

Reconocimiento monocitario dependiente de receptores para el complemento (C3) en la diabetes mellitus tipos I y II descompensadas

F. Gómez Rodríguez, P. Ruiz Alcantarilla y E. Zamora Madaria
 Departamento de Medicina Interna. II Cátedra de Patología y Clínica Médicas. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz.

Se realizó un estudio *in vitro* para evaluar la capacidad de reconocimiento monocitario dependiente de receptores para el C3, en 20 diabéticos tipo I descompensados (DMI-d) y en 20 diabéticos tipo II descompensados (DMII-d), así como en estos mismos 40 pacientes una vez que se compensaron (DMI-c y DMII-c respectivamente), con el fin de evaluar la reversibilidad terapéutica de las alteraciones detectadas y su relación con el grado de control metabólico de la diabetes.

Se observó una disminución del reconocimiento monocitario mediado por receptores para el C3 en los DMI-d y DMII-d en comparación a los diabéticos compensados y voluntarios sanos ($p < 0,001$ en ambos casos). Dicha alteración se correlacionó inversamente con las cifras de glucemia, tanto en los DMI-d como en los DMII-d, careciendo de correlación con la HbA1c y los demás parámetros metabólicos que se determinaron.

En conclusión, nuestros resultados demuestran que los diabéticos tipos I y II descompensados tienen una alteración del reconocimiento monocitario mediado por receptores de membrana para el C3, que parece debido a factores metabólicos. Dichas alteraciones monocitarias desaparecen cuando estos pacientes alcanzan la compensación metabólica.

C-3 complement receptor dependent monocyte identification in uncontrolled type I and type II diabetes mellitus

In order to evaluate the treatment reversability of the disfunction observed in the C3 complement receptor dependent monocyte identification capacity and its relationship with the degree of metabolic control in diabetics an *in vitro* study was carried-out in 20 uncontrolled type I diabetics (DMI-d), in 20 uncontrolled type II (DMII-d) and in the same 40 patients after metabolic control.

We observed a decrease in the C3 complement receptor dependent monocyte identification compared to the controlled diabetics and to healthy volunteers (in both cases $p < 0,001$). Moreover, this alteration was inversely correlated with the plasma glucose level both in the DMI-d and DMII-d. We did not observe any correlation with HbA1c nor with the remaining metabolic parameters determined.

In conclusion, our results indicate the uncontrolled type I and type II diabetic exhibit disfunctions in C3 complement receptor dependent monocyte identification that seems to be due to metabolic factors because the mentioned monocyte alteration disappears when these patients reach a controlled metabolic state.

(Rev Clin Esp 1986; 179:167-171)

Introducción

Los pacientes con diabetes mellitus presentan una disminución de las defensas antibacterianas¹ y una mayor incidencia de infecciones², en parte debidas a las alteraciones en la respuesta inmune que muestran dichos enfermos.

El monocito humano de sangre periférica (MSP) puede reconocer partículas de forma inespecífica³, o bien mediante receptores de membrana específicos para ciertas inmunoglobulinas y factores del complemento⁴. Asimismo, el receptor C3 monocitario interviene en la regulación de ciertas respuestas de inmunidad celular⁵. En estudios previos hemos demostrado que los diabéticos en cetoacidosis y coma hiperosmolar no cetósico exhiben una marcada depresión en su capacidad de reconocimiento dependiente de receptores Fc

(IgG) y C3, que revierte a la normalidad cuando se compensan metabólicamente^{6,7}. Sin embargo, desconocemos si la descompensación metabólica de estos pacientes que no llegue al extremo de la cetoacidosis o la hiperosmolalidad también induciría alteraciones funcionales del receptor monocitario para el C3, lo cual sería de mayor trascendencia clínica dada la frecuencia con que estos pacientes se hallan mal compensados. Más aún, cuando las alteraciones concomitantes que estos pacientes sufren en sus receptores monocitarios Fc (IgG) impedirían la colaboración entre inmunoglobulinas y el complemento para facilitar la fagocitosis y el consiguiente inicio de la respuesta inmune⁸.

Es por ello que estudiamos la capacidad de reconocimiento monocitario dependiente de receptores C3 en diabéticos tipos I y II descompensados, con el fin de detectar posibles alteraciones en la misma, así como el papel que en su producción pudieran tener los disturbios metabólicos que sufren dichos pacientes.

Correspondencia: Francisco Gómez Rodríguez.
 Rioja 13. 3.º A. 41001 Sevilla.

Aceptado para su publicación el 6 de mayo de 1986.

Material y métodos

El presente estudio se realizó en 40 pacientes con diabetes mellitus y 20 controles sanos. A todos ellos se les practicaron las siguientes determinaciones: glucemia (técnica de glucosa-oxidasa), glucosuria (Clinistix, Ames, Madrid), cetonemia y cetonuria (Ketostix, Ames, Madrid), calcio total, fósforo, sodio, potasio, cloro, BUN, creatinina, aclaramiento de creatinina, osmolalidad y HbA1c (técnica con eliminación de aldimina). Estas determinaciones se realizaron en el momento de la descompensación metabólica, repitiéndose posteriormente en ayunas cuando se obtuvo la compensación metabólica de su diabetes (glucemia basal < 140 mg/dl, glucemia posprandial < 160 mg/dl y ausencia de glucosuria en orina de 24 horas). Atendiendo al tipo de diabetes y al estado de compensación, los diabéticos se distribuyeron en los cuatro grupos siguientes: 1) veinte diabéticos tipo I descompensados (DMI-d), 17 varones y 3 mujeres con una edad media de 19,52 ± 4,67 años; 2) estos mismos 20 diabéticos una vez compensados (DMI-c); 3) veinte diabéticos tipo II descompensados (DMII-d), 16 varones y 4 mujeres, con una edad media de 55,43 ± 8,37 años, y 4) estos mismos diabéticos tipo II una vez compensados (DMII-c).

Los 20 voluntarios sanos se evaluaron repartidos en dos grupos de diez, según sus edades: 1) Diez voluntarios sanos, 7 varones y 3 mujeres con una edad media de 20,79 ± 2,36 años (VSI), y 2) los restantes 10 voluntarios sanos, 6 varones y 4 mujeres, con una edad media de 57,51 ± 5,71 años (VSI), que serían los controles para los diabéticos tipos I y II respectivamente.

En los cuatro grupos de diabéticos, así como en los controles, y simultáneamente a la extracción de sangre para las anteriores determinaciones se obtuvieron 10 ml de sangre que se defibrinó, para evaluar los receptores C3 de los MSP. Extrayéndose otros 10 ml de sangre únicamente a los pacientes con diabetes mellitus tipos I y II descompensados (DMI-d y DMII-d respectivamente), para obtener suero que se congeló a -20 °C, y que sería utilizado posteriormente

para estudiar el efecto que induce dicho suero inactivado por el calor (45 minutos a 56 °C) induce sobre los receptores para el complemento de los monocitos autólogos, obtenidos una vez que estos pacientes se hallan en estado de compensación metabólica de su diabetes mellitus.

Se prepararon monocapas confluentes de monocitos de sangre periférica (MSP) de todos los pacientes y voluntarios sanos, según técnica previamente descrita⁹. Estas monocapas contenían más de un 97 % de células mononucleares, de las que un 90 % fagocitaban partículas de látex, un 86 % se teñían con peroxidasa y esterasas inespecíficas, y más del 94 % presentaban las características morfológicas de los monocitos humanos de sangre periférica al microscopio óptico, tras teñirlas con Wright-Giemsa.

Como células diana se han usado eritrocitos (E) de una misma persona, tras marcarlos con Cr51 (dicromato potásico, Amersham, Madrid) a 37 °C, y revestirlos secuencialmente con distintas concentraciones de un anticuerpo IgM-Antil (obtenido de un paciente con enfermedad por aglutininas frías tras precipitación con sulfato amónico y cromatografía en gel), y suero humano AB previamente adsorbido en dos ocasiones contra los E, como fuente del complemento, según metodologías descritas con antelación¹⁰. La cantidad de complemento apuesto por la IgM-Antil sobre la membrana de los E se cuantificó según la técnica de la fijación y transferencia del C'1a¹¹, expresándose como sitios fijadores del C1 (SFC1) depositados por la IgM-Antil sobre la membrana de los E.

Se añadieron 10 × 10 eritrocitos sensibilizados con distinto número de SFC1 (E-C3) en 1 ml de solución de Hank (HBSS, Flow Labs.) a cada monocapa de MSP, sedimentándolas durante 5 minutos, e incubándolas posteriormente 40 minutos a 37 °C en una atmósfera con un 5 % de CO₂, lavándolas con solución de Hank 10 veces para obtener los E-C3 no reconocidos y, por último, tratando las monocapas con EDTA 0,086M durante 10 minutos, para recuperar las células adheridas a las placas de Petri (Nunc, Madrid). Los resultados se obtuvieron en función de la radiactividad emi-

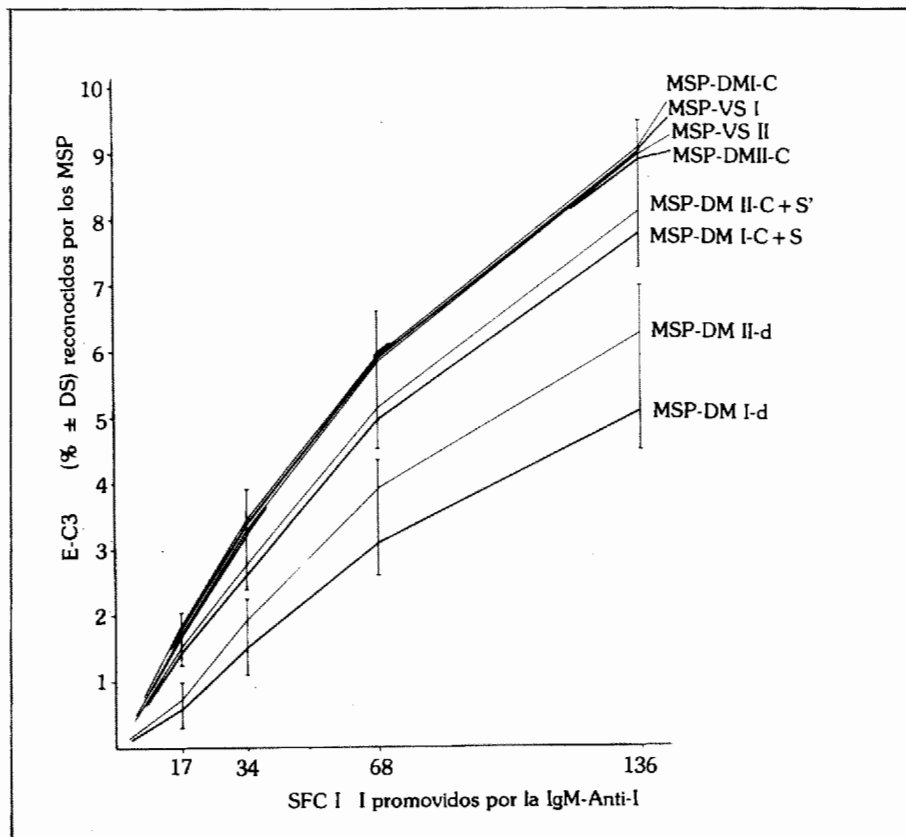


Fig. 1. Reconocimiento dependiente de receptores de membrana para el C3 de los monocitos de sangre periférica de: 1) diabéticos tipo I descompensados (MSP-DMI-d); 2) diabéticos tipo II descompensados (MSP-DMII-d); 3) diabéticos tipo I compensados (MSP-DMI-c); 4) diabéticos tipo II compensados (MSP-DMII-c); 5) voluntarios sanos jóvenes (MSP-VSI); 6) voluntarios sanos mayores (MSP-VSII); 7) diabéticos tipos I y II compensados tras incubación con suero, autólogo inactivado por el calor, obtenido en el momento de la descompensación metabólica (MSP-DMI-c+S' y MSP-DMII-c+S', respectivamente).

TABLA 1

Reconocimiento mediado por receptores C3 de los MSP de los grupos estudiados: voluntarios sanos jóvenes y mayores (MSP-VSI y MSP-VSII, respectivamente) diabéticos tipos I y II compensados (MSP-DMI-c y MSP-DMII-c, respectivamente), diabéticos tipo I y II descompensados (MSP-DMI-d y MSP-DMII-d, respectivamente) y MSP de diabéticos tipos I y II compensados incubados con el suero autólogo del momento de la descompensación (MSP-DMI-c+S y MSP-DMII-c+S, respectivamente)

Pacientes y controles	SFC1 promovidos por la IgM-anti-I			
	17	34	68	136
1) MSP-VSI	1,81 ± 0,29	3,40 ± 0,44	5,90 ± 0,36	9,02 ± 0,43
2) MSP-VSII	1,75 ± 0,31	3,32 ± 0,22	5,86 ± 0,30	8,97 ± 0,38
3) MSP-DMI-c	1,80 ± 0,28	3,42 ± 0,46	5,91 ± 0,40	9,02 ± 0,44
4) MSP-DMII-c	1,70 ± 0,31	3,24 ± 0,18	5,89 ± 0,60	8,90 ± 0,38
5) MSP-DMI-d	0,58 ± 0,32	1,53 ± 0,31	3,10 ± 0,53	5,05 ± 0,63
6) MSP-DMII-d	0,76 ± 0,33	2,00 ± 0,69	3,95 ± 0,63	6,33 ± 1,01
7) MSP-DMI-c + S	1,45 ± 0,17	2,63 ± 0,22	4,96 ± 0,43	7,78 ± 0,51
8) MSP-DMII-c+S'	1,52 ± 0,21	2,78 ± 0,37	5,15 ± 0,51	8,11 ± 0,73
(5 vs 1) p <	0,001	0,001	0,001	0,001
(5 vs 3) p <	0,001	0,001	0,001	0,001
(5 vs 7) p <	0,001	0,001	0,001	0,001
(5 vs 6) p =	n/s	n/s	n/s	n/s
(6 vs 2) p <	0,001	0,001	0,001	0,001
(6 vs 4) p <	0,001	0,001	0,001	0,001
(6 vs 8) p <	0,001	0,001	0,001	0,001
(3 vs 1) p =	n/s	n/s	n/s	n/s
(4 vs 2) p =	n/s	n/s	n/s	n/s
(7 vs 2) p =	n/s	n/s	n/s	n/s
(8 vs 2) p =	n/s	n/s	n/s	n/s
(7 vs 8) p =	n/s	n/s	n/s	n/s

tida por cada una de las fracciones de hemáties añadidos, reconocidos y no reconocidos, según la siguiente fórmula que expresa el porcentaje de E-C3 reconocido por cada monocapa: % E-C3 reconocidos por los MSP = N.º E-C3 reconocidos/N.º E-C3 añadidos a los MSP × 100.

Se incubaron las células efectoras (MSP) de los diabéticos tipos I y II compensados (DMI-c y DMII-c respectivamente) a 37 °C durante 4 horas con el suero autólogo inactivado por el calor (56 °C durante 45 minutos) obtenido en estado de descompensación metabólica (suero congelado a -20 °C procedente de la extracción hecha a los DMI-d y DMII-d). Sometiéndose más tarde los MSP de los DMI-c y DMII-c a la misma metodología descrita, con el propósito de valorar el efecto que las alteraciones metabólicas de la diabetes mellitus tipos I y II descompensadas ejercen sobre la capacidad de reconocimiento dependiente de receptores para el C3 de los MSP.

Los resultados se evaluaron estadísticamente según el test de Wilcoxon para datos no apareados. Las alteraciones del receptor C3 monocitario se correlacionaron con los distur-

bios metabólicos que presentaban los pacientes estudiados mediante los coeficientes de correlación de Spearman.

Resultados

En la figura 1 y la tabla 1 se observa como los MSP de diabéticos tipo I descompensados (MSP-DMI-d) y tipo II también descompensados (MSP-DMII-d) poseen una capacidad de reconocimiento mediado por sus receptores para el complemento (C3) significativamente inferior a los MSP de los controles sanos (MSP-VSI y MSP-VSII respectivamente), con p < 0,001 para todos y cada uno de los SFC1, revistiendo a los E que se ensayaron. Asimismo, los MSP-DMI-d presentan una capacidad de reconocimiento dependiente de receptores para el C3 significativamente inferior a la de los MSP-DMII-d (p < 0,001 para todos los SFC1 empleados). Por el contrario, los MSP de diabéticos tipos I y

TABLA 2

Valores metabólicos de los grupos estudiados: diabéticos tipo I compensados y descompensados (DMI-c y DMI-d, respectivamente), diabéticos tipo II compensados y descompensados (DMII-c y DMII-d, respectivamente) y voluntarios sanos jóvenes (VSI) y mayores (VSII)

	DMI-c	DMI-d	DMII-c	DMII-d	VSI	VSII
Glucemia (mg/dl)	126,13 ± 8,87	252,68 ± 42,36	129,21 ± 13,28	302,27 ± 74,22	90,61 ± 0,79	96,21 ± 0,62
Glucosuria (*)	0	(+)	0	(+)	0	0
Cetonemia (*)	0	0	0	0	0	0
Cetonuria (*)	0	0	0	0	0	0
Calcio (mg/dl)	8,52 ± 1,27	8,91 ± 2,07	7,76 ± 2,09	7,42 ± 1,07	8,22 ± 2,07	8,57 ± 2,71
Fósforo (mg/dl)	3,07 ± 0,98	4,01 ± 1,03	3,86 ± 0,93	3,70 ± 0,82	3,82 ± 1,02	3,81 ± 0,87
Sodio (mg/dl)	139,47 ± 5,67	138,21 ± 5,22	138,53 ± 2,67	140,39 ± 3,70	138,21 ± 2,71	143,20 ± 3,72
Potasio (mEq/l)	4,43 ± 0,59	3,95 ± 1,72	4,51 ± 1,21	4,07 ± 0,88	4,21 ± 1,27	3,81 ± 1,56
Cloro (mEq/l)	104,47 ± 2,23	101,37 ± 2,39	103,20 ± 2,24	102,71 ± 3,70	101,71 ± 3,38	104,72 ± 3,72
BUN (mg/dl)	17,87 ± 3,09	20,32 ± 8,71	31,47 ± 11,82	37,21 ± 7,86	12,10 ± 3,72	18,37 ± 2,72
Cr (mg/dl)	0,88 ± 0,81	0,92 ± 0,97	2,02 ± 0,54	2,47 ± 1,22	0,93 ± 0,38	1,09 ± 0,77
CCr (ml/dl)	117,13 ± 18,23	87,62 ± 22,19	59,60 ± 21,82	60,70 ± 18,76	121,21 ± 31,62	77,62 ± 11,24
Osm (mOsm/kg)	289,13 ± 4,80	291,73 ± 15,62	287,93 ± 4,83	293,60 ± 19,92	290,31 ± 8,93	296,07 ± 9,92
Hb1Ac	8,82 ± 2,07	9,38 ± 1,76	9,78 ± 2,46	9,71 ± 1,32	7,02 ± 1,41	7,21 ± 1,02

(*) Determinaciones cualitativas.

TABLA 3
Coefficientes de correlación con sus respectivas significaciones estadísticas entre las cifras de glucemia en la diabetes mellitus tipos I y II descompensadas (DMI-d y DMII-d) respectivamente, y el déficit funcional del receptor para el C3 de los monocitos humanos de sangre periférica a los distintos sitios fijadores del C1 (SFC1), promovidos por la IgM-anti-I, que se han ensayado

SFC1	DMI-d	DMII-d
17 { r = p <	-0,707 0,001	-0,475 0,01
34 { r = p <	-0,411 0,05	-0,584 0,001
68 { r = p <	-0,554 0,001	-0,516 0,01
136 { r = p <	-0,495 0,01	-0,757 0,001

II compensados (MSP-DMI-c y MSP-DMII-c respectivamente), mostraron una capacidad de reconocimiento mediado por receptores para el C3 que no se diferencia de la que presentan los MSP de voluntarios sanos.

Los valores metabólicos de los distintos grupos evaluados se relaciona en la tabla 2.

Las alteraciones en el reconocimiento monocitario dependiente de receptores para el C3 de los pacientes diabéticos tipos I y II descompensados (figs. 2 y 3) se correlacionaron significativamente de manera inversa con las cifras de glucemia que presentaban los pacien-

tes en el momento de la realización del citado test *in vitro* y, para todos y cada unos de los SFC1, revisitando a los hematíes (E) usados como células diana (tabla 3).

De otra parte, los MSP de diabéticos tipos I y II compensados sufren una depresión en su capacidad de reconocimiento mediado por receptores para el C3 cuando se les incubaba con el suero autólogo inactivado por el calor, procedente del momento de la descompensación, en que realizamos la primera parte del estudio descrito, la cual careció de significación estadística cuando se comparó con la citada función monocitaria de los diabéticos tipos I y II compensados o los voluntarios sanos (fig. 1 y tabla 1).

Discusión

Nuestros resultados indican que la activación del complemento por un anticuerpo IgM-Anti-I puede facilitar la capacidad de reconocimiento de hematíes humanos por parte de los MSP de pacientes con diabetes mellitus tipos I y II mal compensadas. Parece ser que es la vía clásica del complemento la que ejerció la facilitación del reconocimiento de los E-C3 por los MSP de los pacientes estudiados, ya que en ausencia de dicho anticuerpo no existe reconocimiento alguno de los E por los MSP. Se ha demostrado que los MSP cultivados *in vitro* durante más de 72 horas sintetizan componentes de la vía alterna del complemento, si bien nos parece improbable que ello sucediera en el modelo experimental empleado, ya que la incubación de los MSP realizada fue de 40 minutos, tiempo insuficiente como para permitirles sintetizar dichas proteínas¹².

Los MSP de diabéticos tipos I y II descompensados tienen una disminución en su capacidad de reconocimiento dependiente de receptores C3 en comparación

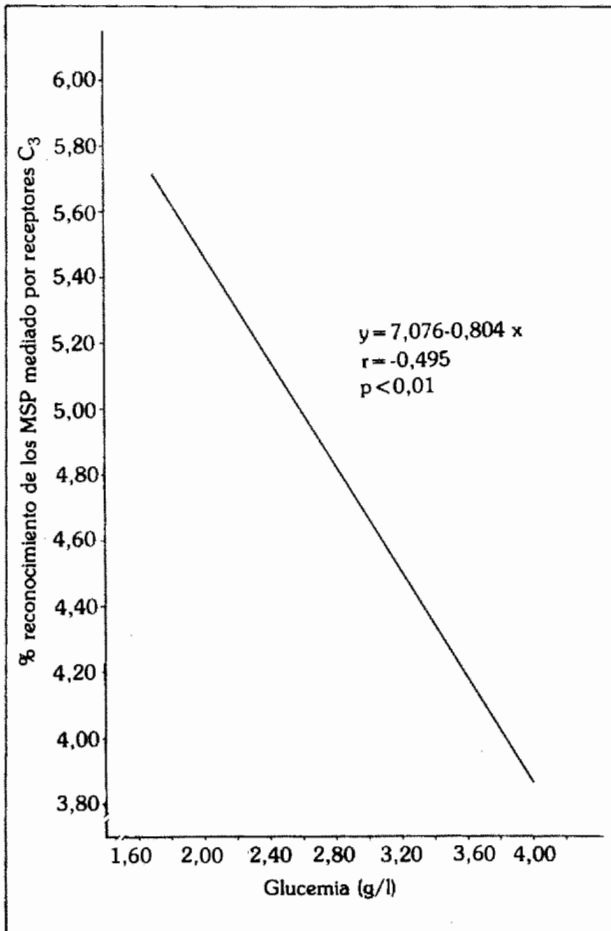


Fig. 2. Diabetes mellitus tipo I descompensada.

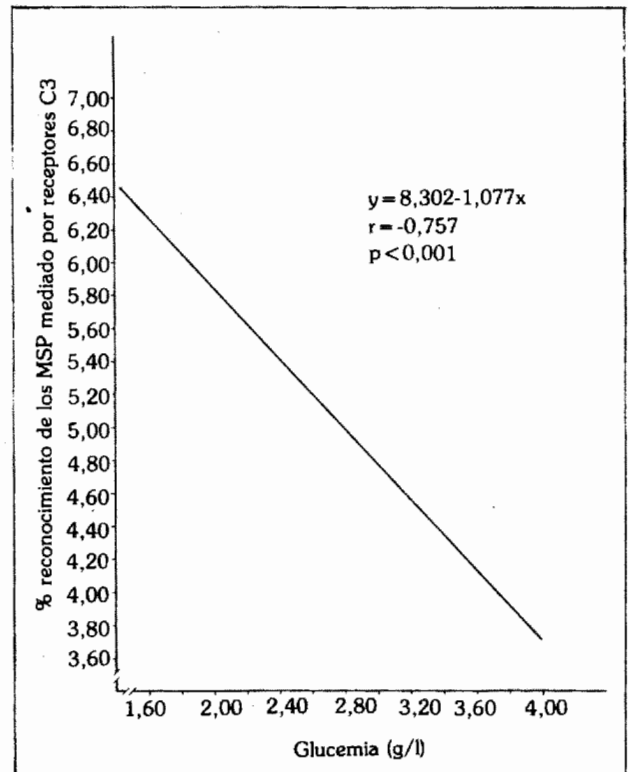


Fig. 3. Diabetes mellitus tipo II descompensada.

a los MSP de voluntarios sanos, que revierte a la normalidad cuando estos pacientes se encuentran en estado de compensación metabólica. Ello unido al hallazgo de que la incubación con suero autólogo inactivado por el calor, y obtenido en el preciso instante de la descompensación metabólica, ocasiona una depresión del grado de reconocimiento monocitario mediado por receptores para el C3; a pesar de carecer de significación estadística en comparación al de los MSP de diabéticos tipos I y II compensados y voluntarios sanos, sugiere un papel importante de los factores metabólicos extra-monocitarios como responsables de tal alteración. Al igual que sucede con la citada función monocitaria en la cetoacidosis diabética y el coma hiperosmolar no cetósico¹³. Si además consideramos que los receptores Fc(IgG) monocitarios también sufren disminución en su capacidad de reconocimiento, tanto en la diabetes mellitus tipos I y II descompensadas, como en la cetoacidosis y el coma hiperosmolar no cetósico¹⁴, tendremos una razón más para efectuar un estrecho control metabólico de estos pacientes, no sólo con el fin de evitar las complicaciones orgánicas de la diabetes mellitus, sino también para mantener una adecuada capacidad funcional de los receptores C3 monocitarios, dado el importante papel de los mismos en la defensa del huésped¹⁵ y la regulación de la respuesta inmune¹⁶.

Los resultados obtenidos en función del procedimiento experimental empleado no nos permiten diferenciar las alteraciones cualitativas (funcionales) del receptor C3 monocitario de las cuantitativas (número de receptores por células). Sin embargo, la rapidez con que desaparecen las alteraciones de la capacidad de reconocimiento monocitario conforme se compensa metabólicamente la diabetes y la conocida capacidad monocitaria para aumentar con celeridad el número de receptores de membrana para el C3¹⁶ en respuesta a situaciones inmunitarias que lo demanden, hacen muy probable que las deficiencias descritas de la capacidad de reconocimiento monocitario mediado por receptores C3 en la diabetes mellitus se deban a rápidos cambios numéricos en los mismos. Ya que sería, por lo demás, bastante improbable que una alteración cualitativa del receptor C3 revirtiera por completo y en tan escaso tiempo, ya que la compensación de la diabetes se consiguió en muchos casos antes de 72 horas. La reversibilidad completa de las alteraciones monocitarias a que nos referimos concuerdan con los defectos descritos anteriormente en los polimorfonucleares¹⁷⁻¹⁹, linfocitos²⁰⁻²² y macrófagos^{13, 23, 24} en los que se implican directamente a la hiperglucemia y demás alteraciones del metabolismo hidrocarbonado como responsables fundamentales de las mismas.

Debido a la utilización de suero como fuente de complemento, no podemos especificar qué receptores dentro del complejo C3 (CR1, CR2 y CR3) son los afectados por las descompensación diabética; siendo por ello deseable el realizar experimentos paralelos pero utilizando componentes purificados del complemento de forma secuencial, y profundizar así dentro de la amplia estructuración del receptor monocitario para el C3.

En conclusión, el presente estudio demuestra una disminución de la capacidad de reconocimiento dependiente de receptores monocitarios para el C3 en pacientes con diabetes mellitus tipos I y II descompensadas, que parecen obedecer a factores metabólicos extra-monocitarios, ya que desaparecen cuando estos pacientes se hallan en estado de compensación metabólica.

BIBLIOGRAFIA

1. Jones RL, Peterson CM. Hematologic in diabetes mellitus. *Am J Med* 1981; 70:339-352.
2. Dubos R. The evolution of microbial diseases. En: Dubos R, Hirsch JG. (ed.). *Microbial diseases*. J.B. Lippincott. Philadelphia, 1985; 33-51.
3. Nathan CF, Murray HM, Cohn ZA. The macrophage as an effector cell. *New Engl J Med* 1980; 303:622-631.
4. Reynolds HB, Atkinson JP, Newball NH, Frank MM. Receptors for immunoglobulin and complement of human alveolar macrophages. *J Immunol* 1975; 115:1.813-1.819.
5. Egwang TG, Befus AD. The role complement in the induction and regulation of immune responses. *Immunology* 1984; 51:207-224.
6. Zamora Madaria E, Gómez Rodríguez F, Rodríguez Félix L, Martín Santana A. Monocyte Fc(IgG) receptor alteration in diabetic ketoacidosis and non-ketotic hyperosmolar coma. *Eur J Clin Invest* 1984; 14 (Part II):131.
7. Gómez Rodríguez F, Ruiz Alcantarilla P, Rodríguez Félix L, Martín Santana A, Zamora Madaria E. Monocyte C3b receptor alteration in diabetic ketoacidosis and non-ketotic hyperosmolar coma. *Eur J Clin Invest* 1985; 15(Part II):48.
8. Fearon DT. The human C3b receptor. *Springer Semin Immunopathol* 1983; 6:159-172.
9. Gómez F, Kelley M, Rossman MD, Dauber J, Schreider AD. Macrophage recognition of complement coated lymphoblastoid cells. *J Reticuloendothel Soc* 1982; 31:241-249.
10. Gómez Rodríguez F, Schreiber AD, Ruiz Alcantarilla P et al. Déficit de reconocimiento anti-tumoral mediado por el complemento de los macrófagos alveolares pulmonares en el cáncer broncopulmonar. *An Med Intern* 1984; 1:465-473.
11. Borsos T, Colten HR, Spalter JS, Rogentine H, Rapp HJ. The c'1a fixation and transfer test: examples of its applicability to the detection and enumeration of antigens and antibodies at cell surfaces. *J Immunol* 1968; 101:392-398.
12. Whaley L. Biosynthesis of the components of the properdin system by cultured human lymphoblastoid cells and B-lymphocytes. *J Exp Med* 1976; 143:321-332.
13. Gómez Rodríguez F, Ruiz Alcantarilla P, Rodríguez Félix L, Martín Santana A, Zamora Madaria E. Defecto de reconocimiento monocitario mediado por el complemento en el coma hiperosmolar no cetósico y la cetoacidosis metabólica. *Rev Clin Esp* 1985; 176:164-168.
14. Gómez Rodríguez F, Ruiz Alcantarilla P, Rodríguez Félix L, Martín Santana A, Zamora Madaria E. Alteración del receptor Fc(IgC) de los monocitos en la cetoacidosis diabética y el coma hiperosmolar no cetósico. *Med Clin (Barc)* 1985; 84:8-11.
15. Joiner KA, Brown EJ, Frank MM. Complement and bacteria: Chemistry and biology in host defense. *Ann Rev Immunol* 1984; 2:461-492.
16. Weigle WO, Goodman MG, Morgan EL, Hugli TE. Regulation of the immune response by components of the complement cascade and their activated fragments. *Springer Semin Immunopathol* 1983; 6:173-194.
17. Bagdade JD, Stewart M, Walters E. Impaired granulocyte adherence: A reversible defect in host defense in patients with poorly controlled diabetes. *Diabetes*, 1978; 27:677-682.
18. Viollier AF, Senn H. Disorders in leukocyte function in diabetes mellitus. *Schweiz. Med Wochenschr* 1978; 108:1.585-1.599.
19. Feigin RD, Shearer WT. Opportunistic infection in children. *J Pediatr* 1975; 87: 677-683.
20. Speert DP, Silva J Jr. Abnormalities of *in vitro* lymphocyte response to mitogens in diabetic children during acute ketoacidosis. *Am J Dis Child* 1978; 132:1.014-1.019.
21. Selam JL, Clot J, Andary M. Circulating lymphocyte subpopulations in juvenile insulin-dependent diabetes. Correction of abnormalities by adequate blood glucose control. *Diabetologia*, 1979; 16:35-43.
22. Cattaneo R, Sniebene V, Pozza G. Peripheral T lymphocytes in juvenile onset diabetes mellitus (JOD) and in maturity onset diabetics (MOD). *Diabetes* 1976; 25:223-229.
23. Bagdade JD. Phagocytic and microbicidal function in diabetes mellitus. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1976; 205(Supl):27-46.
24. Eliashiv A, Ohmide F, Norton L. Depression of cell-mediated immunity in diabetes. *Arch Surg* 1978; 113:1.180-1.187.