

Actividad funcional de la vía alterna del complemento en los pacientes con lupus eritematoso sistémico

Correlaciones con la vía clásica, los niveles de inmunocomplejos circulantes y la actividad clínica

M.T. Aguado*, A. Celada** y P.H. Lambert*

* Centro OMS de Investigación y Enseñanza de Inmunología y ** División de Inmunología y Alergología. Departamento de Medicina Interna. Hospital Cantonal Universitario. Ginebra, Suiza.

Functional activity of the alternative complement pathway in systemic lupus erythematosus.

The hemolytic activities of the complement alternative pathway and factor B were studied in 77 sera from 40 patients with systemic lupus erythematosus. These values were compared to those of several complement components and the regulatory proteins of this pathway, factors H and I. There was a significant decrease in the alternative pathway activity, which correlated with a decrease in the hemolytic activity of factor B and with the activity of the classical pathway. The results obtained suggest that the decreased activity of the alternative pathway observed in the patients with systemic lupus erythematosus reflects a consumption due to a triggering of the C3b amplification loop through the activation of the classical pathway.

The capacity to solubilize immune complexes formed *in vitro* is significantly decreased in patients with systemic lupus erythematosus. This complement function correlates directly with serum C3 levels and inversely with the presence of circulating immune complexes. Clinically, patients showed a worse evolution and an increased incidence of renal involvement. The impaired solubilization capacity, related to low complement activity that is observed in patients with systemic lupus erythematosus may favor the persistence of immune complexes in tissues.

Las actividades hemolíticas de la vía alterna del complemento y del factor B han sido estudiadas en 77 sueros de 40 pacientes con lupus eritematoso sistémico. Estos valores se han comparado a los de algunos componentes del complemento y de las proteínas reguladoras de esta vía, factores H e I. Existe una disminución significativa de la actividad de la vía alterna que se correlaciona con una disminución del factor B y con la actividad de la vía clásica. Los resultados obtenidos sugieren que la disminución de la actividad de la vía alterna observada en los pacientes con lupus eritematoso sistémico refleja un consumo inducido tras la activación de la vía clásica y provocado a través del asa amplificadora del C3b.

La capacidad de solubilizar inmunocomplejos formados *in vitro* está significativamente deprimida en los pacientes con lupus eritematoso sistémico. Esta función del complemento se correlaciona directamente con los niveles de C3 e inversamente con la presencia de inmunocomplejos. Clínicamente, los pacientes con una disminución de la capacidad de solubilizar inmunocomplejos muestran una evolución peor y alteraciones renales más graves. La disminución de la capacidad de solubilización, que está en relación con niveles disminuidos de complemento, puede favorecer la persistencia de inmunocomplejos en los tejidos.

INTRODUCCION

El lupus eritematoso sistémico se acompaña de una activación policlonal con producción de autoanticuerpos. Existe una base genética^{1,2} sobre la que pueden incidir una serie de agentes que en muchos casos van a desencadenar la enfermedad. Una de las características de ésta es el depósito de inmunocomplejos en los distintos tejidos. Dependiendo del tipo de inmunoglobulina, los inmunocomplejos pueden fi-

jar complemento, el cual al activarse generará distintos fragmentos que atraerán a los macrófagos y granulocitos. Estas células, al intentar eliminar los inmunocomplejos de los tejidos, liberan diversas enzimas, responsables de las lesiones hícticas³.

En los pacientes con lupus eritematoso sistémico se han encontrado múltiples alteraciones serológicas, incluyendo autoanticuerpos, inmunocomplejos circulantes y niveles disminuidos de complemento^{4,6}. La activación de la vía clásica del complemento ha sido demostrada en estos pacientes^{7,9}. Con respecto a la activación de la vía alterna existen muchas evidencias indirectas, tales como una disminución del nivel del factor B y la properdina^{9,14}, la presencia de pro-

Correspondencia y separatas: M.T. Aguado. Research Institute of Scripps Clinic, Department of Immunology, IM 3, 10666 North Torrey Pines Road, La Jolla, California 92037. EE.UU.

ductos de degradación del factor B¹⁵ y aumento del catabolismo del factor B^{16,17} y de la properdina¹⁸.

En el presente trabajo se estudian dos funciones diferentes de la vía alterna del complemento: la actividad hemolítica y la capacidad de solubilizar inmunocomplejos en el suero de un grupo de pacientes con lupus eritematoso sistémico, comparándolas con otros parámetros del complemento, los niveles de inmunocomplejos circulantes, y la actividad clínica.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes

Para este estudio se recogieron el suero y el plasma de 40 pacientes que sufrían de lupus eritematoso sistémico. Los enfermos fueron hospitalizados o examinados ambulatoriamente en el Hospital Cantonal Universitario de Ginebra. El diagnóstico se llevó a cabo basándose en los criterios de la Asociación Americana de Reumatología¹⁹.

Ventidós de los pacientes se consideraron en fase activa de la enfermedad en el momento del diagnóstico, previamente a todo tratamiento, o en exacerbación de la enfermedad, basándose en síntomas clínicos (alteraciones del sistema nervioso central, artralgias, alteraciones de la función renal con un aumento de la proteinuria y lesiones cutáneas) y en valores de laboratorio (aumento de la velocidad de sedimentación globular y niveles altos de anticuerpos contra el ADN nativo, de doble hélice). Además, 24 enfermos estaban en fase inactiva de la enfermedad tras el tratamiento y sin presentar manifestaciones clínicas. De los 22 pacientes en fase activa se estudiaron 41 muestras y de los 24 en fase inactiva, 36 muestras. En seis casos se obtuvieron varias muestras de un mismo sujeto en diferentes períodos de la enfermedad, es decir, en fases activas e inactivas.

Como controles se usó el suero y el plasma de donantes de sangre voluntarios del Banco de Sangre de Ginebra.

Procesamiento de las muestras

Los sueros se obtuvieron tras dejar coagular la sangre venosa en tubos de vidrio durante una hora a temperatura ambiente y 2 horas a 4°C y posterior centrifugación a 1.500 g durante 10 minutos. Los plasmas fueron obtenidos mediante un procedimiento similar, pero la sangre se recogió en tubos que contenían EDTA a una concentración final de 20 mM. En todos los casos, tras la centrifugación, se dividieron las muestras en fracciones, congelándose a -70°C.

Los pools de sueros controles se prepararon a partir de 30 donantes de sangre, utilizándose frescos y calentados a 56°C durante 30 minutos o a 50°C durante 20 minutos.

Medida del complemento

Las actividades hemolíticas de la vía alterna y del factor B se midieron utilizando un método descrito previamente²⁰. Fundamentalmente, la actividad hemolítica de la vía alterna se midió incubando diluciones seriadas del suero problema con hemáties de conejo marcadas con ⁵¹Cr en presencia de EDTA para bloquear la vía clásica. Tras centrifugación se midió la cantidad de radioactividad liberada en el sobrenadante. La actividad hemolítica del factor B se midió mezclando hemáties de conejo marcadas con ⁵¹Cr con un suero que tenía el factor B inactivado (calentado a 50°C durante 20 minutos) y diluciones seriadas del suero problema como fuente de factor B. La cantidad necesaria

para la lisis del 50% fue calculada en ambos ensayos y los resultados se expresaron como porcentaje de un pool estándar normal.

La actividad hemolítica del complemento se midió mediante un método semiautomático de flujo continuo²¹. Los niveles de C3, C4 y las proteínas reguladoras de la vía alterna (factores H e I) se midieron mediante inmunodifusión radial utilizando antisueros específicos de origen comercial (Behringwerke AG, Marburg-Lahn, Alemania), excepto para los factores H e I, que fueron cedidos generosamente por el Dr U.E. Nydegger. La especificidad de los antisueros se investigó mediante técnicas de Ouchterlony e inmunodifusión.

Inmunocomplejos circulantes

Los niveles de inmunocomplejos circulantes fueron detectados mediante el test de fijación del Clq radiomarcado²². El principio en el que está basado este test es el siguiente: las muestras se incuban con EDTA para disociar el complejo Clq (qrs); se añade Clq radiomarcado con ¹²⁵I y polietilenglicol. En estas condiciones, el Clq libre queda soluble, mientras que el fijado a las macromoléculas se precipita. Los resultados se expresaron como porcentaje de Clq-¹²⁵I precipitado.

Medida de la capacidad de solubilizar inmunocomplejos por el suero

La albúmina sérica bovina (ASB) (Calbiochem-Behring Corporation, la Jolla, California, EE.UU.) se marcó con ¹²⁵I siguiendo el método de la cloramina T²³. Como diluyente se utilizó tampón veronal salino suplementado con 0,15 mM Ca⁺⁺ y 0,5 mM Mg⁺⁺ (TVS⁺⁺).

Los inmunoprecipitados se prepararon mediante la incubación de antisuero de conejo contra la albúmina sérica bovina y ASB marcada con ¹²⁵I, con un exceso de anticuerpo de cuatro veces durante una hora a 37°C y toda la noche a 4°C²⁴. El precipitado resultante fue lavado dos veces en TVS⁺⁺ y homogeneizado mediante el paso a través de una aguja del calibre 30.

El test se llevó a cabo mezclando 20 µl de la suspensión de inmunoprecipitado que contenían aproximadamente 3 µg de proteína con 250 µl de una muestra de suero problema diluida a 1/2. Se incubó durante 2 horas a 37°C y la reacción se detuvo mediante la adición de TVS⁺⁺ a 4°C. Los complejos solubles e insolubles se separaron mediante centrifugación (1.600 g, 30 min) y para conocer la proporción de los complejos en una u otra forma se contaron precipitados y sobrenadantes. Como controles negativos se utilizaron suero inactivado por el calor (56°C durante 30 min) y suero con el factor B inactivado (calentado a 50°C durante 20 min). Los resultados se expresaron como porcentajes en relación al valor de la capacidad de solubilización de un pool fresco de sueros normales, según se ha descrito previamente²⁰.

Detección de anticuerpos anti-ADN

La presencia de anticuerpos anti-ADN de doble hélice se determinó según la técnica de Farr²⁵ y mediante inmunofluorescencia utilizando como sustrato el cinetoplasma de *Crithidia lucillae*²⁶.

Activación de la vía alterna por la inulina

Una serie de sueros fueron tratados con 1 mg/ml de inulina a 37°C durante 45 minutos para activar aproximadamente el 50% de la vía alterna. A continuación se midió la actividad hemolítica del factor B en las muestras, antes y

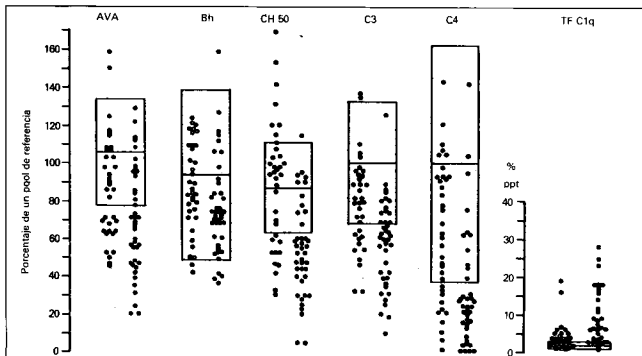


Fig. 1. Niveles de las actividades hemolíticas de la vía alterna (AVA), del factor B (Bh) y de la vía clásica (CH50), niveles de C3, C4 e inmunocomplejos circulantes en 77 sueros de pacientes con lupus eritematoso sistémico. Las áreas encuadradas representan los niveles normales (media \pm 2 DE de 26 controles). Los círculos representan los valores individuales de los pacientes en fase activa (●) o inactiva (○).

después de la activación y se calculó el porcentaje de disminución de dicha actividad.

Cálculos estadísticos

Se realizaron mediante tests no paramétricos. Para calcular las diferencias entre dos poblaciones emparejadas se utilizó el test de Wilcoxon; para las no emparejadas, el de Mann-Whitney, y para la correlación, el de Spearman. Para evaluar la frecuencia de los síntomas clínicos se utilizó el test convencional del χ^2 , según Woolf, excepto cuando las frecuencias eran 0. En este caso se utilizó el test de Hal-dane²⁷.

RESULTADOS

La actividad de la vía alterna del complemento estaba significativamente disminuida tanto en los pacientes en fase activa ($p < 0,001$) como en los que estaban en fase inactiva ($p < 0,005$) (fig. 1). La actividad de la vía clásica (CH50) y del factor B estaban disminuidos en los pacientes en fase activa de la enfermedad ($p < 0,001$ y $p < 0,005$), pero no así en los enfermos en fase inactiva. Los niveles de C3 y C4 es-

TABLA I Correlación entre los diferentes parámetros estudiados en 77 muestras de pacientes con lupus eritematoso sistémico

	AVA*	Bh**	C3	C4	I	H	TFClq***
CH50	0,79 ^a 0,001 ^b	0,54 0,001	0,80 0,001	0,80 0,001	0,27 0,02	-0,04 NS ^c	-0,42 0,001
AVA		0,60 0,001	0,81 0,001	0,74 0,001	0,33 0,01	0,09 NS	-0,24 0,05
Bh			0,054 0,001	0,51 0,001	0,58 0,001	0,36 0,01	-0,25 0,05
C3				0,79 0,001	0,38 0,001	0,16 NS	-0,33 0,01
C4					0,29 0,02	0,00 NS	-0,36 0,01
I						0,44 0,001	-0,03 NS
H							-0,11 NS

* Actividad hemolítica de la vía alterna. ** Actividad hemolítica del factor B. *** Test de Fijación del C1q radiomarcado. ^aR = coeficiente de correlación de Spearman. ^bp = probabilidad de la significación (<). ^cNo significativo ($p > 0,05$).

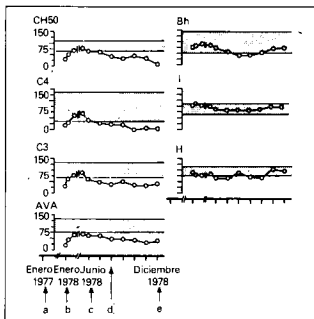


Fig. 2. Determinaciones seriadas de las actividades hemolíticas de la vía alterna (AVA) y del factor B (Bh), C3, C4, CH50 y de las proteínas reguladoras en la paciente A.R., que padecía un lupus eritematoso sistémico. a) Diagnóstico de lupus eritematoso con glomerulonefritis mesangioproliferativa. b) Bronconeumonía y reactivación de la enfermedad. c) Brote de urticaria y proteinuria. d) Glomerulonefritis focal y segmentaria. El área sombreada representa el nivel normal (media \pm 2 DE de 26 controles).

taban disminuidos en ambas formas de la enfermedad ($p < 0,001$).

Con respecto a las proteínas reguladoras de la vía alterna, los niveles del factor H estaban disminuidos en los individuos en fase activa ($84,8 \pm 15,2\%$, $p < 0,01$) e inactiva ($84,7 \pm 21,1\%$, $p < 0,02$) en relación con los controles ($94,9 \pm 10,9\%$). Sin embargo, los niveles del factor I estaban aumentados en los pacientes en fases activa ($99,2 \pm 17,9\%$, $p < 0,02$) e inactiva ($107,9 \pm 25,2\%$, $p < 0,05$; controles $89,0 \pm 11,9\%$).

En 35 sueros de sujetos con lupus eritematoso sistémico en fase activa el test de fijación del Clq era de $9,4 \pm 7,2\%$ y en 33 sueros de pacientes en fase inactiva, $4,2 \pm 3,7\%$. Estos valores estaban significativamente aumentados en ambos casos en relación con los controles ($1,9 \pm 0,5\%$, $p < 0,001$) (fig. 1).

La actividad hemolítica de la vía alterna mostraba una correlación positiva con la actividad hemolítica del factor B (tabla I). Estos dos parámetros estaban además bien correlacionados con el CH50 y con los niveles de C3 y C4, lo cual sugiere que ambas vías, clásicas y alterna, están alteradas en los pacientes con lupus eritematoso sistémico.

Las proteínas reguladoras de la vía alterna se corelacionaban entre sí. No obstante, sólo había una

ligera correlación entre los niveles del factor H y las actividades hemolíticas de la vía alterna y del factor B y no había correlación entre estas últimas y los niveles del factor I. Por otro lado, tanto el factor H como el I tenían nulas o escasas correlaciones con los niveles del C3, C4 y CH50. Estos datos sugieren que una variación del nivel de las proteínas reguladoras en el suero puede ser independiente de una activación de la vía alterna o consumo del factor B en los pacientes con lupus eritematoso sistémico.

El nivel de inmunocomplejos circulantes detectados mediante el test de fijación del Clq estaba correlacionado negativamente con los niveles del C3 y C4 y CH50 (tabla I). Sin embargo, no existía una correlación con las actividades hemolíticas de la vía alterna y el factor B o con las proteínas reguladoras de la vía alterna.

En 3 pacientes se estudiaron distintas muestras en períodos activos o inactivos de la enfermedad. En la figura 2 se muestran los resultados de los diferentes tests estudiados en la paciente A.R., que fue diagnosticada en enero de 1977, cuando tenía 33 años, de lupus eritematoso sistémico. En ese momento presentaba alteraciones cutáneas, articulares, hematológicas y renales. La biopsia renal mostró una glomerulonefritis mesangioproliferativa con depósitos de inmunoglobulinas y complemento. Tras un tratamiento con prednisona y ciclofosfamida, se obtuvo la remisión de la enfermedad. Un año más tarde, en enero de 1978, la paciente fue rehospitalizada a consecuencia de una bronconeumonía y una reactivación del lupus eritematoso sistémico. En ese momento, la actividad de la vía alterna, el C3, el C4 y el CH50 estaban disminuidos, pero tras el tratamiento con los mismos fármacos a dosis superiores, estos valores aumentaron hasta alcanzar los límites normales. Entre febrero y junio del mismo año, la paciente estuvo en remisión y todos los parámetros se encontraban dentro de los límites normales. En junio, la enferma sufrió un brote de urticaria sin alteraciones de la función renal (proteinuria de 24 horas y aclaramiento de la creatinina normales). La actividad hemolítica de la vía alterna, el CH50, los niveles de C3, C4 y factor H estaban dentro de los límites patológicos. En agosto del mismo año, la enferma presentó de nuevo una importante urticaria que se acompañó esta vez de proteinuria elevada ($2 \text{ g}/24 \text{ h}$). Los niveles de la actividad hemolítica de la vía alterna y del factor B, el CH50, el C3 y el C4 estaban por debajo del límite normal. Sin embargo, las proteínas reguladoras de la vía alterna se encontraban en los límites normales. La biopsia renal en el mes de diciembre mostró una glomerulonefritis focal y segmentaria (forma más grave que la precedente), con depósitos de inmunoglobulinas y complemento. Los otros 2 pacientes en los que se estudió la evolución mostraron resultados similares.

Una serie de experiencias fueron llevadas a cabo para estudiar si la adición de inulina (activador de la vía alterna) al suero, tenía el mismo efecto en las

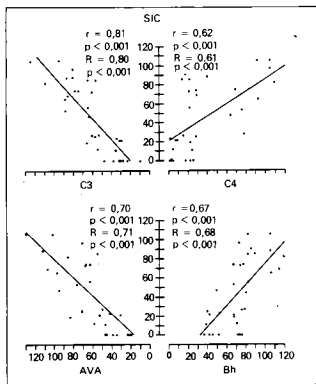


Fig. 3. Correlaciones entre la capacidad de solubilización de inmunocomplejos in vitro (SIC) y los niveles de C3 y C4 y las actividades hemolíticas de la vía alterna (AVA) y del factor B (Bh) en 32 sueros de pacientes con lupus eritematoso sistémico. R = coeficiente de Spearman; r = coeficiente de correlación lineal.

muestras de donantes sanos que en las de los pacientes con lupus eritematoso sistémico. El objeto de estas experiencias era comprobar si en dichos enfermos la vía alterna no funcionaba bien por un fallo en la activación. Tras tratar las muestras con 1 mg/ml de inulina e incubarlas a 37° C, se centrifugaron y en el sobrenadante se midió la actividad del factor B. En

28 sueros de pacientes, la disminución del factor B tras el tratamiento con inulina era de $33,5 \pm 12,5\%$ de la cantidad de factor B inicial y en 26 sueros controles, $42,1 \pm 6,1\%$. No existían diferencias significativas entre estas cifras. Estos datos sugieren que la disminución del factor B tras la activación con inulina no depende del valor intrínseco de cada suero, lo cual indica un consumo de la vía alterna sin alteración en el mecanismo de activación.

La capacidad de solubilizar inmunocomplejos por el suero fue estudiada en 32 muestras de 20 pacientes con lupus eritematoso sistémico y en 26 controles. Tras 2 horas de incubación de los inmunocomplejos precipitados con el suero, en un pool de sueros normales se solubilizó más del 80% de los inmunoprecipitados preparados *in vitro*. Los valores de solubilización de un pool de sueros inactivado por el calor (56° C, durante 30 minutos) o con el factor B inactivado (calentado a 50° C durante 20 minutos) eran alrededor del 10%, considerándose en cada caso como el background. Los valores de los sueros individuales se expresaron en porcentaje en relación a la actividad de un pool de sueros normales estándar.

Los sueros de los sujetos con lupus eritematoso sistémico mostraron una disminución significativa de la capacidad de solubilizar inmunocomplejos ($44,7 \pm 36,6\%$) en relación con los controles ($107,2 \pm 17,2\%$; $p < 0,001$). Como se muestra en la figura 3, la capacidad de solubilizar inmunocomplejos está correlacionada con las actividades hemolíticas de la vía alterna y del factor B. Una correlación similar existe con el CH50 ($R = 0,71$, $p < 0,001$), así como con el C3 y C4 (fig. 3). Algunos sueros con niveles disminuidos de C4 muestran una capacidad de solubilización normal. No se encontraron correlaciones entre los niveles de las proteínas reguladoras de la vía alterna y la capacidad de solubilización de inmunocomplejos.

En los 11 sueros que tenían una capacidad de solubilizar inmunocomplejos normal (superior a 71%,

TABLA II Correlación de la capacidad de solubilizar inmunocomplejos con las manifestaciones clínicas de los pacientes con lupus eritematoso sistémico

Datos	Pacientes con capacidad de solubilizar inmunocomplejos		χ^2	p
	Normal	Disminuida*		
Proteinuria (200 mg/24 h)	3/10	9/10	5,83	< 0,02
Biopsia renal				
Cambios mínimos o lesiones mesangiales	6	0	9,67	< 0,005
Lesiones intra y extracapilares o focales segmentarias	0	4		
Artralgias	10/10	9/10	0,84	NS**
Alteraciones cutáneas	4/10	7/10	1,75	NS
Evolución***	8/10	2/10	6,14	< 0,02

* < 71% (media - 2 DE del grupo control). ** No significativo ($p > 0,05$). *** Normalización de la velocidad de sedimentación y de la proteinuria tras el tratamiento, sin reactivación clínica evaluada tras más de 12 meses de observación.

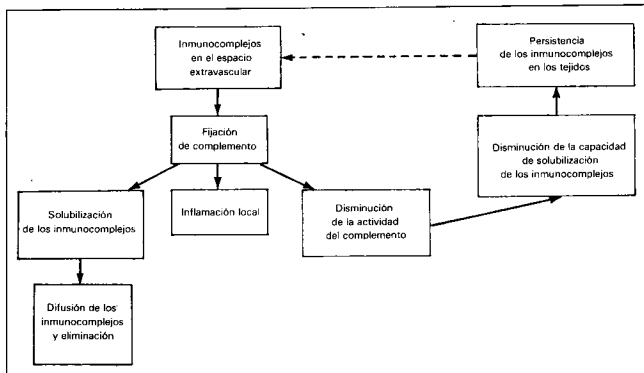


Fig. 4. Esquema de las posibles implicaciones que la solubilización de inmunocomplejos mediada por el complemento puede tener en la patogenia del lupus eritematoso sistémico.

media - 2 DE del grupo control) el nivel de inmunocomplejos circulantes era $4,2 \pm 1,5\%$ y en los 21 sueros con una disminución de la capacidad de solubilización de inmunocomplejos el nivel de inmunocomplejos circulantes era $9,6 \pm 4,2\%$. La diferencia entre estas cifras es estadísticamente significativa ($p < 0,01$).

En relación con las manifestaciones clínicas, los pacientes con una disminución de la capacidad de solubilización de inmunocomplejos mostraban mayores alteraciones renales, teniendo en cuenta la proteinuria y la biopsia (tabla II). No se encontraron correlaciones entre la frecuencia de alteraciones articulares, dermatológicas o neurológicas y la capacidad de solubilizar inmunocomplejos. Por último, los individuos cuya capacidad de solubilizar inmunocomplejos era normal tenían una evolución más favorable que aquellos en los que este parámetro había disminuido.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en este estudio ponen de manifiesto que los enfermos con lupus eritematoso sistémico tienen una disminución de la actividad de la vía alterna del complemento. Las buenas correlaciones existentes entre la actividad de la vía alterna y el factor B con los niveles de C3, C4 y CH50 sugieren que en el lupus eritematoso sistémico la disminu-

ción de la vía alterna se debe a un consumo inducido tras la activación de la vía clásica y provocado a través del asa amplificadora del C3b²⁸.

Los estudios *in vitro* han demostrado que la vía alterna está controlada por las proteínas reguladoras, factores H e I, siendo necesaria la presencia de ambas para modular su actividad^{29,30}. La ausencia de uno de estos factores provoca una activación descontrolada de la vía alterna²⁸. Nuestros resultados revelan que los valores de las proteínas reguladoras en los pacientes con lupus eritematoso sistémico son significativamente diferentes de los que se observan en los sujetos normales. Los niveles del factor H estaban disminuidos, mientras que los del factor I estaban aumentados, sin encontrar correlaciones significativas con ninguno de los componentes del complemento estudiados. Resultados similares han sido descritos previamente por Whaley et al^{31,32} y por Charlesworth et al³³. Es posible que las proteínas reguladoras de la vía alterna no desempeñen un gran papel en el consumo del complemento en los pacientes con lupus eritematoso sistémico.

En los estudios seriados, la disminución de la vía alterna y del factor B coinciden con la disminución del C3, C4 y CH50 cuando los enfermos muestran una exacerbación de la enfermedad. En estos individuos, la mejoría clínica se acompaña de una normalización de estos parámetros. No creemos que la medición de la actividad de la vía alterna, del factor B o

de las proteínas reguladoras contribuyan mucho más al estudio clínico de los pacientes con lupus eritematoso sistémico que las clásicas mediciones del C3, C4 y CH50.

La disminución de la vía alterna en los pacientes con lupus eritematoso sistémico podría explicar en parte la mayor susceptibilidad de estos pacientes a las infecciones. Además, creemos que el estudio de la vía alterna en esta enfermedad puede ayudarnos a comprender parte de su patogenia. En efecto, en 1975 Miller y Nussenzweig³⁴ demostraron que los inmunocomplejos formados *in vitro* en el punto de equivalencia, que normalmente precipitan debido a la formación de una "red", pueden ser solubilizados mediante la adición de suero fresco. La solubilización se produce como consecuencia de una disociación de la red de inmunocomplejos tras la fijación del C3. Este fenómeno depende de la integridad de la vía alterna^{35, 36}. El significado *in vivo* de la solubilización no se conoce muy bien, pero es evidente que los inmunocomplejos desempeñan un papel importante en el desarrollo de lesiones hísticas en los modelos experimentales y en el hombre^{3, 37, 38}. Los mecanismos que controlan el depósito y la eliminación de inmunocomplejos no están bien definidos, pero es muy probable que exista un balance entre los inmunocomplejos que permanecen en el espacio intra o extravascular y los que son eliminados por el sistema reticuloendotelial.

En el suero de los pacientes con lupus eritematoso sistémico hemos encontrado una disminución de la capacidad de solubilización de inmunocomplejos que se correlaciona con los niveles del C3. Resultados semejantes han sido descritos por Kretzli et al³⁹, utilizando un modelo experimental de malaria. La capacidad de solubilizar inmunocomplejos se correlaciona además con la actividad hemolítica de la vía alterna y del factor B y con el nivel de C4. Estos resultados apoyan la idea de que ambas vías, clásica y alterna, se encuentran disminuidas en el lupus eritematoso sistémico. La observación de que en algunos casos los niveles de C4 están disminuidos mientras que la solubilización es normal confirma que la vía clásica no desempeña un papel importante en el fenómeno de la solubilización^{35, 40}.

Los resultados obtenidos en este estudio pueden tener importancia en relación a la eliminación de inmunocomplejos *in vivo*. La fijación del complemento a los inmunocomplejos formados o depositados en el espacio extravascular puede comportar la solubilización de estos complejos. Esto puede favorecer su difusión hacia la linfa y la sangre y su eliminación por el sistema reticuloendotelial. Lógicamente, una disminución de la actividad del complemento que puede producir una disminución de la solubilización de los inmunocomplejos puede dar lugar a que los inmunocomplejos persistan a nivel hístico y favorezcan el desarrollo de alteraciones hísticas.

En este estudio hemos encontrado que los sujetos con niveles aumentados de inmunocomplejos tienen

una disminución de la capacidad de solubilizar. Esto puede ser interpretado de dos maneras. Si los niveles de inmunocomplejos están aumentados, el C3 se puede fijar a los inmunocomplejos y en consecuencia la capacidad de solubilizar inmunocomplejos estará disminuida (fig. 4). Por otro lado, si los niveles de C3 están disminuidos, la capacidad de solubilizar inmunocomplejos estará disminuida, favoreciendo así la persistencia de inmunocomplejos en los tejidos.

Los pacientes con una disminución de la capacidad de solubilizar inmunocomplejos presentaban lesiones renales más importantes y una evolución peor. Esta relación puede ser causada por la estrecha correlación existente entre la disminución de la actividad del complemento y la reducida capacidad de solubilizar inmunocomplejos.

Por último, cabe preguntarse si los inmunocomplejos que se detectan por la mayoría de los métodos basados en su fijación a moléculas del complemento (C1q, C3bi, etc.)⁴¹ son inmunocomplejos formados a nivel intravascular con capacidad para depositarse a nivel hístico o bien se trata de inmunocomplejos solubilizados que van simplemente a ser eliminados. En esta última hipótesis estamos trabajando actualmente para tratar de comprender un poco mejor el papel fisiopatológico del fenómeno de la solubilización de los inmunocomplejos por el complemento.

Bibliografía

1. Russell AS. Genetic factors in systemic lupus erythematosus. *Sem Arthr Rheum* 1981; 10:255-263.
2. Celada A, Barras C, Benzona G, Jeannot M. Increased frequency of HLA-DRw 3 in systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* 1980; 283-288.
3. Lambert PH, Casali P. Immune complexes and the rheumatic diseases. *Clin Rheum Dis* 1978; 4:617-642.
4. Lloyd W, Schur PH. Immune complexes, complement and anti-DNA in exacerbations of systemic lupus erythematosus (SLE). *Medicine* 1981; 60:208-217.
5. Morrow WJW, Isenberg DA, Todd-Pokropek A, Parry HF, Snaith ML. Useful laboratory measurements in the management of systemic lupus erythematosus. *Quart J Med* 1982; 51:125-138.
6. Reichlin M. Current perspectives on serological reactions in SLE patients. *Clin Exp Immunol* 1981; 44:1-10.
7. Schur PH. Complement in lupus. *Clin Rheum Dis* 1975; 1:519-531.
8. Koffler D, Agnello V, Carr RI, Kunkel HG. Variable patterns of immunoglobulins and complement deposition in the kidneys of patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Pathol* 1969; 56:305-316.
9. Gwyn-Williams D, Petters DK, Fellows J, Petrie A, Kourilsky O, Morel-Maroger L, Cameron JS. Studies of serum complement in the hypocomplementaemic nephritis. *Clin Exp Immunol* 1974; 18:391-405.
10. Gewurz HG, Pickering RJ, Naff G, Snydermann R, Mergenhagen SE, Good RA. Decreased properdin activity in acute glomerulonephritis. *Int Arch Allergy appl Immunol* 1969; 36:592-598.
11. Hunsicker LG, Ruddy S, Carpenter CB, Schur PH, Merrill JP, Muller-Eberhard HJ, Austen KF. Metabolism of the third complement component (C3) in nephritis. Involvement

ment of the classic and alternate (properdin) pathways for complement activation. *N Eng J Med* 1972; 287:835-840.

12. McLean RH, Michael AF. Properdin and C3 activator: alternate pathway components in human glomerulonephritis. *J Clin Invest* 1973; 52:634-644.

13. Perrin LH, Lambert PH, Nydegger UE, Miescher PA. Quantitation of C3PA (properdin factor B) and other complement components in diseases associated with a low C3 level. *Clin Immunol Immunopathol* 1973; 2:16-27.

14. Perrin LH, Lambert PH, Miescher PA. Properdin levels in systemic lupus erythematosus and membranoproliferative glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 1974; 16:575-581.

15. Perrin LH, Lambert PH, Miescher PA. Complement breakdown products in plasma from patients with systemic lupus erythematosus and patients with membranoproliferative and other glomerulonephritis. *J Clin Invest* 1975; 56:165-176.

16. Charlesworth JA, Gwyn-Williams D, Sherington E, Lachmann P, Peters DK. Metabolic studie of the third component of complement and the glycine-rich beta-blucoprotein in patients with hypocomplementaemia. *J Clin Invest* 1974; 53:1.578-1587.

17. Ruddy S, Carpenter CB, Clin KW, Knostman JN, Soter NA, Gotze O, Muller-Eberhard HJ, Austen KF. Human Complement metabolism: an analysis of 144 studies. *Medicine* 1974; 54:165-178.

18. Zeigler JB, Rosen FS, Alper CA, Grupe W, Lepow IH. Metabolism of properdin in normal subjects and patients with renal diseases. *J Clin Invest* 1975; 56:761-767.

19. Cohen AS, Reynolds WE, Franklin EC, Kulka JP, Ropes MW, Shulman LE, Wallace SL. Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Bull Rheum Dis* 1971; 21:643-650.

20. Aguado MT, Celada A, Lambert PH. Medida de la función de la vía alterna del complemento. Actividad hemolítica y solubilización de inmunocomplejos. *Immunología* 1983; 2:63-70.

21. Nydegger UW, Lambert PH, Celada A, Miescher PA. Complement dosage in a continuous flow system and application to quantitative complement fixation with hepatitis associated antigen. En: Heden CG, Illeni T, ed. *Automation in microbiology and immunology*. Nueva York, John Wiley and Sons, 1975; 393-407.

22. Zubler RH, Lange G, Lambert PH, Miescher PA. Detection of immune complexes in unheated sera by a modified I-Clq binding test. Effect of heating on the binding of Clq by immune complexes and application of the test to systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 1976; 116:232-235.

23. Mc Conahey PH, Dixon FJ. A Rapid method for trace iodination of proteins for immunologic studies. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1966; 29:186-189.

24. Maures PH. the quantitative precipitin reaction. En: Williams CA, Chase MW, ed. *Methods in immunology and immunochemistry*. Vol 3, Nueva York, Academic Press, 1971; 1-61.

25. Wold RT, Young FE, Tan EM, Farr RS. Deoxyribonucleic acid antibody: a method to detect its primary interaction with deoxyribonucleic acid. *Science* 1968; 161:806-807.

26. Fallet M, Celada A, Cruchaud A. Evaluation de deux methodes de detection des anticorps anti-DNA natif dans les maladies du collagene. *Schweiz Med Wochens* 1981; 111:488-494.

27. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical Methods*. Ames, Iowa, State University Press, 1967.

28. Nicol PAE, Lachmann PJ. the alternative pathway of complement activation. The role of C3 and its inactivator (KAF). *Immunology* 1973; 24:259-275.

29. Whaley K, Thompson RA. Requirements for 1H globulin and C3b inactivator in the control of the alternative complement pathway in human serum. *Immunology* 1978; 35:1.045-1.049.

30. Nydegger UE, Fearon DT, Austen KF. The modulation of the alternative pathway of complement in C2-deficient human serum by changes in concentration of the component and control proteins. *J Immunol* 1978; 120:1.404-1.408.

31. Whaley K, Schur PH, Ruddy S. C3b inactivator in the rheumatic diseases *J Clin Invest* 1976; 57:1.554-1.563.

32. Whaley K, Schur PH, Ruddy S. Relative importance of C3b inactivator and β 1H Globulin in the modulation of the properdin amplification loop in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 1979; 36:408-414.

33. Charlesworth JA, Scott DM, Pussell BA, Peters DK. Metabolism of β 1H. Studies in man and experimental animals. *Clin Exp Immunol* 1979; 38:397-404.

34. Miller GW, Nussenzweig V. A new complement function: solubilization of antigen-antibody aggregates. *Proc Natl Acad Scien USA* 1975; 72:418-422.

35. Czop J, Nussenzweig V. Studies on the mechanisms of solubilization of immune precipitates by serum. *J Exp Med* 1976; 143:615-630.

36. Takahashi M, Czop J, Ferreira A, Nussenzweig V. Mechanism of solubilization of immune aggregates by complement: implication of immunopathology. *Transplant Rev* 1976; 32:121-139.

37. Dixon FJ. The role of antigen-antibody complexes in disease. *Harvey Lect* 1963; 58:21-52.

38. Theofilopoulos AN, Dixon FJ. Immune complexes in human diseases. A review. *Am J Pathol* 1980; 100:531-591.

39. Krettl AU, Nussenzweig V, Nussenzweig RS. Complement alterations in rodent malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1976; 25:34-41.

40. Takahashi M, Takahashi S, Branda V, Nussenzweig V. Requirements for the solubilization of immune aggregates by complement: the role of the classical pathway. *J Clin Invest* 1978; 62:349-359.

41. Theofilopoulos AN, Dixon FJ. The biology and detection of immune complexes. *Adv Immunol* 1979; 28:89-220.