

FORMACION NORMAL DE AUTOANTICUERPOS Y SU REGULACION POR EL EQUILIBRIO INMUNOLOGICO

Jordi Gras Riera

Acadèmic Numerari de la Reial Acadèmia de Medicina de Barcelona

RESUMEN: *En la actualidad, la existencia de autoanticuerpos a títulos bajos es aceptada como un hecho general y normal y la distinción entre lo "propio" y lo "no propio" ha dejado de tener valor como principio básico de la inmunología. La formación o no formación de autoanticuerpos, como la de anticuerpos en general, es una función normal y regulable del equilibrio homeostático del organismo, o en particular, del equilibrio inmunológico, que puede alterarse o presentar desequilibrios por anomalías o trastornos patológicos.*

Después de citar diversos datos y hallazgos que han conducido a este nuevo enfoque de la inmunología, el autor resume investigaciones propias que le llevaron a ser precursor o adelantado de las interpretaciones actualmente vigentes.

Considerando que los antígenos propios estimulan constantemente el sistema inmunitario, el autor investigó las respuestas inmunitarias a la administración persistente de antígenos no propios, a dosis inmunógenas (no masivas) y en animales adultos. Desde 1956 y con distintos modelos, pudo demostrar que la persistencia de los estímulos antigénicos provoca inhibiciones estables y persistentes de las respuestas inmunitarias. En 1968, la interpretación de sus resultados le llevó a postular la existencia de un equilibrio u homeostasis inmunológica antígeno dependiente: la administración persistente del antígeno llega a inducir la inhibición final de la respuesta, precedida de un cambio en la formación de anticuerpos IgM e IgG.

El equilibrio u homeostasis inmunológica que propuso el autor es de amplia significación biológica y con validez para explicar la tolerancia de toda clase de antígenos. Mientras primeros estímulos provocan respuestas rápidas y locales, con poca difusión y tiempo de vida corto, que corresponden a IgM, estímulos persistentes llegan a provocar respuestas difusas y generalizadas a todo el organismo, con tiempo de vida larga, que corresponde a IgG. Si el estímulo está siempre presente o persiste largo tiempo, se alcanza la inhibición o tolerancia, es decir un estado de no respuesta. La respuesta a los antígenos propios está regulada por este equilibrio inmunológico antígeno dependiente y su tolerancia se puede explicar sin necesidad de recurrir a la distinción entre lo "propio" y "no propio".

Conferència de la "LLIÇÓ PI I SUNYER" pronunciada el 20 d'octubre del 1986, en l'acte solemne de la festa patronal de la Facultat de Medicina de Barcelona, presidit per l'Excm. i Mgnfc. Sr. Rector de la Universitat, Professor JOSEP M. BRICALL.

Procedí a la conferència una breu exposició de la situació i els projectes de la nostra Facultat, pel Molt Il·lustre Sr. Degà, Professor MIGUEL-ANGEL NALDA. A continuació, el Professor SANTIAGO VIDAL i SIVILLA glossà la personalitat i els mèrits del Dr. JORDI GRAS i RIERA, encarregat enguany de la "Lliçó Pi i Sunyer" que fou instituïda l'any 1982 en record i homenatge a la figura del Professor AUGUST PI i SUNYER.

Després de la conferència i d'unes paraules del President de la Divisió de Ciències de la Salut, Professor JOSEP CARRERAS, enaltint la tasca docent del Dr. Gras i Riera, l'Excm. i Mgnfc. Sr. Rector, Professor JOSEP M. BRICALL, recordà la gestió i aquella Universitat Autònoma, de quin Patronat fou membre molt actiu i promotor el Professor AUGUST PI i SUNYER.

Com a cloenda de l'acte, lliurà el Professor JORDI GRAS i RIERA la medalla PI i SUNYER, atorgada anyalment per la Facultat de Medicina de Barcelona com a guardó de mèrits de recerca i docència.

L'acte fou honorat amb la presència de l'Excm. Sr. PERE PI i SUNYER, ex conseller de Cultura de la Generalitat, qui representava també als seus germans Professors JAUME i CÉSAR, fills tots del membre AUGUST PI i SUNYER. També hi assistiren nombrosos metges de la primera promoció de la Universitat Autònoma, la darrera que ensenyà el Professor PI i SUNYER a Barcelona i a la que ell anomenava festiuament "Fills del Patronat". D'aquesta promoció d'estudiants n'era el Dr. JORDI GRAS i RIERA, qui col·laborà, al mateix temps i com a alumne intern, en l'Institut de Fisiologia dirigit pel Professor AUGUST PI i SUNYER.

A principios de siglo Ehrlich y Morgenroth (1900-1901) comprobaron que las cabras inmunizadas con sus propios hematíes no formaban anticuerpos frente a los mismos, lo que les llevó a formular el concepto del "horror autotoxicus", sin eliminar no obstante, la posibilidad de que en determinadas ocasiones se pudiese producir la anomalía de la formación de autoanticuerpos frente a componentes propios, es decir, de autoanticuerpos, con consecuencias patológicas (Cruise y cols., 1). No obstante y a pesar también que a principios de siglo (Metchnikov, 1903) se había señalado la formación de autoanticuerpos anti-cristalino y anti-espermatozoides, se aceptaba de una manera general que un organismo no forma anticuerpos contra sus propios componentes, **como si diferenciase "lo propio" de lo "no propio"**.

En el momento actual, la existencia de autoanticuerpos a títulos bajos ha de aceptarse como un hecho general y normal y no existe la diferenciación entre lo "propio" y lo "no propio". La formación o no formación de autoanticuerpos está regulada por un mecanismo general de "Equilibrio u Homeostasis Inmunológica".

En estos últimos años, especialmente después de los trabajos de Kidd y Friedenwald en 1942, demostrando la existencia normal en el conejo de factores circulantes antitissulares y con mucha más intensidad, a partir de la década de los 60, se ha descrito la presencia normal de autoanticuerpos, a títulos bajos y con una frecuencia que aumenta con la edad (2, 3), frente a un gran número de antígenos circulantes o tisulares, como ya hemos destacado extensamente y con anterioridad (4, 5). Muchos de los descritos inicialmente en sueros patológicos se ha demostrado después que también se encuentran en los sueros normales a títulos bajos, como el factor Waaler-Rose, que es un anti-gamma (6) y los antinucleares (7, 8) de los que volveremos a hablar al final.

En estos momentos creemos interesante destacar la gran facilidad con que pueden aparecer anticuerpos anti-antígenos tisulares provocando experimentalmente lesiones tóxicas de un órgano inyectando papilla de órganos (9, 10, 11, 12, 13, 14). En el caso de la clínica humana son muy demostrati-

vos los datos obtenidos en las cardiotoromías y vasectomías; en ambos casos los autoanticuerpos que pueden encontrarse normalmente a títulos bajos, llegan a encontrarse en el 90 a 100% de los operados y a títulos mucho más altos, con una especificidad muy superior y hasta frente a antígenos para los que no aparecen normalmente (15, 16).

En síntesis, tenemos que **frente a antígenos habitualmente no circulantes, o en pequeña cantidad y discontinuamente, se encuentran normalmente autoanticuerpos**. En estos últimos cuatro años Avrameas y cols., por técnicas de inmuoabsorción, han comprobado en el suero normal la presencia de anticuerpos anti Tubulina, Actina, Mioglobina, Tiroglobulina, Fetuina, Albúmina, Transferrina. Estos anticuerpos han sido detectados también en el ratón, incluso con obtención de híbridomas, comprobándose también, que algunos de estos autoanticuerpos son polifuncionales, es decir, que reaccionan con más de uno de dichos antígenos y hasta con TNP (17, 18, 19). Sugieren que si estos estudios se extienden a otros antígenos, se encontrarán en el suero normal anticuerpos naturales con capacidad de reaccionar con todos o casi todos los antígenos "propios".

En contraste, tenemos la **gran dificultad que se observa para la formación de autoanticuerpos frente a antígenos muy inmunogénicos y que circulan constantemente en cantidades altas**, como son los antígenos del sistema ABO. Si nos fijamos en los grupos A y B, comprobaremos que en un individuo A se encuentran aglutininas anti-B y en un individuo B, anti-A, a títulos netamente detectables, pero poquísimas veces encontraremos anti-A en un individuo A, o anti-B en un B. En cuanto a los subtipos de A, se encuentra Anti-A₂ en un 0.40% de los A₁ y anti-A₁ en un 20% de los A₂ (Wiener, 20).

Las sustancias de grupo sanguíneo se encuentran también, en los sujetos secretores, en la saliva y en los líquidos orgánicos y fuera de nuestro organismo en bacterias y vegetales, por lo que estamos constantemente estimulados por las mismas. Resulta, por tanto, que un sujeto A está sometido a un estímulo constante y a un nivel alto de su propia sustancia A y de la procedente del exte-

rior y no presenta autoanticuerpos, si no son del subtipo que no sea el suyo. Contrariamente, un sujeto A está sometido únicamente a los estímulos de la sustancia B procedente del exterior, en forma esporádica y menos intensa y tiene anti-B. Igualmente un sujeto B está constantemente estimulado por su propia sustancia B y la que procede del exterior y en rarísimas ocasiones se ha señalado la presencia de un auto-anti-B; por el contrario tiene aglutininas anti-A. La existencia de auto-anti-B se ha descrito en individuos con antígenos B débiles, características del subtipo B_w en algún caso de individuos A_1B y, recientemente, un anti-B en un paciente con una leucemia aguda (21).

Ante esta elevada frecuencia de autoanticuerpos parece inevitable la conclusión de que **la existencia de autoanticuerpos es un hecho normal, que no puede aceptarse la diferenciación inmunológica entre "lo propio" y lo "no propio"** y que lo que tenemos que explicar es el mecanismo que regula su formación o no formación y, en el primer caso, su nivel.

Al abandonarse las teorías instructivas de la formación de anticuerpos e imponerse las selectivas, coincidiendo con las investigaciones sobre la tolerancia inmunológica inducida por el contacto pre o perinatal con un antígeno, Burnet y Lederberg sugirieron, en 1957-59, la "hipótesis de la supresión o delación clonal" o de los "clones prohibidos". En síntesis, postula que el contacto de un determinado antígeno en una fase de inmadurez de la célula formadora del correspondiente anticuerpo lo elimina (22); la eliminación de un clon de una determinada especificidad implica que no puede reaparecer sin la aparición de un mutante con la correspondiente especificidad, lo que es difícil de compaginar con la existencia normal de autoanticuerpos tan abundantes.

Para obviar esta dificultad, Nossal y Pike propusieron, en 1975, la "hipótesis del aborto clonal" (23) en la que el clon no es eliminado sino frenado en un determinado estadio de su desarrollo; posteriormente lo interpretan como una "anergia del clon". Esta inhibición del clon corresponde a la acción del antígeno en una de las fases de la maduración-diferenciación de la célula B,

dentro del "Equilibrio inmunológico u Homeostasis inmunológica antígeno-dependiente" que postulamos desde el año 1968 (24, 25) y que seguidamente expondremos.

Al comprobarse la existencia de gemelos con quimerismas hematológicos, a partir de las observaciones de Owen en 1945 (26) y su inducción experimental por Billingham, Brent y Medawar en 1953 (27, 28, 29), se despertó el interés por el estudio de la "tolerancia inmunológica", inducida por el contacto pre o perinatal con un antígeno, y por el de la "parálisis inmunológica", inducida por una dosis masiva de antígeno y reestudiada por Felton a partir de 1942 (30).

Personalmente, consideramos que la diferencia entre antígenos "propios" y "no propios", especialmente en el caso de los sanguíneos, consiste no sólo en que los primeros se encuentran en el organismo desde el desarrollo embrionario, sino que puede estimular constantemente el sistema inmunitario y, en consecuencia, pensamos que la administración persistente de un antígeno a un animal adulto y a una dosis inmunogénica (no masiva), durante un tiempo suficientemente prolongado, podría dar lugar a una inhibición de la respuesta.

A partir de 1956 confirmamos esta posibilidad en diferentes modelos experimentales (31, 32, 33, 34). Posteriormente lo estudiamos más extensamente en el modelo *Brucella*-conejo (antígeno T independiente) y valorando individualizadas las respuestas en IgM y IgG (35).

Como se observa en la Fig. 1 se presenta inicialmente una respuesta rápida e intensa en IgM, que declina a valores bajos a los 40 días y manteniéndose desde este momento en valores bajos. La respuesta en IgG es inicialmente muy pequeña, aumenta intensamente alrededor de los 40 días, llega a un máximo a los seis meses y después desciende, llegando a valores muy bajos a los 12 meses. Si en este momento administramos una dosis 10 veces superior, se observa un pequeño aumento de la respuesta en IgG, sin modificación de la IgM y interrumpiendo a partir de aquí la inyección de *Brucella* y, a los seis meses volvemos a inyectar una dosis elevada, se observa que aparece una respuesta bastante alta (Fig. 2), integrada por IgM y IgG en proporciones casi iguales.

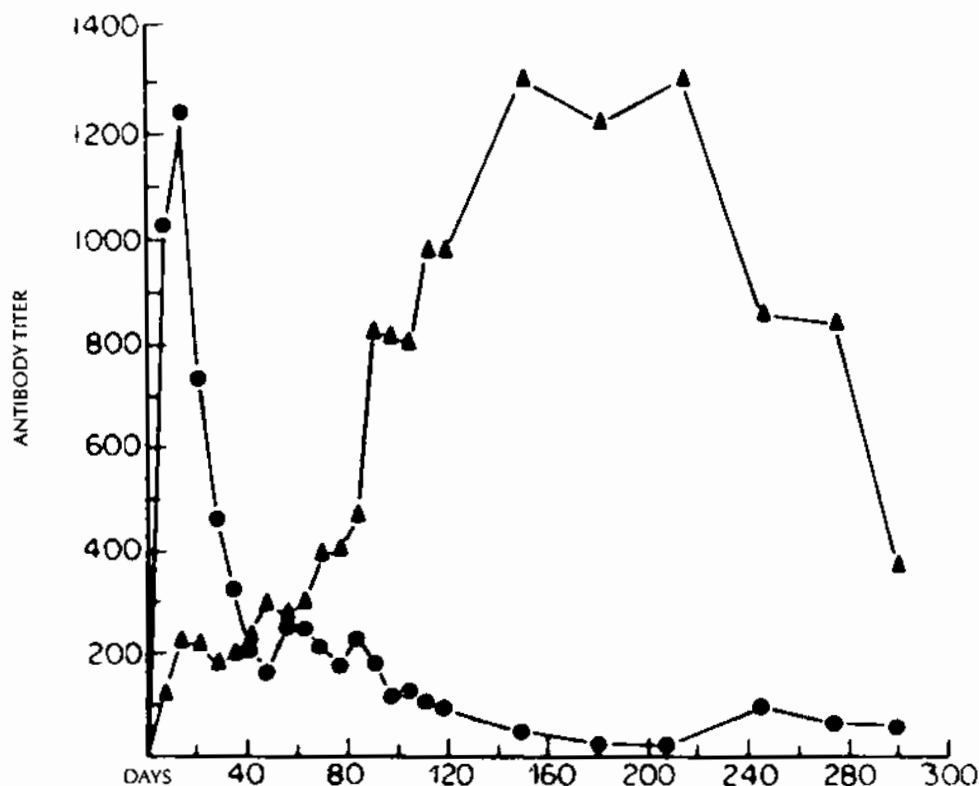
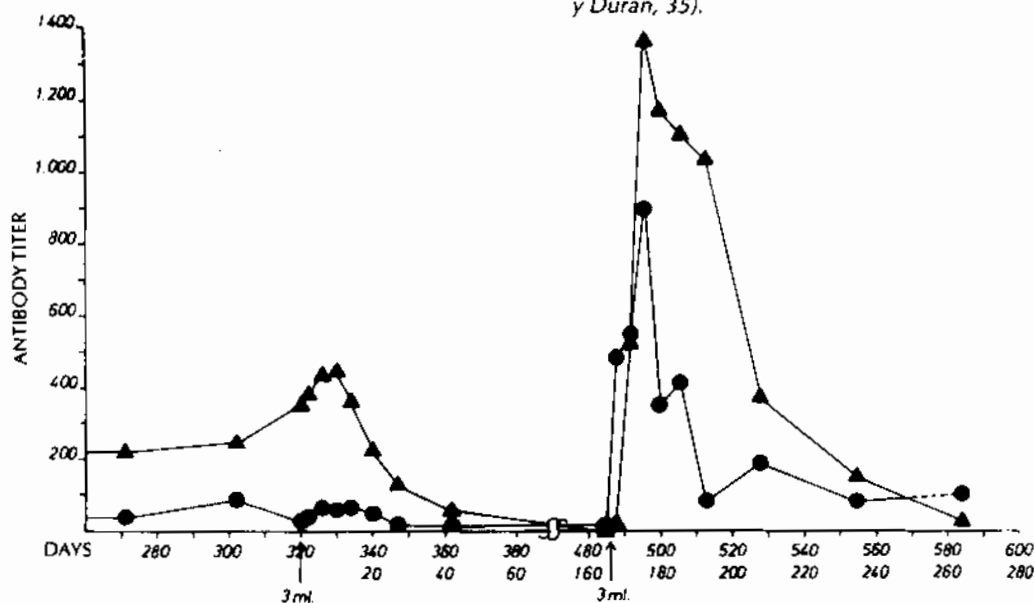


Figura 1. Curvas promedio de las respuestas en IgM (●) e IgG (▲) en conejos inoculados persistentemente con *Br. Abortus* (≈ 1 mg p. seco/3 veces semana) (Gras, Roca, Ayats, Castro y Durán, 35).

Figura 2. Respuestas en IgM (●) e IgG (▲) de los conejos inmunizados persistentemente como en la Fig. 1, a la administración el día 320 de una dosis 10 veces superior (10 mg) de *Br. Abortus* y a una segunda inyección de la misma dosis después de seis meses de reposo (Gras, Roca, Ayats, Castro y Durán, 35).



Por tanto, es evidente que no se trata de una **inhibición estable y persistente**, sino que **requiere la persistencia del estímulo antigénico**, y desaparece si éste se interrumpe. Por esto, formulamos en 1968 la existencia de un "Equilibrio Inmunológico o Homeostasis Inmunológica antígeno dependiente" (24, 25).

Para el **cambio de IgM a IgG e inhibición de la respuesta**, es más importante la **persistencia del estímulo antigénico, que su intensidad** (36). Como se observa en la Fig. 3, si inyectamos una dosis total equivalente cada 30 días, no se obtiene una cinética de respuesta en curva continua, sino en forma de picos, y se necesitan seis meses para agotar la respuesta en IgM y, al año, no se presenta aún la inhibición, sino una respuesta en picos intensos de IgG.

Resultados similares, con diferencias de cinética, se obtienen con hematíes de cordero en el conejo y ratón (37, 38, 39, 40). Con los hematíes de cordero en el conejo se obtiene una respuesta pequeña en IgM que se agota rápidamente, con una casi simultaneidad en IgG muy intensa y que va dismi-

nuyendo muy lentamente (Fig. 4).

Con la seroalbúmina humana, antígeno T-dependiente y poco inmunogénico, administrada persistentemente en el conejo, no llega a obtenerse una individualización tan neta de las respuestas en IgM y IgG, sino que se desarrollan en curvas bastante paralelas hasta llegar a la fase de inhibición, dominando la de IgG si la dosis es alta (700 mg/kg, 3 veces/semana (Fig. 5) (41).

Parece pues evidente que la inmunización persistente con un antígeno, tanto soluble, celular como bacteriano, llega a inducir una inhibición final de la respuesta, inhibición que va precedida de un cambio de la respuesta en IgM a la respuesta en IgG, tanto más rápida e intensa como más inmunogénico sea el antígeno y más frecuentes los estímulos antigénicos. Creemos que estos datos son muy importantes en favor de que **el estímulo antigénico es el factor decisivo para el cambio de IgM a IgG**.

En el modelo hematíes de cordero-ratón hemos comprobado (42, 43) que la administración de un citostático (ciclofosfamida, hidroxurea) alrededor de la respuesta pri-

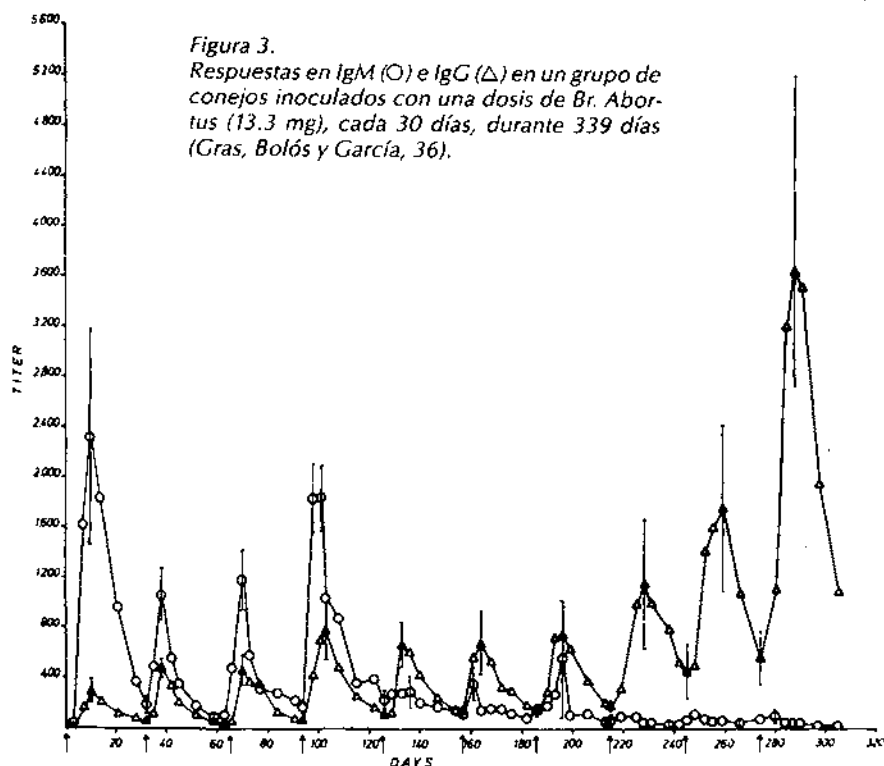
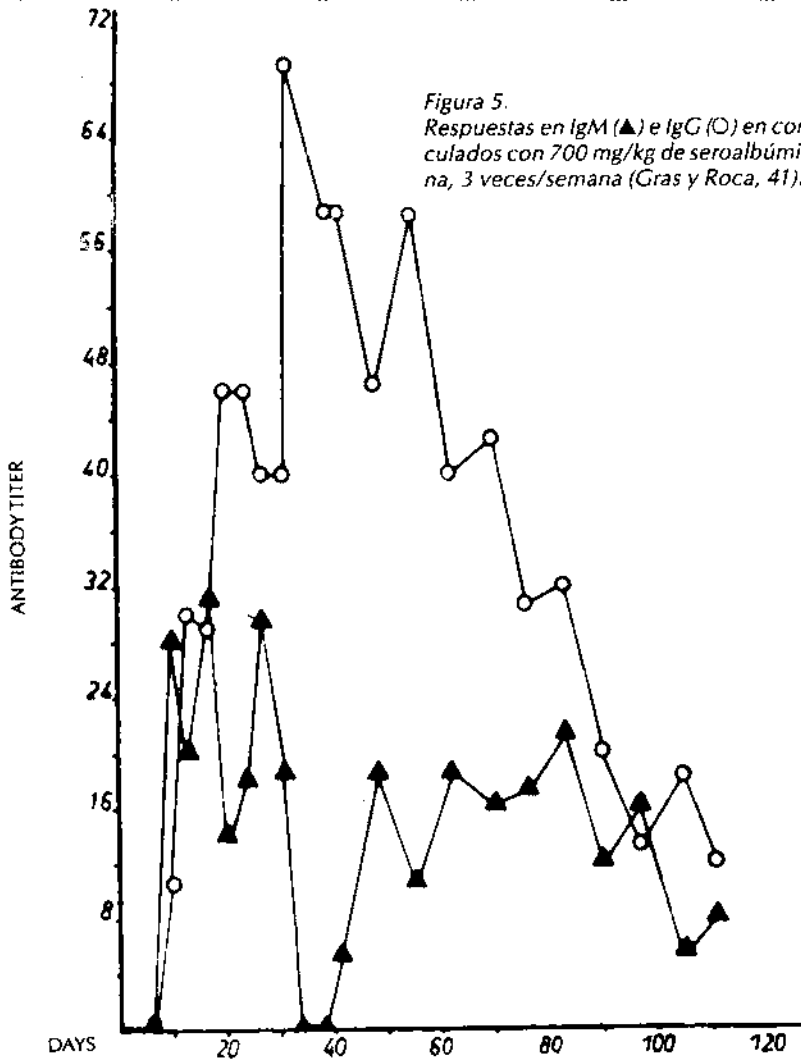
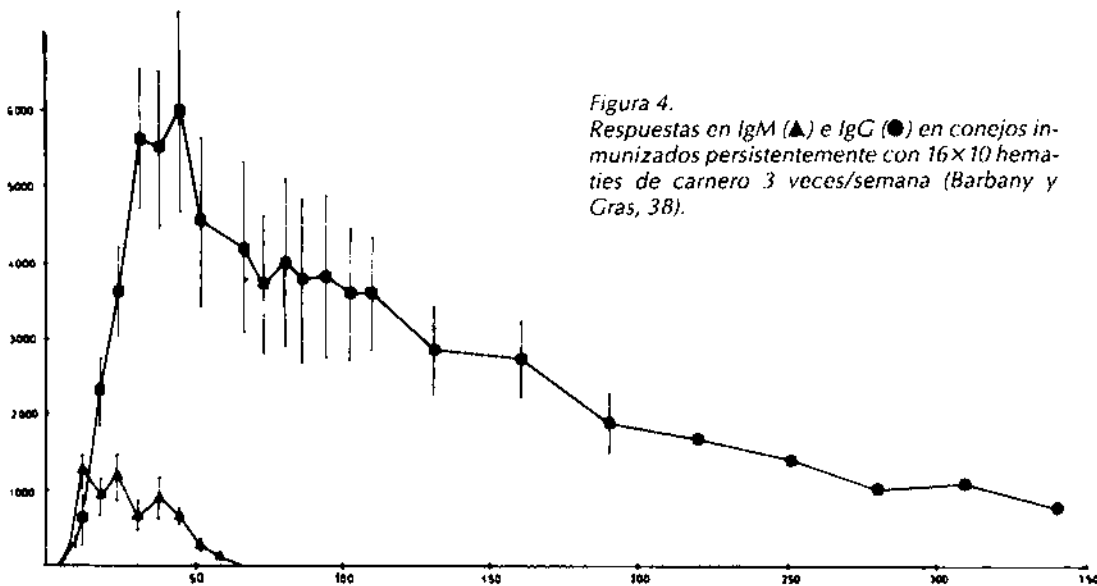


Figura 3.
Respuestas en IgM (O) e IgG (Δ) en un grupo de conejos inoculados con una dosis de *Br. Abortus* (13.3 mg), cada 30 días, durante 339 días (Gras, Bolós y García, 36).



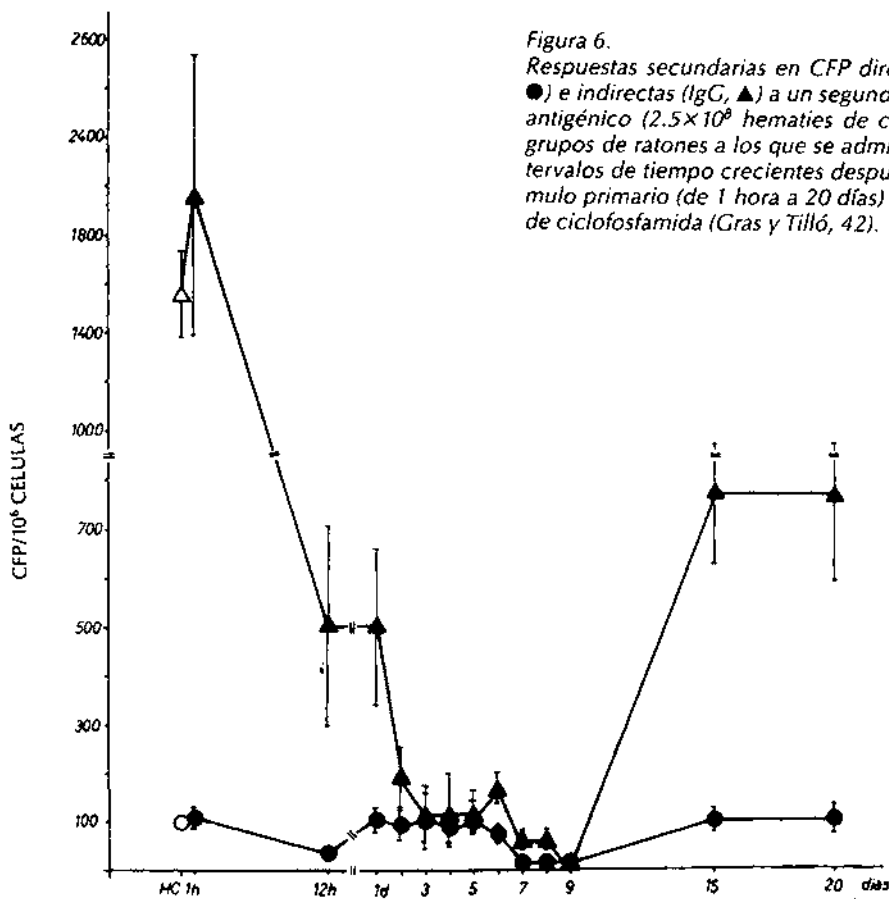


Figura 6.
 Respuestas secundarias en CFP directas (IgM, ●) e indirectas (IgG, ▲) a un segundo estímulo antigénico (2.5×10^8 hematies de carnero) en grupos de ratones a los que se administró a intervalos de tiempo crecientes después del estímulo primario (de 1 hora a 20 días) 150 mg/kg de ciclofosfamida (Gras y Tilló, 42).

maria la inhibe, pero no inhibe el priming para la respuesta secundaria. La respuesta secundaria se inhibe al máximo si la administramos a los 7 a 9 días post estímulo primario, cuando la respuesta primaria ya se ha desarrollado; creemos que esto demuestra que el "priming" para la respuesta secundaria se induce en una fase proliferativa post-respuesta primaria en presencia del antígeno (Fig. 6).

En el modelo Brucella-conejo (44), hemos visto que la administración de ciclofosfamida en las fases iniciales de la inmunización persistente induce, al dejarla de administrar, un efecto "rebote" acentuado en IgM, mientras que si se administra al iniciarse la respuesta aislada en IgG va seguida, al dejarla de administrar, de un efecto "rebote" intensísimo en IgG. Es decir, que inicialmente se produce una hiperproliferación de una población que ha tenido poco con-

tacto con el antígeno, mientras que en el segundo caso se produce una hiperproliferación de una población que ha tenido un largo contacto con el antígeno.

Era generalmente aceptado que el cambio de IgM a IgG es inducido por el antígeno, pero en estos últimos años, al comprobarse la posibilidad de la estimulación policlonal, se ha aceptado que la proliferación celular activada por estos mitógenos podría inducir dicho cambio, y que el mismo sólo dependería de un determinado número de proliferaciones celulares.

La mayoría de estos trabajos han sido "in vitro", en unas condiciones de densidad celular, presencia de determinados factores y medios muy sofisticados, y la valoración del cambio se ha hecho inespecíficamente, valorando las células secretoras de IgM y IgG **totales** y no las de una determinada especificidad (45, 46, 47, 48, 49 50). No obstante,

estudiando las respuestas **específicas** en IgM y IgG inducidas por estos activadores, se ha comprobado que la respuesta en las dos es proporcional al "background" preexistente (51, 52, 53, 54).

Estudiando el efecto sinérgico del LPS sobre la respuesta a los hematíes de cordero en el ratón (55), hemos comprobado que es inversamente proporcional a la intensidad del estímulo antigénico; con una dosis mínima, el LPS potencia la respuesta al máximo, mientras que con una dosis máxima no hay potenciación e incluso puede inducir una inhibición. Todos estos datos y experiencias en curso, nos inducen a pensar que los mitógenos lo que hacen es potenciar la respuesta de una célula primada por el antígeno, pero no inducir el cambio de IgM a IgG.

Si la presencia del antígeno en una determinada fase de la maduración-diferenciación de la célula B induce el cambio de IgM a IgG, y dado que en el animal sometido a una estimulación antigénica persistente, este cambio se induce antes de la inhibición de la respuesta, es lógico pensar que esta inhibición ha de inducirse en un estadio anterior de la maduración diferenciación de la célula B. Creemos que todos estos datos experimentales concuerdan y se explican perfectamente postulando la existencia de un "Equilibrio Inmunológico u Homeostasis Inmunológica antígeno dependiente".

Este Equilibrio u Homeostasis se establece en función de la presencia del antígeno en una determinada fase de la maduración diferenciación de la célula B. Esquemáticamente, estas fases son las siguientes: a partir de la "stem cell" pluripotente aparece una célula **precursora**, con reordenamiento génico de cadena H, pero sin cadena citoplasmática, seguida de una pre-B con cadena μ en el citoplasma, después de una **B-inmadura** con IgM de membrana monomérica y, finalmente, de una B-madura (56, 57, 58, 59, 60). Personalmente creemos que el cambio de IgM a IgG se induce en la célula pre-B o en la B-inmadura en presencia del antígeno, posibilidad postulada recientemente por Bazin y cols. (6). La tolerización o inhibición de la respuesta ha de inducirse en una fase anterior, de mayor inmadurez.

Nossal y Pike propusieron, en 1975 (23)

la hipótesis del aborto del clon, en la que sugirieron que el correspondiente clon no es eliminado, sino frenado en su maduración. En un trabajo posterior comprobaron (62) que las células sIg son muy sensibles a la tolerización, especialmente en la fase en que van a aparecer los receptores de membrana. Esta inhibición puede inducirse con dosis muy pequeñas de antígeno, lo que les hace considerar que no es debido a una simple modulación de los receptores, sino que ha de corresponder a la **inducción de un estado anérgico, potencialmente reversible, en la maduración de la célula B**, por lo que le dan el nombre de **anergia clonal** (62, 63, 64) Nosal cree (64) que esta delación clonal es un mecanismo importante en la tolerancia inmunológica, tanto en el caso de los linfocitos B como en el de los T. Considera que la acción de las T supresoras no es, quizás, el mecanismo primordial, sino un mecanismo importante pero auxiliar.

Esta hipótesis de la "anergia clonal" se integra perfectamente como una de las fases de nuestro Equilibrio u Homeostasis Inmunológica" que venimos postulando desde el año 1968. Recientemente, Avrameas, al comprobar la presencia normal de autoanticuerpos para un gran número de antígenos propios sugiere que esto se comprobará para todos los antígenos propios a niveles bajos y que posiblemente se regula por una homeostasis (17), que, como hemos dicho, es lo que venimos defendiendo desde hace años.

Este Equilibrio u Homeostasis inmunológica tiene un amplio sentido biológico. Frente a un primer estímulo con un determinado antígeno, se presenta una respuesta rápida, local, con poca difusión y con un tiempo de vida corto, que corresponde a la IgM. Si el estímulo persiste, cambia a una respuesta que difunde por todo el organismo, con un tiempo de vida largo, por lo que se acumula y corresponde a IgG. Si el estímulo está siempre presente o persiste un tiempo largo, se presenta la inhibición o tolerancia, es decir, un estado de no respuesta. **La respuesta a los antígenos propios está regulada por este Equilibrio sin necesidad de postular la diferenciación entre lo "propio" y lo "no propio"**.

Expondremos dos ejemplos de autoanti-

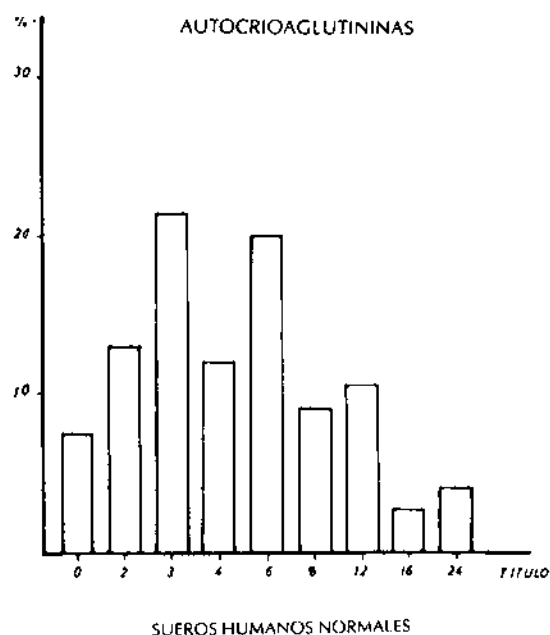


Figura 7.
Histograma de la distribución de frecuencias del título de crioaglutininas en 200 sujetos normales no dadores de sangre (Lluch y Gras, 69).

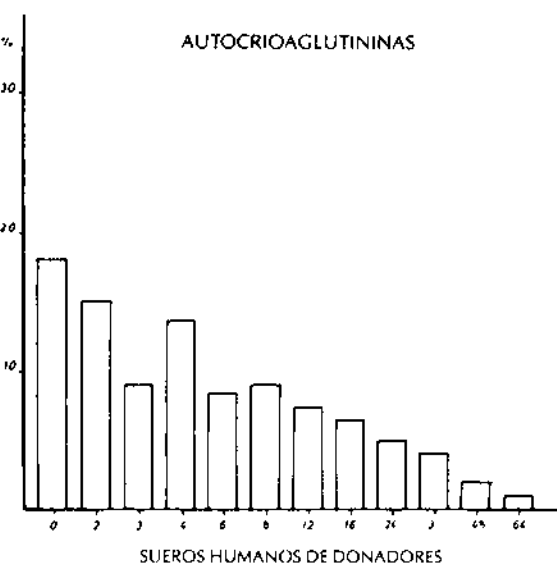


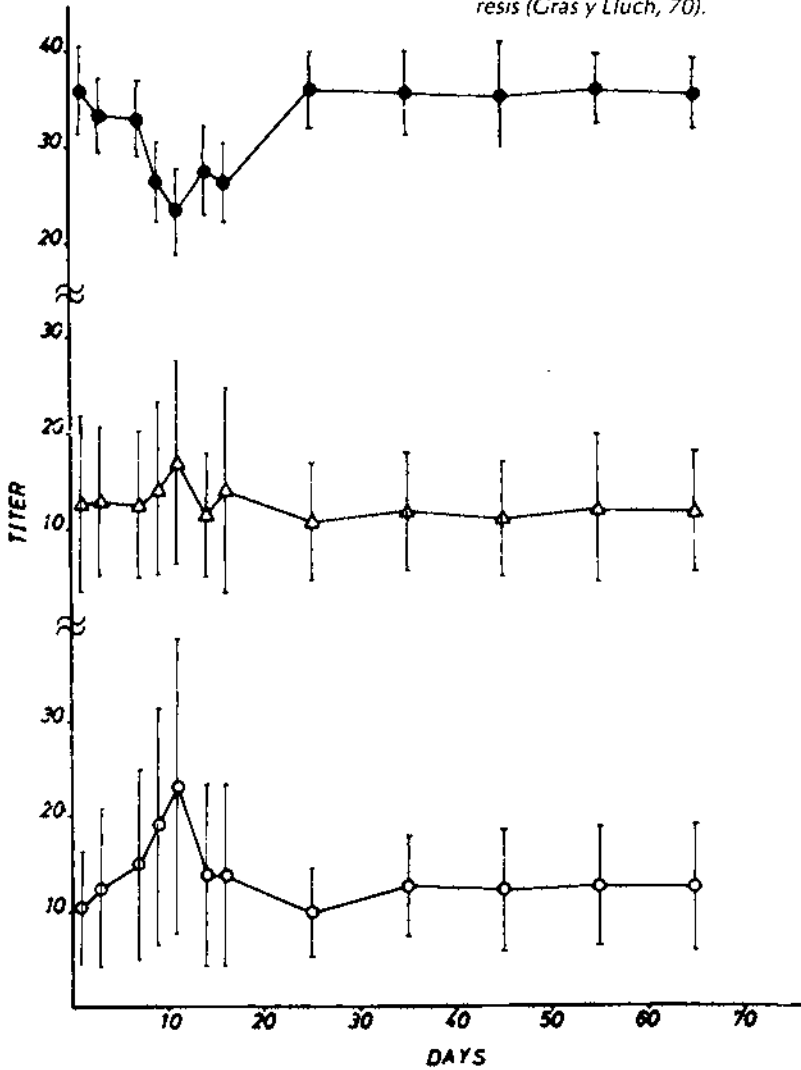
Figura 8.
Histograma de la distribución de frecuencias del título de crioaglutininas en 200 sujetos normales dadores de sangre (Lluch y Gras, 69).

cuerpos que se encuentran normalmente en valores bajos y de los que tenemos datos personales en favor de que se regulan por las variaciones del autoantígeno y de estímulos con antígenos de reacción cruzada.

En 1903 Landsteiner señaló la existencia de "crioaglutininas" frente a los hematíes propios, que hoy sabemos que corresponden al sistema I-i (Wiener y cols., 65, Marsh y Jenkins, 66), sistema que presenta la particularidad de un desarrollo tardío; los hematíes del recién nacido son aglutinados débilmente por los anti-I y fuertemente por los anti-i. En los primeros meses de vida aumenta progresivamente la aglutinabilidad anti-I y disminuye la anti-i. El antígeno I puede considerarse un precursor de las sustancias de grupo sanguíneo (Vicari y Kabat, 67, 68). Personalmente hemos comprobado que su título varía con las donaciones de sangre en el hombre y con las eritroferesis en el conejo, es decir, en condiciones que provoquen variaciones del antígeno circulante (Fig. 7, 8, 9) (69, 70). Estas crioaglutininas son heterogeneas (71) y aumentan considerablemente en el hombre en la neumonía por *Mycoplasma*, *Streptococcus MG* o *Listeria Monocytogenes*, probablemente por reacciones cruzadas entre el antígeno I y antígenos de estos gérmenes (72, 73). La aparición de autoanticuerpos anti-hematíes se ha comprobado experimentalmente en el ratón con inyecciones de hematíes de rata, que puede llegar a inducir una anemia autoinmune (74, 75).

Otro ejemplo que creemos muy demostrativo es el de los anticuerpos anti-nucleares (Anti-DNA, anti-RNA, anti-nucliproteínas y nuclihistonas). La existencia de anticuerpos nucleares en el Lupus, en la AR, en otros procesos patológicos, e incluso en normales a títulos bajos, es conocida desde hace años, así como también la de ácidos nucleicos y nucleoproteínas circulantes (Tan y cols., 76, Koffler y cols., 74, Koffler y cols., 77), a veces en cantidad considerable (en el lupus hasta 250 $\mu\text{g/ml}$. de sDNA, 7). Los anticuerpos antinucleares aparecen espontáneamente en muchas cepas de ratones, incluso en las que no presentan lupus espontáneo, con una frecuencia que aumenta con la edad y que puede llegar a un 90% a los 23 meses (Teague y cols., 78). En

Figura 9.
Valores hematocrito (●) y del título de crioaglutininas con auto (○) e isohemáticas (Δ) en conejos a los que se induce una anemia por eritroferesis (Gras y Lluch, 70).



los enfermos de Lupus se encuentran también CFP anti-TNP (Morimoto y cols., 79) y anticuerpos anti-DNP y anti-TNP a títulos superiores a los normales (80). Estos anticuerpos tienen reacciones cruzadas con los ácidos nucleicos y con el 5-acetouracilo, base pirimidica (81) y son de los primeros en aparecer ontogénicamente (Rowlands y cols., 82, Sherwin y Rowlands, 83, Silversstein, 84).

Delante de estos datos se discute cual es el mecanismo de este aumento tan grande de anticuerpos anti-nucleares en estos procesos, en el sentido de si es consecutivo a una anómala liberación de estos antígenos, o a una anómala estimulación por antígenos de reacción cruzada o bien a un fallo de células supresoras.

Por ello, nos pareció interesante estudiar la posible correlación entre intensidad del

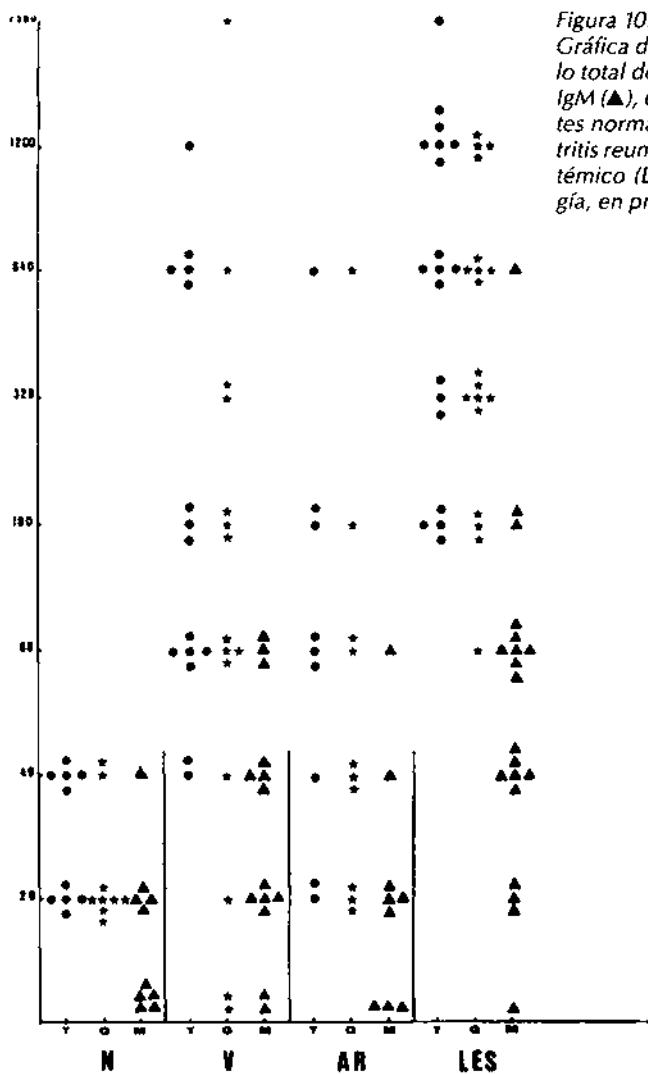
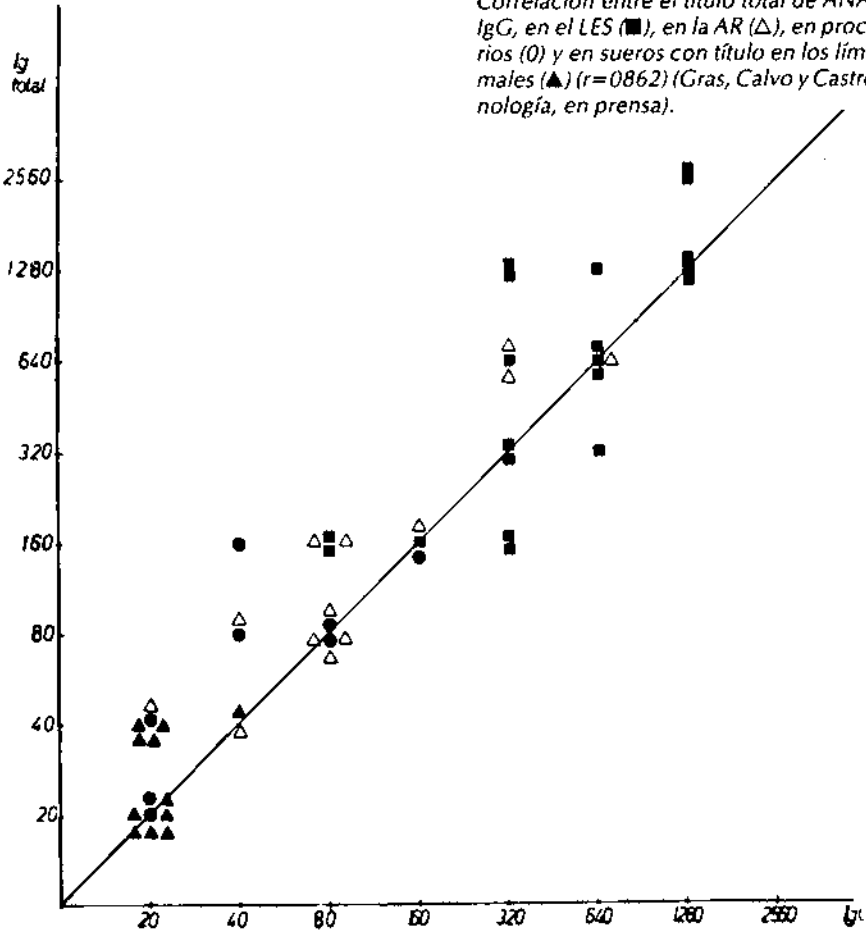


Figura 10.
Gráfica de la distribución de los valores del título total de ANA (●) y de los de clase IgG (▲▼ e IgM (▲), en sueros con títulos totales en los límites normales (N), de procesos varios (V), de artritis reumatoide (AR) y de lupus aritematoso sistémico (LES) (Gras, Calvo y Castro, *Inmunología*, en prensa).

título y contenido de los de clase IgG. Como se observa en las Fig. 10 y 11 hay una evidente correlación entre el título total y el contenido en IgG, en normales, procesos varios, AR y LE. Dada la evidente relación que hemos demostrado entre estimulación

antigénica persistente y aumento de la IgG, nos parece que en aquellos procesos el factor fundamental ha de ser una anómala liberación de estos antígenos por causa patológica intrínseca o por la acción de sustancias de acción citotóxica.

Figura 11.
Correlación entre el título total de ANA y el de IgG, en el LES (■), en la AR (△), en procesos varios (○) y en sueros con título en los límites normales (▲) ($r=0.862$) (Gras, Calvo y Castro, Inmunología, en prensa).



BIBLIOGRAFIA

1. Cruse J.M., Withcomb D., Lewis R.E. "Autoimmunity-Historical perspective". Concepts in Immunopathology. 1985; 1:32-71.
2. Hooper B., Whittingham S., Matthews I.D., MacKay J.K., Curnow D.M. Autoimmunity in a rural community. Clin. Exp. Immunol. 1972; 12:79-87.
3. Hallgreen H.M., Buckley C.E., Gilbertson V.A., Yunis E.J. Lymphocyte phytoagglutinin responsiveness, Immunoglobulins and autoantibodies in ageing humans. J. Immunol. 1973; 111:1101-1107.
4. Gras J. Autoanticuerpos an normales. Allergol. Immunopatholo. 1975; 3:255-259.
5. Gras J. Los mecanismos de Homeostasis Inmunológica y el equilibrio Inmunológico. Barcelona. Edit. JIMS, 1979.
6. Foz A., Batalla E. Autoantibodies against human globulin in Rheumatoid Arthritis patients. En, Sosling J., Van Swaag H. Contemporary Rheumatology. Amsterdam, Elsevier. 1966; 66.
7. Koffler D., Can R., Agnello V., Thoburn R., Kunkel H.S. Antibodies to polynucleotides in human sera: Antigenic specificity and relation to disease. J. Exp. Med. 1971; 134:294-312.
8. Matre R., Helgeland S.V., Tonder O. Human serum antibodies against native DNA detected by an immunoperoxidase spot technique. J. Immunol. Methods. 1974; 5:345-352.
9. Weir D.M. Liver autoantibodies in the rat. Immunol. 1963; 6:581-591.

10. Weir D.M. Immunological reactions after tissue damage. *Lancet*. 1964; 1:749-751.
11. Elson C.J., Weir D.M. Development of anti-tissues anti-bodies in rats. *Clin. Exp. Immunol.* 1964; 43:241-246.
12. Richter M., Sargent A.O., Myers J.H., Rose B. Production of autoantibodies in rats immunized with homologous or hereologous liver. *Immunol.* 1966; 10:211-215.
13. Sargent A.V., Myers J., Richter M. The immune response to circulating autologous hepatocellular antigens. II. *Immunol.* 1966; 96:268-272.
14. Goter Robinson C.J., Abraham A.A., Balazs T. Induction of antinuclear antibodies by mercuric chloride in mice. *Clin Exp. Immunol.* 1984; 58:300-306.
15. Zabriskie J.B., Hsu H.C., Seegal B.C. Heart-reactive antibody associated with rheumatic fever: characterization and diagnostic significance. *Clin. Exp. Immunol.* 1970; 7:147-159.
16. Tsung S.K. Human sperm antigens and anti-sperm antibodies. I. Study on vasectomy patients. *Clin. Exp. Immunol.* 1975; 20:93-104.
17. Avrameas S., Guilbert D., Dighiero G. Natural antibodies against Tubulin, Actin, Myoglobin, Thyroglobulin, Fetuin, Albumin and Transferrin are present in normal human sera and monoclonal immunoglobulin from multiple myeloma and Waldenström's macroglobulinemia may express similar antibody specificity. *Ann. Immunol.* 1981; 132c:231-236.
18. Avrameas S., Dighiero G., Lymberi P., Guilbert B. Studies on natural antibodies and autoantibodies. *Ann. Immunol.* 1983; 134D:103-113.
19. Dighiero G., Lymberi P., Holmsberg D., Lundquist I., Coutinho A., Avrameas S. High frequency of natural autoantibodies in normal newborn mice. *J. Immunol.* 1985; 134:765-771.
20. Wiener A.S. Blood groups and transfusion. M.C. Thomas. Illinois. Springfield. 1943.
21. Mc Clelland W.M., Bradley A., Morris T.C.M., Burnside P., Robertson J.M. Auto-anti-B in a patient with acute leukaemia. *Vox Sang.* 1981; 41:231-234.
22. Lederberg J. Genes and antibodies. Do antigens bear instructions for antibody specificity or do they select cell lines that arises by mutation. *Science.* 1959; 129:1649-1653.
23. Nossal G.J.V., Pike B.L. Evidence for the clonal abortion theory of lymphocyte tolerance. *J. Exp. Med.* 1975; 141:904-917.
24. Gras J. "L'Equilibre Immunologique" entre l'estimulation antigénique persistante a niveau constante et la reponse en anticorps. *Rev. Franç. Et Clin. Biol.* 1968; 14:520-529.
25. Homeostase et tolerance immunitaire. *Ann. Inst. Pasteur.* 1970; 118:422-447.
26. Owen R.D. Immunogenetic consequences of vascular anastomosis between bovine twins. *Science.* 1945; 120:400-402.
27. Stormont C., Weir W.C., Lana C.C. Erythrocyte mosaicism in a pair of sheep twins. *Science.* 1953; 118:695-696.
28. Dunsford J., Bowley C.D., Hutchinson A.M., Thompson J.J., Sangre R., Race R.R. A human blood group chimera. *Brit. Med. J.* 1957; 1:1456-1458.
29. Billingham R.F., Brent L., Madawar P.B. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature.* 1953; 172:603-605.
30. Felton L.D., Ottinger E.J. Pneumococcus polysaccharide as a paralysing agent in the mechanism of immunity in white mice. *J. Bacteriol.* 1942; 43:95-95.
31. Gras J. Inhibición de anticuerpos circulantes en los sistemas proteína-antiproteína por hiperinmunización. *Rev. Esp. Fisiol.* 1956; 12:251-258.
32. Gras J. Le phénomène de l'inhibition d'anticorps circulants par hyperimmunisation. *Rev. Immunol.* 1960; 24:354-366.
33. Gras J., Woessner S. Studies on the inhibition by hyperimmunization of circulating antibodies. Effect of suppression or variation of antigenic stimulus at the time of maximal production of circulating antibodies in the hyperimmunized (hyperstimulated) animal. *Pathol. Microbiol.* 1963; 26:439-454.
34. Gras J., Dalmau M. Estudio sobre el fenómeno de la inhibición de anticuerpos por hiperinmunización y producción del fenómeno con hematies humanos en el conejo, administrados a dosis mínimas como estímulo antigénico. *Rev. Clin. Esp.* 1968; 96:90-93.
35. Gras J., Roca M., Ayats R., Castro R., Durán F. Inhibition of antibody formation during continual stimulation with a strong immunogen. *Immunol.* 1974; 26:759-767.
36. Gras J., Bolós C., García P. Conditions of antigenic stimulation necessary for the termination of the IgM response and the appearance of a single and persistent IgG response. The change from IgM to IgG is a biological expansion of the response. *Allergol. Immunopathol.* 1981; 9:343-350.
37. Gras J., Dalmau M. Antibody inhibition by a minimal dose of antigen and response to a sudden increase in the dose. *Nature.* 1966; 210:430-431.

38. Barbany J.R., Gras J. Kinetics of IgM and IgG responses is repeated immunization of rabbits with sheep erythrocytes. *Allergol. Immunopathol.* 1978; 6:497-506.
39. Castro M.R., Gras J. Cinética de la respuesta no específica en ratones estimulados con una dosis única o con dosis persistentemente repetidas de hemáticas de carnero. *Immunología.* 1982; 1:111-147.
40. Castro M.R., Gras J. Importancia del ritmo de administración de la dosis antigénica en la cinética de las respuestas en IgM e IgG. *Immunología.* 1984; 3:157-160.
41. Gras J., Roca M. Inhibition of IgM and IgG formation during continual stimulation with a weak immunogen. *Allergol. Immunopathol.* 1974; 2:309-404.
42. Gras J., Tilló T. Temporal relationship between primary injection and cyclophosphamide administration necessary for the inhibition of the priming for a secondary response. *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur)* 1983; 134:181-189.
43. Tilló T., Gras J. Relación temporal entre la dosis primaria y la administración de hidroxiaurea necesaria para inhibir la respuesta secundaria. *Immunología.* 1983; 4:170-175.
44. Gras J., Bolós C. Effect of cyclophosphamide on the specific IgM and IgG response and its recovery, during the various stages of persistent immunization in the Brucella rabbit model. *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur).* 1983; 134D:181-189.
45. Kearney J.F., Lawton A.R. B lymphocyte differentiation induced by lipopolysaccharide. I. Generation of cells synthesizing four major immunoglobulin classes. *J. Immunol.* 1975; 115:671-676.
46. Zauderer M., Askonas B.A. Several proliferative phases precede maturation of Ig-secreting cells in mitogen stimulated cultures. *Nature.* 1976; 260:611-613.
47. Andersson J., Coutinho A., Melchers F. The switch from IgM to IgG secretion in single mitogen-stimulated B cell clones. *J. Exp. Med.* 1978; 147:1744-1754.
48. Andersson J., Coutinho A., Melchers F. Stimulation of murine B lymphocytes to IgG synthesis and secretion by the mitogens lipopolysaccharide and lipoprotein and its inhibition by anti-immunoglobulin antibodies. *Europ. J. Immunol.* 1978; 8:336-346.
49. Severinsson-Gronowicz F., Doss C., Assisi F., Vitetta E., Goffman R. R.L., Strober S. Surface Ig isotypes on cells responding to lipopolysaccharide by IgM and IgG secretion. *J. Immunol.* 1979; 123: 2049-2056.
50. Severinsson-Gronowicz C. Characterization of the IgG response induced by polyclonal B cell activation. *Immunol. Rev.* 1982; 67:73-85.
51. Bresscher P.A. Requirement for antigen in lipopolysaccharide dependent induction of B cells. *Europ. J. Immunol.* 1978; 8:534-537.
52. Mc Kearn J.P., Paslay J.W., Slack J., Baum C., Davie J.M. B cell subsets and differential responses to mitogens. *Immunol. Rev.* 1982; 64:5-23.
53. Melchers F., Corbel C. Studies on B cell activation in vitro. *Ann. Immunol. (I. Pasteur).* 1983; 134D:63-73.
54. Vidal J. The lipopolysaccharide response is a function of the background response. *Allergol. Immunopathol.* 1985; 13:41-44.
55. Tilló T., Gras J. Estudio in vivo de la acción sinérgica del LPS en la respuesta secundaria, administrado conjuntamente con el antígeno, en el modelo hematías de cordero en el ratón. *Immunología.* 1983; 2:18-24.
56. Owen J.J.T., Wright D.E., Habu S., Raff M.C., Cooper M.D. Studies on the generation of B lymphocytes in fetal liver and bone marrow. *J. Immunol.* 1977; 118:2067-2072.
57. Abney E.R., Cooper M.D., Kearney J.F., Lawton A.R., Parkhouse R.M.E. Sequential expression of immunoglobulins on developing mouse B lymphocytes: a systematic survey that suggests a model for the generation of immunoglobulin isotype diversity. *J. Immunol.* 1978; 20:2041-2049.
58. Campana D., Janossy G., Bofill M. y cols. Human B cell development. I. Phenotypic differences of B lymphocytes in the bone marrow and peripheral lymphoid tissue. *J. Immunol.* 1985; 134:1524-1529.
59. Mc Kearn J.P., Rosenberg N. Mapping cell surface antigens on mouse pre-B cell lines. *Europ. J. Immunol.* 1985; 15:295-298.
60. Tedder T.P., Clement L.T., Cooper H. Human lymphocyte differentiation antigens HB-10 and HB-11. I. Ontogeny of antigenic expression. *J. Immunol.* 1985; 134:2983-2989.
61. Bazin H., Platteau B., Mac Lerman I.C.M., Johnson C.D. B cell production and differentiation in adult rats. *Immunol.* 1985; 54:79-88.
62. Pike B.L., Nossal G.J.V. Mechanisms of clonal abortion tolerogenesis. III. Antigen abrogates functional maturation of surface immunoglobulin negative adult bone marrow lymphocytes. *Europ. J. Immunol.* 1979; 9:708-714.

63. Nossal C.J.V., Pike B.L. Clonal energy: persistence in tolerant mice of antigen-binding B lymphocyte incapable of responding to antigen or mitogen. *Proc. Nat. Acad. Science.* 1980; 77:1600-1606.
64. Nossal C.J.V. Cellular mechanisms of immunological tolerance. *Ann. Rev. Immunol.* 1983; 1:33-62.
65. Wiener H.S., Singer C.J., Chen L., Feadmann J. Type specific cold autoantibodies as a cause of acquired haemolytic anaemia and haemolytic transfusion reactions: biologic test with bovine red cells. *Ann. Int. Med.* 1958; 44:221-227.
66. Marsh W.L., Jenkins W.J. Anti I: a new cold antibody *Nature.* 1960; 88:752.
67. Vicari G., Kabat E.H. Immunochemical studies on blood groups. XLII. Isolation and characterization from ovarian cyst fluid of a blood group substance lacking A, B, H, Le^a and precursor substances. *J. Immunol.* 1969; 102:821-828.
68. Vicari G., Kabat E.A. Studies and activities of oligosaccharides produced by alkaline degradation of a blood group substance lacking A, B, H, Le^a and precursor substances. *J. Exp. Med.* 1972; 135:1247-1253.
69. Lluch A., Gras J. Valores de crioaglutininas en sujetos normales dadores y no dadores de sangre. *Med. Clin.* 1954; 62:87-90.
70. Gras J., Lluch A. Increase in cold agglutinins induced by erythroferesis in the rabbit. *Europ. J. Immunol.* 1972; 17:184-187.
71. Feizi T. Antibody heterogeneity of anti-I cold agglutinins as shown by cord cell studies. *Nature.* 1969; 222:1288-1289.
72. Smith C.B., Mc Guinness M.U., Schmidt P.J. Changes in erythrocyte I agglutinin and anti-I agglutinins during *Mycoplasma Penumoniae* infection in man. *J. Immunol.* 1967; 99:598-604.
73. Costea N., Yakulis V.J., Heller P. The mechanism of induction of cold agglutinins by *Mycoplasma Penumoniae*. *J. Immunol.* 1971; 106:598-603.
74. Core K.O., Keast D. Autoimmune haemolytic anaemias induced in mice immunized with rat erythrocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 1974; 17:319-327.
75. Naysmith J.D., Elson C.J., Dallman M., Fletcher E., Ortega-Pierres M.G. Antiperythrocyte autoantibody production in mice associated with the injection of rat erythrocytes. I. Regulation of the response by suppressor cells. *Immunol.* 1980; 39:469-479.
76. Tan E.M., Schur P.H., Carr R.J., Kunkel H.G. Deoxyribonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.* 1966; 45:1733-1740.
77. Koffler D., Carr R., Agnello V., Thoburn R., Kunkel H.G. Antibodies to polynucleotides in human sera: antigenic specificity and relation to disease. *J. Exp. Med.* 1971; 134:294-312.
78. Teague P.O., Friou G.J., Myers L.L. Antinuclear antibodies in mice. I. Influence of age and possible genetic factors in spontaneous and induced responses. *J. Immunol.* 1968; 101:791-798.
79. Morimoto C., Abe T., Hara M., Homma M. "In vitro" TNB specific antibody formation by peripheral lymphocytes from patients with SLE. *Scand. J. Immunol.* 1977; 6:757-580.
80. Tuset N., Gras J., Brugulat P. Natural anti-DNP antibodies in normal and pathological human sera. *Bio-medicine.* 1978; 29:261-264.
81. Underdown B.J., Eissen H.N. Cross-reactions between 2,4-nitrophenyl and 5 acetiuracil group. *J. Immunol.* 1971; 106:1431-1441.
82. Rowlands D.T., Blakesled D., Angala E. Acquired immunity in opossum (*Didelphis Virginiana*) embryos. *J. Immunol.* 1974; 112:2148-2153.
83. Sherwin W.K., Rowlands D.T. Determinants of the hierarchy of humoral immune responsiveness during ontogeny. *J. Immunol.* 1975; 115:1549-1554.
84. Silverstein A.B. Ontogeny of the immune response: a perspective. En "Development of host defenses". M.D. Cooper. a. D.M. Dayton. Raven Press Edit. New York. 1977.