la carga de superficie de estas por un simple revestimiento, y neutralización de cargas negativas sobre la superficie celular, facilitando de este modo la unión célula-célula, actividad quimiotáctica que estimula la liberación de enzimas lisosomales, liberación del factor quimiotáctico y metabolismo de los PMN aumentando su adhesividad (1,3,4,5,11,17,18,20,22,23,24,32), opsonización de microorganismos y levaduras, liberación de histamina por los basófilos, ya que estos tienen receptores tanto para IgE como para C5a (11,25).

Es de particular interés el mencionar que las plaquetas contienen una enzima proteolítica que se encuentra en los gránulos "A", y es capaz de generar actividad quimiotáctica del quinto componente del complemento para los PMN

y monocitos humanos (21,81).

C5 también juega un papel importante en la acumulación local de leucocitos en exudados inflamatorios. La rápida acumulación de PMN es respuesta a un estímulo inflamatorio tal como lo es una endotoxina bacteriana (11,66) y por último actividad anafilotóxica.



Por otra parte existe una controversia sobre el poder opsónico de C3 y C5. Se ha observado que aunque C3 estimula la fagocitosis de neumococos mejor que C5, parece ser que C5 actúa como opsonina accesoria después de que C3 ha actuado sobre la pared celular de las bacterias, estabilizando la actividad de proteasa de C3, o inhibiendo la activación enzimática de C3. También se ha postulado que el

fragmento C5a que se libera durante la reacción puede estimular la fagocitosis (18,20,39,65,76).

DEFICIENCIA DE C5. Se ha reportado deficiencia de C5 en infecciones piogénicas severas y en un síndrome semejante al lupus (30,59,60).

DISFUNCION DEL QUINTO COMPONENTE DEL COMPLEMENTO. La disfunción de C5 se asocia al síndrome de Leiner en el que se encuentra una defectuosa capacidad del suero para opsonizar levaduras con PMN normales (30,47,48,57,59).

Se han reportado pocos casos de personas con una actividad opsónica de C5 defectuosa, el curso clínico de estos casos ha sido similar al síndrome descrito por Leiner en 1908 cuyos síntomas consisten en: dermatitis seborréica, evacuaciones frecuentes, falta de desarrollo, síntomas severos gastrointestinales, vómito, infecciones recurrentes, principalmente por bacilos gram negativos, marcada distrofia, mayor susceptibilidad a Candida albicans (45,50).

La disfunción se detecta únicamente por una prueba en la que se mide la actividad biológica de la proteína en la opsonización (ver en sección de métodos) ya que los niveles cuantitativos de C5 en personas con disfunción se encuentran dentro de los límites normales (59,60).

Se ha postulado una anomalía estructural en la molécula de C5, la cual selectivamente daña su función opsónica, debido probablemente a una mutación en la estructura donde la proteína se sintetiza, pero esta mutación afecta las propiedades estructurales de la proteína y por lo regular la cantidad de proteína sintetizada esta bien. Se ha descartado la idea de que existe un inhibidor en el suero.

El tratamiento de estos pacientes es a base de transfusiones de plasma fresco o C5 purificado (44,47,59).

Se ha visto que no se requiere absolutamente de C5 para la ingestión de levaduras, pero contribuye a la opsonización óptima de algunos microorganismos y su función es particularmente importante en personas dependientes del sistema natural opsónico termolábil. La disfunción de C5 no se ha descrito en otras especies. Por otra parte parece ser que existe una herencia de tipo autosómica recesiva en la disfunción de C5 (45,47,48,52,54,61).

Las evidencias de que C5 es el responsable de la opsonización son las siguientes:

1. La actividad fagocítica se aumenta por adición de C5 purificado.
2. El suero de ratones con deficiencia de C5 muestra una pobre estimulación de la fagocitosis (32,52).
3. La adición de C5 purificado a suero de ratones deficientes en C5 restaura su actividad fagocítica.
4. El suero de personas deficientes en C5 no aumenta la actividad fagocítica.
5. Al añadir C3 y C5 purificados la actividad opsónica se lleva a cabo únicamente al añadir C5.

La deficiencia de C5 se considera poco frecuente, pero actualmente se cree en que esta inmunodeficiencia es más común, aunque quizá clínicamente no se exprese.

Se ha reportado que ratones deficientes en C5, infectados con Candida albicans no presentan respuesta inflamatoria, lo que no sucede con ratones normales que resisten a la candidiasis experimental (22,50).

## CAPÍTULO

### IV OPSONIZACION

4.1 DEFINICION Y FUNCION.

4.2 DEFECTOS.

4.3 OPSONIZACION Y DESNUTRICION.

#### 4.1 OPSONIZACION.

Wright y Douglas describieron la importancia de la intervención de los factores humorales en el aumento de la fagocitosis, observaron que algunos anticuerpos facilitaban la fagocitosis de bacterias y las denominaron bacterio tropinas, creando la palabra "opsoninas" (del griego opsonin preparar los alimentos) (6,13,20,30,56,69,73).

Actualmente se considera que las opsoninas alteran la superficie de las bacterias, adsorbiendo componentes del suero sobre la superficie de las partículas, haciéndose de este modo más atractivas a las células fagocíticas.

Las opsoninas pueden ser:

1. Termoestables. Se refiere a anticuerpos específicos dirigidos contra los antígenos de superficie de los microorganismos.

2. Termolábiles. Componentes del suero que forman parte del sistema opsonico termolábil como son los componentes del complemento.

#### FUNCION.

La función de las opsoninas del suero es reaccionar con microorganismos y hacerlos más susceptibles a la ingestión por fagocitos. Este mecanismo es muy importante ya que la virulencia de muchos organismos patógenos se debe a su capacidad de resistir la fagocitosis (83,84,85).

La opsonización de bacterias se puede llevar a cabo

por cualquiera de los tres siguientes mecanismos:

1. Anticuerpos específicos (subclases IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub>).

2. Opsonización específica por medio de anticuerpos específicos y complemento vía clásica. Una cantidad de anticuerpo reacciona con la bacteria y activa secuencialmente el sistema del complemento. Los sitios receptores para C3 activado están presentes sobre la superficie del fagocito, el C3 activado sirve como puente entre la bacteria y el fagocito estimulando así la ingestión.

3. La opsonización no específica, vía alterna del complemento. Cuando se activa esta ruta no se requiere la interacción antígeno-anticuerpo o una previa inmunización con un antígeno determinado. La ruta alterna se activa directamente por polisacáridos de bacterias y levaduras fijando factores opsónicos como lo son C3 y C5.

Estos diferentes mecanismos pueden operar cooperando o combinándose "in vivo", pero un mecanismo puede ser favorecido sobre otro dependiendo del tipo de organismo, del estado de la infección y de la presencia o ausencia de anticuerpos específicos (85).

#### DEFECTOS DE OPSONIZACION.

Tunncliffe en 1910 estudio la actividad fagocítica de los leucocitos en sangre de cordón umbilical contra estreptococo, estafilococo y neumococo, y mostró que los leucocitos son menos activos en el momento del nacimiento que las células de los adultos. Varios años después Gluck y Silverman encontraron que la fagocitosis de partículas de tinta

china variaba en niños prematuros de acuerdo a su peso al nacer y que al añadir suero la fagocitosis de una persona adulta en un sistema in vitro aumentaba significativamente. Forman y Stiehm encontraron que los sueros de niños con pesos por debajo de 1.925 Kg presentaban una capacidad de opsonización defectuosa contra S. aureus y S. marcescens al compararlos con suero de adultos y niños eutróficos, esto se debía probablemente a una anomalía del suero relacionada a una disfunción de C5.

La deficiencia de opsonización no es específica, pues se ha reportado tanto en individuos normales con deficiencia en la capacidad de opsonización, como también en niños con hipogammaglobulinemia, con síndrome de la enfermedad de Leiner o en niños con Infecciones recurrentes (7,19,46, 58,63,67,84).

#### OPSONIZACION Y DESNUTRICION.

Existe una gran interacción entre la desnutrición, la infección y la respuesta inmune. Cuando existe relación entre la desnutrición y la infección producen un efecto mayor que el que pudiera causar cada una por si solo provocando una inmunosupresión (Chandra,1980).

La desnutrición es uno de los principales problemas que contribuye a la mortalidad de los niños, ya que más de 100 millones de preescolares y escolares sufren desnutrición moderada a severa en el mundo. La Organización Panamericana de la Salud mostró que la desnutrición e infección es uno de los problemas de salud más serios en Latinoamérica.

Se ha reportado todo tipo de alteraciones inmunológicas en estado de desnutrición severa, y una de estas alteraciones es la función de los polimorfonucleares y la capa cidad del suero de opsonizar, aunque hay controversia en esta última ya que también se ha reportado que no existe ningun cambio en la capacidad de opsonización del suero de niños desnutridos infectados (Chandra, 1972), pero se ha pu blicado que existe opsonización defectuosa en niños con in fecciones inexplicables (7,8,9,26,30,33,64,67,72,77,78,84).

CAPÍTULO V.

MATERIAL

Y

METODO.

6.

## DISEÑO DEL ESTUDIO.

El estudio se llevó a cabo en niños que asistían a la consulta externa del Instituto Nacional de Pediatría ya sea por antecedentes infecciosos, o con padecimientos de etiología no infecciosa, el nivel socioeconómico que predominaba era bajo y la proporción de niños y niñas era semejante. El presente estudio se realizó en el período de noviembre de 1979 a septiembre de 1980. Los niños se dividieron en 7 grupos:

GRUPO I.- Lactantes eutróficos sanos con una edad que fluctuaba entre 6 y 24 meses, que acudieron para tratamiento de un padecimiento de etiología no infecciosa y que no presentaban antecedentes infecciosos 3 meses antes de la toma de producto, con peso y talla normal. El número de niños en ese grupo fué de 14.

GRUPO II.- Grupo que constó de 6 pacientes, lactantes eutróficos infectados, con peso y talla normales pero con infecciones previas.

GRUPO III.- Niños desnutridos sin infecciones con peso por debajo de la percentila 3. El número de niños fué de 8.

GRUPO IV.- Niños desnutridos infectados con peso y talla por debajo de la percentila 3. En este grupo se estudiaron 14 pacientes.

GRUPO V.- Pacientes cuya edad fluctuaba entre 5 y 16 años, con peso y talla normales y sin infecciones previas. El número de pacientes estudiados fué de 9.

GRUPO VI.- Enfermedad de Leiner. En este grupo se estudiaron a 2 niños con cuadros semejantes a la enfermedad de Leiner:

a. Niño de 3 meses de edad, que ingresó al I.N.P. por gastroenteritis, evacuaciones faltas de consistencia, desde los 2 meses presenta dermatitis seborreica, tipo Leiner y candidiasis mucocutánea, Para considerar si existía algún antecedente hereditario se estudiaron sus familias más cercanos.

b. Niño de 3 meses de edad, paciente que inicia su problema desde el nacimiento con procesos infecciosos a diferentes niveles sin mejorar con manejo médico, presentando dermatitis seborreica tipo Leiner, conjutivitis purulenta del ojo derecho, absceso, máculo-pápulas generalizada y posteriormente descamación generalizada.

GRUPO VII.- Grupo de niños mayores con infecciones de repetición por candidiasis mucocutánea, de peso y talla normal.

GRUPO CONTROL.- Este grupo lo constituían personas aparentemente sanas que asistieron al Instituto Nacional de Pediatría con el objeto de donar sangre, el grupo estaba formado de 22 personas de peso y talla adecuadas para su edad, a las cuales se les aplicó un cuestionario en el cual se comprobaba si no existía un padecimiento infeccioso previo a la toma de muestra, además de registrar el que no hubieran tomado antibióticos.

#### MATERIAL BIOLÓGICO.

Se obtuvieron muestras de 3 a 4 ml de sangre total en

heparinizar, inmediatamente se colocaron en recipientes con hielo por un período aproximado de 30 minutos para mantener el complemento estable y llevar a cabo la retracción del coágulo, después de lo cual se centrifugaron 10 minutos a 2000 rpm, el suero obtenido se separó en alícuotas de 0.2 ml manteniéndose en un congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta la realización de la prueba.

En la prueba de opsonización de levaduras se cuantificó la capacidad que tiene el suero de los pacientes de fagocitar levaduras por leucocitos PMN de personas sanas.

La prueba de fagocitosis es muy sensible y satisface los requerimientos descritos por Newsome para la evaluación "in vitro" de fagocitosis y que son los siguientes:

1. Contacto al azar entre PMN y partículas de levaduras.
2. Una relación fija de PMN y levaduras.
3. Tiempo controlado
4. Control de temperatura.
5. Concentración de suero fija en la prueba.

## REACTIVOS.

1. Solución salina balanceada amortiguada con TRIS a pH 7.45.
2. Dextran T150 al 5% (Pharmacia Fine Chemicals).
3. Cloruro de amonio 0.87%.
4. Albumina bovina (Merck).
5. Heparina.

## PREPARACION DE LEVADURAS.

1. Pesar 5 g de levadura de panadería (baker yeast).
2. Suspender los 5 g de levadura en 100 ml de solución salina isotónica.
3. Colocar en baño de agua por 30 minutos a 80°C.
4. Filtrar através de gasa colocada en un embudo a un tubo de rosca estéril.
5. Se cuentan las levaduras en un hemocitómetro y se añade solución salina balanceada para ajustar la concentración de levaduras a  $3 \times 10^7$  levs/ml.

## OBTENCION DE LEUCOCITOS PMN.

1. Efectuar el procedimiento con tubos de policarbonato o polipropileno.

2. Extraer en una jeringa desechable de 20 ml, 8.0 ml de sangre y añadir 100 U de heparina/ml.
3. Mezclar la sangre con un volumen y medio de dextran al 5%.
4. Colocar la jeringa a 37°C en un ángulo de 45° por un lapso de 30 a 45 min para dejar sedimentar (fig 5.1).
5. Centrifugar el plasma rico en leucocitos a 500 rpm durante 5 min.
6. Eliminar el sobrenadante y resuspender el paquete celular en solución de cloruro de amonio al 0.87% en un volumen igual al inicial por 5 min a 37°C para eliminar el resto de eritrocitos.
7. Centrifugar a 500 rpm durante 5 min, eliminar el sobrenadante.
8. Lavar el paquete celular con solución salina balanceada heparinizada dos veces y una vez con cinco ml de solución del albumina al 1%.
9. Se cuentan los PMN en un hemocitómetro y se añade solución salina balanceada para ajustar la concentración de PMN a  $5 \times 10^6$  PMN/ml.

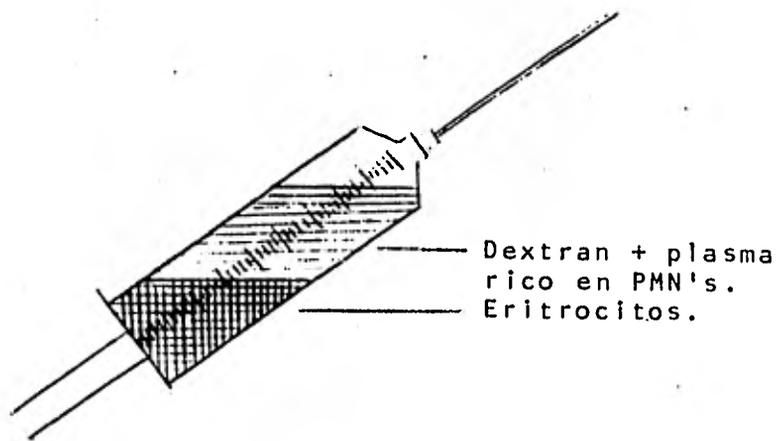


Figura 5.1

Demostración esquemática de la sedimentación de eritrocitos, para la obtención de PMN's con dextran al 5%.

## PRUEBA DE OPSONIZACION

	Tubo A (ml)	Tubo B (ml)	Tubo C (ml)
Suspensión ajustada de leucocitos ( $5 \times 10^6$ PMN/ml)	0.2	0.2	0.2
Suspensión ajustada de levaduras ( $3 \times 10^7$ lev/ml)	0.1	0.1	0.1
Suero sin diluir	0.1	-	-
Suero diluido 1;10	-	0.1	-
Solución salina balanceada	-	-	0.1

Tapar los tubos, colocarlos en el rotor a 6 rpm e incubarlos a 37°C por 30 minutos, después centrifugar a 500 rpm por 5 minutos, descartar el sobrenadante y absorber el sedimento con una pipeta Pasteur, colocarlo en un portaobjetos, dejar secar y teñir con colorante de Wright. Contar 100 PMN y el número de levaduras fagocitadas por ellos.

Nota; La actividad fagocítica no tiene correlación con el número de globulos rojos, linfocitos y PMN no segmentados o eosinófilos (40).

## ANALISIS ESTADISTICO.

Para decidir si los promedios de dos o más poblaciones son iguales, se realizó un análisis de varianza, determinándose cuales diferían entre sí y cuales no, por medio de la "Prueba de Tukey". Para esto no se recomienda aplicar por separado las pruebas de t de student a todas las posibles

parejas de poblaciones. Se ha demostrado práctica y teóricamente, que esto aumenta mucho la probabilidad de cometer--- errores tipo I (las diferencias observadas en los promedios o proporciones de dos muestras, a veces pueden deberse únicamente al azar, y ser lo suficientemente grandes como para rechazar la hipótesis de nulidad; si esto sucede se comete el llamado error tipo I). Para la solución de este problema existe la "Prueba de Tukey", en la cual hay pocas probabilidades de cometer errores al efectuar las inferencias. Este procedimiento consiste en investigar la magnitud relativa de cada diferencia entre promedios muestrales, por ejemplo  $\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ ,  $\bar{X}_1 - \bar{X}_3$ , ... etc. Para que una de estas diferencias que se denotaron  $\bar{X}_a - \bar{X}_b$  sea estadísticamente significativa, se requiere que la discrepancia sea "grande". Para decidir cuando es "grande" una diferencia entre promedios muestrales, se construye la llamada DMSR (diferencia mínima significativa real). La DMSR es función del promedio de cuadrados para el error (CM error) que se obtiene del análisis de varianza y de un valor "Q" obtenido de las tablas de rangos estandarizadas construidas por Tukey con un nivel de significancia dado, con el número de promedios muestrales que se quieren comparar (K) y con los grados de libertad del error experimental del análisis de varianza. Por lo tanto el valor de DMSR es el siguiente:

$$DMSR = Q \frac{CM \text{ error}}{2} \left( \frac{1}{n_a} + \frac{1}{n_b} \right)$$

$n_a$  y  $n_b$  son el número de los elementos en las muestras que se están comparando. De manera que para que alguna diferencia entre promedios  $\bar{X}_a - \bar{X}_b$  se pueda considerar como significativa se requiere que esa diferencia sea mayor que el valor de DMSR. (Cañedo, L. García, H. y Méndez, I. Principios de Investigación Médica, 1 ed. DIF, Mex., 1980).

CAPÍTULO VI.

RESULTADOS

Y

DISCUSION.

## RESULTADOS.

En la tabla 6.1 se muestran los índices opsonocitofágicos (Iopf) que resultan de dividir el número de levaduras ingeridas por PMN, su promedio y desviación estándar del grupo control.

En la tabla 6.2 Se describen las características de los grupos estudiados, promedios y desviación estándar de los Iopfs.

De la tabla 6.3 a la 6.10 se muestran datos generales sobre sexo, edad, peso y talla, así como los Iopf de todos los grupos, además del grupo control.

Para evaluar si existía alguna diferencia significativa entre los grupos de lactantes eutróficos sanos, eutróficos infectados, desnutridos sin infecciones, desnutridos infectados y Enfermedad de Leiner, se llevó a cabo un análisis de varianza el cual resultó ser significativo  $p < 0.1$ . En base a esto se realizó la prueba de Tukey para buscar en que grupos existía diferencia, resultando lo siguiente:

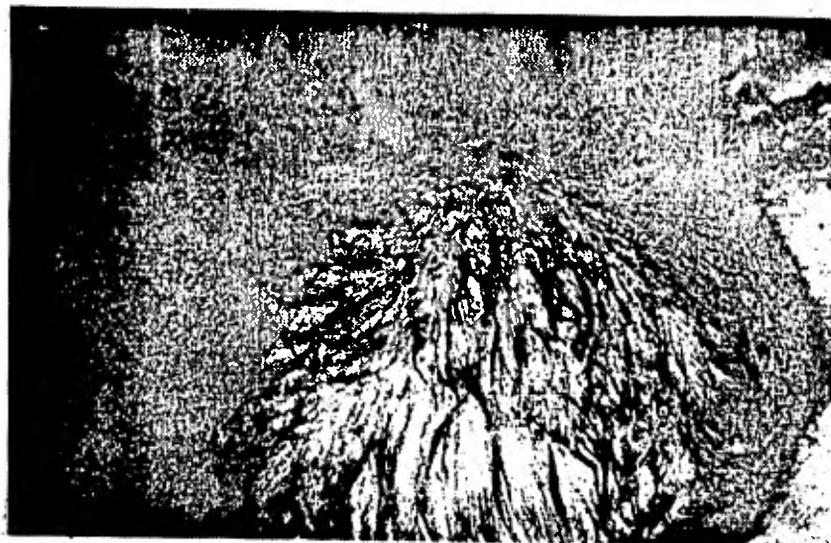
1. Enfermedad de Leiner y lactantes eutróficos sanos  
 $p < 0.05$
2. Enfermedad de Leiner y lactantes eutróficos infectados  
no significativo
3. Enfermedad de Leiner y lactantes denutridos sin  
infecciones  $p < 0.05$
4. Enfermedad de Leiner y lactantes denutridos infectados  
 $p < 0.05$ .

De la misma manera se llevó a cabo un análisis de varianza entre los grupos de lactantes eutróficos sanos, escolares y adultos resultando en una  $P \approx 0.1$ , efectuándose la prueba de Tukey de lo cual resultó lo siguiente:

1. Lactantes eutróficos sanos y adultos  $p < 0.05$ .
2. Escolares y adultos. No significativo.
3. Lactantes eutróficos sanos y escolares. No significativo.

Con base en los resultados anteriores, se puede observar que existe una diferencia en la capacidad de opsonización del suero de entre los lactantes y los adultos, lo cual está de acuerdo con la posible inmadurez del sistema inmune en los primeros meses de la vida, pero esta disminución en la capacidad de opsonización del suero de los lactantes, no se reduce al grado que se presenta en los niños con enfermedad de Leiner, solo en el caso de los lactantes infectados se notó una deficiencia la cual no tuvo una diferencia significativa con respecto al grupo de Enfermedad de Leiner.

Por otro lado se encontró que existe capacidad de opsonización defectuosa en el suero de familiares cercanos de los niños con enfermedad de Leiner. En el primer caso se observó una gran diferencia entre los lopf del paciente con respecto al control, encontrándose además que tanto la madre como dos hermanos del paciente presentaban una disminución del lopf en suero diluido 1:10. En las páginas 62 63 y 64 se muestran fotografías de los dos casos con Enfermedad de Leiner.

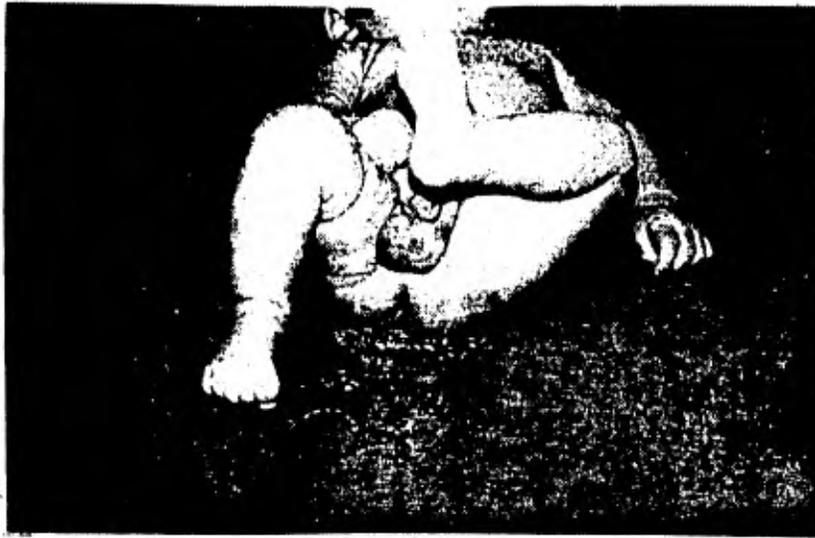


A



B

Figura 6.1.  
Caso No 1 con enfermedad de Leiner.- En la figura A y B se observa la dermatitis seborreica en el cuero cabelludo y en el cuerpo.



A



Figura 6.2.  
Caso No 1 con enfermedad de Leiner.- En la figura A se observa la diarrea característica de esta enfermedad. En la figura B se observa edema y la dermatitis seborreica generalizada.

B



A



Figura 6.3.

Se muestra en las fotografías A y B el ca  
sp No 2 con enfermedad  
de Leiner. Se puede ob  
servar la dermatitis  
seborreica y un absce-  
so en la axila izquier  
da.

B

Por otra parte, el segundo caso presentó disminución de su índice de opsonización así como el IOPF de una tía materna, por lo que se puede señalar la probabilidad de que sea de carácter hereditario.

Por último, se estudió a una familia que presentaba infecciones de repetición por C. albicans en piel y mucosa (candidiasis mucocutánea); la madre no presentaba candidiasis, pero sus tres hijos sí. En esta familia se encontró que la madre y dos de sus hijos tenían IOPF disminuidos.

Se ha reportado que el quinto componente del complemento (C5a), es importante en la estimulación de las células fagocíticas para la ingestión y digestión de C. albicans. El hallazgo de que el suero de estos pacientes no es capaz de estimular la fagocitosis de levaduras por PMNs normales, es importante, pues contribuye a explicar la causa de esta entidad particular aún no bien estudiada, por lo que de esta observación debe surgir la indicación de estudiar este factor en todos los pacientes con candidiasis mucocutánea.

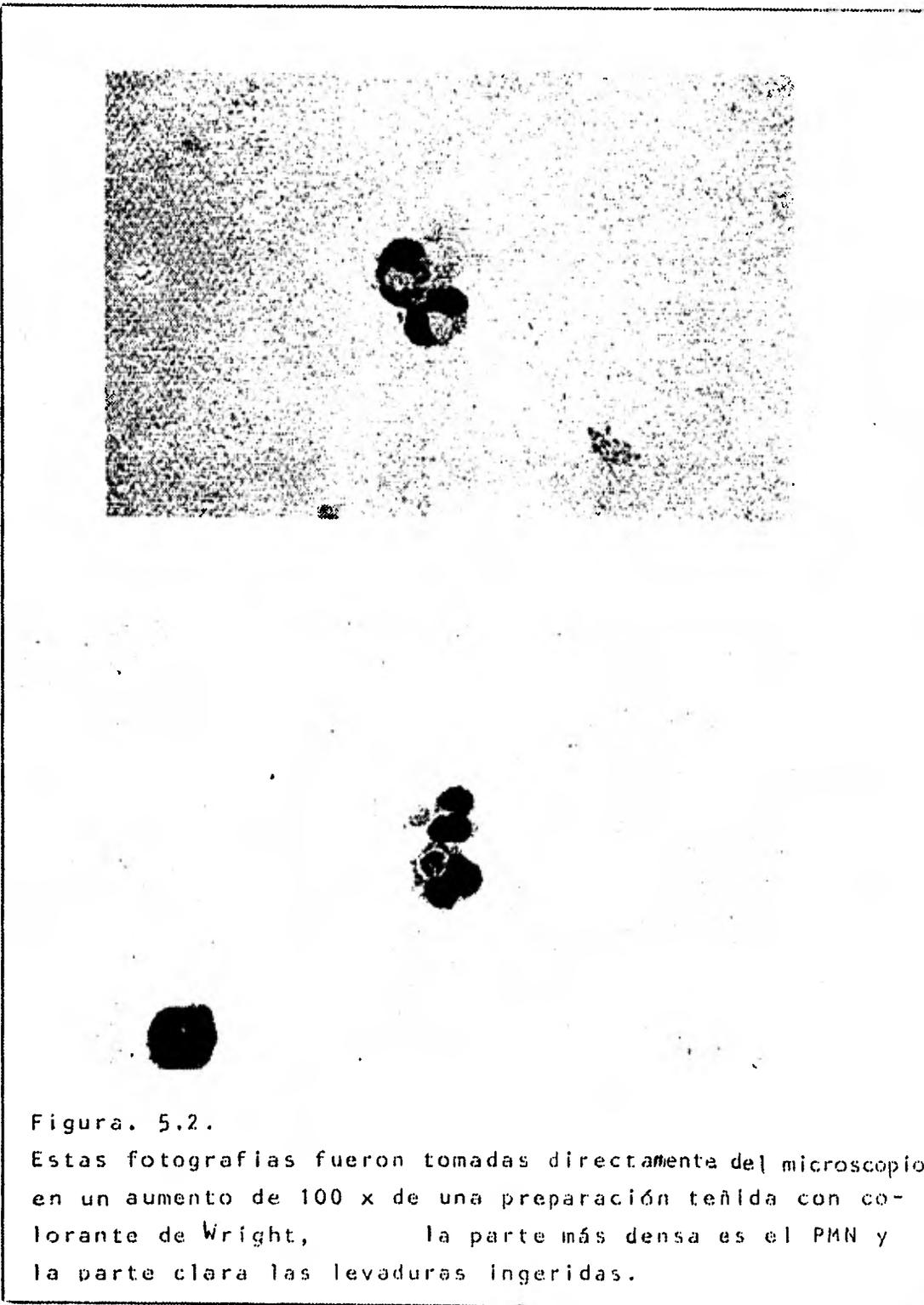


Figura. 5.2.

Estas fotografías fueron tomadas directamente del microscopio en un aumento de 100 x de una preparación teñida con colorante de Wright, la parte más densa es el PMN y la parte clara las levaduras ingeridas.

TABLA 6.1

G R U P O C O N T R O L

No	Indice Opf Dil 1:10	No	Indice Opf Dil 1:10
1	1.17	12	1.20
2	1.04	13	1.48
3	1.01	14	1.40
4	1.76	15	1.23
5	1.27	16	1.35
6	2.02	17	1.21
7	1.40	18	1.80
8	1.70	19	1.71
9	1.24	20	1.51
10	1.20	21	1.43
11	1.30	22	1.00
PROMEDIO 1.38			
DESV.ESTANDAR 0.27			
VARIANZA 0.07			

TABLA 6.2

CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS ESTUDIADOS Y PROMEDIOS  
Y DESVIACIONES ESTANDAR DE LOS INDICES OPSONOCITOFAGICOS

GRUPO	N	CLASIFICACION (*)	SEXO (**)	EDAD (Meses)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	INDICE OpF Dil 1:10	INDICE Opf Control Dil 1:10
1	14	1 A 5 B 4 C 1 E	6 F 7 M	17.38	11.05	79.08	x= 1.11 s= 0.174	x= 1.369 s= 0.240
2	6	1 A 3 B 1 C 1 D	4 F 2 M	13.00	9.25	74.83	x= 1.000 s= 0.290	x= 1.438 s= 0.360
3	8	4 A 1 C	5 F 1 M	16.00	8.10	72.41	x= 1.018 s= 0.220	x= 1.396 s= 0.340
4	14	6 A 7 B 1 E	8 F 6 M	13.33	7.10	68.96	x= 1.040 s= 0.241	x= 1.410 s= 0.264
5	-	-	-	-	-	-	x= 1.193 s= 0.300	x= 1.522 s= 0.279

(\*) A muy bajo, B bajo, C medio, D alto y E particular.

(\*\*) F= femenino, M= masculino.

TABLA 6.3

GRUPO I  
LACTANTES EUTROFICOS SANOS

N	CLASIFICACION (*)	SEXO (**)	EDAD (meses)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	INDICE OpF Dil 1:10 Problema	INDICE Opf Dil 1:10 Control
1	A	F	18	10.860	83	1.06	1.17
2	B	F	14	11.000	76	0.96	1.04
3	-	M	9	9.000	68	1.30	1.76
4	C	F	7	6.325	60	1.16	1.76
5	-	M	13	10.000	73	1.22	1.27
6	B	M	19	11.500	83	0.85	1.30
7	C	M	24	13.570	89	0.83	1.20
8	B	F	23	11.500	82	0.92	1.20
9	B	M	18	10.900	80	1.23	1.40
10	C	M	22	12.480	86	1.20	1.40
11	B	F	18	10.900	80	1.00	1.23
12	E	M	16	10.750	73	1.25	1.21
13	C	F	23	12.900	84	1.39	1.80
14	-	M	18	11.100	81	1.17	1.43

(\*) y (\*\*) utilizan la misma clasificación de la tabla 6.2.

TABLA 6.4  
GRUPO II  
EUTROFICOS INFECTADOS

N	CLASIFICACION (*)	SEXO (**)	EDAD (meses)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	INDICE OpF Dil 1:10 Problema	INDICE OpF Dil 1:10 Control
1	B	F	9	8.800	70	0.73	1.01
2	B	M	12	9.100	70	1.50	2.02
3	B	F	16	9.900	82	0.81	1.40
4	C	F	14	9.300	81	1.00	1.70
5	B	F	12	8.600	68	0.80	1.20
6	A	M	15	10.200	78	1.16	1.30

(\*) y (\*\*) utilizan la misma clasificación de la tabla 6.2.

TABLA 6.5

GRUPO III  
DESNUTRIDOS SIN INFECCIONES

N	CLASIFICACION (*)	SEXO (**)	EDAD (meses)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	INDICE OpF Dil 1:10 Problema	INDICE OpF Dil 1:10 Control
1	A	F	17	7.700	73	0.58	1.17
2		M	11	6.100	67	0.89	1.01
3		F	17	8.100	74	1.12	2.02
4	C	F	18	9.520	74	1.13	1.20
5	A	M	26	10.600	84	1.30	1.35
6	A	F	20	9.000	75.5	1.01	1.35
7	A	F	6	3.700	54	1.22	1.80
8		M	15	7.500	71	0.90	1.27

(\*) y (\*\*) utilizan la misma clasificación de la tabla 6.2.

TABLA 6.6

GRUPO IV  
DESNUTRIDOS INFECTADOS

N	CLASIFICACION (*)	SEXO (**)	EDAD (meses)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	INDICE OpF Dil 1:10 Problema	INDICE OpF Dil 1:10 Control
1	A	F	12	5.800	64.5	0.96	1.17
2	A	M	24	9.500	86	0.92	1.04
3	E	F	13	7.400	75	1.10	1.76
4	D	F	14	7.000	68	0.64	1.76
5	A	M	19	8.300	76	1.00	1.76
6	B	F	18	9.500	60	1.10	1.40
7	A	M	17	7.500	71	1.20	1.70
8	B	F	18	8.240	77	1.35	1.70
9	A	F	7	5.030	59	1.10	1.24
10	B	F	8	5.400	66	1.30	1.24
11	B	M	13	8.500	75	1.06	1.20
12	B	F	12	6.400	64	0.50	1.20
13	A	M	6	3.620	52	1.00	1.23
14	B	M	14	7.300	74	1.18	1.35

(\*) y (\*\*) utilizan la misma clasificación de la tabla 6.2.

TABLA 6.7

GRUPO V  
NIÑOS MAYORES

N	CLASIFICACION (*)	SEXO (**)	EDAD (meses)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	INDICE OpF DII 1:10 Problema	INDICE OpF DII 1:10 Control
1	-	M	12	31.000	144	1.17	1.20
2	-	M	7	21.000	117	1.22	1.48
3	-	M	6	20.000	112	1.39	1.40
4	-	M	11	29.500	138	1.00	1.21
5	-	F	8	14.500	126	0.62	1.80
6	-	M	12	30.000	140	1.30	1.80
7	-	M	14	44.500	148	1.05	1.21
8	-	F	15	49.500	152	1.72	1.80
9	-	F	15	53.000	157	1.27	1.80

(\*) y (\*\*) utilizan la misma clasificación de la tabla 6.2.

TABLA 6.8

GRUPO VI  
ENFERMEDAD DE LEINER

CASO: 1.

N	SEXO (*)	PARENTESCO	SUERO DILUIDO 1:10	
			INDICE OpF	$\frac{\text{Probl}}{\text{Control}} \times 100$ **
1	M	Paciente	0.54	31.57
2	F	Madre	0.66	38.59
3	F	Hermana	0.79	46.19
4	F	Hermana	1.16	67.83
5	M	Hermano	0.67	39.18
6	F	Tía	1.11	64.91
7	F	Abuela	1.27	74.26
8	M	Adulto control	1.71	100.00

(\*) F= femenino, M= masculino.

(\*\*) Se utilizó esta relación para indicar el porcentaje de disminución del Iopf del paciente con respecto a un control

TABLA 6.9

GRUPO VI  
ENFERMEDAD DE LEINER

CASO: 2.

N	SEXO (*)	PARENTESCO	SUERO DILUIDO 1:10	
			INDICE OpF	$\frac{\text{Probl}}{\text{Control}} \times 100$ **
1	M	Paciente	0.68	37.15
2	F	Madre	1.17	63.93
3	M	Padre	1.20	65.57
4	F	Pariente	1.00	54.64
5	M	Control	1.83	100.00

(\*) F=femenino, M=masculino.

(\*\*) Se utilizo esta relación para indicar el porcentaje de disminución del IopF del paciente con respecto a un control

TABLA 6.10

GRUPO VII  
CANDIDIASIS MUCOCUTANEA \*\*

N	SEXO (*)	EDAD (años)	INDICE OpF Dil 1:10 Problema	INDICE OpF Dil 1:10 Control
1	F	-	0.90	1.27
2	F	10	0.46	0.75
3	F	18	1.23	1.36
4	M	9	0.63	1.36

(\*) F= femenino, M= masculino.

(\*\*) En este caso se analizó una familia con candidiasis mucocutánea, el primer número lo ocupa la madre y los siguientes los hijos

## CONCLUSIONES

No existió ninguna diferencia significativa entre los índices opsonocitofágicos entre los grupos: lactantes eutróficos sanos, lactantes eutróficos infectados, desnutridos sin infecciones y lactantes desnutridos infectados, por lo que se puede concluir que las infecciones y la desnutrición no producen defectos en la capacidad de opsonizante del suero para la fagocitosis de levaduras por leucocitos polimorfonucleares de personas sanas. No obstante sería recomendable seguir un grupo de niños con diferentes grados de desnutrición longitudinalmente para ver si existe alguna variación en la capacidad de opsonización de sus sueros, dado que sí encontramos algunos casos con valores francamente bajos.

En los casos con enfermedad de Leiner se observó una disminución en la capacidad de opsonización, sin embargo en familiares de los pacientes encontramos valores semejantes sin manifestaciones clínicas; la explicación de estos hallazgos puede ser: el solo defecto en la capacidad de opsonización no produce sintomatología si se compensa con otros mecanismos normales. En los pacientes, se observó la sintomatología pues coincidió con otro defecto inmunológico (en uno agammaglobulinemia y en el otro síndrome de Nezelof), que por sí solos tampoco dan cuadros semejantes, esto es secundario a la asociación de ambos actuando al parecer sinérgicamente. Esto confirma lo sugerido por Evans y Holz-el (1977).

Por último en pacientes con candidiasis mucocutánea se presentó una disminución en la capacidad de opsonización po-

siblemente asociada a una disfunción del quinto componente del complemento que posiblemente se mejoraría con infusiones de plasma fresco de personas normales sanas y que aunado al defecto celular específico para C. albicans puede ser la explicación patogénica de dicha enfermedad.

## B I B L I O G R A F I A

1. Baener, R.L. Molecular basis for functional disorders of phagocytes. *J. Pediatr.* 84(3):317 (1974).
2. Barret, S.G. Use of Baker's yeast to detect complement receptor. *Blood* 52:569 (1978).
3. Beckerel, M. and Stossel, T.P. Chemotaxis. *Fed. Proc.* 39 (12):2949 (1980).
4. Bhagavan, N.V. Bioquímica, 1 ed; Interamericana, México, 1978.
5. Bokisch, V.L. and Müller-Eberhard, H.J. Anaphylatoxin inactivator of human plasma: its isolation and characterization as a carboxypeptidase. *J. Clin. Invest.* 49:2427.(1970)
6. Burdon, K. L. y Williams, R.P. Microbiología. 1a Ed. Publicaciones Cultural S.A. México, 1976.
7. Candy, D.C.A., Larcher, V.F., Tripp, J.H., Harries, J.T., Harvey, B.A.M. and Soothill, J.F. Yeast opsonisation in children with chronic diarrhoeal states. *Arch. Dis. Child.* 55:189 (1980).
8. Chandra, R.K. and Newberne, P.M. Nutrition, Immunity and infection. 2nd Ed Plenum Press. New York. 1979.
9. Coen, R., Grush, O., and Kauder, E. Studies of bactericidal activity and metabolism of the leukocyte in full term neonates. *J. Pediatr.* 75(3):400 (1969).
10. Colten, H.R. Biosynthesis of C5 and C6. *Adv. Immunol.* 92 (1976).
11. Craddock, P.R., Hammerschmidt, D., White, J.G., Dalmaso, A. P. and Jacob, H.S. Complement (C5a)-Induced granulocyte aggregation in vitro. *J. Clin. Invest.* 60:260.1977.
12. Daniel, W.W. Bioestadística. 2 Ed; Limusa, México, 1979.
13. Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen, H.N., Ginsberg, H.S. and Wood, W.B. Microbiology. 2 Ed. Harper & Row, Pub. U.S.A. 1973.
14. De Chatalet, L.R. Oxidative bactericidal mechanisms of polymorphonuclear leukocytes. *J. Med.* 18:846 (1975).

15. Elsbach, P. On the interaction between phagocytes and microorganisms. *N. Engl. J. Med.* 18:846 (1973).
16. Evans, D.I., Holzel, A. and Macfarlane, H. Yeast opsonization defect and immunoglobulin deficiency in severe infantile dermatitis (Leiner's disease). *Arch. Dis. Child.* 52:691 (1977).
17. Fernandez, H.N. and Hugli, T.E. Partial characterization of human C5a anaphylatoxin. I. Chemical description of the carbohydrate and polypeptide portions of human C5a. *J. Immunol* 117(5) part 1:1688 (1976).
18. Fernandez, H.N. Henson, P.M., Otani, A. and Hugli, T.E. Chemotactic response to human C3a and C5a anaphylatoxins. I. Evaluations of C3a and C5a leukotaxis in vitro and under stimulated in vivo conditions. *J. Immunol.* 120(1):109 (1978).
19. Forman, M.L. and Stiehm, E.R. Impaired opsonic activity but normal phagocytosis in low-birth weight infants. *N. Engl. J. Med.* 23:926 (1969).
20. Fudenberg, H.H., Stites, D.P., Caldwell, J.L. and Wells, J.V. Basic & Clinical Immunology. 2 Ed. Lange Medical Pub. U.S.A. 1978.
21. Goldblum, S.E., Van Epps, D.E. and Reed, W. Serum inhibitor of C5 fragment-mediated polymorphonuclear leukocyte chemotaxis associated with chronic hemodialysis. *J. Clin. Invest.* 64:255 (1979).
22. Goldman, M.B., French, D.L. and Goldman, J.N. Cell mediated suppression of the fifth component of complement in mice. *J. Immunol.* 122(1):246 (1979).
23. Goldstein, I.N. Complement and immunoglobulins stimulate superoxide production by human leukocytes independently of phagocytosis. *J. Clin. Invest.* 56:1155 (1975).
24. Goldstein, I.M. Endogenous regulation of complement (C5)-derived chemotactic activity: fine tuning of inflammation. *J. Lab. Clin. Med.* 93(1):13 (1979).
25. Grant, A.J., Settle Linda, Whorton, E.R. and Dupree, E. Complement-mediated release of histamine from human basophils. *J. Immunol.* 117 (2):450 (1976).
26. Groo, R.L. and Newberne, P.M. Role of nutrition in immunologic function. *Physiol. Rev.* 60(1):188 (1980).

27. Guyton, A.C. Tratado de Fisiología Médica. 4 Ed. Interamericana. México, 1975.
28. Hadding, L. El sistema del complemento. Bioquímica y función. Documenta Geigy. 1975.
29. Ham, A.W. Tratado de Histología. 7 Ed. Interamericana. México. 1975.
30. Hayward, A.R. Deficiencia Inmunitaria. 1 Ed. El Manual Moderno, México. 1978.
31. Jacobs, J.C. and Miller, M.E. Fatal familial Leiner's disease: A deficiency of the opsonic activity of serum complement. *Pediatrics*. 49(2):225 (1972).
32. Johnston, R.B., Klempere, M.R., Alper, C.A. and Rosen, F.S. The enhancement of bacterial phagocytosis by serum. *J. Exp. Med.* 129:1275 (1969).
33. Johnston, R.B. Biology of the complement system with particular reference to host defense against infection. A review. *Malnutrition and the immune response*. 296 (1977).
34. Kaplan, C.J. The molecular basis of immune cell function. 1 Ed. Elsevier-Noth-Holland Biomedical Press. 1979.
35. Kerr, A.M. The complement system. *Biochem. Educ.* 9(3):82 (1981).
36. Klebanoff, S.J. Antimicrobial mechanisms in neutrophilic polymorphonuclear leukocytes. *Seminar Hemat.* 12(2):117 (1975).
37. Klemper, M.S. The effect of hemodialysis and C5a des arg on neutrophil subpopulations. *Blood*. 55(5):777 (1980).
38. Ketchel, M.M. and Favour, C.B. The acceleration and inhibition of migration of human leukocytes *in vitro* by plasma protein fractions. *J. Immunol.* 121(1):123 (1978).
39. Landen B. and Manfred, D.P. Identity of C3 and C5 receptors on lymphoid cells. *J. Immunol.* 122(3):1015 (1979).
40. Lehrer, R.L. and Cline, M.J. Interaction of Candida albicans with human leukocytes and serum. *J. Bacteriol.* 98(3):996 (1969).
41. Leiner, C. Uber erythrodermia desquamativa, eine eigenartige universelle dermatose der brustkinder. *Arch. Derma. Syph.* 89:163 (1908).

42. Mc Cracken, G.H. and Eichenwald, H.F. Leukocyte function and the development of opsonic and complement activity in the neonate. *Am. J. Dis. Child.* 121:120 (1971).
43. McLeod, B., Baker, Patricia, and Gewurz, H. Studies on the inhibition of C5b initiated lysis (reactive lysis). *Immunol.* 28:133 (1975).
44. Miller, M.E. Demonstration and replacement of a functional defect of the fifth component of complement in newborn serum. A major tool in the therapy of neonatal. *Fed. Proc. Fedn. Am. Soc. Exp. Biol.* 27:379 (1968).
45. Miller, M.E., Seals, J., Kays, R. and Levitsky, L.C. A familial plasma associated defect of phagocytosis. *Lancet*:60 (1968).
46. Miller, M.E. Phagocytosis in the newborn infant: humoral and cellular factors. *J. Pediatr.* 74(2):255 (1969).
47. Miller, M.E. and Nilsson, U.R. A familial deficiency of the phagocytosis enhancing activity of serum related to a dysfunction of fifth component of complement (C5). *N. Engl. J. Med.* 282(7):354 (1970).
48. Miller, M.E. and Koblenzer, P.J. Leiner's disease and deficiency of C5. *Curr. Comm.* 80(5):879 (1972).
49. Miller, M.E. Pathology of chemotaxis and random mobility. *Seminars Hemat.* 12(1):59 (1975).
50. Morelli, R. and Rosenberg, L.T. The role of complement in the phagocytosis of *Candida albicans* by mouse peripheral blood leukocytes. *J. Immunol.* 107(2):476 (1971).
51. Nilsson, U.R. and Müller-Eberhard, H.J. Isolation of beta-1F-globulin from human serum and its characterization as the fifth component of complement. *J. Exp. Med.* 123:277 (1966).
52. Nilsson, U.R. and Müller-Eberhard, H.J. Deficiency of the fifth component of complement in mice with an inherited complement defect. *J. Exp. Med.* 125:1 (1967).
53. Phan, S.H. and Ward, P.A. Generation of biologic activity from the purified alpha-chain of C5. *J. Immunol.* 123(6):2735 (1979).
54. Polley, Margaret T. Genetic aspects of disease of complement. *Am. J. Med.* 58:105 (1975).

55. Porter, R.R. and Reid, K.B.M. The biochemistry of complement. *Nature*. 275:699 (1978).
56. Rapaport, T.S. Introducción a la Hematología. 1 Ed. Salvat Editores. México. (1977).
57. Ray, T.L. and Wuepper, K.D. Inherited deficiencies of complement in man. *Int. J. Derm.* 16(10):775 (1977).
58. Ray, T.L. and Wuepper, K.D. Recent advances in cutaneous candidiasis. *Int. J. Derm.* 17(9):683 (1978).
59. Rosenfeld, S.L., Kelly, M.E. and Leddy, J.P. Hereditary deficiency of the fifth component of complement in man. I. Clinical, immunochemical, and family studies. *J. Clin. Invest.* 57:1626 (1976).
60. Rosenfeld, S.L., Baum, J., Steigbigel, R.T. and Leddy, J.P. Hereditary deficiency of the fifth component of complement in man. II. Biological properties of C5-deficient human serum. *J. Clin. Invest.* 57:1635 (1976).
61. Rosenfeld, S.L. and Karnovsky, M.L. Hereditary C5 deficiency in man: genetic linkage studies. *J. Immunol.* 119(2); 604 (1977).
62. Sbarra, A.J. and Karnovsky, M.L. The biochemical basis of the phagocytosis. I. Metabolic changes during the ingestion of particles by polymorphonuclear leukocytes. *J. Biol. Chem.* 237(6):1355 (1959).
63. Scott, H., Moynahan, A.J., Ridson, R.A., Harvey, B.A.M. and Soothill, J.F. Familial opsonization defect associated with fatal infantile dermatitis, infections and histiocytosis. *Arch. Dis. Child.* 50:311 (1975).
64. Selvaraj, R.J. and Bhat, K.S. Metabolic and bactericidal activities of leukocytes in protein-calorie malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 25:166 (1972).
65. Shin, H.S., Smith Mary Ruth, and Wood, W.B. Heat labile opsonins to pneumococcus. II. Involvement of C3 and C5. *J. Exp. Med.* 130:1229 (1969).
66. Snyderman, R., Phillips, J.K. and Mergenhagen, S.E. Biological activity of complement in vivo. Role of C5 in the accumulation of polymorphonuclear leukocytes in inflammatory exudates. *J. Exp. Med.* 134:1131 (1971).
67. Soothill, J.F. and Harvey, B.A.M. Defective opsonization. A common immunity deficiency. *Arch. Dis. Child.* 51:91 (1976).

68. Steerman, R.L., Snyderman, R., Leikin, S.L. and Colten, H.R. Intrinsic defect of the polymorphonuclear leukocyte resulting in impaired chemotaxis and phagocytosis. *Clin. Exp. Immunol.* 9:939 (1971).
69. Stiehm, E.R. and Fulginiti, V.A. Immunologic Disorders in Infants and Children. 1 Ed. Phil. Pa, N.B. Saunders Co. (1973).
70. Stossel, T.P. Quantitative studies of phagocytosis. Kinetic effects of cations and heat-labile opsonins. *J. Cell. Biol.* 58:346 (1973).
71. Stossel, T.P. Evaluation of opsonic and leukocyte function with a spectrophotometric test in patients with infection and with phagocytic disorders. *Blood.* 42:(1):121 (1973).
72. Sakamoto, M., Ishii, S., Nishioka, K. and Shimada, K. Complement response after experimental bacterial infection in various nutritional states. *Immunol.* 38:421 (1979).
73. Stossel, T.P. Phagocytosis (third of three parts). *Med. Prog.* 290(15):831 (1974).
74. Stossel, T.P. Phagocytosis: recognition and ingestion. *Seminars Hematol.* 12(1):83 (1975).
75. Stossel, T.P. Biology of the polymorphonuclear leukocytes - A review. New York, Raven Press. 1977.
76. Stossel, T.P., Field, R.J., Gitlin, J.D., Alper, C.A. and Rosen, F.S. The opsonic fragment of the third component of human complement (C3). *J. Exp. Med.* 141:1329 (1975).
77. Suskind, R.M. Malnutrition and the Immune Response. 1 Ed. Raven Press, New York, (1977).
78. Suskind, R., Edelman, R., Kulapongs, Panja, Pariyanonda, A., and Sirisinha Stitaya. Complement activity in children with protein-calorie malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 29:1089 (1976).
79. Till, G. and Ward, P.A. Two distinct chemotactic factor inactivators in human serum. *J. Immunol.* 114(2):843 (1975).
80. Todd-Sanford. Diagnostico Clinico por el Laboratorio. 5 Ed. Salvat Editores, España, (1976).

81. Walker, J.R. Complement activation by rat platelets; its significance to inflammation in the rat. *Int. Arch. Aller. Apply Immunol.* 60:44 (1979).
82. Ward, P.E. and Newman, L.J. A neutrophil chemotactic factor from C'5. *J. Immunol.* 102(1):93 (1969).
83. Weir, D.M. Handbook of Cellular Immunology. Blackwell Scientific Publications, U.S.A. (1979).
84. Weston, W.L. Disorders of phagocyte function. *Arch. Derm.* 112: 1589 (1976).
85. Winkelstein, J.A. Opsonins: their function, identity and clinical significance. *Med. Prog.* 82(5):747 (1973).
86. Woistenholme, G.E.W. Complement. J. & A. Churchill L.T.D. London. (1965).