

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XLVIII

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

KNJIGA 17.



Urednik
PAVEL ŠTERN,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

SARAJEVO
1973.

NIKŠA ALLEGRETTI*

FIZIOLOŠKA ULOGA IMUNOLOŠKE REAKCIJE

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 21. IV 1972. god.)

Nedvojbeno je da imunološki sustav obavlja u viših životinja važnu obrambenu zadaću. Štaviše, dozvoljen je i zaključak da se ove životinjske vrste ne bi ni razvile niti održale da nije bilo ovog važnog obrambenog sustava. Ne možemo se prikloniti teleološkom slijedu misli da je uzrokom razvitku imunološkog sustava njegova obrambena zadaća, jer bi to značilo da je taj sustav imao, u najmanju ruku, mehanizme da odluči, barem, smjer svog razvitka. Prema tome, znanstveni slijed misli nas usmjerava na jedini i tačan zaključak da su se vrste viših životinja održale, među mnogim ostalim, i zbog toga što su se svojim imunološkim sustavom mogle odrvati štetnim uljezima.

Ovakav zaključak i ovakav slijed misli bezuvjetno zahtijeva dosljednost, da ne upadnemo u kompromise sa teleološkim gledanjem na prirodne zakonitosti. Ta opasnost vreba pogotovu u medicinara koji je školovan upravo za to da pomogne čovjeku, pa ga ta »svrha« često čini podatnim da i istraživanja i zaključke usmjeri i dovede do granice neznanstvenog pogleda na svijet. U tom smislu i razne hipoteze, osobito one prijemljivije, često zavladaju općim mnijenjem i predstavljaju modu kojoj je teško odoljeti, a nekmoli ju slomiti. Međutim, takve hipoteze redovito dovode u bespuće, gdje je određenu prirodnu pojavu nemoguće dalje razjašnjavati, jer se slijed misli vrti u krugu.

Imunologija kao medicinska pa prema tome i biološka znanstvena grana još je daleko od one egzaktnosti koju su neke druge postigle. Dosta je da se prisjetimo da smo daleko od mogućnosti mjerenja antigenske jakosti, a da se u mjerenju snage protutijela praktički nalazimo još uvijek na početku. Ipak, u prirodnim znanostima »u početku bijaše mjerenje«. Unatoč tome, nije nam dozvoljen neznanstven (teleološki) pristup u razjašnjavanju imunoloških reakcija, i dužni smo sve dileme razjašnjavati, ako ne već razjasniti, znanstvenim pristupom.

* *Zavod za fiziologiju Medicinskog fakulteta, Zagreb.*

Čini se da je kao osnovno pitanje, koje mora da zadre u sam početak stvari, to: da li je imunološki sustav doista samo obrambeni sustav? Ako je to samo obrambeni sustav, onda bi bio nepotreban u uvjetima kada su tuđe biološke tvari organizmu nedostupne. Ako ne, onda je tijekom ontogenije i filogenije morao posjedovati mehanizam odlučivanja da se razvije »za svaki slučaj«, ako to bude nekada trebalo. Ne samo to, već je taj sustav morao moći odlučiti da bude sposoban reagirati i na one tuđe biološke tvari koje u času završetka njegova razvitka nisu ni opstojale, ili koje su tek od čovjeka naknadno stvorene. Kako to da je tijekom razvitka nastao takav sustav koji će moći odbaciti ona tkiva i organe što će ih znanstvenici i liječnici transplantirati sada u drugoj polovici dvadesetog stoljeća?

Prema tome, morali bismo pomišljati na nekakvu fiziološku funkciju imunološkog sustava, funkciju koja bi se u načelu odvijala istim mehanizmima i imala načelno isti konačan učinak kao i onda kada se ta funkcija ispoljava protiv tuđeg tkiva ili bjelančevina. Gledano s druge strane, nameće se zaključak da imunološki sustav ima svoju fiziološku funkciju koja je takva da može, na isti način kojim se odvija ta funkcija, reagirati i protiv tuđih sastojaka. Znači da bi ono što mi danas zovemo imunološkom reakcijom bilo prolazno ispoljavanje nekog stalnog fiziološkog procesa sa nekom osnovnom fiziološkom zadaćom, a produkcija protutijela bila bi izrazom istog procesa, istog fenomena, ali kao odziv na unos tuđe antigenske molekule.

Ograničimo se za sada samo na razmatranje produkcije humoralnih protutijela. Ako je ova produkcija protiv tuđih unijetih bjelančevina ili tkiva prolazna popratna pojava stalne produkcije protutijela, očito je da moramo postaviti pitanje: čemu služe ta protutijela ili te bjelančevinske (globulinske) molekule? Da li su i one takve da imaju već određene determinante komplementarne ili možda subkomplementarne na bjelančevinske strukture organizma, ili ih ima golem broj raznih tipova molekula da se na gotovo svaku antigensku determinantu u organizmu ili unijetu u organizam može već naći prikladna protutijelna determinanta?

Danas još uvijek »instruktivna (ili informativna) teorija« dominira u pokušaju razjašnjavanja imunološkog odziva. Sam ovaj odziv nije jedinstven proces, niti se odvija u jednom tipu stanica, pa vjerojatno niti određen tip stanica u odzivu ne ostaje jednak već se mijenja. Antigen kao da putuje iz strukture u strukturu ili iz stanice u stanicu dok ne dođe do one koja konačno proizvodi protutijela.

Nedvojbeno je da slika antigenske stimulacije nije konačna, pa je stoga ne moramo podrobno ni razjašnjavati. Međutim, koliko god bili svjesni njenih nedostataka, u općoj liniji ona je uglavnom dokazana. Ne možemo a da odmah ne vidimo da je na prvi pogled »instruktivna (ili informativna) teorija« najprijemljivija da protumači imunološki odziv. Barem na jednom mjestu potrebno je poučiti (instruirati) ili obavijestiti (informirati) neku od stanica o strukturi antigenske determinante, da bi se konačno proizvelo prikladno protutijelo. Instrukcija (ili informacija) nesumnjivo mora ostaviti nešto dulji trag da bi se kroz dulje vrijeme proizvodila posebna vrst bjelančevina (protutijela). To znači da bi i stanice koje nastaju diobom iz onih stanica koje luče protutijela također to lučile dok njihova dioba konačno ne prestane. Ili, vijek stanica koje luče protutijela mjerio bi se po tome koliko dugo se protutijela stvaraju. U sva-

kom slučaju moramo pomišljati na promjene u genskom mehanizmu stanice, jer drukčije ne bi moglo doći do stvaranja određenog tipa bjelančevina.

Iz ovog proizlazi da je svaka imunološki kompetentna stanica, koja je potencijalni producent nekih protutijela, sposobna da proizvede bilo koju vrst protutijela u ovisnosti o antigenu, tj. instrukciji (informaciji) koju primi od antigena.

Iako je ovakva predodžba vrlo složena, ona je sigurno još uvijek prejednostavna u poredbi s onim što se danas znade, iako se znade relativno malo. Naime, možemo zamisliti i to da bi određeni antigen izvršio derepresiju, tj. obuzdao određeni represorski gen i time omogućio aktivaciju ili stvaranje određenog enzima i produkciju određenih bjelančevina (protutijela) u stanici. Ako bi imunološki kompetentna stanica bila onipotentna, onda bi posjedovala gene koji kontroliraju sastav svih mogućih protutijela, s time da bi svi bili obuzdani represorskim genom, a određeni antigen bi izvršio samo jednu od derepresija i omogućio stvaranje bjelančevinskih molekula određenog tipa, dakle specifičnih protutijela.

Ove dvije predodžbe — o imunološki kompetentnoj stanici i njenoj stimulaciji, tj. o instrukciji provedenoj promjenom u genetskom materijalu stanice ili o derepresiji polučenoj samo na odgovarajućem mjestu — govore o onipotentnosti stanice. Međutim, onipotentnost stanice uključuje i postojanje goleme količine raznih tipova receptora na njenoj površini, a kojih je struktura rezultat regulacijskog djelovanja njenih gena.

Ovim se primičemo jednom od najmodernijih područja proučavanja fiziološkog ponašanja stanice u njenu okolišu, a to je proučavanje receptora na staničnoj membrani, osobito receptora za makromolekule (bjelančevinske molekule) koje nesumnjivo djeluju iz okoliša na stanicu, pa i prodiru u nju. Ovdje leži zadnji smisao u poznavanju utjecaja antigena, ali i bjelančevinskih hormona, pa i drugih bjelančevinskih tvari na stanice.

Kako bjelančevinski hormoni nemaju utjecaja na stanice svih tkiva, već samo na neke, moramo misliti na to da se radi o sposobnosti tih stanica da hormonski utjecaj dožive, ili da uopće na sebe ili u sebe te hormone prime. Očito je da su se stanice tijekom diferencijacije doista diferencirale. Bez obzira do kakvih je promjena diferencijacijom došlo u stanicama, sigurno je da su se diferencirale u svojem genskom mehanizmu, što rezultira i različitošću funkcija i različitošću podobnosti za utjecaj makromolekulskih (bjelančevinskih) aktivnih tvari.

Ako s ovog stajališta razmotrimo imunološki kompetentne stanice, onda nam se nameće i mogućnost da su se i one diferencijacijom izdiferencirale, pa makar i minimalno, i to tako da postoji specifičnost genskog mehanizma i specifičnost u produkciji receptivnih tvari na staničnoj membrani, a što omogućuje specifičnost u primanju makromolekula — antigena i prema tome specifičnost u njihovu djelovanju na stanicu. Sada se približavamo konsekvencama koje potječu iz Burnetove teorije klonske selekcije (Burnet, 1959).

Ova teorija selekcije, za razliku od one instrukcije (informacije), nedvojbeno je »biološkija«. Do sada nije bilo moguće da se izravno dokaže. Ako se s ovog stajališta razmatra samo imunološki sustav, onda poteškoća iskrsava u predodžbi da za svaki antigen na koji organizam reagira mora

postojati barem jedna adekvatna stanica ili barem »polovina« stanice ako se radi o heterozigotnom individuumu, a to znači strahovitu raznolikost među stanicama. Stoga su autori teorije selekcije zamislili da su u određenom stadiju neke stanice imunološkog sustava izrazito mutabilne (ili labilne u svom genskom mehanizmu), te su uveli pojam »hipermutabilnosti« stanica, a što je za sada praktički nemoguće dokazati.

Zanimljivo je da su se istraživanja koja su imala za cilj da opovrgnu teoriju selekcije, kao i ona koja su se usmjerila da ju potvrde, sve više približavala zapravo njenoj potvrdi, ali je pri tome i sama teorija doživljavala preinake koje njenu sliku prave dobrano različitom od one prve Burnetove predodžbe.

Biološki pristup u razmišljanju i zaključivanju tražio je paralele između stimulacije imunološki kompetentnih stanica s pomoću antigena i drugih stanica s pomoću specifičnih bjelančevinskih tvari. Traženje zajedničkog nazivnika za različite ili slične procese odnosno mehanizme znači traženje općih prirodnih zakonitosti. Katkada se u tome pretjeruje, što dovodi do zablude pogotovo ako se nasilno traži istovetnost osnovnih čimbenika u različitim procesima, ali sigurno je da to ovdje nije slučaj. Nameće se kao osnovno da u procesu prometa bjelančevinskih tvari na ili kroz membrane stanica moramo uzeti u obzir receptore na membrani, koji su stereospecifični za steričnu konfiguraciju tvari što prolaze.

U nastojanju da se teorija instrukcije (informacije) spasi pomišljalo se na ogroman broj različitih receptora na površini membrane koji bi se prilikom prolaza neke bjelančevine umnožili na membrani, pa bi dominirali specifični receptori ovisni o vrsti prenjete bjelančevine. Odmah je očito da je ovo forsirana konstrukcija, koja teško da može podnijeti iole ozbiljniju kritiku.

Dakle, diferencijacija što nastaje tijekom ontogenije dovela bi do stvaranja različitih stanica sa različitim funkcijom i različitim receptorima, dakle, različitim podložnošću prema bjelančevinskim (makromolekulskim) aktivnim tvarima. Diferencijacijom iz jedne stanice (zigote), određene genske strukture i funkcije, nastaju stanice najrazličitijih funkcija, koje se nužno ne moraju genski razlikovati, osim što represija gena (pa i derepresija) može biti različita. Sada nas ne čudi poznati fenomen »imunološke specifičnosti za organ« (pored one za jedinku i vrstu). Ne čudi nas da bi stanice iste funkcije i u različitim vrsta morale imati neke zajedničke antigene (receptore) na membrani kad znamo da istu funkciju reguliraju isti genski mehanizmi.

Ako pogledamo specifičnost antigena, onda u grubim crtama možemo razlikovati specifičnost za vrstu, pa onu za jedinku (u heterozigotnoj populaciji) i konačno onu za organ (tkivo). Uglavnom ovo se smatra dokazanim i teško je naći besprijekoran pokus koji bi govorio protiv ovoga, a nekamoli ovo opovrgao.

Čini nam se da autoimunološke (autoagresivne, autoalergijske) bolesti postaju ovim slijedom zaključivanja načelno uglavnom jasne.

Ako se složimo da stanice razvijenog organizma imaju na svojim membranama specifične receptore za određene bjelančevinske molekule, dakle specifične »antigene za organ«, onda bi nam autoimunološke bolesti bile ne samo jasne, nego bismo se morali pitati: zašto su one relativno tako rijetke, zašto to nije fiziološko stanje, nego patološko i k tome ne baš tako često? Zašto imunološki kompetentne stanice sa određenim recepto-

rima (antigenima) ne napadnu i svoje stanice sa drugim specifičnim receptorima (antigenima)? Ovim se sukobljavamo s pitanjem razlikovanja »svojeg« od »tudeg«.

Ova nereaktivnost protiv »svojih« antigena bila je povod mnogih tumačenja koja su imala i zahtjev da se smatraju hipotezama ili teorijama. Kažu da su antigenske razlike između imunološki kompetentnih stanica i »svojih« stanica drugih tkiva i organa male u poredbi sa količinom identičnih antigena među njima, pa da ne dolazi do izražaja reakcija protiv »svojih« stanica. Izgledala je donekle jasna ova nereaktivnost kad je otkrivena specifična imunološka tolerancija, pa se tumačenjem ovog fenomena tumačila i ova nereaktivnost. Međutim, teško je primiti tumačenje specifične imunološke tolerancije kao specifične promjene u funkciji imunološki kompetentne stanice; kao da se imunocit pretvorio u »toleranciju«. Vjerojatno je logičnije ovu toleranciju tumačiti općim fenomenom tolerancije prema »svojim« stanicama negoli obrnuto, što je dovelo do toga da je za tumačenje specifične imunološke tolerancije izmišljena posebna funkcija (afunkcija) imunološki kompetentnih stanica.

Burnet, (1959) drži da su u dodiru sa viškom antigena na »svojim« stanicama iščezle one imunološki kompetentne stanice koje bi prema »svojim« antigenima mogle reagirati. Kad bi to bilo tako, onda bi praktički bilo nemoguće izazvati autoimunološke bolesti, osim da pretpostavimo da antigeni specifični za pojedine organe ostaju na neki način odjeljeni od imunološkog tkiva, što ponovno zvuči kao ishitrena pretpostavka ad hoc.

Ostaje nam da zamislimo da organizam sam zaštiti antigenske determinantne stanice »svojih« tkiva i time onemogući napad »svojih« imunološki kompetentnih stanica na njih. Znači moramo razmišljati i o tome da specifične receptore na površini stanica treba prekriti i načiniti nedostupnima za napad bilo citotoksičnim protutijelima, bilo za dodir i uništenje limfocitima. Osim bjelančevinskih hormona specifičnih za svoje receptore, na staničnoj membrani i neki tipovi protutijela mogli bi imati sličnu funkciju u prekrivanju nekih receptora (antigena).

Prema ovome bi tolerancija na »svoja« tkiva bila posljedicom prekrivanja »antigena specifičnih za organ«, i to komplementarnim (necitotoksičnim) bjelančevinama (nekim imunoglobulinima). Shodno tome bi i specifična imunološka tolerancija mogla biti posljedicom analognog mehanizma samo prema antigenima druge alogenične jedinice. Nameće se da se zapitamo da li bi uloga ovih komplementarnih (necitotoksičnih) bjelančevina (imunoglobulina) bila samo u tome da prekriju »svoje« antigenske determinante ili one predstavljaju integralni dio stanice pa čak i stimulans za njenu funkciju analogno onoj bjelančevinskih hormona.

Prije negoli se išta započne, nužno je da se opstojnost tog bjelančevinskog (imunoglobulinskog) prekrivača dokaže, barem posredno.

Posredan dokaz za to je klasična anafilaktička reakcija. Danas gotovo svi drže da ona nastaje uslijed oslobađanja diferentnih tvari (H-tvari) iz stanica (uglavnom mastocita) razorenih nakon reakcije na njima adsorbiranih imunoglobulina sa odgovarajućim antigenima. Može se očekivati da se na membrane mastocita vezuju ne samo imunoglobulini nastali u većoj količini nakon senzibilizacije određenim antigenom, već i druge molekule iz familije imunoglobulina. Da je to doista tako, pokazuje i pojava anafilaktoidne reakcije nakon ubrizgavanja jedne jedine injekcije protu-

tijela na imunoglobuline (Humphrey, Mota, 1959) (2). Štaviše, ova reakcija je jača i anafilaktički šok je učestaliji i bolje izražen, što se tumači time da sada stupaju u reakciju sa protutijelima na imunoglobuline sve imunoglobulinske molekule adsorbirane na površini mastocita. Nadalje, prijenosom seruma iz senzibilizirane životinje u normalnu prenosi se i mogućnost izazivanja anafilaktičke reakcije u primalaca. Ovo navodi na zaključak da se i prenijeti imunoglobulini adsorbiraju na membrane stanica kojih raspad je odgovoran za izazivanje anafilaktičkog šoka.

Ako životinja preživi anafilaktičku reakciju, ona je za neko vrijeme rezistentna, bez obzira na koji od ovih triju načina pokušali izazvati reakciju. Uz samu mogućnost izazivanja šoka i ova rezistencija (desenzibilizacija) govori posredno da se imunoglobulini mogu vezati na površinu stanične membrane barem nekih stanica, u ovom slučaju mastocita, i, štaviše, čini se da su imunoglobulini na staničnoj membrani integralni dio mastocita, neophodan za njihovo preživljenje, a, vrlo vjerojatno, i za funkciju.

Eritrociti tanizirani ili tripsinizirani »ogole« i vrlo su podobni za adsorpciju mnogih bjelančevina. Štaviše, ako se višekratno ispiru u fiziološkoj otopini, možemo dobiti isto, dok se ispiranjem sa posebnom otopinom saharoze to ne postiže (Najjar, 1963; Najjar et al., 1967; Fidalgo et al., 1967; Fidalgo et al., 1967; Lahiri et al., 1970) Podrobnija istraživanja su pokazala da se otopinom saharoze na površini membrane eritrocita fiksiraju imunoglobulini, a u fiziološkoj otopini se odstranjuju. Nakon odstranjenja ovog imunoglobulinskog plašta eritrociti imaju oblik kupine, što potpuno nestaje ponovnim uranjanjem u serum. Isto ovako obrađeni polimorfonuklearni leukociti nakon odstranjenja adsorbiranih imunoglobulina gube sposobnost fagocitoze (Fidalgo, Najjar, 1967; Fidalgo, Najjar, 1967). U oba slučaja obrađene stanice imaju kraći vijek.

Imunoglobulini adsorbirani na membranama ovih dvaju tipova stanica su G-tipa (IgG), ali eritrofilna i leukofilna protutijela ne pripadaju istoj frakciji.

Postavlja se pitanje: zašto ova eritrofilna i leukofilna protutijela nisu citotoksična kada znamo da postoje i takva protutijela? Dapače, ova citofilna protutijela kao integralan dio stanice omogućuju njen život i funkciju.

Da bi se ovome doskočilo, pretpostavlja se da komplementarna protutijela ne mijenjaju ništa na strukturi antigena na koje pristaju kao ključ u bravu, dok bi subkomplementarna protutijela dovela do makar lagane distorzije antigena i svoje vlastite molekule (Fidalgo et al., 1967). Ova subkomplementarna protutijela bila bi i citotoksična (Najjar, 1963; Harshman, 1963; Harshman et al., 1963).

Dakle, djelovanjem subkomplementarnih protutijela na citofilna protutijela adsorbirana na membrani stanice ili djelovanjem antigena na koje su adsorbirana protutijela subkomplementarna došlo bi do takvih promjena adsorbiranih protutijela da bi integritet stanice bio poremećen i stanica ne bi bila sposobna za funkciju, pa ni za život.

Prema tome, ovdje nam se javljaju pretpostavke i razmišljanja koja leže u osnovi hipoteze o fiziološkoj funkciji imunološkog sustava. Komplementarni imunoglobulini prijanjali bi uz staničnu membranu omogućujući

time normalnu funkciju i život stanice i ujedno bi prekrili antigenske determinante i očuvali stanicu od vlastitih citotoksičkih protutijela ili od citotoksičkog djelovanja vlastitih limfoidnih stanica.

Imunološko pospješenie rasta tumora predstavlja jedan od najizrazitijih primjera korisnog djelovanja na stanicu onih protutijela (komplementarnih) koja prianjaju uz membranu stanice. Doduše, blagotvoran učinak na tumorsku stanicu štetan je po organizam što nosi tumor, ali upravo zbog toga se o ovom učinku relativno najviše i zna. Preko 60 godina stara je spoznaja (Flexner, Jobling, 1907) o imunološkom pospješenu rasta tumora (engl. enhancement). Najprije se držalo da je ovaj fenomen specifičan za alogeničnu transplantaciju tumora u preimunizirana primaoca. Ovaj fenomen predstavljao je, a i danas predstavlja imunološki paradoks. Naime, alogenična transplantacija tumora u miša uspijeva samo ako se primalac preimunizira davaočevim antigenima, ali tako da se izazove produkcija humoralnih protutijela. Nadalje, uspjele je prijenosom specifičnih protutijela iz ksenogeničnog davaoča također pospješiti rast alogeničnog tumora.

Dugo su ovi podaci bili zanemarivani, vjerojatno zbog toga što se nisu uklapali u klasičnu imunološku sliku. U novije vrijeme, iako dosta stidljivo, javljaju se ponovno provjeravanja ovog fenomena i nastojanja da se on razjasni (Kaliss, 1958; Hellström et al., 1969; Hellström, Hellström, 1969; Hellstrom, Hellstrom, 1970; Hellström et al., 1970; Hellström, Hellström, 1970; Sjögren et al., 1971). Ovo je osobito postalo zanimljivo kako su se gomilale spoznaje da se i autohtoni tumor antigenski razlikuje od domaćina. Uzimajući u obzir da odista humoralna protutijela oblažu antigenske determinantne tumora (Sjögren et al., 1971; Möller, Möller, 1962), pretpostavlja se da se time ili sprečava senzibilizacija domaćina na tumor, ili da je spriječena reakcija već senzibilizirana domaćina protiv tumora, ili, pak, da se domaćin inaktivira, tj. na neki način proizvede se tolerancija na tumorske antigene (Kaliss, 1958; Sjögren et al., 1971). Nedvojbeno je da bi trebalo uzeti u obzir i to da je vjerojatno imunoglobulinski plašt integralan dio tumorske stanice neophodan po njen život.

U nekih autohtonih tumora uspjele je dokazati da na površini membrane svojih stanica imaju imunoglobulinski plašt (Möller, Möller, 1962). Ovo konačno stvara potpuno novu sliku o imunološkim odnosima tumora i domaćina, kao i o mehanizmima specifične imunološke tolerancije, te o fenomenu imunološkog prepoznavanja »svojeg« od »tuđeg«.

Ako pođemo od ovog potonjeg, to onda znači da imunološki aparat (limfoidne stanice) ne napada vlastite organe, koji, inače, posjeduju antigene specifične za organ, samo zato što su ti antigeni pokriveni i zaštićeni vlastitim imunoglobulinima. Ako bi ta zaštita podbacila ili bi se odstranila, došlo bi do imunološke autoagresije i uništenja vlastitih stanica i organa, tj. do onog što obično zovemo autoimunološkom bolešću. Ovdje treba da se istakne zapažanje koje izrazito govori ovome u prilog. Naime, u štakora soja Lewis lako se i u velikoj učestalosti može razviti eksperimentalni alergijski encefalomijelitis nakon ubrizgavanja encefalitogene vakcine. Bolest je vrlo akutna, javlja se poliplegija i učestalost smrti je visoka. U štakora soja Wistar učestalost bolesti je vrlo niska, sa rijetkim

smrtnim ishodom (Paterson et al., 1965). Pojavljivanje specifičnih protumoždanih protutijela koja vezuju komplement upravo je suprotno. Ubrizgani štakori Wistar imaju ih u vrlo visokm titru, a štakori Lewis u vrlo niskom. Štaviše, Lewis štakori se mogu zaštititi od pojave bolesti ako im se ubrizga serum štakora Wistar sa visokim titrom protutijela na moždano tkivo što vezuju komplement. Limfociti iz ubrizganih štakora Wistar bili su senzibilizirani na moždano tkivo, jer prenijeti u štakore Lewis izazivaju eksperimentalni alergijski encefalomijelitis. Iako ovo nije izravan dokaz, ipak posredno govori za to da se u organizmu nalazi barijera između limfocita i vlastitih stanica i da se ta barijera najvjerojatnije sastoji od vlastitih imunoglobulina što prijanjaju uz antigenske determinante stanica vlastitih organa.

Mehanizam specifične imunološke tolerancije daleko je od toga da bude jasan, ali bi se moglo pretpostaviti da se između vlastitih i tuđih limfoidnih stanica umetnula slična imunoglobulinska barijera. To znači da bi davaočeve limfoidne stanice bile obložene primaočevim imunoglobulinima, a primaočeve davaočevim. Ukoliko se radi o tome da je davalac hibrid F_1 , onda bi uz primaočeve i davaočeve stanice bile obložene primaočevim imunoglobulinima. Ova pretpostavka nije naišla na oduševljenje, jer u korijenu mijenja osnove hipoteze o mehanizmu specifične imunološke tolerancije. Međutim, u potonje vrijeme dokazano je da su u tolerantnih miševa limfoidne stanice senzibilizirane, ali se u serumu nalaze faktori (protutijela) što priječe uništenje davaočevih stanica (Hellström et al., 1971). Serumom se ovo daje prenijeti. Dakle, nedvojbeno je da se radi o mehanizmu načelno sličnom onom prethodnom, dakle, da i tolerancija prema alogeničnim antigenima postoji onda kada su adekvatna necitotoksička protutijela obložila antigenske determinante alogeničnih stanica.

Već je iznijet mehanizam imunološkog pospješenja rasta tumora, što je načelno jednako mehanizmu tolerancije svojih stanica i mehanizmu specifične imunološke tolerancije pri transplantaciji tkiva i organa. Prema tome, odstranjenje imunoglobulinskog pokrivača trebalo bi da omogući imunološku autoagresiju, da odstrani specifičnu imunološku toleranciju i da načini tumor dostupnim vlastitim senzibiliziranim limfocitima, tj. da prekine toleranciju prema tumoru.

Postoje pokušaji (Allegratti et al., 1970; Allegratti et al., 1971), da se ovaj imunoglobulinski prekrivač okolo tumorskih stanica odstrani ili barem promijeni. Ovakvi zahvati, ako bi dali očekivane rezultate, dali bi ex iuvantibus posredan odgovor na pitanje opstojnosti prekrivača i njegove uloge.

U tu svrhu pokušalo se sa djelovanjem protutijela i enzima na imunoglobulinski prekrivač tumorskih stanica. Već se ranije znalo i naprijed je opisano da protutijela na imunoglobuline, ubrizgana životinji, izazivaju reakciju potpuno sličnu anafilaktičkoj reakciji, dapače u prikladnoj dozi izazivaju šok i smrt (Humphrey, Mota, 1959; Dekaris, 1965) Ako je tačno da je anafilaktička reakcija rezultat antigen-protutijelo reakcije na površini stanice, onda bi se takva reakcija mogla odigrati i na površini tumorske stanice, što bi dovelo do odstranjenja ili promjene imunoglobulinskog prekrivača. Takve stanice bile bi slabije sposobne za život i/ili dostupne za napad vlastitih limfocita.

Antiserum kunića protiv štakorskog seruma (KAŠS) ima izrazito anafilaktoidno djelovanje ako se štakoru ubrizga intravenski (De karis, 1965). Ovo uglavnom vrijedi samo za antiserume dobivene kratkotrajnom imunizacijom, što govori da su za to odgovorni imunoglobulini M (IgM) u serumu kunića (Alle gretti et al., 1970).

Tabela 1.

SMRTNOST NORMALNIH ŠTAKORA I ŠTAKORA KOJI IMAJU U PERITONEJSKOJ ŠUPLJINI STRANICE YOSHIDINOG ASCITIČNOG SARKOMA (YAS) I DOBILI SU INTRAVENSKI ILI INTRAPERITONEJSKI KUNICJI ANTISERUM PROTIV ŠTAKORSKOG SERUMA (KAŠS_k) ILI KUNICJI NORMALAN SERUM (KNS)

Obrada štakora	Broj štakora	Postotak štakora uginulih na dan														Ukupno smrtnost %			
		0*	1	2**	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14	15	16
YAS KASS, i. v.	58		5	2		3		7	9	19	7		22	14	4	5	3		100
YAS KASS, i. p.	52				46	40	8	4		2									100
YAS KNS i. v.	44				43	41	16												100
YAS KNS i. p.	44				50	36	14												100
YAS	26				62	35	3												100
KASS i. p.	28	36	29	25															90
KASS, i. p.	24		17																17
YAS KASS i. v.	20				40	35	25												100

* Dan inokulacije YAS.

** Dan injekcije KASS (kratkotrajna imunizacija), KNS ili KASS (dugotrajna imunizacija).

Tabela 1 prikazuje učinak ubrizgavanja KAŠS na preživljenje štakora koji su prije 48 sati dobili u peritonejsku šupljinu stanice Yoshidinog ascitičnog sarkoma (YAS). Kao što se vidi, takvi štakori dobrim dijelom nadžive štakore u kontrolnim skupinama, koji uginu gotovo svi 5. do 7. dan nakon ubrizgavanja stanica YAS. KAŠS dobiven dugotrajnom imunizacijom nije imao taj učinak. Karakteristično je da su štakori koji nose tumor YAS manje podložni anafilaktoidnom djelovanju KAŠS; kao da je tumor odvuкао od stanica šok-organa imunoglobulinske molekule. Ovaj rezultat, iako ohrabruje, samo posredno odgovara na pitanje opstojnosti imunoglobulinskog prekrivača na tumorskim stanicama, ali daje nesumnjiv poriv da se dalje istraži, koliko sam ovaj fenomen, toliko i izložena hipoteza o fiziološkoj ulozi protutijela.

Već ovaj rezultat nameće zaključak da bi svi agensi koji bi uspjeli odstraniti ili promijeniti imunoglobulinsku molekulu imali isti učinak na stanice koje na svojoj membrani imaju imunoglobulinski prekrivač. Iz bijelih krvnih tjelešaca svinje izoliran je katepsin, koji pri pH 7—7,5 specifično cijepa globuline gama i dobrim dijelom globuline beta (Alle gretti et al., 1971). Ovaj katepsin ubrizgan štakoru intravenski daje anafilaktoidnu reakciju potpunoma sličnu onoj dobivenoj sa KAŠS. Treba napomenuti da je to jedini katepsin koji je specifično djelovao na globuline gama i jedini koji je izazvao reakciju sličnu anafilaktičkom šoku.

Tabela 2.

SMRTNOST ŠTAKORA KOJI IMAJU U PERITONEJSKOJ ŠUPLJINI
STANICE YOSHIDINOG ASCITIČNOG TUMORA I DOBILI SU
INTRAVENSKI KATEPSINE SPECIFIČNE ZA BETA- I GAMA-GLOBULINE

Obrada štakora	Broj štakora	Broj štakora uginullh na dan															
		0*	1	2**	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
YAS Katepsin	25			1			1	6	1		1	2	3	4	2	1	3
YAS Katepsin	21						15	6									
YAS Katepsin	18			12	1												

* Dan inokulacije YAS.
nizacija).

** Dan injekcije katepsina.

Tabela 2 prikazuje da je ovaj katepsin kao i KAŠS odgodio uginuće štakora koji su prije 48 sati dobili u peritonejsku šupljinu stanice YAS. Koliko god ovo bio ponovni potvrđan rezultat, ipak je ovo samo posredan dokaz za pretpostavljenu fiziološku ulogu imunološke reakcije. Posebno čini se vrijednim što je ovakav način gledanja na imunološku reakciju dao nov pristup istraživanju imunoloških odnosa između tumora i domaćina. Mora se priznati da su svi dosadašnji zahvati koji su išli u smislu pojačanja imunološke reakcije domaćina protiv tumora dali ili nikakav ili, pak, paradoksalan rezultat. Ovdje se radi o napadu usmjerenom prema domaćinovima imunoglobulinima, a sa prilično ohrabrujućim rezultatom.

U ovom izlaganju usmjerili smo gotovo isključivo pogled na fiziološku ulogu imunološke reakcije humoralnog tipa. Nije ovdje mjesto da razglabamo da li su humoralna i celularna reakcija dijelovi istog mehanizma ili se radi o odvojenim nizovima stanica (dakle o dvama organima), tj. o stanicama T (timus) i o stanicama B (Bursa, odnosno bone marrow). Međutim, potrebno je osvrnuti se i na imunološku reakciju celularnog tipa. Čini se da je do sada najbolje osvijetljena fiziološka funkcija celularnog tipa teorijom alogenične inhibicije ili singeničke preferencije (Möller, Möller, 1965; Möller et al., 1966). Najizrazitiji primjer ovog jest citotoksički učinak in vitro limfocita miša hibrida F₁ na stanice miša roditeljskog soja. Te stanice se moraju dovesti međusobno u dodir, a to se postiže s pomoću telećeg seruma ili fitohemaglutinina. Može se zapaziti da ovo uspijeva u kratkoj kulturi in vitro, gdje je teško pretpostaviti da bi stanice miševa roditeljskog soja još imale imunoglobulinski prekrivač. Autori ovih hipoteza prikazuju ovaj mehanizam odgovornim za odstranjivanje svih stanica koji bi intra vitam doživjele genske, tj. antigenske aberacije. Mi sada možemo dodati da će te stanice (a takve su i tumorske stanice) doista moći biti odstranjene mehanizmom alogenične inhibicije ukoliko se u familiji imunoglobulina organizma po slučaju već ne nalaze i molekule takve stereospecifičnosti da mogu prekriti nove antigenske determinante tumorskih stanica, a uz to da nisu citoskične. To je pitanje slučajnosti, ali ovo nam donekle može dati odgovor na pitanje zašto je tumor, ipak, relativno rijetka bolest prema vjerojatnosti da jedna, bilo koja, od golemog broja stanica organizma doživi tumorsku alteraciju. Ovo nam, nadalje, nameće pitanje da li je neki individuum mogao dobiti bilo koji tumor ili upravo onaj koji ima budući da se, prema ovim hipotezama, morala u isto vrijeme dogoditi među mnogobrojnim mogućim promjenama u golemom broju stanica upravo ona promjena u gen-

skom mehanizmu jedne stanice koja će ispoljiti takve antigenske determinante u toj stanici, na koje se u familiji imunoglobulina u tom času nalaze one molekule koje te determinante mogu prekriti i time stanicu zaštititi.

Ovo izlaganje, kao što se vidi, izrazito se temelji na opisu fenomena, a manje na njihovoj mjerljivosti i uzročnoj povezanosti. To je još uvijek nedostatak imunologije kao znanstvene discipline, pa prema tome i ono što iz toga izvlačimo — mora imati, u najmanju ruku, iste takve nedostatke. Nedvojbeno je da su ove ideje vrlo smione, da je izravnih dokaza još uvijek premalo, ali u znanosti je danas više nego ikada neophodno mobilizirati istraživače na smione zahvate, koji bi bili što dalje od »varijacija na temu«, da bi se time otvorili novi putevi ka novim spoznajama.

NIKŠA ALLEGRETTI

PHYSIOLOGICAL ROLE OF THE IMMUNE REACTION

SUMMARY

There are experimental data which suggest that the immune reaction should have a physiological role, the usual immune response being only an expression of the same phenomenon resulting upon the inoculation of unfamiliar antigenic molecules.

Besides experimental data the attention should be paid to the well known »instructive« and »selective« theories of the immunological reaction. If »instruction« of immunologically competent cells would play a predominant role in the immunological response, then the cells should be omnipotent. This would imply in responsible cells occurring either change or derepression of specific gene(s) upon inoculation of an unfamiliar antigen. Whatsoever the mechanisms of changes in stimulated cells are, the ability of cells to accept all kinds of antigens could be explained by assuming the existence of a great many of different antigen receptors being scattered over the cell membrane.

This way of thinking conduces to the study of receptors for proteins (also protein hormones) on the surface of cell membrane. Differentiated cells have specific receptors on the surface of their cell membranes, and there is no reason to call in question this quality in immunologically competent cells. These postulates are in the ground of the Burnet's clonal selection theory. Receptors as well as antigens are expressions of the genes activity in cells. Thereafter it appears conceivable that the cells displaying the same function and producing the same product possess common antigens even if they originate from different species (organ-specific antigens). Despite the existence of organ-specific antigens the autoaggressive diseases are however infrequent. This phenomenon of autoaggressive diseases belongs to the problem of »self-not self recognition«, or even »self-tolerance«. It seems that the tolerance of allogeneic or xenogeneic antigens in chimaeric organisms as well as of tumour antigens in tumourous organisms belongs to the same phenomenon.

There appears to be nothing for it, but to assume that organisms cover antigenic sites of »own« cells with complementary proteins (immunoglobulins, protein-hormones or other proteins). Consequently the same

should occur in chimaeric animals and in tumour bearing organisms. By covering the antigenic sites of »own«, foreign or tumour cells they become inaccessible to the destructive action of cellular immunity. However, these protein coats could act as integral part of cell membranes thus enabling the cells to function and to survive.

Some data speak strongly in favour of the described hypothesis. Anaphylactic reaction is known to be mainly due to the reaction of immunoglobulins adsorbed on the surface of cell membranes of »shock-organ(s)«. Tanned and trypsinized erythrocytes are suitable for adsorption of proteins. Erythrocytes and polymorphonuclear leukocytes can be washed from coating immunoglobulins thus undergoing the loss of their function as well as the ability to survive.

It appears interesting to note that Wistar rats displaying a high incidence of experimental allergic encephalomyelitis have in serum a low titer of complement fixating anti-brain antibodies. Lewis rats show an opposite picture.

Enhancement of tumour growth with complementary immunoglobulins speaks strongly in favour of the theory of the protective activity of proteins coating the specific antigenic sites of cell membranes.

It has been tried to produce de-enhancement by anti-serum antibodies and cathepsins acting mostly specifically upon gamma, (and beta) globulins. Indeed, rats inoculated with Yoshida ascites sarcoma cells survived longer if injected intravenously with rabbit antiserum against rat serum or cathepsins from leukocytes of swine blood.

Regarding to cellular immunity the best way to learn its physiological role seems to be by understanding the phenomenon lying in the ground of the hypothesis of allogeneic inhibition. This mechanism would be responsible for the elimination of all new formed cells or antigen(s) which were not suitable to be protected by coating proteins.

LITERATURA

Burnet, F. M.: The Clonal Selection Theory of Acquired Immunity, Cambridge University Press and Vanderbilt University Press, 1959.

Humphrey, J. H., Mota, I., The mechanism of anaphylaxis: Specificity of antigen-induced mast cell damage in anaphylaxis in the guinea pig. *Immunology* 2, 31—43, 1959.

Najjar, V. A.: The binding of autologous gamma-globulin with isohemagglutinin activity to human red blood cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 11, 411—415, 1963.

Najjar, V. A., Robinson, J. P., Lawton, A. R., Fidalgo, B. V.: The physiological role of the lymphoid system. I. An extension of the mechanism of antibody-antigen reaction. *John Hopkins Med. J.* 120, 63—77, 1967.

Fidalgo, B. V., Najjar, V. A., Zukoski, C. F., Katayama, Y.: The physiological role of the lymphoid system. II. Erythrophilic gamma-globulin and the survival of the erythrocyte. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 57, 665—672, 1967.

Fidalgo, B. V., Katayama, Y., Najjar, V. A.: The physiological role of the lymphoid system. V. The binding of autologous (erythrophilic) gamma-globulin to human red blood cells. *Biochemistry* 6, 3378—3385, 1967.

Lahiri, A. K., Mitchell, W. M., Najjar, V. A.: The physiological role of the lymphoid system. VIII. The nature of the in vitro binding of erythrophilic gamma-globulin and its effect on the configuration of the erythrocyte. *J. Biol. Chem.* 245, 3906—3910, 1970.

- Fidalgo, B. V., Najjar, V. A.: The physiological role of the lymphoid system. III. Leucophilic gamma-globulin and the phagocytic activity of the polymorphonuclear leucocyte. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 57, 957—964, 1967.
- Fadalgo, B. V., Najjar, V. A.: The physiological role of the lymphoid system. VI. The stimulatory effect of leucophilic gamma-globulin (leucokinin) on the phagocytic activity of human polymorphonuclear leucocyte. *Biochemistry* 6, 3386—3392, 1967.
- Najjar, V. A.: Some aspects of antibody-antigen reactions and theoretical consideration of the immunologic response. *Physiol. Rev.* 43, 243—262, 1963.
- Harshman, S.: The theory of subcomplementarity as it pertains to the mechanism of antibody-antigen reaction. *Amer. J. Hyg. Monograph. Ser.* 22, 20—29, 1963.
- Harshman, S., Robinson, J. P., Najjar, V. A.: The mechanism of antibody-antigen interaction and the theory of subcomplementarity between the reactive sites of antibody and antigen. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 103, 688—714, 1963.
- Flexner, S., Jobling, J.: On the promoting influence of heated tumor emulsions on tumor growth. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 4, 156—157, 1907.
- Kaliss, N.: Immunological enhancement of tumor homografts in mice. A review. *Cancer Research* 18, 992—1003, 1958.
- Hellström, I., Evans, C. A., Hellström, K. E.: Cellular immunity and its serum-mediated inhibition in Shope-virus-induced rabbit papillomas. *Int. J. Cancer* 4, 601—607, 1969.
- Hellström, I., Hellström, K. E.: Studies on cellular immunity and its serum-mediated inhibition in Moloney-virus-induced mouse sarcomas. *Int. J. Cancer* 4, 587—600, 1969.
- Hellström, I., Hellström, K. E.: Colony inhibition studies on blocking and non-blocking serum effects on cellular immunity to Moloney sarcomas. *Int. J. Cancer* 5, 195—201, 1970.
- Hellström, I., Hellström, K. E., Sjögren, H. O.: Serum mediated inhibition of cellular immunity to methylcholanthrene induced murine sarcomas. *Cell. Immunology* 1, 18—30, 1970.
- Hellström, K. E., Hellström, I.: Immunological enhancement as studied by cell culture techniques. *Ann. Rev. Microbiol.* 24, 373—398, 1970.
- Sjögren, H. O., Hellström, I., Bansal, S. C., Hellström, K. E.: Suggestive evidence that the «blocking antibodies» of tumor-bearing individuals may be antigen-antibody complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 68, 1372—1375, 1971.
- Möller, G., Möller, E.: Reaction of various normal and neoplastic cells with humoral isoantibodies, u Mechanisms of Immunological Tolerance, ČSAV, Prag 1962, str. 459—487.
- Paterson, P. Y., Jacobs, A. F., Coia, E. M.: Complement-fixing antibrain antibodies and allergic encephalomyelitis. II. Further studies concerning their protective role. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 124, 292—298, 1965.
- Hellström, I., Hellström, K. E., Allison, A. C.: Neonatally induced allograft tolerance may be mediated by serum-borne factors. *Nature* 230, 49—50, 1971.
- Allegretti, N., Jurin, N., Andreis, I.: Delayed mortality after injection of rabbit anti-serum against rat serum into rats bearing Yoshida ascites sarcoma. *Period. Biol.* 72, 75—78, 1970.
- Allegretti, N., Andreis, I., Kopitar, M., Lebez, D.: Cathepsins inhibit growth of Yoshida ascites sarcoma in rat. *Nature New Biology* 229, 180—181, 1971.
- Dekaris, D.: The effect of anti-serum antibodies in rats. *Intern. Arch. Allergy* 28, 193—200, 1965.

Möller, G., Möller, E.: Plaque-formation by non-immune and X-irradiated lymphoid cells on monolayers of mouse embryo cells. *Nature* 208, 260—263, 1965.

Möller, G., Beckman, V., Lundgren, G.: In vitro destruction of human fibroblasts by non-immune lymphoid cells. *Nature* 212, 1203—1207, 1966.

