

VOLUME 11
of a series on
PROTEINS
and related
subjects

Protides

*of the
Biological
Fluids*

11th Colloquium 1963

edited by
H. PEETERS

PROTIDES OF THE BIOLOGICAL FLUIDS

PROCEEDINGS OF THE ELEVENTH COLLOQUIUM
BRUGES 1963

Edited by

H. PEETERS

Director of the Laboratory, St. Jan's Hospital, Bruges (Belgium)

Scientific Committee:

P. GRABAR (Paris)
T. H. J. HUISMAN (Augusta, Ga.)
R. LONTIE (Louvain)
HUB. PEETERS (Bruges)
H. E. SCHULTZE (Marburg/Lahn)
C. P. STEWART (Edinburgh)
A. TISELIUS (Uppsala)
Ch. WUNDERLY (Zurich)



ELSEVIER PUBLISHING COMPANY

AMSTERDAM — LONDON — NEW YORK

1964

ACKNOWLEDGEMENTS

We, the members of the Scientific Committee of the eleventh colloquium, are glad to have the opportunity of expressing our sincere appreciation for the support given by the Provincial Government of West-Flanders.

The personal interest shown by the Governor, Mr. J. Storme and Mr. L. Gillon, members of the Council, was of great help in our work.

It is a pleasure to thank the authorities of the city of Bruges especially Mr. P. Vandamme, as well as the President Mr. R. Waes and the members of the Public Assistance Committee, for their collaboration in the general organization of the congress.

We wish to express our gratitude to the Mother Superior, Mr. M. Van Oyen, Director of the Hospital and the Sisters of the St. Jan's Hospital for their co-operation.

We are also indebted to many others, too numerous to mention who gave unstintingly of their time and effort to make this colloquium a success.

The publication of these proceedings was supported by a grant from the Belgian Ministry for National Education and Cultural Affairs.

PREFACE

The eleventh annual colloquium on *Protides of the Biological Fluids* was devoted to three main topics: *Structure and immunology of proteins*, *Protein-losing diseases* and *Glycoproteins*. In all, 140 papers were presented and from them 116 selected for publication.

The round table discussion on protein structure was not only a summary but also a meeting-place, a forum and an arena for the 33 papers on this particular topic. Professor GRABAR who devised the immunoelectrophoretic technique and originated so much of the work in this field, presented a paper on this subject at the Academic Session.

Clinicians, physiologists and immunologists joined or wrestled around the protein-losing diseases. Not only gastroenteropathic but also renal and bronchial protein loss were discussed.

A biochemical approach of the glycoproteins brought us the most relevant information in this field, including structure and newly discovered fractions.

Techniques are still a favorite to many who come to Bruges. Automatic density-gradient electrophoresis and non-specific but reproducible precipitation reactions simulating immunological reactions were amongst the newer approaches to protein analysis.

Round table discussions on techniques and on protein loss were held to square off the problems and resolve arguments and differences of opinion.

These introductory remarks do not convey the spirit or the atmosphere to which many like to return.

We sincerely appreciate this opportunity of thanking the many authors who helped to give the meeting its present shape and we hope that these proceedings will stimulate research and contribute scientific friendship towards the meetings of the coming years.

Bruges, 1963

HUB. PEETERS

CONTENTS

Preface	VI
-------------------	----

Section A. Structure and immunology of proteins

Anticorps et "globulines-transporteurs"	
P. GRABAR (Paris)	I
Structure of antibodies	
R. R. PORTER (London)	11
The antigenic microheterogeneity of serum proteins	
L. KORNGOLD (New York)	16
Experimental studies of the topography of the antibody site	
M. H. WINKLER (Jamaica Plain, Mass.)	19
The immune globulins: their structure, function and genetic control	
E. C. FRANKLIN, H. FUDENBERG AND M. MELTZER (San Francisco, Calif.)	23
Evidence for 8 normal immunoglobulins	
J. L. FAHEY (Bethesda, Md.)	27
The chemical nature of antibody sites	
A. L. GROSSBERG AND D. PRESSMAN (Buffalo, N.Y.)	32
The structural role of disulfide bonds in proteins	
G. MARKUS (Buffalo, N.Y.)	37
Studies on normal and pathological γ_1A -globulins and their subunits	
J. F. HEREMANS, A. O. CARBONARA, G. MANCINI and R. LONTIE (Louvain, Belgium)	45
Atopic reagins as a prototype of cytophilic antibodies	
R. AUGUSTIN, R. C. CONNOLLY and G. M. LLOYD (Liverpool, Great Britain)	56
The nature of antibodies in conditions of hypersensitivity in man	
A. H. SEHON (Montreal, Canada)	67
Sedimentation characteristics of antibodies in experimental immunization and in auto-immune diseases	
I. M. ROITT, G. TORRIGIANI and D. DONIACH (London)	70
Antigenic definition of the antibody site of human γ -globulin	
D. S. ROWE and M. W. TURNER (Birmingham, Great Britain)	72
Dégradation des γ -globulines sériques par une préparation d'élastase purifiée	
CH. DE VAUX ST. CYR et G. HERMANN (Villejuif, France)	75
Étude des protéines sériques dans les hyper- β_2 -macroglobulinémies familiales	
M. SELIGMANN, J. M. FINE et F. DANON (Paris)	78
γ -Composants homogènes (monoclonal) chez le Bantou	
J. SONNET et J. L. MICHAUX (Léopoldville, Afrique)	86
Recherches sur la nature des globulines anticorps au cours de la trypanosomiase africaine à <i>T. gambiense</i>	
R. MASSEYEFF et J. GOMBERT (Dakar, Afrique)	87
Genetic factors of human γ -globulin in myeloma proteins	
M. HARBOE, C. K. OSTERLAND and H. G. KUNKEL (New York)	91
Immunoelktrophoretische Untersuchungen von Uroproteinen bei plasmocytomen und Nephrosen	
K. HUHNSTOCK und H. WEICKER (Heidelberg, Deutschland)	93
Étude immunochimique de 463 sérums contenant une paraprotéine	
R. CREYSSSEL, J. M. FINE, J. GROULADE et H. BETUEL (Lyon, France)	97
Studies on the subunits of paraproteins from transplantable malignancies in the mouse	
J. P. VAERMAN, R. RASK-NIELSEN and J. F. HEREMANS (Copenhagen)	99

Étude électrophorétique et immunoélectrophorétique des protéines du rat atteint de leucosarcome C. DECKERS (Louvain, Belgium)	105
Données nouvelles sur l'immunochimie des protéines fibreuses du tissu conjonctif L. ROBERT, J. PARLEBAS, N. POUILLAIN et B. ROBERT (Paris)	109
Immunological reactions of bovine and equine serum albumins with specifically purified cross-reacting antibody H. A. RANGEL (São Paulo, Brasil)	114
Immunologically active fragment of bovine serum albumin obtained by peptic digestion F. SMET, R. LONTIE and G. PRÉAUX (Louvain, Belgium)	119
Antigen-Antikörper Reaktion Hitze-denaturierter Eiweisse L. SEGAL (Berlin)	122
Autoradiography of immunoelectrophoresis in the study of ^{14}C -amino acid incorporation into serum proteins by tissues <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> G. J. THORBECKE, R. ASOFKY, G. M. HOCHWALD and E. B. JACOBSON (New York)	125
Comportement immunologique du foie au cours de la cancérisation expérimentale D. DUFOUR (Quebec, Canada)	127
Atypical Gc patterns J. HIRSCHFELD, Bo A. NILSSON and B. NERSTRÖM (Stockholm)	130
Über gruppenspezifische Isoantigene beim <i>Macacus Rhesus</i> W. GREUTER und R. BÜTLER (Bern, Schweiz)	134
Études du sérum de canard M. KAMINSKI et E. GAJOS (Paris)	137
δ -Globulin: a low-molecular-weight component of fowl serum C. B. RICHARDS and J. R. MARRACK (Cambridge, Great Britain)	144
Comparative serology of Crustaceans and Molluscs of the coasts of South California J. M. DENUCE and J. E. CUSHING (Santa Barbara, Calif.)	146

Round Table Discussion

The immunology and structure of proteins Chairman: J. F. HEREMANS (Louvain, Belgium)	150
---	-----

Section B. Protein-losing diseases

Proteinverlierende Gastroenteropathie: Klinik und Pathophysiologie G. RIVA, S. BARANDUN, H. KOBLET, D. NUSSLÉ und H. P. WITSCHI (Bern, Schweiz)	168
Gastroentéropathie avec perte de protéines: études cliniques et biologiques P. VESIN, G. MILHAUD et R. CATTAN (Paris)	193
Some clinical aspects of protein-losing gastroenteropathy M. SCHWARTZ (Glostrup, Denmark)	199
Protein-losing enteronephropathy associated with angioneurotic oedema F. ALBERT-RECHT and A. DOIG (Edinburgh, Great Britain)	209
Protein-losing bronchitis C. S. DARKE, T. BAKER, H. MILLER and G. OWEN (Sheffield, Great Britain)	214
Analyse immunochimique des protéines du liquide amniotique et du méconium humains et des selles de nouveau-nés au lait de femme et au lait de vache. Contribution à l'étude de la fuite protidique physiologique dans l'intestin chez le nouveau-né G. DE MURALT et D. L. A. ROULET (Bern, Suisse)	216
Pertes digestives de protéines plasmatiques dans les syndromes néphrotiques de l'enfant. Étude avec la ^{125}I -albumine et de la ^{125}I - γ -globuline D. NUSSLÉ et P. ROYER (Lausanne, Suisse)	220
The use of ^{51}Cr -labeled albumin in the study of protein-losing enteropathy Th. A. WALDMANN and R. D. WOCHNER (Bethesda, Md.)	224

Human and rat intestine as a site of catabolism of albumin? T. FREEMAN and A. H. GORDON (London)	226
Giant hypertrophic gastritis with excessive leakage of albumin R. HANSSON and G. LUNDH (Lund, Sweden)	229
Further data on the normal leakage of serum albumin into the gastrointestinal tract J. WETTERFORS (Stockholm)	232
Immunreaktionen von Anti-Speichelserum mit Antigenen anderer Körperflüssigkeiten F. GABL (Innsbruck, Österreich)	235
Entéropathies avec perte de protéines et métabolisme du calcium G. MILHAUD et P. VESIN (Paris)	239
Studies on gastric juice, saliva and other body fluids: with special reference to immunoelectrophoretic cross-reactivity and vitamin B ₁₂ -binding components R. GRÄSBECK, K. SIMONS and I. SINKKONEN (Helsinki)	242
Immunological studies of intrinsic factor R. GULLBERG and S. KISTNER (Stockholm)	245
Separation and characterization of immunologically active constituents of normal human gastric mucosa I. KUSHNER, W. RAPP and P. BURTIN (Villejuif/Seine, France)	248
Étude comparative des protéines de la muqueuse gastrique humaine normale et cancéreuse par électrophorèse et immunoélectrophorèse W. RAPP, S. B. ARONSON et P. BURTIN (Villejuif/Seine, France)	252
Analyse immunoélectrophorétique des liquides gastriques normaux et pathologiques H. HIRSCH-MARIE et P. BURTIN (Paris)	256
Critical discussion of the electrophoretic diagnosis of gastric juice H. PEETERS, D. VANDAMME and W. DE KEERSGIETER (Bruges, Belgium)	261
Quantitative analyses on dog and human hepatic bile J. HARDWICKE, K. J. BAKER, J. G. RANKIN and R. PREISIG (New York)	264
Analysis of chylous fluid obtained from the duodenum in a patient with protein-losing enteropathy P. J. J. VAN MUNSTER, G. B. A. STOELINGA and J. P. SLOOFF (Nijmegen, The Netherlands)	268
Turnover and intestinal degradation of γ -globulin in the dog S. B. ANDERSEN, J. GLENERT and K. WALLEVIK (Copenhagen)	272

Round Table Discussion

Digestive protein loss in health and-disease Chairman: P. VESIN (Paris)	275
--	-----

Section C. Glyco- and Mucoproteins

The fine structure of the carbohydrate moiety of urinary orosomucoid S. A. BARKER, G. I. PARDOE, M. STACEY and J. W. HOPTON (Birmingham, Great Britain)	284
Neue Glykoproteine und ihre Klassifizierung H. E. SCHULTZE (Marburg/Lahn, Deutschland)	288
La structure des glycopeptides R. BOURRILLON (Paris)	296
The heterogeneity of the glycan linked to human $\gamma_{1,x}$ -globulin Z. DISCHE and E. C. FRANKLIN (New York)	301
Glycoproteins and glycopeptides in normal human urine G. BLIX (Uppsala, Sweden)	303
Die Isolierung eines kleinmolekularen, kohlenhydratreichen Glykoproteids aus dem Urin von Plasmocytom-Kranken und die Aufklärung seiner chemischen Konstituenten H. WEICKER und K. HUHNSTOCK (Heidelberg, Deutschland)	308

Glycopeptides derived from thyrotropin and carbohydrate composition of thyrotropin and of some muscle proteins M. E. CARSTEN (Los Angeles, Calif.)	313
Les composantes glucidiques des paraprotéines A. L. FROELICH (Anvers, Belgique)	318
Isolation of glycoproteins from the aortic wall P. SENG, T. SUZUKI, U. WERBER and K. D. VOIGT (Hamburg, Germany)	320
Enzymes and acid mucopolysaccharides in the bile J. CLAUSEN and F. GÜTLER (Copenhagen)	323
Hexosengehalt von Fibrinogen und Fibrin H. HÖRMANN und R. GOLLWITZER (München, Deutschland)	332
Studies on the structure of α_1 -glycoprotein isolated from Yoshida ascites tumor A. CAPUTO (Rome)	335
Further investigations on the protein composition of Yoshida ascites tumor P. P. GAZZANIGA, F. R. SONNINO and A. CAPUTO (Rome)	338

Section D. Techniques

Automatic electrophoresis H. LERNER (Chauncey, New York)	341
Caractérisation d'enzymes après électrophorèse et analyse immuno-électrophorétique en agarose J. URIEL, S. AVRAMEAS et P. GRABAR (Villejuif/Seine, France)	355
Direct nephelometric integration in agar electrophoresis: determination of the ratio of the two β -lactoglobulins in β -AB-milk R. LONTIE, G. VAN GOETHEM, C. DE WEER and G. PRÉAUX (Louvain, Belgium)	360
Über die Sichtbarmachung von Eiweissfraktionen nach Papierelektrophorese durch ihre Reduktionswirkung (Redoxogramm) H. WACHTER (Innsbruck, Österreich)	364
Microelectrophoresis of histones E. SCHONNE (Louvain, Belgium)	368
A single-radial-diffusion method for the immunological quantitation of proteins G. MANCINI, J.-P. VAERMAN, A. O. CARBONARA and J. F. HEREMANS (Louvain, Belgium)	370
Über Arbeiten mit Membranfolien zur Elektrophorese A. GRÜNE (Dassel, Deutschland)	374
Kopräzipitation und Präzipitationshemmung, durch nichtimmunologische Proteinassoziationen N. LANG und B. HOFFGEGEN (Marburg/Lahn, Deutschland)	377
Urea-starch gel immunoelectrophoresis M. D. POULIK (Michigan, Mich.)	385
Mit Stärke reagierende Fraktionen im menschlichen Serum: Untersuchungen in einer Kombinationselektrophorese K.-E. GILLERT (Berlin)	388
The electro-precipitin test as a quantitative method M. H. JONCKHEER (Antwerp, Belgium)	393
An integrated procedure for agar gel electrophoresis R. J. WIEME (Ghent, Belgium)	397
La séparation de la préalbumine par électrophorèse continue bidimensionnelle et la localisation de l'arylesterase sur cette fraction D. VINCENT et G. SEGONZAC (Toulouse, France)	401
On the molecular state of α_1 -casein M. DERECHIN and P. JOHNSON (Cambridge, Great Britain)	405
Die α -Globuline des Blutserums: elektrophoretische Untersuchung in Acrylamid-Gel H. OTT und S. MARINIS (Tübingen, Deutschland)	408

Die quantitative immunologische Bestimmung des α_1 -Antitrypsins im menschlichen Serum	
K. STÖRIKO und G. SCHWICK (Marburg/Lahn, Deutschland)	411
The direct isolation of the β -lipoproteins	
E. SCALA, A. CASTALDO and R. MEROLLA (Naples, Italy)	415
Sur la détermination des groupes sériques d'haptoglobine et de transferrine chez l'homme	
G. VAN ROS and M. VAN SANDE (Anvers, Belgique)	416
Isolation and characterization of the fourth component of human complement (β_{1E} -globulin)	
H. J. MÜLLER-EBERHARD and C. BIRO (New York)	420
The significance of the antigen-antibody complement reaction. The transformation of β_{1C} -globulin	
K. W. PONDMAN and F. PEETOOM (Amsterdam)	423
Une technique simple permettant l'isolement de la β_{1C} - et β_{1A} -globuline	
M. STEINBUCH (Paris)	427
Anwendung von Stärkegel- und Polyacrylamidgel-Elektrophorese auf die Trennung von eisenhaltigem Ferritin in Fraktionen von verschiedener Molekülgrösse	
R. KOPP, A. VOGT and G. MAASS (Freiburg i.Br., Deutschland)	430
Some observations on the solubility of cryoglobulins	
F. KLEIN and H. RADEMA (Leyden, The Netherlands)	434
Fractionnement des plasmas par le phénol en présence de sulfate d'ammonium	
J. MICHON et R. ARNAUD (Tours, France)	437
The effect of extraction procedures on the electrophoretic and immunochemical properties of the soluble proteins of rat-liver mitochondria	
F. R. SONNINO and P. P. GAZZANIGA (Rome)	439
Électrophorèse en gélose des protéines tissulaires de la souris	
A. SASSEN, F. KENNES et J. R. MAISIN (Mol, Belgique)	442
Fractionation of antibodies of 19S, 7S and "intermediate" types by gel filtration and ion exchange chromatography or preparative electrophoresis	
J. KILLANDER (Uppsala, Sweden)	446
Characterization of abnormal serum proteins from patients with multiple myeloma and Waldenström's macroglobulinaemia by means of size chromatography	
N. M. G. HARBOE and A. A. DRIVSHOLM (Copenhagen)	450
Quantitativer Nachweis insulinbindender Proteine durch Differentialadsorption	
L. KERP und S. STEINHILBER (Freiburg i. Breisgau, Deutschland)	455
The absorption and desorption characteristics of some new ion-exchange cellulose derivatives	
C. S. KNIGHT (Kent, Great Britain)	459
Some applications of an improved system of ion-exchange chromatography	
S. JACOBS (London)	463

Round Table Discussion

Techniques	
Chairman: H. PEETERS (Bruges, Belgium)	466

Section E. Various topics

The physiological functioning of native and "purified" siderophilins in iron donation to erythropoietic and other tissues	
A. L. SCHADE (Bethesda, Md.)	479
The metabolism of transferrin	
S. CROMWELL (London)	484
^{131}I - γ -globulin metabolism in hyper- γ -globulinaemic states	
B. OLHAGEN, G. BIRKE, L.-O. PLANTIN and S. AHLINDER (Stockholm)	487

Untersuchungen über das Verhalten des Fibrinogenspiegels im mütterlichen Blut unter und kurze Zeit nach der Geburt W. SCHILD (Düsseldorf, Deutschland)	491
Les protéines urinaires provenant du tissu rénal G. HERMANN et CH. DE VAUX St. CYR (Villejuif, France)	494
Chromatography and immunoelectrophoresis of chicken eye-lens proteins W. J. VAN DOORENMAALEN, H. J. HOENDERS and J. ZWAAN (Amsterdam) . .	499
Stärkegelelektrophorese der löslichen Nichthämoglobineiweisskörper der Erythrocyten J. T. TODOROW und A. L. DIKOW (Sofia)	502
The effect of tumours on liver proteins in the rat D. BURSTON, M. E. APSEY, M. P. TOMBS and N. F. MACLAGAN (London) . .	504
Preparation of copper-free hemocyanin and its reconstitution in <i>Octopus vulgaris</i> A. GHIRETTI-MAGALDI and G. NARDI (Naples, Italy)	507
Intranuclear localization of an isozyme of lactic dehydrogenase in young cells of the erythrocyte series E. S. VESELL (New York)	510
Enzymes of human leucocytes and erythrocytes: lactic acid dehydrogenase isozymes and acid phosphatases V. ANDERSEN, W. GERHARDT and J. CLAUSEN (Copenhagen)	514
Biochemical aspects of individual dehydrogenase isozymes of normal and malignant tissues W. GERHARDT and J. CLAUSEN (Copenhagen)	518
Tissue-protein patterns and the multiple molecular forms of lactate dehydrogenase in muscular atrophy A. LOWENTHAL, D. KARCHER and M. VAN SANDE (Berchem-Antwerp, Belgium) .	522
Presence of a carboxypeptidase in blood sera E. G. ERDÖS, M. P. WESTERMAN and I. E. MORITZ (Pittsburgh, Pa.)	524
Author Index	527
Subject Index	529

A. STRUCTURE AND IMMUNOLOGY OF PROTEINS

ANTICORPS ET «GLOBULINES-TRANSPORTEURS»

P. GRABAR

Institut Pasteur, Paris

Le concept «anticorps» est apparu historiquement lorsqu'on s'est rendu compte que le sang de convalescents ayant guéri d'une maladie infectieuse peut posséder un effet protecteur contre cette maladie. Le préfixe «anti» dans le nom que l'on a donné aux anticorps reflète bien que l'on désignait ainsi des substances dirigées *contre* quelque chose et, depuis, on classe généralement la formation des anticorps comme un des mécanismes de défense des organismes supérieurs.

Or, déjà au début de ce siècle, Richet et Portier en découvrant l'existence du phénomène d'anaphylaxie, ont montré qu'un mécanisme immunologique peut être néfaste. On a ensuite montré qu'il s'agit dans ce cas aussi de formation d'anticorps. Par conséquent, depuis longtemps déjà, on n'avait plus le droit de considérer le mécanisme de formation d'anticorps comme un mécanisme de défense.

Dans ce qui suit nous essayerons de le définir d'une manière différente. Et tout d'abord, nous pouvons souligner que ce mécanisme est très général. En effet, l'organisme réagit en formant des anticorps, non seulement lorsqu'il est attaqué par une substance nocive ou un microorganisme, mais tout aussi bien en réponse à la pénétration de diverses substances inoffensives.

Les substances capables de provoquer la formation d'anticorps et que l'on désigne sous le nom d'antigènes, sont généralement, mais non nécessairement, des macromolécules (protéines, polysaccharides, nucléoprotéines, etc.). On ne sait pas encore la raison exacte pour laquelle certaines macromolécules sont des antigènes forts, d'autres faibles ou sont non-antigéniques.

En ce qui concerne les anticorps sériques que l'on a déjà isolés souvent à l'état pur, on sait qu'il s'agit de globulines. On pensait d'abord que tous les anticorps étaient des γ -globulines. Notre méthode d'analyse immuno-électrophorétique a permis de montrer que les γ -globulines forment une «famille» de protéines dont les mobilités électrophorétiques s'étendent jusque dans la zone des α -globulines¹. Elle a aussi permis de déceler l'existence d'une autre globuline que nous désignons² par β_{2A} . D'autre part, Deutsch puis Kunkel *et al.* ont décrit une macroglobuline^{3,4} qui migre dans la même zone et qu'ils désignent par γ_{1M} mais que nous préférons⁵ appeler β_{2M} .

On a trouvé des anticorps parmi ces trois globulines, c'est pourquoi on pourrait les grouper sous le terme d'immunoglobulines⁶. Lorsqu'on hyper-immunise un animal, on constate que les anticorps formés au début de l'immunisation n'ont pas les mêmes mobilités électrophorétiques que ceux qui apparaissent ultérieurement. D'autre part, on sait que certains anticorps sont doués du pouvoir de fixer le complément et d'autres non (ou très faiblement). De même, certains anticorps ne semblent pas provoquer la libération d'histamine comme le font la plupart des autres. Enfin, il semble que suivant la voie de pénétration d'un antigène dans l'organisme, les anticorps formés ne sont pas les mêmes. Il est possible, mais non encore définitivement prouvé, que ces diverses variations soient dues à l'appartenance des anticorps aux trois catégories différentes des globulines. On peut penser que les anticorps ayant des propriétés différentes prennent naissance dans des cellules différentes ou des cellules situées dans des lieux différents de l'organisme, c'est à dire qu'il existe des cellules qui ne synthétisent que des globulines ayant certaines propriétés.

En plus de la conception qui s'est avérée inexacte selon laquelle les anticorps correspondent à un mécanisme de défense, une deuxième affirmation de l'immunologie classique peut être critiquée, celle qui énonce que seules les substances exogènes, c'est à dire étrangères à l'organisme, peuvent agir en tant qu'antigènes. Cette idée est due en majeure partie à Ehrlich et à son École. Cependant, dès le début du siècle, des auteurs ont montré l'antigénicité des spermatozoïdes et des constituants du cristallin de l'oeil pour l'animal dont ils proviennent*.

Ces faits étant en contradiction avec l'idée profondément ancrée en immunologie que seules des substances exogènes peuvent jouer le rôle d'antigènes, on a fait appel à des hypothèses supplémentaires pour essayer de les expliquer.

Deux explications principales ont été proposées:

(1) On sait que des substances endogènes, par exemple des protéines du sérum, peuvent devenir antigéniques pour l'animal dont elles proviennent si on les modifie ou dénature. On pourrait donc supposer que les substances endogènes qui s'avèrent antigéniques (spermatozoïdes, cristallin, thyroglobuline, etc.) le deviennent parce qu'elles subissent une modification au cours de leur isolement ou purification. Or, la nécessité d'une telle modification n'a jamais été démontrée. Au contraire, on a constaté que, même en prenant toutes les précautions pour éviter une dénaturation ou une modification quelconque, on ne diminue pas l'auto-antigénicité de certaines substances. Le cas le mieux étudié est probablement celui de la thyroglobuline. Witebsky et son École ont bien montré que cette substance extraite avec toutes les précautions possibles est antigénique pour l'animal dont elle provient. Il semble donc que l'on n'ait pas le droit d'invoquer une modification d'une substance endogène comme

* La bibliographie sur l'auto-antigénicité étant trop abondante, nous nous permettons de renvoyer le lecteur à des traités ou revues d'ensemble. Voir par exemple 7.

cause nécessaire pour son antigénicité, ce qui n'exclut pas le fait classique qu'une substance endogène modifiée peut être antigénique.

(2) Une autre explication de l'auto-antigénicité des substances endogènes est basée sur les considérations suivantes: les substances dont l'auto-antigénicité est bien établie telles que la thyroglobuline, la myéline, les constituants du cristallin et des spermatozoïdes, etc., sont situés dans l'organisme dans des endroits où elles sont isolés de la circulation sanguine et, de ce fait, elles ne sont que peu susceptibles d'être normalement en contact avec les cellules immunologiquement compétentes. D'autre part, la synthèse de ces substances dans l'organisme en voie de développement embryologique ne débute que tardivement et peut être seulement postérieurement au développement des cellules immunologiquement compétentes. On pourrait donc supposer que pour ces cellules les constituants des tissus dont la synthèse ne débute que tardivement ou bien qui se fait dans un endroit inaccessible, peuvent jouer le même rôle que des substances étrangères à l'organisme et donc provoquer la formation d'anticorps.

Cette manière de voir est fortement étayée par l'existence du phénomène de tolérance immunitaire acquise. Ce phénomène prédit par Burnet et démontré par Medawar et son École⁸ peut se résumer ainsi: si on introduit dans un embryon ou un animal nouveau-né certaines substances antigéniques étrangères, cet animal ne formera pas d'anticorps envers cette substance si on l'immunise lorsqu'il est adulte. Ce phénomène est très important mais il n'est pas général. Ainsi, les expériences de Hašek ont montré que la tolérance est d'autant plus facile à obtenir et est d'autant plus durable si les antigènes proviennent d'espèces plus voisines. Il est par exemple plus facile d'obtenir une tolérance prolongée chez un poulet pour des érythrocytes d'un poulet d'une autre race que pour des érythrocytes d'un autre oiseau⁹. On sait d'autre part que, pour obtenir une tolérance pour certains antigènes, il faut effectuer des injections de très grandes quantités de ces substances et on peut se demander si, dans ces cas, on a affaire au même phénomène et non à une paralysie immunitaire qui semble être due à un mécanisme distinct.

Mais, de toutes façons, l'explication de l'auto-antigénicité de certaines substances endogènes par leur situation isolée dans l'organisme et par leur apparition tardive au cours du développement embryonnaire, ne pourrait être appliquée à tous les cas déjà connus d'existence d'anticorps envers des produits endogènes. Voici quelques exemples de cas qui ne semblent pas pouvoir être expliqués par l'hypothèse que nous venons d'exposer:

(1) On trouve dans la littérature d'assez nombreuses descriptions de réactions immunologiques positives observées lorsqu'on met en présence des constituants de tissus avec des sérums. Ainsi Aschkenasy¹⁰ a observé des réactions de précipitation entre des extraits de poumon et certains sérums. Plus récemment, plusieurs auteurs ont trouvé que des extraits de foie sont précipités par des sérums de certains malades. Kidd et Friedewald¹¹ ont

trouvé que le sérum normal de lapin donne une réaction de fixation du complément positive lorsqu'on le met en présence d'extraits de tissus de lapin. Muschel *et al.*¹² ont constaté de même que certains sérums normaux réagissent avec des homogénats d'autres tissus. Dans tous ces cas, les tissus examinés sont normalement en contact avec le sang mais, évidemment, on pourrait objecter que ces extraits pourraient contenir des substances dont l'apparition embryonnaire serait tardive.

(2) Dans nos recherches, nous avons utilisé l'hémagglutination passive de globules rouges tannés et nous avons trouvé que des sérums normaux provoquent (parfois même à des titres assez élevés) l'agglutination de ces érythrocytes tannés et sensibilisés avec diverses substances macromoléculaires. Nous avons, par exemple, constaté que les sérums humains réagissent avec de la gélatine¹³. Utilisant la réaction de précipitation, Maurer a pu même doser les anticorps des sérums normaux qui réagissent avec la gélatine¹⁴. Récemment, Schwick a montré que chez certains malades souffrant de polyarthrite primaire évolutive, le taux de ces anticorps est fortement augmenté et que l'on peut le faire abaisser en administrant à ces malades de la gélatine dépourvue d'antigénicité¹⁵. Ces observations prouvent bien qu'il s'agit d'une réaction qui correspondrait aux définitions des anticorps et de spécificité. Or, la gélatine est un dérivé du collagène, c'est à dire d'une substance qui est normalement présente dans l'organisme et accessible à la circulation sanguine.

(3) Depuis déjà longtemps, on sait que le sérum humain normal contient des cryo-agglutinines, c'est à dire des anticorps qui agglutinent des érythrocytes du même sujet si on refroidit le mélange de ces érythrocytes avec le sérum. On sait aussi que ces cryo-agglutinines appartiennent au groupe des immunoglobulines. Cet exemple est probablement le plus frappant puisque, dans ce cas, il s'agit de produits provenant du même individu et qui sont normalement en contact permanent.

(4) Au cours des recherches sur les constituants de leucocytes normaux et leucémiques, nous avons constaté avec Seligmann et Bernard que quelques sérums de leucémiques donnent des réactions de précipitation avec des extraits de leucocytes¹⁶. Ce fait, si on arrive à le confirmer par des exemples plus nombreux et chez des sujets qui n'ont pas reçu de transfusions, serait difficile à expliquer par l'hypothèse que nous discutons maintenant, car il s'agit d'une formation d'anticorps envers des substances ayant la même origine embryologique que les cellules immunologiquement compétentes.

Poursuivant les mêmes recherches, Seligmann a constaté, et ce fait est bien connu maintenant, que les sérums des cas de lupus érythémateux disséminé donnent une réaction de précipitation spécifique avec l'acide désoxyribonucléique extrait des leucocytes¹⁷. On pourrait admettre une auto-antigénicité de l'ADN ou des nucléoprotéines correspondantes; mais il s'est avéré que l'ADN de n'importe quelle origine donne la même réaction et on a le droit de supposer que l'anticorps a été formé en réponse à un ADN d'origine étrangère. La

réaction que l'on observe pourrait donc n'être qu'une réaction croisée. Cependant, même en supposant qu'il s'agit d'une réaction croisée, il serait difficile de comprendre, en admettant qu'une substance ne peut être antigénique que si elle est étrangère à l'organisme, que ce dernier soit capable de fabriquer des anticorps envers des déterminants antigéniques analogues ou identiques à ceux qu'il renferme normalement. De plus, ces substances pouvaient être en contact avec les cellules productrices d'anticorps et être synthétisées au cours du développement embryonnaire. Le même raisonnement s'appliquerait aux faits, décrits récemment, de l'existence dans les sérums normaux de globulines réagissant spécifiquement avec l'acide ribonucléique¹⁸ et l'acide désoxyribonucléique¹⁹.

(5) On a trouvé que le sérum des malades guéris d'un infarctus du myocarde renferme des anticorps qui réagissent spécifiquement avec un extrait du coeur. Il semble bien qu'il s'agisse dans ce cas d'une conséquence et non d'une cause du phénomène pathologique. En tout cas, il s'agit bien d'une formation d'anticorps envers des substances endogènes normalement en contact avec la circulation sanguine et dont l'origine embryonnaire ne devrait pas être tardive. Des observations analogues ont été faites dans d'autres états pathologiques, par exemple, dans des cas de colite ulcéreuse.

Ces quelques exemples me paraissent suffisants pour mettre en doute l'hypothèse selon laquelle les anticorps ne se formeraient qu'envers des substances exogènes ou, à la rigueur, des substances endogènes mais modifiées ou situées normalement dans des endroits de l'organisme isolés du contact avec les cellules immunologiquement compétentes ou, enfin, dont la synthèse débute plus tard que la formation du système réticulo-endothélial.

Pour essayer de trouver une explication plus satisfaisante des mécanismes en cause, on pourrait citer encore quelques faits ou observations expérimentales:

(1) Depuis longtemps déjà, on soupçonne que les réactions du type Wassermann des sérums pathologiques avec des lipides ne sont pas spécifiques d'un constituant défini du Tréponème puisqu'on peut aussi les réaliser avec des produits d'origine différente. De plus, on sait que certaines fractions du sérum normal peuvent fournir des réactions positives si on les concentre suffisamment. On a constaté aussi qu'en rendant les techniques plus sensibles, on peut observer des réactions positives avec des sérums de sujets non syphilitiques. Enfin, il semble possible de provoquer chez des animaux des réactions positives en leur injectant des lipides. L'ensemble de ces faits plaide en faveur de l'hypothèse qu'il s'agit dans ce cas d'une augmentation anormale chez les syphilitiques d'un constituant sérique qui se combine avec certains lipides.

(2) Plusieurs auteurs ont observé que des sérums humains ou animaux donnent des réactions immunologiques positives avec des constituants alimentaires. Ainsi, nous avons eu l'occasion de constater par la méthode d'hémagglutination passive d'érythrocytes tannés que le sérum de chiens, nourris avec de la viande, contient des anticorps réagissant avec la sérumalbumine bovine¹³.

De même Farr, en utilisant une méthode spéciale, a trouvé que des lapins auxquels il donnait à boire une solution de sérumbumine ont, dans leur sérum, des substances qui se combinent spécifiquement avec la sérumbumine²⁰. Récemment, des auteurs suisses²¹ ont constaté qu'un assez grand nombre de sérums d'enfants âgés de 1 à 2 ans contient des anticorps réagissant avec la caséine (certains sont précipitants, d'autres réagissent par hémagglutination passive) et qu'un certain pourcentage de sérums d'enfants et de femmes enceintes précipite des protéines du lait de vache autres que la caséine (surtout la β -lactoglobuline)²². Il semble bien que les constituants sériques réagissant ainsi correspondent bien aux définitions d'anticorps et le terme «d'anticorps alimentaires» a été utilisé.

Le mécanisme en cause semble être le suivant: il existe des vaisseaux lymphatiques qui débouchent dans l'intestin; une substance antigénique présente dans l'alimentation peut donc passer dans la voie lymphatique et provoquer ensuite la formation d'anticorps dans les ganglions mésentériques, à condition naturellement, qu'elle n'ait pas été dégradée par les enzymes digestives.

Il y a presque vingt ans, une hypothèse a été émise simultanément par Boyd et par moi-même que l'ensemble des γ -globulines correspond à des anticorps²³. Le fait que les animaux élevés dans des conditions stériles ne synthétisent que des traces de ces constituants fournit un argument en faveur de cette hypothèse, puisque ces animaux étant protégés contre la pénétration d'antigènes exogènes, ne forment que des quantités très faibles de γ -globulines²⁴. Mais ils en forment, et pour expliquer ce fait, on pourrait faire valoir que leur alimentation peut contenir des petites quantités d'antigènes microbiens qui seraient susceptibles d'induire la formation d'anticorps, donc de γ -globulines. Mais, jusqu'à présent, il n'a pas été prouvé que la totalité de ces γ -globulines correspond à des anticorps anti-bactériens. Or nous savons que lorsqu'on immunise un animal, même avec un antigène pur et homogène, l'augmentation des γ -globulines sériques totales dépasse le taux des anticorps spécifiques de l'antigène administré. Cet excès est généralement attribué à des « γ -globulines normales». Mais que sont les « γ -globulines normales»? Dans le but d'éviter le finalisme et l'inexactitude que comportait la définition des anticorps comme faisant partie d'un mécanisme de défense, nous avons essayé il y a déjà des années^{23, 25}, d'envisager un mécanisme physiologique général qui serait susceptible d'expliquer la formation d'anticorps et il nous a paru possible de le formuler de la manière suivante: On sait que beaucoup de protéines sériques sont caractérisées par leur fonction de transporteurs de certaines substances métaboliques (lipides, vitamines, enzymes, hormones, etc.) et Bennhold envisage le sérum comme un système dans lequel les diverses protéines ont un rôle de transporteurs spécifiques de substances définies, mais dans ses schémas, il n'inclue pas les immuno-globulines²⁶. Or, par analogie, on peut supposer que le rôle physiologique normal des γ -globulines (ainsi que des β_{2A} - et β_{2M} -globulines) est de servir de transporteurs de certaines substances provenant du métabo-

lisme ou du catabolisme normal de l'organisme. Normalement, leur concentration serait très faible comme chez les animaux élevés dans des conditions stériles mais, si pour une raison quelconque une substance étrangère pénètre dans le milieu intérieur de l'organisme et ne peut être éliminée ou dégradée sur place, c'est le même mécanisme qui entre en jeu et on observera une synthèse de globulines susceptibles de s'unir spécifiquement avec cette substance.

Il nous semble judicieux de mentionner ici que la phagocytose, par exemple d'un microbe, est facilitée lorsqu'il est opsonisé, c'est à dire lorsqu'il est couvert par des anticorps. Il en est de même d'un antigène lorsqu'il s'est uni avec l'anticorps et on peut inférer qu'un complexe formé par un «transporteur» d'un produit du catabolisme avec ce produit subirait le même sort. Les phagocytes étant particulièrement riches en diverses enzymes, il devrait en résulter une dégradation des constituants de ces complexes.

Comme nous l'avons déjà dit, historiquement on a donné le nom d'anticorps à des substances qui protégeaient contre des infections ou des produits nocifs. Par extension, on a pris l'habitude de désigner par le même terme les globulines qui réagissent avec des produits alimentaires ou qui peuvent s'unir avec des substances du catabolisme normal. Et ceci d'autant plus aisément que leur mise en évidence a été faite à l'aide de techniques immunologiques que l'on emploie pour déceler des anticorps. Mais une telle désignation peut provoquer des confusions et c'est pourquoi nous avons proposé un terme plus général de «globulines-transporteurs».

En effet, les globulines qui réagissent avec les produits alimentaires ne participent pas à un mécanisme immunologique et ne semblent pas non plus être nocives à l'organisme. Nous ne connaissons pas encore les propriétés de ces «globulines-transporteurs» et nous ne pouvons pas les classer parmi les γ - ou β_{2A} - ou β_{2M} -globulines. On sait qu'il existe des anticorps ayant des réactivités différentes et il n'est pas exclu que ceux qui ne fixent pas le complément ou ceux qui ne provoquent pas la libération d'histamine appartiennent au même type de globulines que les «transporteurs» de produits alimentaires. On peut supposer que ces derniers devraient avoir des propriétés analogues aux anticorps qu'on trouve après une immunisation prolongée.

Vu la généralité du phénomène de formation de tels transporteurs, et puisqu'il présente les caractères d'un mécanisme physiologique, nous avons proposé d'envisager le cas général comme étant la formation de «globulines-transporteurs» et de classer celle des anticorps comme un cas particulier de ce mécanisme physiologique général.

Au début de ce rapport, nous avons insisté sur les deux aspects de la question des anticorps où les définitions classiques sont en défaut. Nous croyons que ce qui vient d'être dit permet d'éviter ces inexactitudes. En effet, en admettant que la formation d'anticorps n'est qu'un cas particulier d'un mécanisme physiologique général, on élimine l'idée d'un mécanisme spécial de défense et on comprend mieux qu'un tel mécanisme général puisse avoir un effet utile