

**ELS ESTATS DE NO RESPOSTA IMMUNOLÒGICA  
I LLUR RELACIÓ AMB LA FORMACIÓ  
D'HETERO I AUTOANTICOSSOS**

Comunicació presentada el dia 2 de juny de 1964 pel doctor

**J. GRAS**

Cap de la Secció d'Immunoquímica del Departament d'Investigació  
de l'Hospital d'Infecciosos de Barcelona

En aquests darrers anys han adquirit un accentuat interès, tant en la immunologia teòrica com en la pràctica, els fenòmens de no resposta immunològica. Podem subdividir-los en tres tipus: *a*) el fenomen de la tolerància immunològica; *b*) el de la paràlisi immunològica i, *c*) el de la inhibició d'anticossos per hiperimmunització. Els exposarem breument, per tractar després de llurs possibles explicacions i de la relació que tenen amb les teories del mecanisme de formació d'anticossos en general i, d'una manera particular, del problema de la formació d'autoanticossos, problema que presenta una extraordinària importància teòrica i pràctica. En aquest darrer aspecte, perquè pot explicar l'etiopatogènia de molts processos en els quals aquests apareixen i, també, pels camins que pot obrir en la resolució de les sensibilitzacions feto-maternes i en la possibilitació d'homoempelts.

#### EL FENOMEN DE LA TOLERÀNCIA IMMUNOLÒGICA

El seu estudi s'inicia amb l'observació d'OWEN, el 1945, el qual, investigant els grups sanguinis en el bestiar boví, comprovà, en una parella de bessons que havien tingut diferent pare, que en cada un d'ells es trobaven en la sang eritròcits corresponents al propi genotip i eritròcits que corresponien al genotip del bessó; és a dir: presentaven eritròcits d'isogrup diferent, sense desencadenar cap fenomen immunològic de reacció en contra d'ells mateixos. Es tractava, per tant, de la implantació de teixit hematopoiètic no autòleg, implantació acompanyada d'una perfecta tolerància immunològica. El 1953, DUNSFORD i col·laboradors registraren una observació semblant en l'espècie humana, que després ha estat comprovada en d'altres casos, alguns d'ells persistint per un temps breu. El mateix any 1953, BILLINGHAM, BRENT i MEDAWAR demostraren que la injecció de sang total, teixit hematopoiètic, cèl·lules renals, etc., de ratolins d'una soca a embrions d'una altra, conduïa aquests darrers a acceptar en llur vida adulta empelts procedents d'aquella soca, mentre que si aquests empelts es fan d'animal adult a animal adult, no prenen i són eliminats. Donaren a aquest fet el nom de tolerància immunològica. Aquestes observa-

cions foren confirmades per HASEK en la gallina, i per KOPROWSKI en el ratolí, mitjançant la implantació de tumors. Els resultats obtinguts amb cèl·lules aïllades no són tan demostratius i, especialment, quan es tracta de cèl·lules no vives, com els eritròcits. El 1938, TRAUB observà que els ratolins infectats *in utero* amb el virus de la coriomeningitis limfocitària no produeixen pràcticament anticossos, mentre que els infectats adults donen positiva, almenys, la desviació de complement. Aquesta observació fou una de les bases que permeteren a BURNETT i FENNER de postular anticipadament l'existència de la tolerància immunològica. L'obtenció d'un estat similar amb gèrmens vius presenta certes dificultats i, amb gèrmens morts, no s'havia aconseguit en treballs inicials, però el 1960, FRIEDMAN i GABY aconsegueixen l'estat de tolerància immunològica en la gallina enfront de la *Shigella*.

Amb antigens no particulats aquest fenomen ha estat estudiat especialment enfront de proteïnes. HANAN i OYAMA publicaren, el 1954, llurs observacions en el sentit que la injecció a conills, en estat embrionari o nou nats, d'albúmina bovina, tres vegades la setmana durant tres mesos i mig, conduïa a fer que aquests animals, una vegada adults, fossin incapaços de formar anticossos enfront d'aquesta seroalbúmina. El 1955, DIXON i MAURER i CINADER i DUBERT publicaren observacions similars, i el 1956, SMITH, BRIDGES i THOMPSON. El 1957 publicarem un treball sobre aquest fenomen, estudiat en el conill enfront del sèrum de cavall, i comprovàrem que la diferència global d'animals no formadors d'anticossos entre el lot dels que tingueren o no tingueren contacte prenatal amb l'antigen era poc significativa. Per això assenyalàvem que, en l'aparició d'aquest fenomen, era probable que hi intervinguessin factors de dosi o persistència de l'estímul antigènic, factor clarament demostrat en el treball de SMITH i BRIDGES del 1958, i que després ha estat reiteradament comprovat, assenyalant que el grau i la persistència de la tolerància immunològica estan en relació amb la quantitat i la persistència de l'estímul antigènic, més que no pas amb el fet de la perinatalitat (STEVENS, PIETRYK i CIMINERA, TERRES i HUGUES, HIRATA, GARVEY i CAMPBELL).

#### EL FENOMEN DE LA PARÀLISI IMMUNOLÒGICA

Aquest fenomen fou observat per primera vegada per FELTON, el 1926, en comprovar que la injecció d'una dosi considerable de polisacàrid pneumocòccic a un ratolí blanc donava lloc que l'animal fos incapaç de respondre, sis setmanes després, a una dosi de vacuna pneumocòccica amb la formació d'anticossos. Li donà el nom de paràlisi immunològica. Més recentment, el mateix FELTON i d'altres han reestudiat aquest fet i han de-

mostrat que cal una quantitat diferent d'antigen segons que es tracti del polisacàrid del tipus I o dels tipus II i III. És específica per a tots tres tipus i persisteix almenys durant quinze mesos amb els II i III, i divuit amb l'I. Amb la injecció diària d'una dosi més petita, però que en deu dies arribi a la dosi paralitzant, s'obté el mateix resultat. Aquest fenomen fou confirmat per STARK, i observat també enfront de proteïnes per DIXON i MAURER en el treball abans esmentat. Inyectant, a conills adults, 10 ml/k d'una sol. al 5% de seroalbúmina bovina, sis vegades la setmana durant 50 dies, comproven que aquests animals, durant un període de temps relativament breu, resten incapacitats per a formar anticossos enfront d'aquesta seroalbúmina.

#### EL FENOMEN DE LA INHIBICIÓ D'ANTICOSSOS PER HIPERIMUNITZACIÓ

Considerant que les diferències entre antígens homòlegs i heteròlegs, especialment pel que es refereix als antígens hemàtics, quant a llur actuació com a estimulants antigènics, són fonamentalment dos: a) que els primers es troben en l'organisme des de la vida fetal i, b) que estimulen en forma constant el sistema de cèl·lules immunocompetents, pensarem en la possibilitat que si hom administrava a un animal *adult* una dosi d'antigen no excessiva sinó *òptima* per a la formació d'anticossos, i a un ritme també òptim per al mateix animal, durant un temps prou prolongat, arribariem a produir una inhibició de la formació d'anticossos. Aquesta possibilitat, la demostrarem, el 1956, en el conill enfront de globulina gamma humana i anomenarem el fenomen «inhibició d'anticossos circulants per hiperimmunització». En un treball posterior, aparegut el 1960, fou confirmat, igualment en el conill, enfront d'eritròcits humans, *Brucella abortus 19* i sèrum de cavall. Amb aquests diferents antígens comprovarem que es produeix inicialment una elevació considerable del títol d'anticossos circulants, que disminueix de manera bastant ràpida, malgrat la persistència de l'estímul antigènic en dosis òptimes en quantitat i en ritme d'administració. En un treball aparegut el 1963 hem estudiat aquest fenomen de faísó més completa mitjançant la *Brucella*, també en el conill. En aquestes condicions es presenten, en persistir en l'estimulació antigènica òptima, cinc períodes o fases en la corba d'anticossos circulants (figura 1): un primer període, en el qual es presenta un augment ràpid i intens del títol d'anticossos, seguit d'una caiguda brusca i ràpida d'aquest; un segon període, estacionari; un tercer, en el qual apareix un nou augment de títol, menys intens però més prolongat que el primer; un quart període, en el qual el títol va davallant lentament; un cinquè i darrer, en el qual el títol es manté a un nivell baixíssim o nul. Aquest correspon



al fenomen de la inhibició d'anticossos per hiperimmunització. La fase de caiguda que es presenta en el primer període, després del títol màxim obtingut, és independent que se segueixi amb la mateixa estimulació anti-

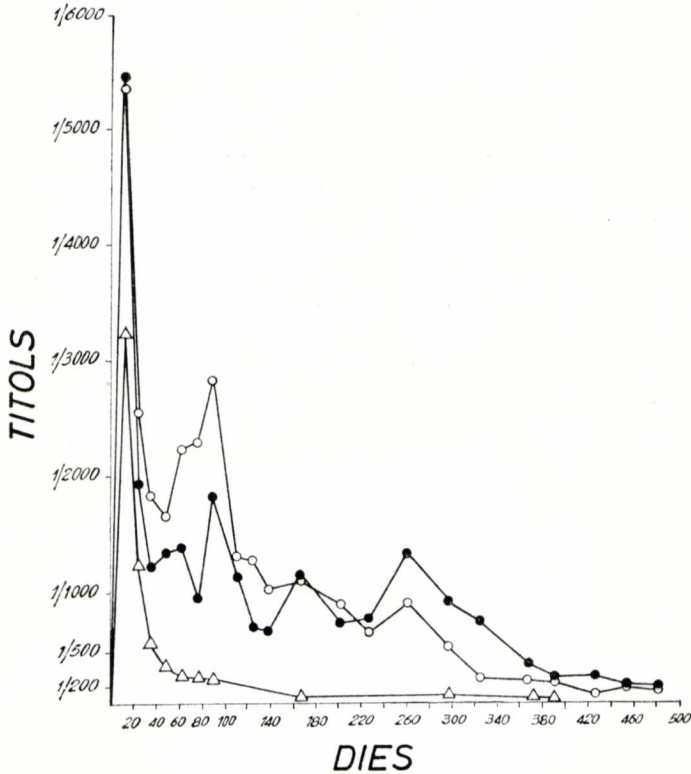


FIG. 1

Corba mitjana d'anticossos aglutinants en el sèrum, en conills hiperimmunitzats per injeccions trisetmanals d'una susp. de *Br. Abortus*.  $\triangle$ — $\triangle$  = Lot B<sub>1</sub>, a partir del dia 13 no s'administra més antigen.  $\circ$ — $\circ$  = Lot B<sub>2</sub>, s'injecta, durant tot el curs de l'experiment, l'antigen trisetmanalment.  $\bullet$ — $\bullet$  = Lot B<sub>3</sub>, a partir del dia 13 s'injecta, tres vegades la setmana, durant tot l'experiment, una dosi triple a la del lot anterior.

(GRAS i WOESSNER, 1963.)

gènica, s'augmenti aquesta o bé, al contrari, que es deixi per complet l'estimulació antigènica. El temps de vida meitat d'aquesta globulina anticòs és molt igual en tots tres casos i lleugerament superior al valor normal en el conill. Per això la interpretarem com a deguda a la catabolització d'aquesta globulina anticòs sense que hi hagués, o a penes, nova aportació d'anticòs a la circulació, és a dir, que es tractaria d'una fase transitòria d'esgotament de la capacitat de formació d'anticossos. Per confirmar aques-

ta interpretació i pel gran interès que podia tenir, com després veurem, en la discussió de la teoria de la selecció clonal per a la formació d'anticossos, estudiarem en un altre treball, a punt de sortir, què passava amb la resposta a un segon antigen administrat precisament en aquest moment de màxima producció d'anticossos enfront d'un primer. Confirmant la nostra interpretació, aquesta resposta és significativament disminuïda ( $P < 0.01$ ), com podem veure a la fig. 2.

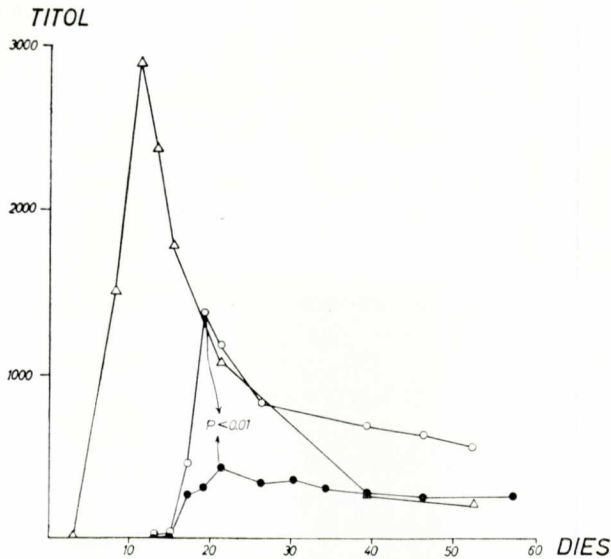


FIG. 2

Injecció de 0,3 ml de susp. de *S. Typhi* o un lot de 14 conills nous (○—○) i a un altre lot de 15 conills (●—●) hiperimmunitzats enfront de la *Br. Abortus*, en el moment de màxima resposta a aquesta (△—△). Corbes mitjanes d'anticossos aglutinants. La resposta a la *S. Tiphy* és clarament inhibida ( $P < 0.01$ ). (GRAS, 1964.)

Aquest fenomen de la inhibició d'anticossos per hiperimmunització ha estat també descrit per ZDRODOWSKI poc temps abans que nosaltres, per STERZL el mateix any 1956, i confirmat després per ALIVISATOS, MARKETOS i VAVA el 1961. HARD l'ha descrit també, el 1959, en el conill enfront de la seroalbúmina bovina.

#### ESPECIFICITAT DELS ESTATS DE NO RESPOSTA IMMUNOLÒGICA

Pel que es refereix a la tolerància immunològica obtinguda amb teixits, els estudis de BILLINGHAM, BRENT i MEDAWAR indicaren que és específica

d'individu i d'espècie, observació confirmada posteriorment (OWEN). Més recentment, RERASAKI, CANNON i LONGMIRE (1958), estudiant l'especificitat de la tolerància induïda en gallines, enfront d'homoempelts de pell, assenyalen que potser no seria estrictament específica d'individu.

L'especificitat de la tolerància induïda per proteïnes ha estat estudiada per CINADER i DUBERT i per DIXON i MAURER, que han arribat a la conclusió que és específica en el mateix grau en què ho són les respostes immunològiques en anticossos. En el cas de la paràlisi immunològica obtinguda amb els polisacàrids pneumocòccics, ja hem vist que es comportava específicament.

Pel que es refereix a la inhibició per hiperimmunització hem pogut comprovar que els conills inhibits enfront de la *Brucella* responen normalment a l'estimulació amb la *S. Typhi*, o sigui que també és específica. Per tant, cal concloure que tots aquests fenòmens de no resposta immunològica es comporten amb el mateix grau d'especificitat que els altres fenòmens immunològics, deixant a part, naturalment, els estats de no resposta immunològica aconseguits per via extraimmunològica, com és ara per irradiació massiva o per citostàtics.

#### PERSISTÈNCIA D'AQUESTS ESTATS DE NO RESPOSTA IMMUNOLÒGICA

La tolerància immunològica aconseguida per la implantació de teixit hematopoietic, que condueix a la instauració de les quimeres hematològiques, pot arribar a ésser definitiva, com en els casos descrits per OWEN i per DUNSFORD i col·laboradors; en d'altres casos el fenomen és transitori, com el descrit per TURPIN, SALMON i CRUWELLER, que durà sis mesos. En els casos en què s'obté per la injecció de sang total, prèviament irradiada per destruir els leucòcits, només es manté mentre es van mantenint les injeccions d'aquesta (MITCHINSON). En el cas d'un antigen proteic, la durada de la tolerància depèn clarament de la dosi d'antigen administrada o de la durada de l'estimulació (SMITH i BRIDGES, DIXON i MAURER). El fenomen de la paràlisi immunològica, és a dir, l'estat de no resposta immunològica obtingut en animal adult per una dosi massiva única o poc repetida d'antigen, és també transitori. La inhibició obtinguda per hiperimmunització també desapareix quan hom deixa de persistir en l'estimulació antigènica; el lot de conills hiperimmunitzats amb la *Brucella* foren estudiats en relació amb la seva resposta a una dosi de la suspensió brucellar un any després d'haver deixat la hiperimmunització, comprovant que la resposta era novament normal. Per tant, resulta evident que els estats de no resposta immunològica no són definitius, sinó que llur durada està en estricta relació amb la dosi d'antigen administrada o amb la persistència

de l'estimulació antigènica. En l'únic cas en què sembla que poden arribar a persistir indefinidament és en el cas de teixits, quan la implantació del teixit homòleg en l'hoste es fa definitiu, punt d'un especialíssim interès en el problema dels homoempelts, i en el qual cas cal pensar que l'estimulació antigènica es fa de faisó persistent.

DEPENDÈNCIA D'AQUESTS FENÒMENS D'UN MECANISME INTRA  
O EXTRACEL·LULAR

Acabem d'assenyalar que els estats de no resposta immunològica no són definitius, si no persisteix l'estimulació antigènica i que depenen de la intensitat i de la durada d'aquests. Per tant, una primera explicació que apareix com a plausible és que atès l'excés d'antigen, s'uneixi amb l'anticòs tan bon punt aquest aparegui extracel·lularment i el complex antigen anticòs format sigui ràpidament eliminat de la circulació; això no obstant, aquesta possibilitat ha estat exclosa. Si aquesta explicació fos vàlida, la desaparició de l'antigen hauria de seguir la corba accelerada, típica dels estats amb bona resposta immunològica i, en canvi, SMITH i BRIDGES han comprovat que en els animals tolerants a la seroalbúmina bovina, la desaparició d'aquesta, injectada intravenosament, segueix una corba lineal paral·lela a l'obtinguda en els animals normals. WOLFE, TEMPELIS, MUELLER i REIBEIL tampoc no han trobat cap diferència en la velocitat d'eliminació de l'antigen entre els animals control i els animals en estat de tolerància immunològica.

El fet que la no resposta immunològica és deguda a un mecanisme intracel·lular i no extracel·lular es comprova clarament amb les experiències de transferència de cèl·lules. Els mateixos SMITH i BRIDGES demostren que la transferència de cèl·lules limfoides d'un animal normal, prèviament immunitzat amb seroalbúmina bovina, a un animal en estat de tolerància immunològica enfront d'aquesta dona lloc a una corba d'aparició d'anticossos igual a la que s'obté si hom fa la transferència a un animal normal. Això vol dir que no existeix cap factor humoral que inhibeixi la producció d'anticossos i, a més, que l'antigen retingut en els animals tolerants es troba en una situació tal que no pot combinar-se amb l'anticòs produït per aquestes cèl·lules transferides. Resultats similars han estat obtinguts per WEIGLE i DIXON. La tolerància als homoempelts també desapareix, ràpidament i permanentment, transferint cèl·lules limfoides isòlogues d'animals prèviament sensibilitzats o fins i tot normals, als animals tolerants (MEDAWAR). Contràriament, les cèl·lules limfoides d'un animal tolerant, injectades a un animal normal, no donen lloc a la formació d'anticossos.



SERCAZ i COONS han investigat, per tècniques immunofluorescents, la presència o no d'anticossos intracel·lulars en la melsa d'animals amb paràlisi immunològica enfront del polisacàrid tipus II i la seroalbúmina bovina, però no han aconseguit de demostrar llur presència en els animals en estat de paràlisi immunològica; això no obstant, és possible de pensar que si aquests anticossos existeixen intracel·lularment però es troben formant complexos amb l'antigen, podrien no ésser demostrables per aquestes tècniques.

No resta cap dubte raonable, per tant, que el mecanisme dels estats de no resposta immunològica és intracel·lular i no extracel·lular. Abans de tractar de les possibles explicacions d'aquest mecanisme cal fer una breu exposició de les teories a través de les quals hom pot explicar-se la formació d'anticossos.

#### TEORIES SOBRE LA FORMACIÓ DELS ANTICOSSOS

Les teories sobre els mecanismes de la formació d'anticossos poden agrupar-se, en relació amb el paper que l'antigen exercia en la posada en marxa d'aquesta formació, en dos tipus: *a*) les que creuen que l'antigen modifica, en qualsevol de les cèl·lules capaces de formar anticossos, la formació de globulina gamma, donant així lloc a l'aparició de globulines d'aquest sistema, amb una o diverses parts de llur estructura estereoquímicament complementàries a les dels grups determinants de l'antigen, i que per això tenen capacitat de combinar-se específicament amb l'antigen que ha induït llur formació; són les teories «instructives» o «inductives»; i, per un altre costat, les *b*), que consideren que el que fa l'antigen és seleccionar i estimular, dins el conjunt de cèl·lules capaces de formar anticossos, aquella que és ja capaç genèticament de sintetitzar una globulina amb aquestes característiques de complementarietat enfront de l'antigen (teoria selectiva a nivell cel·lular), o bé que l'antigen estimuli o deprimeixi i en aquesta forma seleccioni, dins qualsevol cèl·lula immunocompetent, i dins totes les possibilitats que aquestes tenen genèticament de sintetitzar diferents globulines, aquell sistema o via que condueixi a la síntesi de la que posseeix les requerides característiques de complementarietat enfront de l'antigen (teoria selectiva a nivell intracel·lular).

Teories instructives: BREINL i HAUROWITZ suggeriren, el 1930, que la molècula de l'antigen interferiria en el procés de la síntesi de les globulines anticòs, talment que se'n formaria una l'estructura de la qual estaria complementàriament ajustada a la del grup o grups determinants de l'antigen. Gairebé al mateix temps, MUDD i ALEXANDER suggeriren hipòtesis semblants. BREINL i HAUROWITZ atribuïren aquesta complementarietat a

canvis en la natura i la seqüència dels aminoàcids constituents de la globulina anticòs.

PAULING, el 1940, suposà que aquesta complementaritat de les molècules de l'anticòs era deguda a variacions en la forma de plegar-se les cadenes pèptiques, especialment en llurs extrems, i no a variacions en la seqüència dels aminoàcids. En aquestes hipòtesis l'antigen exercia el paper d'una estructura rígida que serviria com de motlle per a la formació de nombroses «empremtes negatives» en les globulines en curs de síntesi. Això implica, evidentment, que molècules de l'antigen o fragment d'aquestes amb els grups determinants, persisteixen mentre dura la capacitat de formació dels anticossos. Atesa la llarga persistència, en alguns casos, d'aquesta capacitat de formació d'anticossos, i la intensa proliferació cel·lular que es produeix després de l'estimulació antigènica, que requeriria la transferència de l'antigen de cèl·lula a cèl·lula, aquest punt és considerat per molts immunòlegs com una dificultat greu per a acceptar aquest tipus de teories. Un gran nombre accepten que, realment, la capacitat de formació d'anticossos persisteix després de la desaparició de l'antigen. Això no obstant, aquest punt no està definitivament establert, i el mateix HAUROWITZ ha aportat dades recents a favor de la llarga persistència d'un gran nombre d'antígens; d'altra banda, els processos en què la capacitat de formació d'anticossos perdura per més temps són de natura vírica, i en aquests casos la persistència inaparent del virus sembla que pot arribar a durar anys.

L'altra dificultat o objecció que es presenta enfront de les teories inductives és que l'estructura d'una molècula proteica és determinada, quant a la seqüència d'aminoàcids (especificitat primària), per factors genètics, i com que, d'altra banda, aquesta seqüència determina en gran mesura els plegaments i interunions entre la cadena o cadenes polipeptídiques (especificitat secundària i terciària), és difícil d'acceptar que la introducció d'un antigen pugui modificar un mecanisme genètic. Això no obstant, no sabem encara si la diversitat d'especificitat d'anticòs implica o no canvis en la seqüència d'aminoàcids, ja que les dades que tenim sobre això són escasses i ara per ara no demostratives de cap diferència de seqüència. Per altra part, sabem que, bé que l'especificitat primària o secundària sigui determinada en una gran part per la seqüència d'aminoàcids, pot, això no obstant, modificar-se per factors no genètics. És d'esperar que els nous coneixements que es van adquirint sobre l'estructura de les subunitats de les diferents globulines que constitueixen el grup de les globulines gamma ens donaran llum per a escatir aquest punt de faiso definitiva.

Teories selectives: la primera d'elles fou, en realitat, desenvolupada per EHRLICH el 1906, en suposar que els anticossos es trobaven preformats en les cèl·lules en forma de «cadena laterals», amb la capacitat d'unir-se

al corresponent antígen. La injecció d'aquest donaria lloc que, en combinar-se amb el corresponent anticòs, estimulés en forma incrementada la regeneració d'aquest. En descobrir LANDSTEINER la formació d'anticossos enfront de grups químics naturals o de síntesi, units artificialment a proteïnes, semblà molt difícil d'acceptar que l'organisme tingués anticossos preformats enfront d'aquests productes de laboratori, i la hipòtesi fou totalment abandonada.

El 1955, JERNE suggerí que, en el conjunt de globulines gamma existents normalment, n'hi hauria sempre una que podria adaptar-se a un antígen determinat, talment que s'uniria amb aquest penetrant en les cèl·lules immunocompetents en les quals estimularia la formació incrementada d'aquesta globulina. BURNET prengué aquesta idea de JERNE, però suggerint que la selecció no es faria d'aquesta manera, sinó que el que l'antígen selecciona i estimula en la seva proliferació és una cèl·lula immunocompetent capaç de sintetitzar per la seva dotació genètica una globulina gamma amb les característiques d'anticòs enfront de l'antígen; aquesta cèl·lula, en la seva proliferació, és l'origen d'un «clonus» de cèl·lules formadores del corresponent anticòs. És la teoria de la selecció clonal en la formació d'anticossos.

BURNET suposa que, en una població de cèl·lules mesenquimals desenvolupades a partir de les cèl·lules mares es troben, a conseqüència d'una freqüència de mutacions elevada en el curs del desenvolupament embrionari, nombroses cèl·lules capaces cada una de sintetitzar globulines del sistema gamma amb les característiques d'anticòs enfront d'un determinat antígen. Quan un antígen es posa en contacte amb la corresponent cèl·lula, n'estimula la proliferació i dóna lloc a la formació del corresponent anticòs; o sigui que cada antígen selecciona i estimula una cèl·lula de la qual es deriva tot un clonus cel·lular.

Un dels problemes que BURNET considera crucials en immunologia és l'explicació del mecanisme de diferenciació entre el propi i el no propi, és a dir, l'explicació de per què, d'una manera general, un determinat organisme no forma anticossos enfront dels propis antígens. Segons aquesta teoria de la selecció clonal, l'explicació seria la següent: quan l'antígen, com és el cas amb molts dels antígens propis de l'organisme, es posa en contacte amb aquestes cèl·lules en llur estadi d'immaturitat, el contacte i la subsegüent reacció antígen anticòs que això comporta mata aquestes cèl·lules, i, per tant, el corresponent clonus queda eliminat, la qual cosa expressa amb la frase de «clonus prohibits». Si per atzar mutacional apareix un nou clonus capaç de formar aquests autoanticossos, torna a ésser eliminat pel mateix mecanisme abans de la seva maduresa; si aquest mecanisme fallava per una determinada causa, seria quan apareixerien els autoanticossos. O sigui que la diferenciació per l'animal adult del propi



i no propi, depèn senzillament d'haver estat eliminats tots els clonus cel·lulars amb capacitat de reaccionar enfront del propi.

La primera dificultat que es presenta davant aquesta teoria selectiva a nivell cel·lular és la mateixa objecció que hom féu a la teoria d'EHRlich i que precisament serví per a deixar-la de banda, és a dir, que sembla difícil d'acceptar que l'organisme fabriqui *a priori* una globulina capaç d'unir-se específicament a qualsevol antigen natural o artificial, la qual cosa hom ha calculat que requeriria almenys l'existència d'unes 5.000 globulines gamma naturals (TALMAGE). BURNET i també LEDERBERG consideren, això no obstant, que aquest nombre és perfectament compatible amb un grau de mutabilitat de les cèl·lules mares de les immunocompetents perfectament acceptable.

Personalment ens sembla una dificultat contrària a aquesta teoria l'explicació dels estats de no resposta immunològica. Hem vist que aquests es poden fer persistir mantenint l'estímul antigènic, i, per tant, contràriament, fer-los desaparèixer en parar aquesta estimulació, la qual cosa semblaria requerir un grau de mutació molt elevat perquè sempre es trobessin nous clonus a punt; això en cas que la inhibició s'expliqui, com hem exposat abans, per la mort del clonus corresponent, perquè si s'explica per una simple inhibició del clonus selectiu, no es presenta cap dificultat.

Una altra dificultat, observada personalment, és el fet que abans hem exposat que la injecció d'un segon antigen en el moment de màxima producció d'anticòs enfront d'un primer és significativament inhibida. Si la teoria de la selecció clonal fos vàlida, sembla que l'esgotament transitori que hem vist que apareix en l'animal hiperimmunitzat amb una dosi òptima, hauria de limitar-se al corresponent clonus, i, per tant, la resposta a un segon antigen, amb la consegüent estimulació d'un altre clonus no hauria d'estar afectada, com, en canvi, s'observa. Una explicació alternativa seria que l'esgotament de la resposta a un primer antigen comporta l'esgotament d'un determinat metabolit necessari per a la síntesi de les globulines gamma, i per això la resposta a un segon antigen és inhibida; aquesta explicació és possible, però no ens sembla gens probable, atesa la petita síntesi proteica que representa en valors absoluts la globulina gamma anticòs al primer antigen.

Un punt important a favor de la teoria de la selecció clonal seria la demostració que una cèl·lula immunocompetent determinada és capaç de sintetitzar tan sols un tipus d'anticòs. Els resultats experimentals de NOSAL van a favor d'aquest punt, mentre que els de LENNOX i COHNS semblen demostrar la possibilitat que una cèl·lula immunocompetent pot sintetitzar més d'un anticòs. STERZL, per càlculs derivats d'experiments de formació d'anticòssos per transferència de cèl·lules, assenyalava certes dificultats per a acceptar la idea de la selecció clonal, és a dir, una teoria



selectiva a nivell cel·lular, perquè li semblava difícil d'explicar els aspectes quantitius de la transferència amb el fet que una cèl·lula immunocompetent sintetitzés un sol anticòs.

El mateix BURNET, el 1926, arriba a conclusions similars de l'estudi del fenomen de SIMONSEN, que consisteix en la producció de lesions en la membrana corioalantoïdea d'embrions de pollet, per la inoculació de cèl·lules madures de melsa o de sang de la mateixa espècie; representa un fenomen del tipus de la malaltia de «trasplantament contra host», amb l'avantatge d'ésser produït per cèl·lules gairebé aïllades, la qual cosa permet una valoració quantitativa força exacta. Dels estudis d'aquest fenomen hom arriba a la conclusió que cada lesió és produïda per un nombre relativament petit de cèl·lules immunocompetents, cosa que fa pràcticament impossible d'acceptar la idea de la selecció clonal. També hi van en contra el fet que el nombre de lesions sigui pràcticament el mateix, tant si els embrions difereixen de les cèl·lules donadores, per un o per diversos factors antigènics, i el fet que l'especificitat de les cèl·lules immunocompetents varia pels passatges successius, bé que, com indica el mateix BURNET, la dificultat major és la derivada de l'aspecte quantitiu. Diu: «Fins i tot, si encara considerem que cap teoria "instructiva" de la immunitat no ha estat capaç d'interpretar la no-antigenicitat dels components propis, ens queda, això no obstant, la conclusió que qualsevol procés de selecció cel·lular ha d'ésser molt més complex i làbil que el desenvolupat el 1959, si ha d'explicar les qualitats específiques del fenomen de SIMONSEN en la membrana corioalantoïdea de l'embrió de pollet». Conclou que «el problema de reconeixement d'ésser foraster» per les cèl·lules limfoides normals de l'organisme dels vertebrats encara resta la major dificultat de la teoria immunològica. La teoria de la selecció clonal fou desenvolupada primàriament com un intent de resoldre la dificultat, però els resultats de l'estudi de la teoria de SIMONSEN mostren que si la teoria ha d'explicar les respostes immunològiques primàries, ha d'ésser reformulada en una forma més sofisticada».

Teoria selectiva a nivell intracel·lular: en la discussió de la teoria de la selecció clonal ha anat sorgint (LEDERBERG), com una altra possibilitat, que la selecció no es faci a nivell cel·lular, sinó en l'intracel·lular; és a dir, l'antigen no seleccionaria i estimularia una cèl·lula única dins les immunològicament competents, de la qual es derivaria un clonus cel·lular, dotat exclusivament de la capacitat de sintetitzar un determinat anticòs, sinó que, dins qualsevol cèl·lula immunocompetent, l'antigen estimularia o derepressionaria el sistema o via metabòlica que condueix a la síntesi d'una globulina gamma amb les característiques d'anticòs enfront del corresponent antigen, via metabòlica que forma part de totes les genèticament potencials en aquestes cèl·lules, que són les que sintetitzen les proteïnes que integren el sistema de les globulines gamma, constituït per

tres tipus majors de globulines i, dins cada un d'ells, amb la ja coneguda heterogeneïtat electroforètica. Això explica també que la corba de valoració de l'activitat anticòs sigui pràcticament paral·lela a la de distribució de cada un d'aquests tipus de globulina gamma, mentre que si l'anticòs fos sintetitzat per un clonus derivat d'una sola cèl·lula, cal pensar que la corresponent globulina seria molt homogènia, com passa en el cas dels plasmocitomes o macroglobulinèmies, i, per tant, la corba d'activitat de la globulina anticòs correspondria tan sols a una part, un pic, en relació amb la de distribució total del corresponent tipus de globulina gamma.

Aquesta teoria de la selecció a nivell cel·lular presenta també l'avantatge de respondre satisfactòriament a les objeccions que hem vist que es presenten per a les altres dues teories immunològiques; és a dir, no té cap dificultat en sentit genètic, com presenten les instructives, ni tampoc no té en contra les objeccions derivades de l'estudi quantitatiu dels fenòmens immunològics, les dificultats mutacionals, ni el fet de la inhibició de la resposta a un segon antígen en el moment de màxima resposta a un primer, dificultats greus que hem vist que presenten les teories selectives a nivell cel·lular. Si es demostra que, efectivament, l'especificitat anticòs comporta un canvi en la seqüència d'aminoàcids en la cadena polipeptídica, cosa genèticament incompatible amb les teories instructives, aquesta de la selecció o derepressió a nivell intracel·lular serà probablement la vàlida.

#### TEORIES PER A EXPLICAR LA NO RESPOSTA IMMUNOLÒGICA

Hem vist com en totes les modalitats dels estats de no resposta immunològica és un factor primordial la dosi i la persistència de l'estímul antigènic, així com el fet que deuen explicar-se per un mecanisme intracel·lular i no extracel·lular. Coneixem poc encara els mecanismes de síntesi d'un anticòs per a poder formular una teoria segura d'aquest mecanisme, i, de moment, es presenten tres possibilitats que tot seguit exposarem, tot fent abans una consideració sobre la quantitat d'antigen que sembla necessària per a conduir a la no resposta immunològica. FRIEDMAN i GABY, en la fase de no resposta en gallines a la *Shigella*, no aconsegueixen de detectar la presència d'antigen, bé que consideren que pot trobar-se en quantitat efectiva però no detectable per la tècnica utilitzada. TERRES i HUGHES, per càlcul basat en la velocitat de catabolització de la seroalbúmina bovina en el ratolí, i que no poden detectar-la immunològicament en el sèrum, consideren que n'hi deu quedar una quantitat de l'ordre d' $1 \times 10^{-8}$  mg/ml. Aquest punt és estudiat més concretament per HIRATA, GARVEY i CAMPBELL injectant tres lots de gallines amb seroalbúmina de bou amb S35; al cap de 61 dies comproven que queda en tota la



gallina un 0,3 % de la quantitat injectada, aproximadament 68, 204 i 613  $\mu\text{g}$  d'antigen. Bé que la no resposta és tant més intensa com més intensa és la dosi inicial d'antigen, no creuen que pugui ésser deguda a una senzilla absorció de l'anticòs format per aquest antigen retingut. La quantitat retinguda és molt petita i, encara més, si la comparem amb la dosi d'antigen injectada per comprovar l'estat de no resposta (20 mg); en aquest moment la quantitat d'antigen és pràcticament igual en tots tres lots, i, això no obstant, la resposta és diferent i proporcional a la quantitat injectada inicialment. Totes aquestes observacions fan pensar que l'estat de no resposta immunològica és degut a una quantitat relativament petita d'antigen que es troba retinguda en forma especial a la mateixa cèl·lula formadora dels anticòssos. Com hem dit abans, caben tres possibilitats per a explicar el mecanisme d'aquesta acció de l'antigen en la instauració d'un estat de no resposta immunològica:

a) La no resposta immunològica és deguda a la mort de la cèl·lula productora del corresponent anticòs. BURNET explicava la tolerància immunològica, d'acord amb la seva hipòtesi de la selecció clonal, i, com abans hem expressat, considerant que els clonus cel·lulars estimulables per la síntesi d'anticòssos, quan es troben en presència de suficient quantitat del corresponent antigen en el seu estadi d'immaduresa i es produeix la unió antigen-anticòs intracel·lular, aquesta dona lloc a la mort de la cèl·lula i a la desaparició del clonus. LEDERBERG considera que aquesta explicació és compatible amb un acceptable grau de mutabilitat per l'aparició de nous clonus adaptats a l'antigen, que poden ésser inhibits davant la persistència d'aquest i, si no, donar lloc novament a una resposta immunològica i, per tant, a la desaparició de l'estat de no resposta, cosa que explicaria la seva transitorietat. CRAMPTON, FRANKEL i RODENBAUR accepten una explicació d'aquest tipus suggerint que la mort cel·lular es produiria pel fet que la reacció antigen-anticòs intracel·lular alliberaria o activaria enzims proteolítics que destruirien la cèl·lula. Atès que la paràlisi immunològica i la inhibició per hiperimmunització s'aconsegueixen en l'animal adult, poden persistir indefinidament mentre persisteix l'estimulació antigènica, i poden fer-se desaparèixer gairebé a voluntat aturant aquesta, el fenomen sembla requerir un grau de mutabilitat molt elevat perquè sempre aparegui un nou clonus en el moment oportú. Ja hem vist les dificultats que es presenten per a acceptar la pròpia teoria de la selecció clonal, observades entre altres, pel mateix BURNET.

b) La no resposta immunològica seria deguda a una rapidíssima eliminació de l'antigen per hipercatabolització d'aquest. Aquesta explicació fou suggerida per MEDAWAR, suposant que la persistent estimulació antigènica conduiria a un augment adaptatiu d'enzims degradatius que, en catabolitzar ràpidament l'antigen, el farien inoperant com a estímul per

a la formació d'anticossos. Si això fos així, hom pot pensar que, bé que una dosi gran d'antigen o la persistència en l'estímul antigènic conduïxin en aquest estat, arribaria un moment que en augmentar la dosi de l'antigen se sobrepassaria l'increment d'aquesta capacitat catabòlica i hauria d'ésser efectiu com a estímul antigènic. Per ara això no ha estat comprovat, ni en la tolerància ni en la paràlisi immunològica. En el fenomen estudiat personalment de la inhibició d'anticossos per hiperimmunització en el qual la no resposta immunològica s'obté al cap d'un temps molt prolongat, però amb un estímul antigènic relativament petit, de si òptim per a la producció d'anticossos, en les primeres comprovacions portades a terme hem vist que es presenta aquest fet que, una vegada aconseguida la inhibició o no resposta immunològica, si hom augmenta bruscament la dosi d'estímul antigènic, resulta efectiva. Naturalment que aquest fet pot explicar-se també a través d'altres mecanismes, com els que en la possibilitat darrera exposarem.

c) Bloqueig intracel·lular de l'anticòs o de la seva pròpia formació. Hem indicat que la no resposta immunològica no pot atribuir-se a una unió entre antigen i anticòs extracel·lular, però no podem descartar que no sigui deguda a una unió antigen-anticòs intracel·lular. La no comprovació, per SERCARZ i COONS, d'anticòs en les cèl·lules immunocompetents d'un animal en paràlisi immunològica, sembla que estigué en contra d'aquesta possibilitat, bé que també és possible que l'anticòs no fos detectable per la forma d'estar unit amb l'antigen. La quantitat relativament petita d'antigen retinguda i que és capaç de produir la no resposta immunològica suggereix un mecanisme consistent en un bloqueig de la pròpia formació de l'anticòs.

Sabem encara relativament poca cosa del mecanisme general de la síntesi proteica i, encara menys, del cas concret de la síntesi d'un anticòs, per a poder intentar una explicació bioquímica d'aquest fenomen. Podem pensar en l'existència d'un equilibri intracel·lular entre l'antigen lliure o el complex antigen-anticòs i els anticossos fixats en la seva partícula o matriu formadora, similar, en línies generals, al suggeriment fet per MAGASANIK, MAGASANIK i NEITHARDT per a explicar l'acció d'un inductor o repressor en la síntesi d'un enzim, en el sentit que no actuarien sobre el mecanisme de síntesi, sinó sobre la seva activitat; una dosi determinada d'antigen posaria en funció el mecanisme bioquímic de la síntesi de l'anticòs, que passaria per un òptim d'activitat en augmentar la dosi antigènica, per a arribar, augmentant excessivament aquesta (paràlisi immunològica), o en persistir indefinidament en una dosi òptima, a una inhibició o bloqueig d'aquest mecanisme (inhibició per hiperimmunització). Atesa la poca probabilitat de les teories de selecció a nivell cel·lular en la formació d'anticòs, i que, per tant, totes les cèl·lules immunocompetents



ponen entrar en joc per a la síntesi d'un anticòs, aquest equilibri dinàmic entre estímul i resposta és possible que pugui tenir també un esglaó o nivell cel·lular, en el sentit que potser en algun cas pot ésser limitat a una proporció més o menys gran de cèl·lules immunocompetents o a totes elles. El que interessa fonamentalment de destacar és que es tracta d'un equilibri dinàmic que pot establir-se segurament a diferents nivells absoluts i

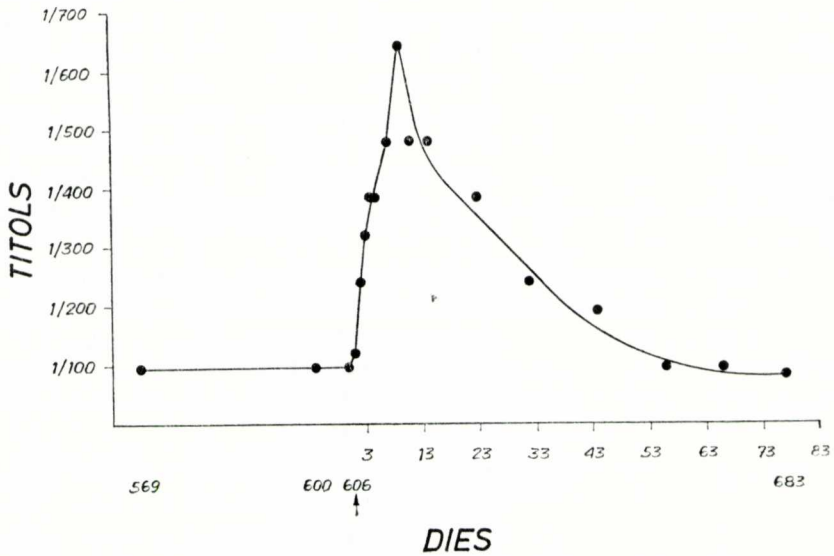


FIG. 3

Resposta d'un conill inhibït enfront de la *Br. Abortus* per una hiperimmunització de 606 dies de durada, a la injecció d'un antígen diferent (*S. Typhi*). La resposta és normal. (GRAS i WOESSNER, 1963.)

que pot trencar-se probablement per qualsevol dels seus extrems, és a dir, tant pel cantó dels mecanismes bioquímics que condueixen a la síntesi de l'anticòs, com pel cantó de la intensitat o ritme de l'estímul antigènic. Ja hem dit com en les primeres comprovacions portades a terme en el cas de la inhibició d'anticòsos per hiperimmunització, aquesta possibilitat de trencament de l'equilibri per augment brusc de l'estímul antigènic sembla clarament efectiva (fig. 3).

## TEORIES PER A EXPLICAR LA NO FORMACIÓ HABITUAL D'AUTOANTICOSSOS

Fins fa ben poc temps era un axioma clàssic en immunologia fer que un organisme, amb comptades excepcions (proteïnes del cristall; material espermàtic o cerebral, etc.), no forma anticossos contra els propis components, la qual cosa EHRlich expressava gràficament com a *horror autotoxicus*. En aquests darrers anys ha estat demostrada l'existència de múltiples processos en els quals, sense cap dupte, existeixen autoanticossos, és a dir, anticossos contra substàncies del mateix individu. A pesar d'aquestes observacions hom continua acceptant d'una manera general que, perquè una proteïna o un polisacàrid siguin antigènics o sigui que induïxin la formació d'anticossos, cal que siguin totalment heteròlegs o, almenys, diferents, en algunes de llurs característiques, dels continguts en els sistemes del propi organisme. Això pressuposa l'existència d'un mecanisme capaç de distingir entre «el propi i el no propi». Aquest mecanisme tindria una importància fonamental en immunologia, cosa que BURNET destacà amb les paraules següents: «He insistit que la clau de la teorització immunològica és de definir com l'organisme posseeix l'arxiu d'informació que li permet de diferenciar entre el propi, inclosos els antígens pels quals és tolerant, i el no propi».

Aquest punt era precisament un dels que considerava més importants a favor de la seva teoria de la selecció clonal, ja que, mitjançant aquesta, ho explicava com abans hem esmentat postulant la mort de la corresponent cèl·lula immunocompetent i, per tant, la desaparició del pertinent clon. El mateix passaria amb els antígens no propis que es posen en contacte amb el sistema immunocompetent en aquesta fase del desenvolupament, donant lloc a «la tolerància immunològica». D'aquesta forma, en l'organisme adult no existirien ja clons cel·lulars enfront dels antígens propis ni enfront dels posats en estat de tolerància. Així s'explicaria la diferenciació entre el propi i el no propi. Com hem exposat abans en discutir les teories seleccionals a nivell cel·lular, el mateix BURNET insisteix novament, en no semblar vàlida la teoria de la selecció clonal, que «el problema del reconeixement de l'«ésser foraster» per les cèl·lules limfoides de l'organisme dels vertebrats encara resta la major dificultat de la teoria immunològica».

Personalment creiem que aquesta dificultat no existeix, car tampoc no existeix cap mecanisme de diferenciar «el propi del no propi o, en altres paraules, de l'«ésser foraster»». Davant el fet comprovat que tot animal adult és susceptible d'ésser posat en estat de no resposta immunològica enfront de *qualsevol antigen*, pel sol fet que persistim contínuament en

l'estimulació antigènica, fenomen de la inhibició d'anticossos per hiper-immunització, o perquè li administrem una dosi excessiva d'antigen, paràlisi immunològica, és evident que no hi ha cap necessitat que existeixi aquest mecanisme de diferenciar entre el propi i el no propi, car davant els antígens propis que es troben en aquestes condicions d'estímul constant i dosi considerable, l'organisme es troba, senzillament, en un estat de no resposta immunològica enfront seu, com pot posar-se enfront de qualsevol antigen heteròleg que experimentalment el situen en aquestes condicions i, enfront dels antígens que habitualment no es troben en aquestes circumstàncies, sinó que no estimulen mai cap cèl·lula immunocompetent, forma autoanticossos tan bon punt, per una raó o altra, surten de llur aïllament i, passant a la circulació, estimulen el sistema de cèl·lules immunocompetents. Aquest és el cas de la tiroglobulina, segon antigen col·loide, proteïna del cristallí, antígens espermàtics, cerebrals, etc.

Estem en situació, doncs, d'afirmar que la frase *horror autotoxicus* no és sinó una frase, i que, contràriament al concepte clàssic, influït potser per les idees teleològiques de la finalitat defensiva dels mecanismes immunològics, el normal és fer autoanticossos i que l'organisme no en fa tan sols enfront de determinats antígens amb els quals està en un estat de no resposta immunològica. Els antígens que es troben en aquestes circumstàncies són els sanguinis, d'eritròcits i plasma i, probablement, els d'histocompatibilitat, i no es troben en aquestes condicions els que hem citat fa poc i la majoria dels intracel·lulars. Això ens permet d'explicar-nos amb tota facilitat la formació d'autoanticossos enfront d'aquest darrer tipus d'antígens propis com la cosa més normal, en tant aquests es posen en condicions d'estimular el sistema immunocompetent i, enfront dels primers, per ruptura de l'equilibri dinàmic que, com hem vist, comporta l'estat de no resposta immunològica, equilibri que experimentalment hem comentat com pot trencar-se i que ens donaria la clau per a explicar-nos la freqüència d'anèmies hemolítiques autoimmunes, secundàries a d'altres trastorns hematològics.

Aquesta explicació del perquè es formen o no es formen autoanticossos, ultra la seva importància teòrica en la immunologia general i en l'explicació de l'aparició d'aquests anticossos en els processos coneguts com d'auto-immunitat, ens obre indubtablement nous horitzons en la resolució dels problemes derivats de la implantació d'homoempelts i de les sensibilitzacions fetomaternes.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALIVISATOS, G. P.; MARQUETOS, N., i VAVA, Z.: *Die Immunitätsparalyse bei Brucellosen.* «Z. Immunitätsf», 122: 291-307, 1961.  
 BILLINGHAM, R. E.; BRENT, L., i MEDAWAR, P. B.: «Nature», 172: 603, 1953.



- BURNET, F. M.: *Cellular aspects of immunology as manifested in the Simonsen reaction*. En «Virology and Epidemiology», ed. D. M. Hortsman. Archon Books. Hamden, Connecticut, 1962.
- BURNET, F. M.: *Panel discussion on the clonal selection theory of antibody formation*. «Ciba Symposium on Cellular aspects of Immunity». J. A. Churchill. Londres, 1960.
- BURNET, F. M.: *The theories of antibody production*. En «Immunity and virus infection». Ed. per A. Naggar, John Wiley, Sons. Nova York, 1959.
- BURNET, F. M., i FENNER, R.: *Production of antibodies*. 2.<sup>a</sup> ed. MacMillan, Melbourne, 1949.
- CRAMPTON, C. F.; FRANKEL, F. R., i RODEHEAVER, J. L.: *Mechanism of immunological unresponsiveness*. «Nature», 184: 873-875, 1959.
- CINADER, B., i DUBERT, J. M.: *Acquired immune tolerance to human albumin and the response to subsequent injections of diazo human albumin*. «Brit. J. Exp. Med.», 36: 515-529, 1955.
- DIXON, F. J., i MAURER, P.: *Immunologic unresponsiveness induced by protein antigens*. «J. Exp. Med.», 101: 245-257, 1955.
- DUNSFORD, J.; BOWLEY, C. C.; HUTCHISON, A. M.; THOMPSON, J. S.; SANGER, R., i RACE, R. R.: *A human blood group chimera*. «Brit. Med. J.», ii: 81, 1953.
- FELTON, H. D.; KAUFFMANN, G.; PRESCOTT, B., i OTTINGER, B.: *Studies on the mechanism of the immunological paralysis induced in mice by pneumococcal polysaccharides*. «J. Immunol.», 74: 7-26, 1955.
- FRIEDMAN, H., i GABY, W. L.: *Immunologic unresponsiveness to Shigella antigens in chickens*. «J. Immunol.», 84: 441-448, 1960.
- GRAS, J.: *Diminution de la réponse à un deuxième antigène injecté au moment de la production maximale d'anticorps chez l'animal hyperimmunisé à un premier antigène*. «Rev. franç. Études clin.», 9: 434-436, 1964.
- GRAS, J.: *Einfluss des pränatalen Kontakts mit einem Antigen auf die Bildung von Antikörpern*. «Z. Tropenmed.», 8: 117-127, 1957.
- GRAS, J.: *Inhibición de anticuerpos circulantes en los sistemas proteína-antiproteína por hiperinmunización*. «Rev. Esp. Fisiol.», 12: 251-258, 1956.
- GRAS, J.: *Le phénomène de l'inhibition d'anticorps circulants par hyperimmunisation*. «Rev. Immunol.», 24: 354-366, 1960.
- GRAS, J., i WOESSNER, S.: *Studies of the "Inhibition by Hyperimmunization of circulating antibodies". Effects of suppression or variation of antigenic stimulus at the time of maximal production of circulating antibodies in the hyperimmunized (hyperstimulated) animal*. «Path. Microbiol.», 26: 439-454, 1963.
- HANAN, R., i OYANA, J.: *Inhibition of antibody formation in mature rabbits by contact with the antigen at an early age*. «J. Immunol.», 73: 49-53, 1954.
- HARD, S.: *The decrease in the concentration of precipitating antibodies in rabbits after long-term antigen administration*. «Acta Allergol.», 13: 1-7, 1959.
- HASEK, cit. per KOPROVSKI, H.
- HIRATA, A. A. GARVEY, J. S., i CAMIBELL, D. H.: *Retention of antigen in tissues of serologically suppressed chickens*. «J. Immunol.», 84: 576-581, 1960.
- KOPROVSKI, H.: *Immunologic tolerance in tumor transplant*. «Fed. Proceed.», 16: 592-602, 1957.
- MITCHISON, N. A.: *Immunological tolerance and paralysis*. «Brit. Med. Bull.», 17: 102-106, 1961.
- OWEN, R. D.: *Immunologic tolerance*. «Fed. Proceed.», 16: 581-591, 1956.
- SERGARZ, E., i COONS, A. H.: *Specific inhibition of antibody formation during immunological paralysis and unresponsiveness*. «Nature», 184: 1080-1082, 1959.
- SMITH, R. T.; BRIDGES, R. A., i THOMSON, E.: *Failure of specific antibody production in rabbits induced by neonatal exposure antigen*. «J. Lab. clin. Med.», 48: 944-945, 1956.
- STARK, G. K.: *Studies on pneumococcal polysaccharide. II. Mechanism involved in production of immunological paralysis by tipe I pneumococcal polysaccharide*. «J. Immunol.», 74: 130-133, 1955.



- STERZL, J.: *Long term immunization. I. Decrease of antibody by everyday immunization.* «Exc. Med.», Sectio IV, 9: 595, 1956.
- STEVENS, K. M.; PIETRIYK, H. C., i CIMINERA, J. L.: *Acquired immunological tolerance to a protein antigen in chickens.* «Brit. J. Exp. Path.», 38: 1-7, 1958.
- TERASAKI, P. I.; CANNON, J. A., i LONGMIRE, W. P.: *The specificity of tolerance to homografts in the chicken.* «J. Immunol.», 81: 246-252, 1958.
- TERRES, G., i HUGUES, W. L.: *Acquired immune tolerance in mice to crystalline bovine serum albumin.* «J. Immunol.», 83: 459, 1959.
- WEIGLE, W. O., i DIXON, F. J.: *The antibody response of lymph node cells transferred to tolerant recipients.* «J. Immunol.», 28: 516-519, 1959.
- WOLFE, H. R.; TEMPELS, C.; MUELLER, A., i REIBEL, S.: *Precipitin production in chickens. XVII. The effect of massive injections of bovine serum albumin at hatching on subsequent antibody production.* «J. Immunol.», 79: 147-153, 1957.
- ZDRODOWSKI, P.: *Essai d'analyse physiologique de quelques processus infectieux et immunologiques.* «Rev. Immunol.», 21: 341-355, 1957.

## DISCUSSIÓ

Dr. ALEMANY

Em permeto de fer algunes preguntes al que ha magníficament exposat el doctor GRAS.

1.<sup>a</sup> Diu que la paràlisi immunitària es produeix per grosses dosis d'antígens. Jo li pregunto si per petites dosis d'antígens injectats, repetides, es pot produir un plasmocitoma.

2.<sup>a</sup> Si les gamma-globulines normals, injectades, poden impedir les reaccions antigèniques-anticossos —essent els anticossos gamma-globulines específiques— en unir-se les gamma-globulines normals amb els antígens, ¿impedirien que ho fessin les gamma-globulines específiques i que vinguessin les reaccions característiques?

3.<sup>a</sup> En aquest complex estudi, tan vast i complicat, podria el doctor GRAS orientar-me sobre: a) Si l'existència d'abundantíssims «clonus» en la vida embrionària podria ésser l'inici d'una afecció ulterior en la vida postnatal; b) Si l'abundància d'aquests «clonus» —que no són veritables antígens o anticossos, ja que la hipersensibilitat i la immunitat son pròpies de l'individu amb plena independència— ha pogut determinar lesions més o menys persistents en el fetus.

4.<sup>a</sup> Durant el període dit de tolerància, ¿els antígens persisteixen temps en la circulació sense ésser modificats?

*Dr. COLOMINES*

El doctor GRAS ha utilitzat, en part, els fenòmens de paral·lèrgia immunitària i de la inhibició d'anticossos per a reforçar unes teories i experiències pròpies sobre la gènesi dels mateixos anticossos. Traslladant aquests fenòmens a un plantejament de la terapèutica humana possible, li preguntem: ¿pot fer-se servir la paral·lèrgia immunològica per a evitar l'aparició d'anticossos anti-Rh en una dona amb embaràs i afectada de sensibilització demostrada? Amb les tècniques d'inhibició d'anticossos per hiperimmunització, ¿podria aconseguir-se una desviació en la producció d'anticossos en un cas d'embaràs i en el qual hom sospiti un probable inici de sensibilització? En teoria, bé ho sembla. ¿S'ha treballat en aquest sentit? A part això, creiem que cal felicitar el doctor GRAS per aquesta aportació a la biologia mèdica, una de les noves contribucions a allò que per a ell representa una dedicació constant: la gènesi proteica, i que cal preveure com un punt essencial per a una nova època de terapèutica immunològica.

*Dr. SURINYACH*

En la seva interessantíssima comunicació ens ha parlat dels excessos de dosificació i dels intervals d'aportació de l'antigen. M'agradaria de saber si els seus experiments indueixen a pensar que l'escurçament dels intervals representa merament un factor numèric de suma de les quantitats no eliminades d'antigen, o bé quelcom més complex en què l'interval fa un paper immunitari estrictament quantitatiu.

*Dr. VIÑAS*

Voldria primerament agrair al doctor GRAS el treball que ha hagut de realitzar per tal d'oferir-nos aquesta magnífica labor de posar al dia el fenomen immunològic. La conferència que acabem de sentir ha sorgit d'una conversa tinguda després d'una curta comunicació que sobre aquest tema vaig presentar aquí mateix. Em plau de dir que això sol ja justifica la meva comunicació.

Gairebé tothom està d'acord que el fenomen immunitari té una funció bàsica de manteniment de l'especificitat antigènica de l'individu, i que

és d'una manera secundària, gairebé diríem accidental, que actua com a mecanisme de defensa en les infeccions.

Continuem sense saber el mecanisme íntim pel qual l'antigen provoca la resposta immunològica. Per a explicar-lo hi ha la sèrie de teories que ens ha referit el doctor GRAS. En canvi, pocs autors estaran en desacord si afirmen que l'aparició d'una resposta immunològica i el tipus d'aquesta són determinats per un equilibri dinàmic entre la capacitat de resposta específica preexistent en les cèl·lules immunològicament competents i la quantitat i el ritme d'aparició de l'antigen en l'economia de l'animal. Evidentment, es comprèn que treballs del tipus dels que segueix el doctor GRAS i que ens ha exposat breument, ens han d'aportar dades valuosíssimes per a comprendre millor la dinàmica d'aquests equilibris. Així, doncs, esperem que el doctor GRAS ens tindrà periòdicament al corrent dels seus interessants treballs.

Jo solament voldria afegir una cosa, i és que crec que en aquest equilibri hi ha un tercer factor que interacciona amb els altres dos. Ultra la capacitat de resposta específica preexistent i la quantitat d'antigen, cal tenir en compte la quantitat d'anticòs específic preexistent. Aquest anticòs modifica la qualitat de l'antigen introduït.

La concentració d'aquest anticòs va variant durant el curs de la immunització, i, per tant, la dosi òptima d'antigen també ha de variar en el temps.

*Dr. GABARRÓ*

Desitjaria que el doctor GRAS pogués dir-me fins a quin punt els seus experiments poden ajudar a la Cirurgia Plàstica amb referència als empelts de pell lliure.

Fins ara hem aconseguit que els empelts autòctons prenguin i es conservin bé en les superfícies empeltades i es comportin com a pell normal.

En canvi, els empelts homòlegs poden prendre bé i persistir de dues a cinc o vuit setmanes, però acaben fatalment desintegrant-se i desapareixent.

¿És que el doctor GRAS creu que els seus estudis podrien ajudar a la persistència dels empelts homòlegs o, millor encara, a la permanència definitiva? Perquè això seria una troballa com la de la pedra filosofal de Cirurgia Plàstica que fins ara no s'ha aconseguit. Si el doctor GRAS desitja de tenir oportunitat de fer algunes proves *in vivo*, jo li'n donaré oportunitats.



Dr. GRAS

Abans de respondre a les preguntes formulades, em plau d'agrair l'interès demostrat pels companys, car el fet de plantejar-les demostra que han seguit les meves paraules amb atenció, i que creuen que val la pena d'insistir sobre els temes exposats i els suggeriments que aquests comporten. Començarem per respondre ordenadament a les preguntes del doctor ALEMANY. I) La paràlisi immunològica es produeix amb dosis grans d'antigen, administrades de cop o en un interval curt, però precisament el fenomen que hem descrit nosaltres s'obté amb dosis òptimes per a l'estimulació antigènica i, per tant, petites en relació amb les de la paràlisi immunològica. Per estimulació antigènica no s'ha obtingut mai un augment de globulina gamma homogeni a l'electroforesi, com s'observa en el plasmocitoma. II) Les globulines gamma normals poden inhibir, en determinades condicions, generalment quan formen agregats de causa no immunològica, algunes reaccions immunològiques. III) Un «clonus» cel·lular no és sinó el conjunt de cèl·lules derivades d'una originària, sempre que en una de les mitosis no aparegui una mutació. Per tant, en l'organisme existeixen «clonus» de tota mena de cèl·lules, en relació i sense cap relació amb les immunocompetents, i sense que representin cap fet anormal. IV) La tolerància immunològica pot existir sense que hi hagi antigen circulant. En cas que existeixi, no té per què ésser modificat.

Quant a la pregunta del doctor COLOMINES si mitjançant aquest fenomen de la inhibició d'anticossos per hiperimmunització podria inhibir-se una sensibilització fetomaterna, hem de respondre que creiem que sí, que és possible. Ara: d'una banda caldria fer-la, per tal d'obtenir la màxima seguretat, amb els eritròcits del pare, i després, per evitar els inconvenients i possibles perills que aquesta injecció pot comportar, s'hauria de resoldre l'obtenció fàcil d'estromes o, molt millor, de concentrats dels mateixos antigens del sistema Rh en forma pura per a poder-los injectar. Una vegada obtingut això, l'estudi d'una norma i l'obtenció de la inhibició de la sensibilització, creiem que seria cosa relativament fàcil.

Pel que es refereix a la qüestió plantejada pel doctor SURINYACH en relació amb el valor intrínsec dels intervals en la pràctica de l'estimulació antigènica en aquests fenòmens, hem de dir que, d'una manera general en els estats de no resposta immunològica, del tipus de la tolerància o paràlisis immunològiques, el factor fonamental és la quantitat global de l'antigen. En el cas de la inhibició per hiperimmunització és probable que l'interval d'administració pugui exercir un paper més important, com pot semblar de la comparació dels nostres resultats amb els de ZDRODOWSKI, però no

estem en condicions de descartar que sigui degut senzillament al major o menor retard a arribar a una determinada quantitat.

El doctor VIÑAS es refereix a l'equilibri dinàmic que representa la resposta immunològica, i estem convençuts que la no resposta immunològica representa també un equilibri dinàmic que pot mantenir-se segurament a diferents nivells i que, també, és possible de trencar per ambdues bandes. Com hem dit abans, estem completament d'acord que l'estudi d'aquest equilibri pot ésser d'un interès extraordinari.

El doctor GABARRÓ exposa la relació que poden tenir els nostres treballs amb el problema de la persistència dels empelts homòlegs. Hem dit que la no formació d'autoanticossos enfront de determinats antígens propis que estimulen constantment el sistema de cèl·lules immunocompetents és deguda, senzillament, al fet que ens trobem en un estat de no resposta immunològica enfront dels mateixos antígens. L'exemple més clar d'aquest tipus d'antígens és el cas dels antígens hemàtics. Enfront dels antígens que no estan en aquestes condicions, i que habitualment no estimulen aquest sistema de cèl·lules, formen autoanticossos tan bon punt, per una raó o altra, surten d'aquesta situació i estimulen el susdit sistema. Per tant, és lògic de pensar que, quant als antígens d'histocompatibilitat, ens trobem en un estat de no resposta immunològica com en el cas dels antígens hemàtics. Precisament hom comença a veure, en la rata i en la gallina, una certa relació entre els antígens d'histocompatibilitat i els hemàtics. Si hom aconseguia un mínim de permanència de l'empelt que possibilités la instauració d'aquest estat de tolerància, és possible de pensar que podria persistir l'empelt. Aquesta fase inicial podria obtenir-se a través d'aquest fenomen de la hiperimmunització o bé per citostàtics. Naturalment que això planteja nombrosos problemes tècnics i de tempteig, però sembla que s'hauran de resoldre.