



Universidad Nacional Autónoma de México

Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza

COMPLEJOS INMUNES, FAGOCITOSIS Y DESTRUCCION
INTRACELULAR DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN NI-
ÑOS CON LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO.

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a

CARMEN PATRICIA VELADIZ SAINT-MARTIN



México, D. F.

Noviembre 1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 .

<u>CONTENIDO:</u>	Pag. No.
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	2
2.1. Factores que contribuyen a incrementar la suscepti bilidad a la infección en los pacientes con LES ..	3
2.2. Tipos de infección observados en pacientes con -- LES	4
2.3. Defensas del huesped contra infecciones causadas - por microorganismos plogénicos	4
2.4. Anticuerpos en LES	5
2.5. Reconocimiento y Fagocitosis	6
2.6. Inmunidad mediada por células en los pacientes con LES	6
2.7. Corticoides y las defensas del huesped	7
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
4. OBJETIVOS	9
5. HIPOTESIS	10
6. MATERIALES Y METODOS	11
6.1. Materiales	11
6.2. Preparación de reactivos	13
6.3. Métodos	14
7. RESULTADOS	20

	Pag. NO.
7.1. Prueba de fagocitosis de <u>S.aureus</u>	20
7.2. Prueba de destrucción intracelular de <u>S.aureus</u> ...	21
7.3. Determinación de complejos inmunes	21
8. DISCUSION	36
9. CONCLUSIONES	40
10. BIBLIOGRAFIA	41

1. R E S U M E N

La infección es una de las causas más importantes de mortalidad en los pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES).

Los germenés más frecuentemente involucrados en la etiología del proceso infeccioso son cocos gram positivos, negativos y germenés - oportunistas.

El tratamiento con esteroides, la actividad de la enfermedad y el nivel de complejos inmunes elevados, son factores que pueden contribuir a incrementar la susceptibilidad a la infección en pacientes con LES.

En este estudio se determinó la concentración sérica de complejos inmunes, la función fagocítica y la capacidad de destrucción intracelular de S.aureus por células PMN en 14 pacientes con LES y 18 niños sanos.

La capacidad fagocítica en los pacientes con LES fué normal, -- mientras que la destrucción intracelular se encontró disminuida comparando los resultados con los obtenidos en el grupo testigo. No se encontró diferencia entre los pacientes con actividad de la enfermedad y los pacientes sin actividad, ni tampoco entre los pacientes tratados y no tratados con esteroides.

Existe una diferencia en los niveles de complejos inmunes entre los pacientes con tratamiento de prednisona y con actividad de la enfermedad, y los pacientes con tratamiento de prednisona y sin actividad de la enfermedad.

2. I N T R O D U C C I O N

La infección es la causa más importante de mortalidad entre los pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES). Klemperer y colaboradores (1) en la era preantibiótica, encontraron que la neumonía era la causa primaria de muerte en 8 de 20 pacientes con LES. A pesar de la introducción de antibióticos potentes, la infección es una de las causas de mortalidad en los pacientes con esta enfermedad. Dubois (2) analizó las causas de muerte en 249 pacientes con LES, entre los años de 1950 y 1973; y encontró que la infección ocurrió en el 15.3% en forma fatal en esta serie. Estos autores observaron que la frecuencia de muerte debida a la infección ha permanecido relativamente constante.

La infección es también la causa más importante de morbilidad entre los pacientes con LES. En la serie reportada por Ginzler (3), la infección fué el mayor problema que requirió hospitalización en el 29 % de 233 pacientes con LES.

Staples y cols. en 1974 (4), comparó la incidencia de infección en 23 pacientes con LES, 20 pacientes con Artritis Reumatoide (AR) y 11 pacientes con Nefritis Idiopática. La tasa de infección (número de infecciones observadas por 100 días de hospitalización) para los pacientes con LES fué siempre 10 veces mayor que para los pacientes que no tenían Lupus. La tasa de infección para los pacientes que recibían 20 mg. diarios de prednisona fué también estadísticamente mayor que la tasa encontrada para el síndrome nefrótico,

en pacientes que recibían dosis similares de esteroides. Si bien la tasa de infección para los pacientes con LES que no recibían corticoides fué cuatro veces mayor a los pacientes no lúpicos.

2.1. Factores que contribuyen a incrementar la susceptibilidad a la infección en los pacientes con LES

Los resultados en los estudios de Staples y cols. (4) fueron los primeros en indicar que la terapia con corticoides incrementaba significativamente el número y la severidad de las infecciones en los pacientes con LES. Las infecciones diseminadas son frecuentes en pacientes con tratamiento de altas dosis de esteroides.

Ginzler (3) estudió los factores que influyen en la frecuencia de las infecciones de 233 pacientes con LES entre los años de 1966 y 1976. Ellos observaron que la frecuencia de infección bacteriana entre todos estos pacientes aumentó nueve veces, de la tasa 10/100-pacientes año, cuando el promedio de dosis de prednisona fué mayor de 40 mg. al día. La tasa de infecciones por oportunistas aumentó de 1 a 42/100 pacientes año, a la misma dosis. Si bien estos resultados apoyan la idea de que el tratamiento con esteroides predispone a la infección, esto no excluye otros posibles factores contribuyentes, tales como la actividad de la enfermedad y anomalías en la defensa del huésped.

El análisis de muchos factores que pueden contribuir a incremen-

tar la susceptibilidad a la infección en el LES es difícil de aclarar. Por ejemplo, es prácticamente imposible separar el efecto del esteroide y la actividad de la enfermedad. Con frecuencia la dosis de esteroide que recibe un individuo está determinada por la actividad de su enfermedad. En forma similar, es extremadamente difícil suponer los efectos de la enfermedad por sí misma en los mecanismos normales de defensa.

2.2. Tipos de infección observados en pacientes con LES.

En el estudio de Lee (5), los germenés más frecuentemente involucrados fueron cocos gram positivos y bacilos entéricos gram negativos. Infecciones similares fueron observadas por Staples (4). Hay algunos reportes en pacientes con LES infectados por germenés oportunistas (3,5,6,7,8,9). Estos ocurren en pacientes con altas dosis de esteroides y azatioprina. Los oportunistas más frecuentemente involucrados son : C. albicans (3,5,7), Aspergillus sp. (3,7), Pneumocystis carinii (3,5,8), Nocardia asteroides (7,9), Histoplasma capsulatum (3,7), Criptococcus neoformans (3,6,7), cytomegalovirus (3), etc.

2.3. Defensas del huésped contra infecciones causadas por microorganismos piogénicos.

Actualmente se sabe que los fagocitos, son las células de defensa más importantes contra la invasión microbiana (10,11,12). Se ha determinado también que éstas células son incapaces de fagocitar algunos invasores, si éstos no están opsonizados previamente (10,11,12).

El sistema de complemento claramente participa en las defensas contra la infección (13). En el hombre y en muchos animales el complemento compromete a un grupo de proteínas normalmente presentes en el suero en forma nativa y activa; cuando se activan estas proteínas, participan en una serie de reacciones, algunas enzimáticas, y otras que involucran proteólisis limitada para causar lisis de membrana y producir productos biológicamente activos. Los pacientes con LES tienen disminuidas las concentraciones de complemento en el suero. En algunos de estos pacientes se han encontrado deficiencias congénitas de C1r, C1s (14), C2 (15), C5 (16), C8 (17). El suero de los pacientes con deficiencia selectiva de C2 no muestra destrucción eficiente in vitro de S.aureus 502 A por polimorfonucleares en presencia de suero normal (18). Este suero sin embargo fué capaz de promover la destrucción de E.coli, sugiriendo que C2 puede ser requerido para la opsonización de algunas bacterias.

2.4. Anticuerpos en LES

La hipergamaglobulinemia es común en pacientes con LES (5,6,19)-

y se ha atribuido al incremento en la síntesis de la proteína aunado a la actividad de la enfermedad.

2.5. Reconocimiento y fagocitosis.

Se ha encontrado una evidencia de que los leucocitos pueden estar deteriorados en los pacientes con LES. Frank estudió la depuración de eritrocitos sensibilizados con IgG y C3b (20) encontrando que 4 de 8 pacientes tenían defecto en la fagocitosis mediada por receptores Fc. Estos cuatro tenían niveles aumentados de complejos inmunes circulantes que deterioran la función de los polimorfocitos. Se han reportado defectos en la ingestión de partículas opsonizadas, por Brandt y Hedberg (21), describiendo que los leucocitos de 7 pacientes con LES que recibían terapia con esteroides, tenían reducida la capacidad fagocítica cuando se comparó con 12 individuos sanos y 7 pacientes con Artritis Reumatoide (21). La fagocitosis no se redujo cuando las células fueron resuspendidas en plasma normal y no de pacientes con LES. Temple y Loewi (22) encontraron que el suero de los pacientes con LES inhibía significativamente la fagocitosis de partículas y de eritrocitos cubiertos de inmunoglobulinas (22). Este efecto fue atribuido a complejos inmunes que interfieren con receptores Fc.

2.6. Inmunidad mediada por células en los pacientes con LES.

La mayoría de las infecciones que ocurren en los pacientes con LES, son causadas por gérmenes gram positivos y gram negativos, un significativo número son causadas por gérmenes oportunistas y hongos (3,5,6,7,8,9). En contraste, la participación que tiene el complemento, anticuerpos y leucocitos PMN, en contra de gérmenes o parásitos facultativos intracelulares, hongos, micobacterias, Listeria y virus; se apoya en componentes del sistema inmune celular de linfocitos T activados y macrófagos (10). Es apropiado señalar que éstos mecanismos de defensa están alterados en los pacientes con LES.

Utsinger (23) encontró que en cuanto es más severa la enfermedad la función de los linfocitos se ve deteriorada, ya que no responden adecuadamente a ciertos antígenos, de tal forma que las anomalías de la inmunidad celular ocurren en pacientes con actividad de la enfermedad.

2.7. Corticoides y las defensas del huésped.

Se ha sugerido que a dosis farmacológicas, los corticoides suprimen la interacción de los leucocitos con los microorganismos; así mismo, los corticoides no sólo pueden influir en el metabolismo del complemento e inmunoglobulinas, sino también de inhibir la quimiotaxis, fagocitosis, síntesis de superóxido y degranulación, acciones que pueden fácilmente interferir con la destrucción intracelular de microorganismos.

3. P L A N T E A M I E N T O D E L P R O B L E M A.

Debido a que la infección es una de las causas más comunes e importantes de morbilidad y mortalidad en los pacientes con LES y a que estos pacientes presentan una elevación en los niveles de complejos inmunes, es necesario determinar la capacidad de destrucción intracelular y la fagocitosis en estos pacientes, para comprender mejor este problema.

4. O B J E T I V O S.

- 4.1. Determinar en niños con Lupus Eritematoso Sistémico, la capacidad de las células PMN de destrucción intracelular y la fagocitosis de Staphylococcus aureus.
- 4.2. Determinar en niños con Lupus Eritematoso Sistémico, los niveles séricos de complejos inmunes y su efecto en células PMN, en la capacidad de destrucción intracelular y la fagocitosis de Staphylococcus aureus.
- 4.3. Determinar si hay diferencias en la capacidad de destrucción intracelular y la fagocitosis de Staphylococcus aureus, en niños con Lupus Eritematoso Sistémico, tratados y no tratados -- con esteroides.
- 4.4. Determinar si hay diferencias en los niveles de complejos inmunes, en niños con Lupus Eritematoso Sistémico, tratados y no tratados con esteroides.
- 4.5. Determinar si hay diferencias en los niveles de complejos inmunes, en niños con Lupus Eritematoso Sistémico con el padecimiento activo y con tratamiento de esteroides, y en niños sin el padecimiento activo tratados con esteroides.

5. H I P O T E S I S.

Los niños con Lupus Eritematoso Sistémico tienen deteriorada la capacidad de destrucción intracelular y la fagocitosis de Staphylococcus aureus por células PMN.

Esta capacidad de destrucción intracelular y fagocitosis está relacionada con el incremento de complejos inmunes en los pacientes - con Lupus Eritematoso Sistémico.

6. M A T E R I A L E S Y M E T O D O S.

6.1. MATERIALES

6.1.1. Material Biológico:

- Grupo de 14 pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico clasificados de la siguiente manera:
 - I) Pacientes en remisión sin tratamiento.
 - II) Pacientes en remisión con tratamiento de prednisona a la dosis de 1 mg/Kg p.c. por día.
 - III) Pacientes con Lupus activo con tratamiento de prednisona a la dosis de 1 mg/Kg p.c. por día.
- Grupo control de 18 niños clínicamente sanos.
- 6 ml. de sangre heparinizada.
- 2 ml. de sangre coagulada.
- Cultivo de Staphylococcus aureus; cepa ATCC# 25923.

6.1.2. Material Estéril.

- Tubos cónicos de plástico de 15 ml.
- Jeringas de plástico de 5, 10 y 20 ml.
- Pipetas Pasteur.
- Filtros Millipore de celulosa tipo HA de 0.45 μ m.
- Matraz Erlenmeyer con capacidad de 50, 125 y 250 ml.
- Pipetas serológicas de 0.1, 1, 2, 5 y 10 ml.
- Tubos de vidrio de 13 x 100 con tapón de rosca.

* ATCC= American Type Culture Collection.

- Perilla de succión.
- Cajas de Petri.
- Puntas de plástico para micropipetas.
- Micropipetas de 0.005, 0.05 y 0.5 ml.
- Cámara de Neubauer.
- Microplacas en forma de U.
- Viales de 19 x 48 mm.

6.1.3. Apáratos.

- Centrífuga, International Centrifuge Modelo CS.
- Microscopio óptico, Carl Zeiss.
- Incubadora, Maysa modelo TOECSS524.
- Agitador para tubos, Super Mixer Lab-Line Instruments.
- Cuenta colonias, Darkfield Quebec modelo 3325.
- Fotómetro, Titertek Multiskan.
- Espectrofotómetro sp 8-100 PYE UNICAM.
- Baño de agua con agitación, Blue M. modelo MR-3220A-1.
- Lavador automático, Cordis.

6.1.4. Reactivos.

- | | |
|--------------------------------------|-------------|
| - Heparina 1,000 UI/ml. | Lipo-Hepin. |
| - Solución salina 0.9 % | Lab. Pisa. |
| - Penicilina 1,000000 U | Lakeside. |
| - Estreptomicina 1,000000 U | Lakeside. |
| - Suero fetal de ternera liofilizado | Lab. Difco. |

- Solución Buffer de Hank.
- Agar Chapman Lab. Merk.
- Equipo Cordia para complejos Inmunes (IC) conteniendo lo siguiente:
 - Discos cubiertos con Clq.
 - Solución conteniendo anticuerpos a inmunoglobulinas G y M humana marcada con fosfatasa alcalina.
 - Testigo positivo compuesto de IgG humana agregada.
 - Testigo negativo de plasma humano recalificado.
 - Diluyente para muestras.
 - Substrato enzimático (p-Nitrofenilfosfato).
 - Buffer de Carbonato de Sodio para detener la reacción.

6.2. PREPARACION DE REACTIVOS.

6.2.1. Solución Buffer de Hank.

Utilidad: Lavado de leucocitos.

Reactivos:	Cantidad
NaCl	8.0 g.
KCl	0.4 g.
CaCl ₂	0.14 g.
MgSO ₄	0.20 g.
Na ₂ HPO ₄ · 12 H ₂ O	0.12 g.
KH ₂ PO ₄	0.06 g.

Na HCO₄ 0.35 g.
 Dextrosa 1.0 g.
 Rojo de fenol al 1 % 0.007 g.

Preparación: En un vaso colocar 500 ml. de agua destilada y-desionizada, agregar los reactivos uno a uno disolviendolos y afo -
 rar a 1 000 ml. con H₂O. Ajustar el pH a 7.2 .

6.3. MÉTODOS.

6.3.1. Destrucción intracelular de Staphylococcus aureus (24).

Se preparó un cultivo de 24 hrs. de Staphylococcus aureus ATCC -
 25923 en caldo nutritivo BHI. Al día siguiente se centrifugó el cul -
 tivo a 1500 x g por 10' y se lavó tres veces con NaCl al 0.9 %, se-
 resuspendió en una solución Buffer de Hank hasta obtener una suspen -
 sión final con una D.O. 650 nm. que diera una lectura final de 0.6.
 Esta suspensión se diluyó 1:50 con Hank's conteniendo una mezcla de
 suero humano normal al 10 %.

Se tomaron 6 ml. de sangre heparinizada tanto del paciente como-
 del control sano, y se dejaron separar los leucocitos por sedimenta
ción, se lavaron tres veces con Hank's y se hizo una suspensión fi-
 nal conteniendo 2.5 a 3 x 10⁶ células/ml. Se etiquetaron 5 tubos es
tériles de la siguiente manera: T₀, T₃₀, T₆₀, T₉₀, T₁₂₀ y T_{c1}*. A -
 cada tubo , excepto al tubo T_{c1} se adicionaron 0.5 ml. de la suspen -

* T_{c1} = Tubo control de bacterias.

sión de leucocitos y 0.5 ml. de la suspensión de bacterias; al tubo T_{c1} se adicionaron 0.5 ml. de la suspensión de bacterias y 0.5 ml. de la solución de Hank. Se incubaron los tubos a $37^{\circ}C$ con agitación durante 30' para que se produjera la fagocitosis. Posteriormente, se centrifugaron los tubos excepto el tubo T_{c1} , durante 10' a $400 \times g$. Uno de los sobrenadantes se guardó en otro tubo etiquetado como T_{c2}^{*1} , se tiraron los demás sobrenadantes excepto el del tubo T_{c1} , se resuspendieron los depósitos en Hank's conteniendo 10 % de suero fetal de ternera, 100 U de penicilina y $100 \mu g/ml$. de estreptomina para destruir las bacterias extracelulares. Se reincubaron los tubos T_{30} , T_{60} , T_{90} y T_{120} , para obtener las muestras en los tiempos respectivos. Se centrifugaron los tubos excepto el T_{c1} y el T_{c2} , a $400 \times g$ por 10' y se lavaron los sedimentos tres veces con solución de Hank, se resuspendieron los depósitos en 1 ml. de agua destilada estéril agitando vigorosamente y se realizó una serie de dos congelamientos y descongelamientos sucesivos.

Se preparó una dilución 1:100 de cada tubo, excepto el tubo T_{c1} - el cual se diluyó 1:1000. Se depositó una alícuota de 0.05 ml. de cada dilución en una caja de Petri con agar 110, se extendió la gota perfectamente en toda la caja, se dejaron incubando todas las cajas a $37^{\circ}C$ durante 48 hrs. y se realizó una cuenta bacteriológica.

Se calcularon los resultados en por ciento (%) a los 30', 60', 90' y 120'.

*1 T_{c2} = Tubo con bacterias no fagocitadas.

Del total de bacterias obtenidas en el tubo T_{c1} menos el total de bacterias obtenidas en el tubo T_{c2} se obtuvo el total de bacterias fagocitadas por los leucocitos.

6.3.2. Determinación de complejos inmunes (25)

Preparación de la muestra:

Se tomaron 2.0 ml. de sangre, dejando que se coagulara, se separó el suero en un tubo y se almacenó a -70°C .

Preparación de las diluciones del control positivo para la curva estándar:

Se puso dentro de tres tubos pequeños 0.15 ml. del diluyente para muestras y se adicionaron 0.05 ml. del control fuerte positivo al primer tubo, quedando así una dilución 1:4. Con una pipeta limpia se tomaron 0.05 ml. de la dilución 1:4 del primer tubo y se adicionaron al segundo tubo, quedando una dilución 1:16, con una pipeta limpia, se tomaron 0.05 ml. de la dilución 1:16 del segundo tubo y se adicionaron al tercer tubo, quedando una dilución 1:64. Los $\mu\text{g/ml}$. de cada dilución fueron 1/4, 1/16 y 1/64 respectivamente del control positivo sin diluir.

Se adicionaron 0.5 ml. del diluyente para muestras en el fondo del primer juego de viales y se administró lo siguiente dentro de los primeros 6 viales, para los controles (cada uno conteniendo 0.5 ml. del diluyente para muestras): En el primer vial 0.005 ml. del control negativo, en el segundo vial 0.005 ml. del control fuerte positivo sin diluir, en el tercer vial 0.005 ml. de la dilución 1:4

del control fuerte positivo, en el cuarto vial 0.005 ml. de la dilución 1:16 del control fuerte positivo, en el quinto vial 0.005 ml. de la dilución 1:64 del control fuerte positivo, y en el sexto vial 0.005 ml. del control positivo débil.

Se pusieron 0.005 ml. de cada muestra problema directamente dentro del diluyente en el fondo de los viales. Se agitaron los viales para mezclar el contenido y se adicionó a cada uno un disco cubierto con Clq (de cabra). Se agitaron los viales para que las muestras cubrieran bien los discos; se incubaron los viales en un baño de agua con agitación a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 45', procurando que no entrara agua a los viales.

Después de 45' de incubación se colocaron los viales dentro de un baño conteniendo hielo y agua a 0°C . Con un lavador automático se lavaron los discos 5 veces, se aspiró la solución de lavado completamente y se transfirieron los discos a un segundo juego de viales limpios en el orden correspondiente.

Se adicionaron 0.5 ml. de la enzima unida a anticuerpos (inmunoglobulinas G y M humanas) en el fondo de cada vial. Se incubaron los viales en el baño de agua con agitación a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 45'.

Se sacaron los viales del baño de agua y se pusieron en un baño de agua con hielo a 0°C ; se lavaron los discos 5 veces siguiendo el procedimiento anterior y se transfirieron a un juego de viales limpios en las posiciones correspondientes.

Se adicionó a cada vial 1 ml. de la solución substrato de p-Ni -

trofenilfosfato preparado previamente, se incubaron los viales en el baño de agua con agitación a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 20'. Al finalizar este período de incubación, se removieron los viales del baño de agua y se adicionaron rápidamente 2 gotas de solución de Hidróxido de Sodio 3 M (aproximadamente 0.1 ml.) a cada vial para terminar la reacción (ver figura No. 1). Se mezcló el contenido de los viales y se leyó en el espectrofotómetro a 405 nm, se trazó la curva estándar y las lecturas de las muestras problema se interpolaron a la curva, con lo cual se obtuvo finalmente la cantidad de complejos inmunes presentes en la muestra problema, en $\mu\text{g eq/ml}$.

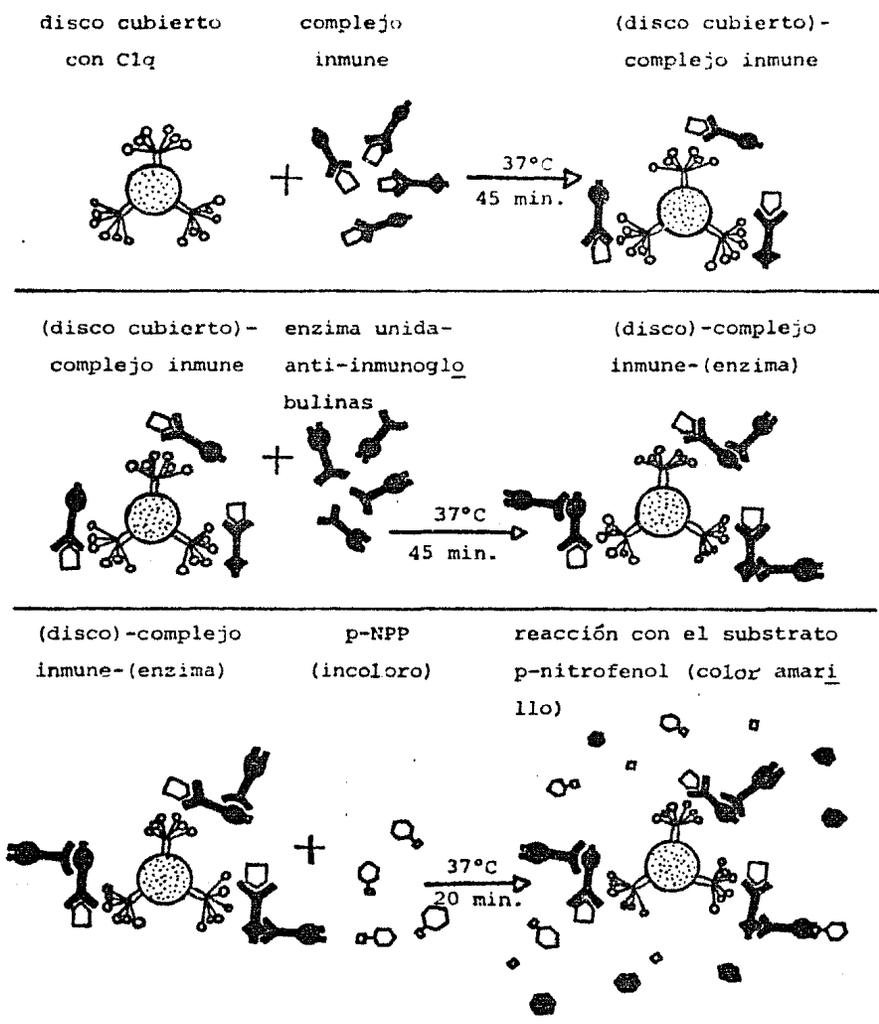


FIGURA No. 1: Diagrama esquemático del fundamento de la determinación de Complejos Inmunes.

7. R E S U L T A D O S.

Se estudiaron 14 pacientes con el diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico (LES) con edades entre 12 y 15 años. Por características clínicas de actividad del padecimiento con esteroides se agruparon de la siguiente manera:

I.- Dos pacientes con LES sin actividad clínica del padecimiento y sin tratamiento.

II.- Cuatro pacientes con LES sin actividad clínica y con tratamiento con prednisona a la dosis de 1 mg/Kg p.c. por día.

III.- Ocho pacientes con LES con actividad clínica del padecimiento y con tratamiento de prednisona a la dosis de 1 mg/Kg p.c. por día.

A todos los pacientes que recibían tratamiento se les suspendió la administración de prednisona 48 hrs. antes de la toma de especímenes de sangre para la realización de las pruebas.

Los resultados se analizaron estadísticamente por el método de T de Student y por el método para contrastes no paramétricos de la U de Mann-Whitney (26).

7.1. Prueba de fagocitosis de S.aureus.

Al medir la actividad fagocítica de las células PMN de los pacientes con LES de los diferentes subgrupos, se observó que se fagocitaban 97.90% de las bacterias, este resultado no muestra diferencia estadísticamente significativa* con la fagocitosis observada en

el grupo testigo de 98.25% ($p \geq 0.05$) Tablas Nos. 1 y 2, Gráfica - No. 1.

7.2. Prueba de destrucción intracelular de S.aureus.

Se midió la capacidad de destrucción intracelular de las células PMN de los pacientes con LES a diferentes tiempos; 0,30,60,90 y 120 minutos, observando que la viabilidad bacteriana disminuía de un -- 100% en el tiempo cero, 89.11% (30'), 55% (60' y 90') hasta el 45% a los 120' (Tabla No. 3; Gráfica No. 2). Estas cifras promedio se compararon con las observadas en el grupo testigo, que fueron de 62.9% (30'), 33.8% (60'), 22.2% (90') y 18.2% a los 120' (Tabla No. 4 , - Gráfica No. 2). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas a los tiempos de 90 y 120 minutos, obteniendo un valor de $p \leq 0.05$ y $\leq 0.01^*$ respectivamente. (Tabla estadística No. 2) .

Se realizaron comparaciones de los resultados de destrucción intracelular en los diferentes subgrupos de pacientes y no se observaron diferencias estadísticamente significativas. (Tablas estadísticas Nos. 3a y 3b).

7.3. Determinación de complejos inmunes.

Se determinaron complejos inmunes solubles circulantes y se observaron cifras de 17.88 $\mu\text{g eq/ml}$. en el grupo de pacientes con LES

* U de Mann-Whitney.

y de 6.76 μg eq/ml. como promedio en el grupo testigo, que resultan diferentes estadísticamente. (Tabla No. 5, Gráfica No. 3).

También se compararon las cifras de los diferentes grupos de pacientes lúpicos entre sí y se encontraron sólo diferencias significativas $p=0.05$ entre los subgrupos II y III (Tabla estadística No. 4).

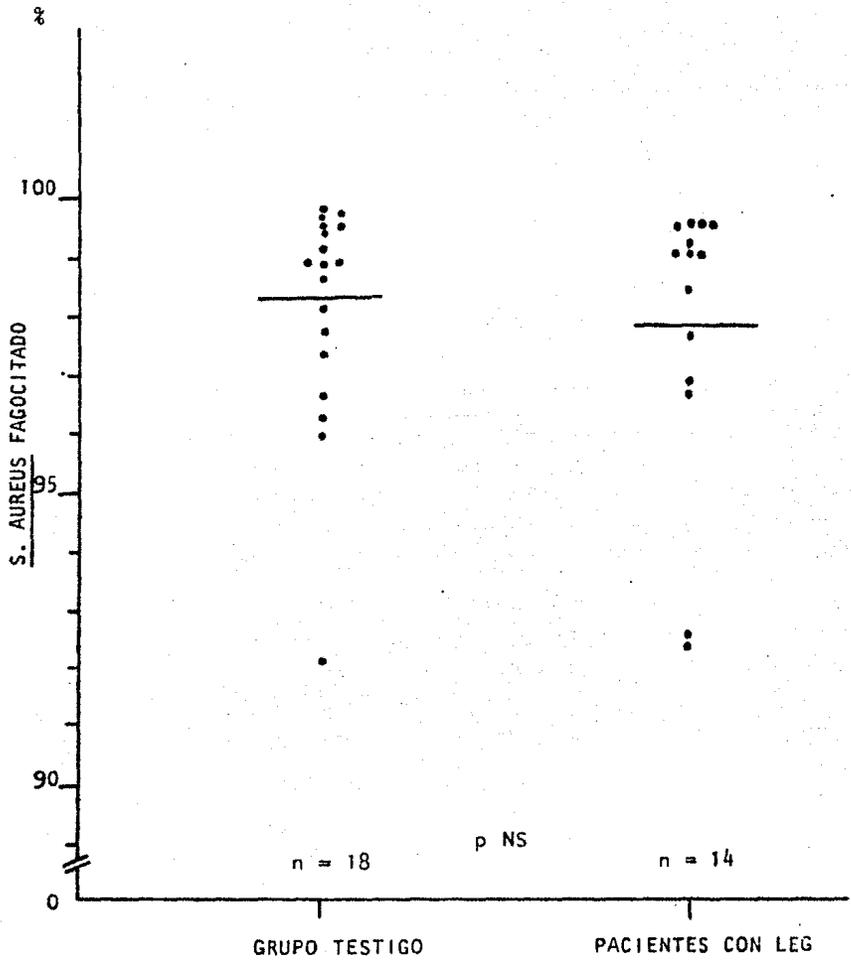
Así mismo se trató de establecer correlación entre las cifras de complejos inmunes circulantes y la capacidad fagocítica y de destrucción intracelular y no se observó correlación entre estos indicadores.

TABLA No. 1

FAGOCITOSIS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN EL GRUPO TESTIGO.				
	TOTAL DE BACTERIAS OBTENIDAS			% DE BACTERIAS
	CONTROL 1	CONTROL 2	C1 - C2	FAGOCITADAS
TESTIGO No.	$\times 10^6$	$\times 10^3$	$\times 10^6$	%
1	6.053	474	5.579	92.16
2	1.980	19	1.961	99.02
3	2.580	31	2.549	98.78
4	2.580	85	2.494	96.70
5	3.227	129	3.098	96.01
6	3.227	118	3.108	96.34
7	3.227	56	3.170	98.26
8	4.407	111	4.296	97.48
9	4.407	44	4.362	99
10	4.407	44	4.362	99
11	2.546	10	2.536	99.60
12	4.540	29	4.510	99.35
13	8.220	10	8.210	99.87
14	41.045	756	41.044	99.99
15	21.902	463	21.438	97.88
16	45.222	101	45.120	99.77
17	4.267	9	4.257	99.78
18	15.900	62	15.837	99.60
TOTAL = 18	179.73	2551	177.93	1768.59
\bar{x}	9.98	141.72	9.88	98.25

TABLA No. 2

FAGOCITOSIS DE <u>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</u>				
EN 14 PACIENTES CON LES.				
	TOTAL DE BACTERIAS OBTENIDAS			% DE BACTERIAS
	CONTROL 1	CONTROL 2	C1 - C2	FAGOCITADAS
PACIENTE No.	$\times 10^6$	$\times 10^3$	$\times 10^6$	%
1	2.142	18	2.124	99.15
2	2.142	48	2.093	97.72
3	2.546	5	2.541	99.79
4	4.540	39	4.500	99.13
5	8.220	613	7.606	92.53
6	17.900	1358	16.542	92.41
7	41.045	1257	39.788	96.93
8	21.902	306	21.595	98.59
9	21.902	708	21.194	96.76
10	45.222	340	44.881	99.24
11	45.222	95	45.126	99.78
12	4.000	8	3.991	99.78
13	8.700	72	8.627	99.16
14	6.033	14	6.018	99.75
TOTAL = 14	231.51	4881	226.626	1370.72
\bar{x}	16.53	348.64	16.18	97.90

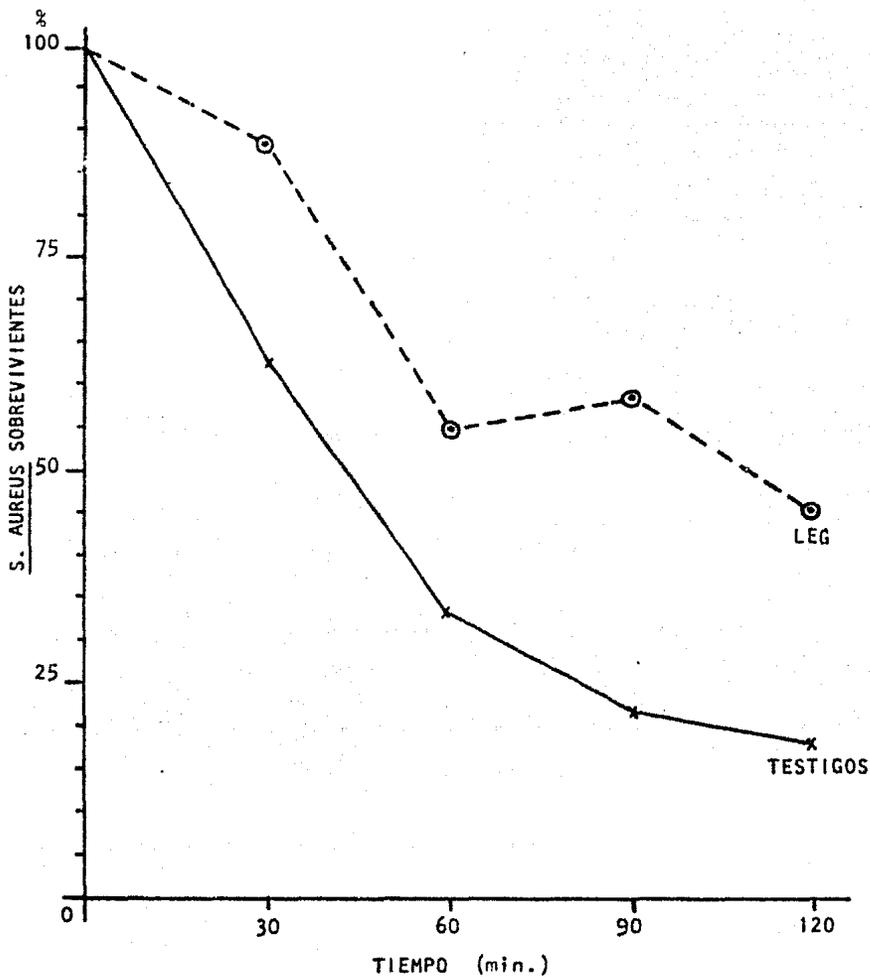


GRAFICA No. 1: Porcentaje de bacterias fagocitadas en el grupo de pacientes con LEG y en el grupo testigo.

TABLA No. 3

DESTRUCCION INTRACELULAR DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS					
EN 14 PACIENTES CON LES.					
PACIENTE No.	0 min.	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.
	% *	% *	% *	% *	% *
1	100	246.66	146.66	86.66	123.33
2	100	137.84	64.86	190.54	72.97
3	100	32.33	2.98	9.45	16.41
4	100	38.84	27.33	15.10	15.10
5	100	40.53	17.94	15.28	13.28
6	100	129.92	22.62	11.67	21.89
7	100	71.99	25.64	16.47	70.84
8	100	44.90	38.12	10.18	31.07
9	100	161.37	107.58	90	61.37
10	100	111.05	102.46	93.47	64.84
11	100	39.36	28.30	25.5	20.60
12	100	128	33.33	64	42.66
13	100	19.41	15	14.70	7.05
14	100	45.45	137.66	135.06	69.69
TOTAL = 14	1400	1247.65	770.48	778.08	631.1
\bar{x}	100	89.11	55.03	55.57	45.07

* = % DE BACTERIAS SOBREVIVIENTES A LOS DIFERENTES TIEMPOS.



GRAFICA No. 2: Destrucción intracelular de S.aureus ; valores promedio obtenidos a los diferentes tiempos en, ambos grupos.

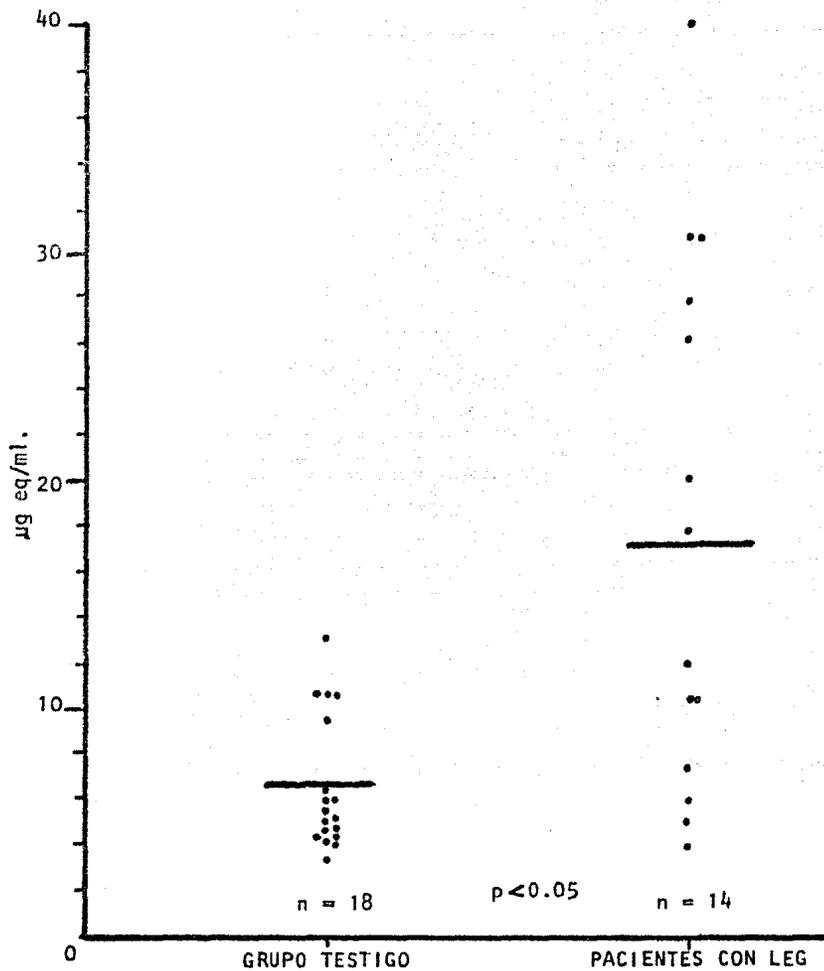
TABLA No. 4

DESTRUCCION INTRACELULAR DE <u>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</u> EN EL GRUPO TESTIGO.					
	0 min.	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.
TESTIGO No.	% *	% *	% *	% *	% *
1	100	42.87	23.88	22.05	26.64
2	100	68.57	36.19	19.14	9.42
3	100	55.16	24.19	14.77	14.51
4	100	30	22	10.2	8.8
5	100	58.82	23.52	11.72	2.35
6	100	56.33	11.26	11.40	10.98
7	100	46.09	19.02	14.04	13.17
8	100	54.08	27.08	8.06	13.15
9	100	58.09	47.68	22.97	13.19
10	100	42.55	29.30	24.41	23.30
11	100	26.36	21.81	24.54	13.63
12	100	19.99	13.84	10.76	10.76
13	100	67.54	35.08	25.43	14.91
14	100	48.61	25.31	11.51	15.55
15	100	49.04	37.84	7.61	4.65
16	100	55.64	24.32	23.54	22.04
17	100	65.55	41.11	35.55	24.44
18	100	35.69	10.69	13.70	7.83
TOTAL = 18	1800	880.98	474.12	311.4	255.52
\bar{x}	100	62.92	33.86	22.24	18.25

* = % DE BACTERIAS SOBREVIVIENTES A LOS DIFERENTES TIEMPOS.

TABLA No. 5

CONCENTRACION SERICA DE COMPLEJOS INMUNES			
PACIENTES CON LES		GRUPO TESTIGO	
	CONCENTRACION SERICA		CONCENTRACION SERICA
PACIENTE No.	$\mu\text{g eq/ml.}$	TESTIGO No.	$\mu\text{g eq/ml.}$
1	10.52	1	6.60
2	10.52	2	10.66
3	5.27	3	4.95
4	40.23	4	4.46
5	30.66	5	4.78
6	30.66	6	4.38
7	20.19	7	3.55
8	7.64	8	5.66
9	17.96	9	10.66
10	26.16	10	4.62
11	4.28	11	13.21
12	6.39	12	5.39
13	12.16	13	9.55
14	27.80	14	5.21
		15	4.62
		16	6.41
		17	10.66
		18	6.42
TOTAL = 14	250.44	18	121.79
\bar{x}	17.88		6.76



GRAFICA No.3 : Concentración sérica de complejos inmunes en el grupo testigo y en el grupo de pacientes con LEG.

TABLA ESTADISTICA No. 1

FUENTE DE VARIACION FAGOCITOSIS DE <u>S.AUREUS</u>					
GRUPO	n	* U CALCULADA	* U REPORTADA	p	CONCLUSION
PACIENTES CON LES	14	125.5	82	>0.05	NO SIGNIFI- CATIVA.
GRUPO TESTIGO	18				
FAGOCITOSIS DE <u>S.AUREUS</u> EN LOS DIFERENTES SUBGRUPOS DE PACIENTES CON LES.					
SUBGRUPOS	n	U*	p	CONCLUSION	
I	2	4	.600	NO SIGNIFI- CATIVA.	
II	4				
I	2	7	.444	NO SIGNIFI- CATIVA.	
II	8				
II	4	10	.184	NO SIGNIFI- CATIVA.	
III	8				
* U DE MANN- WHITNEY.					

TABLA ESTADISTICA No. 2

<u>FUENTE DE VARIACION</u>					
DESTRUCCION INTRACELULAR DE <u>S.AUREUS</u> A LOS 30 min.					
GRUPO	n	U* CALCULADA	U* REPORTADA	p	CONCLUSION
PACIENTES CON LES	14	99	82	> 0.05	NO SIGNIFI- CATIVA.
GRUPO TESTIGO	18				
DESTRUCCION INTRACELULAR DE <u>S.AUREUS</u> A LOS 60 min.					
GRUPO	n	U* CALCULADA	U* REPORTADA	p	CONCLUSION
PACIENTES CON LES	14	86	82	≈ 0.05	NO SIGNIFI- CATIVA.
GRUPO TESTIGO	18				
DESTRUCCION INTRACELULAR DE <u>S.AUREUS</u> A LOS 90 min.					
GRUPO	n	U* CALCULADA	U* REPORTADA	p	CONCLUSION
PACIENTES CON LES	14	78	82	< 0.05	SIGNIFI- CATIVA.
GRUPO TESTIGO	18				
DESTRUCCION INTRACELULAR DE <u>S.AUREUS</u> A LOS 120 min.					
GRUPO	n	U* CALCULADA	U* REPORTADA	p	CONCLUSION
PACIENTES CON LES	14	44	46	< 0.001	SIGNIFI- CATIVA
GRUPO TESTIGO	18				

TABLA ESTADISTICA No. 3a.

<u>FUENTE DE VARIACION</u>				
DESTRUCCION INTRACELULAR EN LOS TRES SUBGRUPOS DE PACIENTES CON LES A LOS 30 min.				
SUBGRUPO	n	U	p	CONCLUSION
I	2	2	.267	NO SIGNIFICATIVA.
II	4			
I	2	3	.133	NO SIGNIFICATIVA.
III	8			
II	4	15	.467	NO SIGNIFICATIVA.
III	8			
DESTRUCCION INTRACELULAR EN LOS TRES SUBGRUPOS DE PACIENTES CON LES A LOS 60 min.				
SUBGRUPO	n	U	p	CONCLUSION
I	2	3	.400	NO SIGNIFICATIVA.
II	4			
I	2	5	.267	NO SIGNIFICATIVA.
III	8			
II	4	15	.467	NO SIGNIFICATIVA.
III	8			

TABLA ESTADISTICA No. 3b.

<u>FUENTE DE VARIACION</u>				
DESTRUCCION INTRACELULAR EN LOS TRES SUBGRUPOS DE PACIENTES CON LES A LOS 90 min.				
SUBGRUPO	n	U	p	CONCLUSION
I	2	4	.600	NO SIGNIFICATIVA.
II	4			
I	2	6	.356	NO SIGNIFICATIVA.
III	8			
II	4	12	.285	NO SIGNIFICATIVA.
III	8			
DESTRUCCION INTRACELULAR EN LOS TRES SUBGRUPOS DE PACIENTES CON LES A LOS 120 min.				
SUBGRUPO	n	U	p	CONCLUSION
I	2	1	.133	NO SIGNIFICATIVA.
II	4			
I	2	0	.022	SIGNIFICATIVA.
III	8			
II	4	15	.467	NO SIGNIFICATIVA.
III	8			

TABLA ESTADISTICA No.4

<u>FUENTE DE VARIACION</u>					
DETERMINACION DE COMPLEJOS INMUNES.					
GRUPO	n	gl.	t*	p	CONCLUSION
PACIENTES CON LES	14	30	-2.02	0.05	SIGNIFI- CATIVA.
GRUPO TESTIGO.	18				
t* para medias independientes.					
DETERMINACION DE COMPLEJOS INMUNES EN LOS TRES SUBGRUPOS DE PACIENTES CON LES.					
SUBGRUPO	n	U*	p	CONCLUSION	
I	2	4	.600	NO SIGNIFI- CATIVA.	
II	4				
I	2	7	.444	NO SIGNIFI- CATIVA.	
III	8				
II	4	6	.05	SIGNIFI- CATIVA.	
III	8				
U* DE MANN- WHITNEY.					

8. D I S C U S I O N

Los germenés que con frecuencia infectan a los pacientes con LES son cocos gram positivos y negativos. En las últimas dos décadas se ha demostrado que en el proceso de infección, los factores inmunológicos humorales y celulares participan en la resistencia a estas infecciones.

Nosotros consideramos que particularmente las células PMN son -- factores determinantes en la resistencia a la invasión microbiana - (10,11,12). Es conocido también que estas células no son completamente eficientes sin anticuerpos y complemento, para realizar funciones de fagocitosis y finalmente de destrucción intracelular.

Los pacientes con linfocitos T y monocitos deficientes presentan con frecuencia infecciones por parásitos intracelulares facultativos. Estas infecciones con frecuencia son infecciones latentes, que se activan cuando el paciente está inmunosuprimido. En este caso se incluyen bacterias oportunistas y hongos como son: L.monocytogenes, Mocardia asteroides, Mycobacterium tuberculosis, Salmonella species, C. neoformans, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis, Toxoplasma gondii, P. carinii, etc. (3,5,6,7,8,9).

Conociendo el defecto en los mecanismos de resistencia a las infecciones, no es posible predecir el tipo de infección, pero las infecciones repetidas con germenés identificados, hacen sospechar el posible defecto en la función de los neutrófilos. De acuerdo a los reportes de infecciones en pacientes con LES se ha sugerido que pue

de establecerse un defecto en la función de los neutrófilos.

Nuestros resultados de destrucción intracelular muestran que las células PMN de los pacientes con LES tienen una destrucción intracelular disminuida, ya que en un lapso de tiempo de 2 hrs. sólo destruyen el 55 % del total de bacterias fagocitadas, mientras que en un niño sano a las 2 hrs. se observa una destrucción bacteriana del 81.8 %. También se puede observar que la capacidad de destrucción intracelular en los pacientes con LES es independiente de la actividad de la enfermedad y del tratamiento con esteroides que reciben, puesto que nosotros no encontramos diferencias entre los tres subgrupos de pacientes con LES.

Se han reportado resultados contradictorios concernientes al efecto de los corticoesteroides sobre la fagocitosis (27). Atribuir el deterioro de la actividad fagocítica a los esteroides no es completamente justificado, ya que en pacientes con Artritis Reumatoide pueden utilizarse dosis de esteroides comparables y se ha reportado que la capacidad fagocítica es normal o no difiere considerablemente en los pacientes tratados con fenilbutazona (28).

Los resultados obtenidos de la capacidad fagocítica de las células PMN de los pacientes con LES estudiados, no muestra ninguna alteración comparándolos con los resultados obtenidos en el grupo control. Además, entre los diferentes subgrupos de pacientes con LES no se encuentra diferencia, es decir, la actividad de la enfermedad y el tratamiento con esteroides no parecen alterar la capacidad fa-

gocítica de las células PMN.

Se ha dado una considerable importancia a los receptores de membrana para complemento e inmunoglobulinas en la función de los leucocitos polimorfonucleares. Estos receptores median el reconocimiento de partículas, adherencia (29,30,31), fagocitosis (29,31,32), actividad metabólica que produce peróxido y superóxido de hidrógeno - (30,33) o bien degranulación (29,33).

Si bien la naturaleza química de estos receptores es desconocida, los métodos disponibles establecen su integridad. En realidad, la primera evidencia indirecta de que la función de los receptores de los leucocitos puede estar deteriorada en los pacientes con LES, se ha reportado recientemente, en algunos pacientes se ha relacionado a la presencia de complejos inmunes (20), también se apoya el concepto de un defecto en la eliminación de complejos inmunes en pacientes con LES y surge la posibilidad de que las células fagocíticas tengan deteriorada la función de sus receptores de superficie, a este respecto, estudios funcionales de receptores en PMN de pacientes con LES no se ha reportado.

En este estudio nosotros encontramos que los niveles de complejos inmunes circulantes en pacientes con LES son en promedio de 17.88 $\mu\text{g eq/ml.}$, mientras que para el grupo de niños sanos es de 6.76 $\mu\text{g eq/ml.}$, lo cual muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Se observa también que existe una diferencia entre los pacientes con tratamiento de prednisona y sin activi-

dad del padecimiento y los pacientes con tratamiento y con actividad de la enfermedad.

Se han descrito defectos en la ingestión de partículas opsonizadas (34) y se ha relacionado con el efecto de esteroides .La fagocitosis en pacientes con AR fué normal y esta función no se redujo al incubar las células en plasma de pacientes con LES. (34). Sin embargo , hay reportes contradictorios (35) . La actividad de la enfermedad no se ha relacionado con el efecto inhibitorio del suero, niveles de complemento y tratamiento con corticoides.

La función óptima bactericida por los PMN requiere de la fusión de lisosomas y de la descarga de los constituyentes lisosomales , dentro de la vacuola fagocítica (degranulación) . Además de este mecanismo, los constituyentes no enzimáticos promueven la digestión que deberá ser estudiada exhaustivamente en futuros estudios en pacientes con LES.

9. C O N C L U S I O N E S.

- 9.1. En pacientes con LES, la capacidad de las células PMN de destrucción intracelular de S.aureus está disminuida comparandola con la capacidad de destrucción intracelular en el grupo de niños sanos. Sin embargo, la capacidad fagocítica en estos pacientes se encuentra normal.
- 9.2. En este estudio la actividad de la enfermedad y el tratamiento con esteroides no influyeron en la fagocitosis, ni en la destrucción intracelular por células PMN con S.aureus en pacientes con LES.
- 9.3. No se encuentra relación entre complejos inmunes elevados, destrucción intracelular y fagocitosis defectuosa.
- 9.4. Se encuentra una menor cantidad de complejos inmunes en pacientes con tratamiento de prednisona y sin actividad de la enfermedad que en pacientes con tratamiento y con actividad de la enfermedad.
- 9.5. No se encuentran diferencias de complejos inmunes, capacidad fagocítica y destrucción intracelular en pacientes tratados y no tratados con esteroides.

10. B I B L I O G R A F I A .

- 10.1. Klemperer P., Pollack A.D., Baehr G.
Pathology of disseminated lupus erythematosus.
Arch. Pathol. 32:569-631. (1941).
- 10.2. Dubois E.L., Wierchowicki M., Cox M.B., Weiner J.M.
Duration and death in systemic lupus erythematosus :
an analysis of 249 cases.
J.A.M.A. 227:1399-1402. (1974).
- 10.3. Ginzler E., Diamond H., Kaplan D., Weiner M., Schlesinger M. , and Seleznick M.
Computer analysis of factors influencing frequency--
of infection in systemic lupus erythematosus.
Arthritis Rheum. 21:37-44. (1978).
- 10.4. Staples P.J., Gording D.H., Decker J.L., Gordon R.S.
Incidence of infection in systemic lupus erythemato--
sus.
Arthritis Rheum. 17 :1-10. (1974).
- 10.5. Lee P., Urowitz H.B. Bookman A.A.M., Koehler B.E.,
Smythe H.A., Gordon D.A., Ogryzlo M.A.
Systemic lupus erythematosus.

- Q.J. Med . 46:1-32. (1977).
- 10.6. Collins J.V., Tong D., Bucknall P.G., Warin A.P.
Cryptococcal meningitis, a complication of systemic lupus erythematosus treated with systemic corticosteroids.
Postgrad Med. J. 48: 52 -55. (1972).
- 10.7. Pillay V.K., Wilson D.M., Ing T.S., Kark R.M.
Fungus infection in steroid-treated systemic lupus erythematosus.
J.A.M.A. 205:261-265. (1968).
- 10.8. Ruskin J., Remington J.S.
The compromised host and infection. I Pneumocystis carinii pneumonia.
J.A.M.A. 202:96-100. (1967).
- 10.9. Santen R.J., Wright I.S.
Systemic lupus erythematosus .
Cell Immunol. 12:309-315. (1974).
- 10.10. Armstrong D.
Infections in patients with lupus erythematosus disseminatus.
Arthritis Rheum. 17:285-286. (1974).
- 10.11. Stosel T.P.

Phagocytosis : recognition and ingestion.

Jemin Hematol . 12:83-116. (1975).

10.12. Stoszel T.P.

Phagocytosis : clinical disorders of recognition and ingestion .

Am. J. Pathol. 88:741-751. (1977).

10.13. Johnson R.B., Stroud R.M.

Complement and host defense against infection.

J. Pediatr. 90:169-179. (1977).

10.14. Pondman K.W., Stoop J.W., Cormane R.H., Hannema A.J.

Abnormal C' a patients with systemic lupus erythematosus.

J. Immunol. 101:811. (1968).

10.15. Agnello V., de Braco M.M.E., Kunkel H.G.

Hereditary C₂ deficiency with some manifestations of systemic lupus erythematosus.

J. Immunol. 108: 837- 840. (1972).

10.16. Rosenfeld S.L., Kelly M.E., Leddy J.P.

Hereditary deficiency of the fifth component of complement-
in man I. Clinical, immunochemical, and family studies.

J. Clin. Invest. 57:1629-1634. (1976).

10.17. Jasm H.E.

- Absence of the eighth component in association with systemic-lupus erythematosus-like disease.
J.Clin Invest . 60:709-715. (1977).
- 10.18. Repine J.E., Clawson C.C., Friend P.S.
Influence of a deficiency of the second component of complement of the bactericidal activity of neutrophils in vitro.
J. Clin Invest.59: 802- 809. (1977).
- 10.19. Dubois E.L., Tuffanelli D.L.
Clinical of systemic lupus erythematosus , manifestations.
J.A.M.A. 190:112-119.(1964).
- 10.20. Frank M.M.,Jaffe C.J.,Kimberly R.P.,Lawly T.J.
An immunospecific clearance defect in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) related to the levels of circulating immune complexes (IC).
Clin. Res. 25:357-A (Abstr). (1977).
- 10.21. Brandt L., Hedberg H.
Impaired phagocytosis by peripheral blood granulocytes in - systemic lupus erythematosus.
Scand J. Haematol. 6:348-355.(1969).
- 10.22. Temple A., Loewi G.
The effects of sera from patients with connectivetissue diseases on red cell binding and phagocytosis by monocytes.

- Immunology 33:109- 114.(1977).
- 10.23. Utsinger P.D.
Lymphocytes responsive in systemic lupus erythematosus .
Arth.Rheum.19: 88-92 . (1976) .
- 10.24. Thompson R.A.
Techniques in clinical Immunology in neutrophil leucocyte
function test.
Blackwell Sci. Pub.
Oxford. p.p 201-209.(1977).
- 10.25. Pohl D.A., Tsai C.C., Roodman S.T.
Detection of immune complexes using a solid-phase C_{1q} polys-
tyrene ball assay.
J. Immunol Methods. 40:313-330. (1981).
- 10.26. Downie N.M.
Métodos Estadísticos Aplicados.
Ed. Harper, Row Publishers inc.
México p.p. 281-295. (1975).
- 10.27. Sbarra A.J., Shirley W., Selvaraja R., Rosenbbaun E.
The role of the phagocyte en host-parasite interactions.
Cancer Res. 24:1958-1964. (1964).
- 10.28. Bradt L.

- Adhesive to glass and phagocytic activity of neutrophilic -
leukocytes in mieloproliferative disease.
Scand.J.Haemat. 2:126-136. (1965).
- 10.29. Gigli I., Nelson R.A.
Complement dependent immune phagocytosis.
Exp.Cell.Res.51:45-67. (1968).
- 10.30. Goldstein I.M.,Kaplan H.B.,Radin A.
Independent effects of IgG and complement upon human polymor-
phonuclear leukocyte function.
J.Immunol. 117:1282-1287. (1976).
- 10.31. Stossel T.P.,Field R.J.,Gitlin J.D.,Alper C.A.
The opsonic fragment of the third componet of human comple--
ment (C₃).
J.Exp.Immunol. 18:295-301. (1975).
- 10.32. Ehlenberger A.G., Nussenzweig V.
The role of membrane receptors for C3b and C3d in phagocy --
tosis.
J. Exp. Med. 145:357-371. (1977).
- 10.33. Goldstein I.M.,Roos D., Kaplan H.B. Weissman G.
Complement and immunoglobilins stimulate superoxide produc--
tion:by human leukocyte. Independently of phagocytosis.
J.Clin. Invest. 56:1155-1163. (1975).

10.34. Landry M.

Phagocytic function and cell-mediated immunity in SLE.

Arch.Dermatol 113:147-154. (1977).

10.35. Zurrier R.B.

Reduction of phagocytosis and lysosomal enzyme release from human leukocytes by serum from patients with systemic lupus-erythematosus.

Arth. Rheum 19:73-78. (1976).