'N EVALUERING VAN DIE EFFEK VAN HETERELOË ANTILIMFOSIETANTISERUMTOEDIENING IN DIE LAAT-FETALE EN VROEË NEONATALE TYDPERK BY MUISE

deur

SOMARIE VISSER JOOSTE

Instituut vir Dierkundige Navorsing
Departement Dierkunde
Potchefstroomse Universiteit vir C.H.O.
Potchefstroom.

VERHANDELING

aangebied ter gedeeltelike voldoening
aan die vereistes vir die graad

MAGISTER SCIENTIAE

aan die
Potchefstroomse Universiteit
vir
Christelike Hoër Onderwys.

Leier: Prof. J.A. van Eeden.

Hulpleier: Prof. C.R. Jansen.

INHOUDSOPGAWE

		Bladsy
	DANKBETUIGINGS	iv
1.	LITERATUUROORSIG	1
1.1.	ALS as immunsuppressor	4
	Algemeen	4
	Bron van antigene vir die verkryging van ALS	14
	Ander tipes antileukosietantisera	15
	Kontroles vir die gebruik van ALS in eksperimente	15
1.2	In vitro-uitwerking	16
	Bedekking van selle	16
	Beweeglikheid van selle	16
	Witbloedselagglutinasie	16
	Stimulasie van limfosiete tot blasttransformasie en verhoogde opname van radioisotoopgemerkte timidien en uridien	16
	Komplementbinding	16
	Limfositolise	16
	Rooibloedselagglutinasie en -lise	16
1.3	Standaardisering van die „sterkte" van ALS	16
	In vitro-metodes	17
	In vivo-metodes	17
	In vitro- teenoor in vivo-metodes	17
	Bereidingsmetodes in verhouding tot verkrygde „sterktes"	17
	Neutralisasie van die „aktiwiteit" van ALS	17
1.4	In vivo-uitwerking	18
	Algemene uitwerking	18
	Transplantate	18
	Vertraagde hipersensitiwiteitsreaksies	19
	Virusinfeksies	19
	Outo-immuniteitsverskynsels	20
	Versterking of verswakking van die uitwerking van ALS	20
	Antiliggaamproduksie	21
	Uitwerking van ALS op selle	22
	Weefsels van die ontvanger	27
1.5	Karakterisering van die ALS-antiliggaam	29
	IgM-fraksie	29
	IgG-fraksie	29
	Fragmente van die IgG-molekule	30
	Spesifieke antilimfosietantiliggame	31
1.6	Kliniese toepassing van ALS	31

Bevindinge in hierdie gebied 31

Nadelige gevolge van ALS-behandeling 32

1.7 Meganisme van werking van ALS 32

Sitotoksiese teorie 33

Verblindingsteorie 33

„Enhancement" 34

Immuuntoleransie 34

Steriele aktivering 35

Kompeterende-antigeen-teorie 35

Die moontlike timusafhanklikheid van die werking van ALS 35

2. WERKSWYSE EN BEVINDINGE 36

2.1 Proefdiere 36

2.2 Serumbereidings 36

2.3 Velallotransplantasie 37

2.4 Ondersoek tydens dragtigheid 38

2.5 Ondersoek tydens laktasie 41

2.6 Ondersoek tydens vroeë neonataalperiode 43

3. BESPREKING 50

4. OPSOMMING 52

5. LITERATUURVERWYSINGS 54

6. TABELLE

Tabel 1 5

Tabel 2 38

Tabel 3 40

Tabel 4 41

Tabel 5 43

Tabel 6 44

7. FIGURE

Fig. 1 39

Fig. 2 42

Fig. 3 45

Fig. 4 47

Fig. 5 48

Fig. 6 49

AFKORTINGS WAT IN DIE VERHANDELING GEBRUIK WORD 72

Aan my ouers.

DANKBETUIGINGS

Hiermee wil ek my opregte dank uitspreek vir die fasiliteite, hulp, leiding en advies wat in verband met hierdie ondersoek aan my verleen is deur die Raad op Atoomkrag, Potchefstroomse Universiteit vir C.H.O., Sir Peter Medawar, F.R.S. en Proff. J.A. van Eeden en C.R. Jansen.

1. LITERATUUROORSIG

Antisera teen witbloedselle was sedert 1899 die onderwerp van sporadiese, ongesistematiseerde navorsing. Nadat egter aangetoon is dat antilimfosietantiserum immuunonderdrukkende eienskappe besit, het die pas van navorsing op dié gebied, gestimuleer deur die resultate van orgaan- en weefseloorplanting, eksponensieël toegeneem. Vandag is talle navorsingsgroepe dwarsdeur die wêreld aktief besig om die geheime wat met die eienskappe en werking van antilimfosietantiserum saamhang, stelselmatig te ontrafel. Ten spyte van 'n ononderbroke toevloei van publikasies oor die onderwerp, moet in hierdie verhandeling volstaan word met verwysings na daardie publikasies wat tot en met die einde Maart 1968 verskyn het.

Dit was die Russiese bioloog, Eli Metchnikoff, wat in 1899 die onderwerp van antileukosietantiserum vir die eerste keer aan die wetenskap bekend gestel het toe hy 'n emulsie van rot- en marmotmilte en -limfknope aan konyne toegedien en sodoende 'n leukotoksiese serum berei het (Metchnikoff, 1899). Metchnikoff het die aanwesigheid van fagositiese selle in die larf van die seester ontdek, en hiermee as basis sy fagosietteorie uitgewerk. Hy wou die antileukosietantiserum teen die fagositiese selle (leukosiete) gebruik om, wat hy beskou het as die „vervolgingsaktiwiteit" van die mononukleêre selle aan bande te lê. Sodoende, het hy gereken, sou hy die weerstand van die dier verswak en die virulensie van sekere mikrobes versterk. Hy het vasgestel dat die antiserum wat hy berei het spesiespesifiek was maar nie gediskrimineer het tussen die verskillende tipes witbloedselle nie (sien ook ander vroeë navorsers soos Funck, 1900; Christian en Leen, 1905 e.a.).

Besredka, (1900) het bogenoemde ondersoeke voortgesit en was die eerste wat vasgestel het dat die leukotoksiese eienskappe van die antiserum <u>in vitro</u>, deur verhitting daarvan teen 55°C vir 30 minute vernietig word. Ander vroeë navorsers het die bogenoemde eienskappe van die antileukosietantiserum bevestig en terselfdertyd ook nuwes ontdek. So is o.a. vasgestel dat vars antiserum lise van die witbloedselle <u>in vitro</u> veroorsaak en, na verwydering van die komplement daarin, ook agglutinasie van witbloedselle (Besredka, 1900; Funk, 1900; Pappenheimer, 1917a). Die antiserum het ook die ameboïede bewegings van rotleukosiete gedemp (Christian en Leen, 1905). 'n <u>In vivo</u>-toediening daarvan het 'n aanvanklike perifere limfopenie en direk daarna limfositose en limfoïede hiperplasie tot gevolg gehad (Besredka, 1900; Flexner, 1902; Bunting, 1903).

Moorhead (1905) en na hom Ritchie (1908) was die eerste persone om die timus as antigeenbron vir die verkryging van die antisera te gebruik. Eersgenoemde het slegs negatiewe resultate verkry, maar Ritchie het aangetoon dat sy eend-antimarmottimosiet-antiserum komplement in teenwoordigheid van limfoïede weefsels in die algemeen gebind het. Dit kon dus nie as timusspesifiek geklassifiseer word nie. Pappenheimer (1917a) het hierdie bevinding bevestig en tot die gevolgtrekking gekom dat die klein timusselle biologies verwant is aan, indien nie identies nie met, die limfosiete verkry uit limfknope (Pappenheimer, 1917b).

Die hoop op 'n spesifieke antilimfosietantiserum (in teenstelling met 'n antileukosietantiserum) het opgevlam nadat Chew en Lawrence (1937) aangetoon het dat 'n meer spesifieke konynantiserum teen marmotlimfknooplimfosiete berei kon word nadat die ander seltipes van die limfknoopselsuspensie deur middel van filtrasie deur sand en gaas verwyder is. Toediening van hierdie antiserum het 'n spesifieke toksiese uitwerking op sirkulerende limfosiete gehad maar nie op die neutrofiele nie. Waar dit wel 'n uitwerking gehad het, was daar 'n gevolglike neutrofilie. In teenstelling met hul vroeëre werk (Chew et al., 1936) met antineutrofielantiserum, wat na in vivo-toediening daarvan 'n algehele verdwyning van die sirkulerende neutrofiele kon veroorsaak, kon hulle hiermee nooit 'n algehele verdwyning van limfosiete in die bloedsirkulasie teweegbring nie. Hierdie bevindinge kon, volgens hulle, heenwys op óf onderlinge antigeniese verskille tussen limfosiete wat nie morfologies onderskei kon word nie, of op die moontlikheid dat limfosiete minder vatbaar is vir die inwerking van antiliggame en dat daar 'n oormaat limfosiete in reserwe is. Cruickshank (1941) het rotte limfopenies gemaak met 'n antilimfosietantiserum uit konyne berei. Die uitwerking van hierdie antiserum is nie deur 'n adrenalektomie beïnvloed nie. Hy het aangetoon dat komplement tydens die reaksie tussen die antiserum en die ooreenstemmende antigene (limfosiete) gebind is.

Die gebruik van hetereloë antilimfosietantiserum (ALS) as 'n immuunonderdrukkende middel is maar sowat tien jaar oud. Dit verbaas egter nie, want die wete dat die limfoïedsisteem, en veral die klein en middelslaggroot limfosiete of hul nageslag, intiem by immunologiese prosesse (dit is, antiliggaamvervaardiging, vertraagde hipersensitiwiteitsreaksies en allotransplantaatverwerping) betrek is, is relatief nuut (Gowans en McGregor, 1965). Die eerste positiewe eksperimente met antileukosietantisera in immunologie is onder leiding van en persoonlik deur John Humphrey in Engeland gedoen (Humphrey, 1955, 1967a; Inderbitzin, 1956). Vroeëre pogings van Woodruff en sy medewerkers (1951) om antiliggaamproduksie teen Salmonella paratyphi B met ALS-toediening te beïnvloed, het misluk, alhoewel dit 'n daling in die sirkulerende limfosiete veroorsaak het, soos hulle ook vroeër reeds aangetoon het (Woodruff en Forman, 1951). Humphrey (1955) het aangetoon dat antisera teen neutrofiele die Arthus-tipereaksie effektief onderdruk het deur die neutrofiele tydelik te verwyder, en onder sy leiding het Inderbitzin (1956) getoon dat toediening van ALS uit konyne verkry, die tuberkuliensensitiwiteit in marmotte kon onderdruk.

Dit was egter eers in 1960 dat Woodruff vir die eerste keer aan die moontlikheid gedink het om ALS te gebruik vir die „beskerming" van 'n allotransplantaat. Hy het destyds geredeneer dat 'n volgehoue sterk limfopenie die antwoord op die verlangde immuunonderdrukking in die transplantasiegebied sou wees, en is dus aanvanklik ontmoedig deur die resultate na 'n ALS-toediening, omdat dit nie aan hierdie verwagting voldoen het nie (Woodruff, 1960). Die resultate van Waksman et al. (1961) waar ALS gebruik is om, onder andere, die eerste stel veloorplantings te beskerm, was miskien nie juis indrukwekkend nie, dog wel betekenisvol.

Die werk van Woodruff en sy medewerkers in Skotland (Woodruff en Anderson, 1963, 1964), Paul Russel en sy groep in Boston, V.S.A. (Gray et al., 1964; Monaco et al., 1965a, 1965b) en Sir Peter Medawar en sy kollegas in Engeland (Levey en Medawar, 1966a, 1966b) het duidelik laat blyk dat die gebruik van ALS t.o.v. immunologiese prosesse interessante, indien nie dalk fenomenale, moontlikhede inhou nie en dit het gelei tot die ontketening van intensiewe moderne navorsing wat baie gou uitgebrei het tot alle sentra waar navorsing op immunologie gedoen word. Die snelle vooruitgang t.o.v. die tegniese aspekte van orgaantransplantasie by die mens het baie gou die immunologiese kennis aangaande die beheer van die verwerpingsmeganisme verby gesteek. Dit het die belangstelling in die eienskappe van ALS, veral in terme van die kliniese gebruik daarvan as immuunsuppressor, nog meer geprikkel en dit noodsaaklik gemaak dat alles in die stryd gewerp sou word om die moontlike veilige kliniese toepassing van ALS intensief en sorgvuldig uit te pluis. Gevolglik is baie kennis oor die eienskappe, wese en funksies van hierdie immuunsuppressor gedurende die afgelope twee tot drie jaar ingewin, (Inleidingsartikel, 1967) en alhoewel nog baie eienskappe onbekend is, is ALS reeds bestempel as een van die doeltreffendste immuunsuppressors wat bekend is, indien nie dié doeltreffendste nie.

Bo en behalwe die ondersoekinge na sy waarde as immuunsuppressor wat verderaan meer volledig bespreek word, is ALS al as middel gebruik om verskeie verskynsels te ondersoek.

Metchnikoff (1899) wou dit gebruik om die fagositiese eienskappe van witbloedselle aan bande te lê. Net na hom het Flexner, (1902), nadat hy 'n toename in mononukleêre selle in die beenmurg na 'n in vivo-toediening van ALS waargeneem het, die limfoïede wese van die beenmurg ondersteun. (Dit was op daardie tydstip 'n geskilpunt onder navorsers.)

Die ooreenstemmende in vitro-uitwerking van ALS op timosiete en limfosiete in terme van agglutinasie en toksisiteit het Pappenheimer (1917a, 1917b) laat besluit dat hierdie twee tipes selle nie alleen morfologies identies is nie, maar ook biologies ooreenkom. Deur die antisera wat teen normale of teen leukemiese limfosiete berei is, na adsorpsie met normale limfosiete as antigeen, te vergelyk, het Thompson (1955) bevind dat daar afsonderlike antiliggame in laasgenoemde „ALS" teenwoordig moet wees. Dit was egter strydig met die resultate van Steinberg en Martin (1944, 1946). Laasgenoemde werkers het konynantimens-ALS berei deur limfosiete van normale, of akute en kroniese limfositiese leukemiese mense te gebruik, of teen leukosiete van akute en kroniese miëlositiese leukemiese pasiënte. Met kruisadsorpsies van die antisera met limfosiete of leukosiete wat as antigeen vir die ánder antisera gebruik is, kon hulle geen selspesifisiteit van die onderskeie witbloedselle vasstel nie en het hulle tot die gevolgtrekking gekom dat leukemiese en normale leukosiete t.o.v. hulle chemiese struktuur ooreenkom.

Hintz en Weber (1965) het die moontlikheid ondersoek om ALS-antiliggame te gebruik vir die onderdrukking van die immuunreaksies deur genoemde antiliggame as

draers vir groot dosisse radioisotope te gebruik. Hulle het gehoop om langs hierdie weg spesifieke lokalisasie van die radioaktiwiteit te verkry. Weens hul bevinding van die stadige eliminasie van die ALS uit die bloedstroom kon hulle egter in hierdie metode geen voordeel bo die van gewone heelliggaambestraling sien nie.

ALS is ook gebruik om die moontlike deelname van humorale antiliggame aan die verwerpingsmeganisme van veloorplantings te toets (Kinne en Simmons, 1967).

Die effek van ALS op immunologiese reaksies, en veral op die gebied van transplantasie, is in die huidige navorsingsera die interessantste en wek ook die meeste belangstelling. Die eksperimentele ondersoek waaroor in hierdie verhandeling verslag gedoen word, val ook in hierdie gebied wat gevolglik meer breedvoerig bespreek word.

1.1 ALS as immuunsuppressor

Die dierspesies wat tot dusver as donors van 'n ALS gebruik is, wissel tussen navorsingsgroepe en sluit in perde, bokke, konyne, marmotte, skape, eende en ganse. Dit is teen 'n nog breër verskeidenheid diere soos muise, rotte, marmotte, konyne, honde en ape, en ook teen die mens, berei. Die bron van antigeen kan enigeen van die verskillende limfoïedweefsels in die liggaam wees. (vgl. bl. 14) Die bereidingsmetodes strek van slegs twee immuniserende dosisse (Levey en Medawar, 1966a) tot die bereiding van 'n hiperimmuunserum deur die gebruik van adjuvante saam met die antigeen. Tabel 1 bied 'n vergelykende oorsig van die verskillende bereidingsmetodes van ALS soos deur die onderskeie navorsers gebruik is, en toon aan in welke opsig die verskillende parameters onderling verskil.

Waar die immuunonderdrukkingsvermoë van antisera teen rot- of aaplimfosiete, verkry van konyne en perde, vergelyk is, is gevind dat die konyn in albei sisteme 'n beter donor van ALS as die perd is (Balner en Dersjant, 1967b; James en Anderson, 1967a; Woodruff et al., 1967a). Monaco (1967) gee as moontlike verduideliking hiervoor aan dat hulle groep gevind het dat perde groot hoeveelhede sirkulerende immunoglobulien-G (IgG) besit, in teenstelling met jong konyne. Deur toevoeging van die spesifieke antilimfosietantiliggaam tot hierdie poel (vgl. bl.29) is dit dus voor-die-hand-liggend dat gelyke volumes van die onderskeie perd- en konynantisera verskillende „verdunnings" van die spesifieke antilimfosietantiliggaam sal bevat.

Daar is ook gevind dat die skaap 'n swak donor van 'n antihond-ALS is (Woodruff, Medawar en Monaco, 1967). In die muissisteem het Jooste et al., (1968) gevind dat, waar konyne en perde goeie donors van antimuis-ALS is, hoenders en eende hoegenaamd geen „aktiewe" (vgl. bl.16) ALS lewer nie. Laasgenoemde sera is sterk sitotoksies vir muislimfoïedselle in teenwoordigheid van eend- of konynkomplement, maar besit geen sitotoksisiteit in teenwoordigheid van muiskomplement nie. 'n Eendantikonyn-ALS is egter in konyne effektief om 'n veltransplantaat te beskerm.

ALS verkry van naverwante spesies is minder effektief in geval van ape (Balner, 1967) en is geensins effektief in muise vir die beskerming van velallotransplantate nie

TABEL 1

VERSKILLENDE BEREIDINGSMETODES, STANDAARDISASIES VAN AKTIWITEIT EN SISTEME WAARIN ALS GEBRUIK IS.*

DONOR	ALS ALP ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOIBLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE **	ANTILIGGAME TEEN NORMALE OF ALS-IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSING ***
						ANTIMUIS						
Konyn	ALS	Timosiete	Sien Levey et al., 1966a.	+	soms	Velallotrans-plantaatbe-skerming			In vivo: 1) Tumorinduksie met adenovirustipe-12 in muise			Allison et al., 1967.
Konyn	ALS	Limfknoopselle of timosiete of miltselle		+	+ of -				In vitro: 1) Immunosietadhesietegniek (rosetvormende selle)	Voor antigeen		Bach et al., 1968.
Konyn	ALS	Timosiete	Sien Levey et al., 1966a.	+					In vivo: 1) Humorale antiliggaamvorming (teen SRBS)	Voor, tydens of na antigeen	sk.	Berenbaum, 1967.
Konyn	ALS	Limfknoopselle	Sien Gray et al., 1966.	+	+	1. Leukoaggelutinasie 2. Velallotransplantaatbeskerming			In vivo: 1) TTO-toets: C57Bl→(DBAxC57Bl) F1	Voor antigeen	ip.	Boak et al., 1967a. Boak et al., 1967b.
Konyn	ALS 7S 7S+2ME 19S 19S+2ME	Limfknoopselle	$3x10^8$ selle toegedien op dae 0, 7, en 15. Net voor die derde toediening is 50 ml bloed verkry, en die konyne is uitgebloei op dag 29. Serum is Seitz-gefiltreer en gestoor teen -20°C.	+	+	1. Limfosietagglutinasie. 2. Velallotransplantaatbeskerming			In vitro: 1) Limfosietagglutinasie 2) Limfositolise 3) Bedekking van limfosiete met γ-globulien			Brent et al., 1967a. Brent et al., 1967b.
									In vivo: 1) TTO-toets: C57Bl→pasgebore A 2) Velallotransplantate	Voor antigeen Na transplantaat	ip.	
Konyn	$F(ab')_2$	Limfknoopselle	$5x10^7$ selle driemaal iv. met weeklikse intervalle toegedien. Na een week gebloei.			Sitotoksiese titer bepaal			In vivo: 1) "Enhancement" van tumorgroei in muise			Chard, 1968.
Konyn	ALS-IgG	Timosiete plus limfknoopselle	$2x10^8$ selle plus Freund volledig sk. op verskeie plekke. 10^8 selle daarna weekliks vir 4 weke, waarna diere gebloei is.	+	+	Limfopenie van <1000/mm^3 binne 2 uur.	+		In vivo: 1) Hemolitiese anemie in NZB-muise 2) In vivo-verspreiding van ^{131}I-ALS-IgG	Voor of na aanvang van die reaksie	ip.	Denman et al., 1967a. Denman et al., 1968a. Denman et al., 1968b.
Konyn	ALS	Timosiete	Sien Levey et al., 1966a.	+		Beskerming van velallotransplantaat			In vivo: 1) Limfositiese choriomeningitis by muise na LCM-virusinokulasie			Gledhill, 1967.

* : Afkortings word in die alfabetiese lys verklaar

** : Die (+) of (-) in hierdies kolom dui aan of navorsers, wat 'n perifere limfopenie in hulle proefdiere na ALS-toediening waargeneem het dit onderskeidelik as belangrik, of nie belangrik nie, vir immuunonderdrukking beskou het.

*** : Weens 'n tekort aan spasie in hierdie tabel word slegs die eerste outeur in elke geval genoem.

DONOR	ALS ALP ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOIBLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE	ANTILIGGAME TEEN NORMALE OF ALS -IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSING
Konyn	ALS of ALS-IgG	Limfknoopselle	10^8 selle + Freund volledig toegedien in voetsole van die dier. Drie tot vier weke later is 10^8 selle iv. 3 of 4 dae namekaar toegedien. Na 'n week is die diere gebloei. Serum bewaar met 'n bietjie mertiolaat teen -20°C.	+	+	Limfosietagglutinasie	+(+)	+	In vitro: 1) Limfosietagglutinasie 2) Limfositolise 3) Presipitasie met ekstrakte van limfknoopselle In vivo: 1) Humorale antiliggaamproduksie. 2) Velallotransplantasie 3) ALS + timektomie op antiliggaamproduksie en velallotransplantasie 4) Xenotransplantasie 5) TTO -toets: A/Jax→(A/Jax xC57Bl/6) F1 A/Jax→pasgebore C57Bl/6	1. Voor antigeen 2. Na timektomie 3. Voor selle geneem word vir TTO - toets	ip.	Gray et al., 1964. Gray et al., 1966. Monaco et al., 1965a. Monaco et al., 1965b. Monaco et al., 1966a. Monaco et al., 1966b. Monaco et al., 1966c. Monaco et al., 1967. v.d. Werf et al., 1967.
Konyn	ALS-IgG	Mikrosoomfraksie van timosiete	Fraksie plus Freund onvolledig sk. en im. toegedien. Na drie weke slegs die antigeen iv., en 1 week daarna is die dier gebloei.			Agglutinasie van 1:5 verdunning van die mikrosoomfraksie			In vivo: 1) Lokalisasie van die ALS-IgG		iv.	Hintz et al., 1965.
Konyn	ALS	Timosiete	Sien Levey et al., 1966a.	+		1. Limfopenie van 50% binne 4 uur. 2. LCM -viruseffek teenwerk.			In vivo: 1) 17-D Geelkoorsinfeksie in volwasse muise	Voor, tydens en na virusinokulasie	ip.	Hirsch et al., 1967.
Konyn	ALS	Limfknoopselle	Sien Gray et al., 1966.	+		Leukoagglutinasie			In vivo: 1) ALS + ander immuunsuppressors op velallotransplantasie	Voor transplantasie	ip.	Hoehn et al., 1967.
Konyn	ALS 19S 19S+2ME 7S 7S+2ME 4.5S 10S	Timosiete	10^9 selle iv. 14 dae uitmekaar, en sewe dae na die laaste toediening is die konyne uitgebloei. Serum is Seitz-gefiltreer en gestoor teen -20°C.	+	soms	Beskerming van 'n velallotransplantaat.	+ (-)	+ of -	In vivo: 1) Velallotransplantasie en xenotransplantasie 2) TTO -toets: CBA→(CBAxA)F1 3) Humorale antiliggaamproduksie 4) Herkolonisering van letaalbestraalde muise 5) Eliminasie van NKS-IgG na ALS-toediening.	1. Na veloorplanting 2. Kronies na veloorplanting 3. Voor antigeen 4. Voor selle van diere gebruik is vir reaksies in ander diere	sk.	James + Medawar, 1967. Jooste et al., 1968. Lance, 1967. Lance, 1968. Lance et al., 1967. Levey et al., 1966a. Levey et al., 1966b. Levey et al., 1967b. Levey et al., 1967c.
Konyn	ALS	Limfknoopselle	Sien Gray et al., 1966.	+			+(+)		In vivo: 1) Velallotransplantasie	Voor transplantasie	ip.	Kinne et al., 1967.
Konyn	ALS	Timosiete of limfknoopselle	2-6x10^8 selle sk. of ip., 3 of 4 weeklikse toedienings. Sera gestoor teen -30°C.	-	-	Sitotoksiese titer			In vivo: 1) TTO.-reaksie: CBA→letaalbestraalde (CBAxC57Bl)F1	Aan donors voor selle gebruik word	sk.	Ledney et al., 1967.

DONOR	ALS ALP of ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOIBLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE	ANTILIGGAME NORMALE- OF ALS - IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSINGS
Konyn	ALS-IgG	Timosiete	10^9 selle 2 keer iv. 14 dae na mekaar. 5x 10^8 selle 4 weke en 6 weke later. 7 dae na die laaste toediening is die konyne gebloei.	+	+				In vivo: 1) Velallotransplantasie In vitro: 1) ^{3}H-timidienopname deur miltselle	Tydens transplantasie (∴ dag 0)	ip.	Martin et al., 1967.
Konyn	$F(ab')_2$	Timosiete	3 keer iv. in 4 weke, en 'n week later is konyne gebloei.	+	+				In vivo: 1) TFO -reaksie: C57Bl→(C57BlxCBA)F1	Aan donor voor verwydering van hulle selle	ip.	Naysmith et al., 1968.
Konyn	ALS	Timosiete	$5x10^8$ selle - 3 daaglikse iv.-toedienings, gevolg 5 dae later deur nog drie daaglikse toedienings (2 ip., laaste een iv.) $5x10^7$ selle ip. 2 maande later, en iv. die volgende dag. Lg. versterkende immunisering een maand later herhaal. Sera gebruik sodra titers van hoër as 1000 bereik is.	+	+	Komplement-bindingsaktiwiteit met timosietantigeen	wissel		In vivo: 1) Velallotransplantasie 2) Hipersensitiwiteitsreaksies tot proteïenantigeen	Wissel	ip.	Russe et al., 1965a. Russe et al., 1965b.
Konyn	ALS	Timosiete	Selle en Freund onvolledig sk. toegedien, gevolg deur 5 tot 7 iv.-toedienings.	+					In vitro: 1) Limfositolise			Reef et al., 1963.
Konyn	ALS	Limfknoopselle	Selle en gemodifiseerde Freund id., iv., ip., sk. en im. 3 maal drie keer per week en 'n week later is die konyn gebloei. Sera bewaar teen -30°C.						In vitro: 1) Vergelyking tussen ALS en antileukemiese limfosietantiserum			Thompson, 1955.
Hoender of eend	ALS	Timosiete	Sien Levey et al., 1966a.	+		Beskerming van velallotransplantate	Baie min		In vivo: 1) Velallotransplantasie	Na transplantasie	sk.	Jooste et al., 1968.
Eend	ALS	Timosiete	10^9 selle + volledige Freund toegedien, gevolg deur 3 iv -toedienings van 10^8 selle 10 dae uitmekaar.	+	-	Limfosietagglutinasie			In vivo: 1) Velallotransplantasie	Voor en na die transplantasie		Riethmüller, 1967.
Perd	ALS IgG 19S 7S 4.5S ALS+2ME 10S	Timosiete	Sien Levey et al., 1966a. net meer selle per iv.-toediening.	+	-	Beskerming van velallotransplantate			In vivo: 1) Velallotransplantasie	Na transplantasie	sk.	James et al., 1967e.

DONOR	ALS ALP- ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOI-BLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE	ANTILIGGAME NORMALE- OF ALS - IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSINGS
						ANTIROT						
Konyn	ALS	Miltselle	Nie gespesifiseer nie.	-					In vitro: 1) Effek van ALS op die ameboïede beweging van leukosiete			Christian et al., 1905.
Konyn	ALS	Limfknoopweefsel	2 g daagliks ip. vir 8 dae en gebloei 'n week later.	+	+		+		In vitro: 1) Limfosietagglutinasie 2) Komplementbinding		ip.	Cruickshank, 1941.
Konyn	ALS-IgG	Limfknoopselle plus miltselle + timosiete	2-12x10^8 selle ip. 6 maal oor 7 weke, en 'n week later gebloei, asook 7 dae na elke daaropvolgende 8 versterkende immuniseringsdosis.	+	+	Limfosietagglutinasie	+	+	In vivo: 1) Indusering van poliartritis na adjuvanttoediening	Voor en na adjuvant-toediening	ip.	Currey et al., 1966. Currey et al., 1968.
Konyn	ALS-IgG	Miltselle en limfknoopselle	2x10^8 selle + Freund volledig sk. op verskeie plekke. Daarna is 10^8 selle alleen weekliks sk. toegedien. Na 4 weke gebloei. Filtrasie is deur 'n millipore-filter gedoen en bewaring teen -20°C.	+	+	Limfopenie van $<1000/mm^3$ binne 2 uur	+	+	In vivo: 1) Die effek van ALS-toediening op die limfosietpopulasie		iv.	Denman et al., 1965. Denman et al., 1967b. Denman et al., 1968b. Denman et al., 1968c.
Konyn	ALS	Timosiete	8x10^{11} selle 2 maal 14 dae uitmekaar toegedien, en 'n week later gebloei.	+	+				In vivo: 1) Kruisreaksie van ALS met hemopoiëtiese selle	Selle van donor ge-inkubeer met ALS in vitro		Field et al., 1968.
Konyn	ALS-IgG	Limfoïede selle	Nie gespesifiseer nie.			Limfopenie van $800/mm^3$	+		In vivo: 1) Humorale antiliggaamproduksie	Na en voor antigeen		Frenkel et al., 1967.
Konyn	ALS-IgG $F(ab')_2$ Fab	Timosiete	10^9 selle + Freund volledig in voetsole en verskeie servikale gebiede. 10^9 selle 10 tot 17 dae later in dieselfde gebiede.	+	+ en -	1. Timosietagglutinasie 2. Sitotoksiese titer	+	+	In vivo: 1) Nierallotransplantasie	Voor transplantasie (aan donor of ontvanger)	iv.	Guttman et al., 1967a. Guttman et al., 1967b. Guttman et al., 1967c.
Konyn	ALS IgG $F(ab')_2$ Fab	Ductus thoracicus-selle	2x10^8 ip. eenkeer per week 3 maal, en 10 dae later gebloei. Versterkende immuniseringsdosis van 2x10^8 selle ip. en weer 10 dae later gebloei.		-	Limfopenie van $2000/mm^3$ binne 4 uur	+(+) (-)		In vivo: 1) Humorale antiliggaamproduksie 2) Velallotransplantasie In vitro: 1) Rooibloedsel- en limfosietagglutinasie 2) Sitotoksiese reaksies	Voor en na veloorplanting Voor antigeen		James et al., 1967. Woodruff et al., 1963. Woodruff et al., 1964. Woodruff et al., 1967. Anderson et al., 1967.
Konyn	ALS	Limfknoopselle	Sien Cruickshank, 1941., behalwe toediening was sk.	+	+		+		In vivo en In vitro: 1) Effek van ALS op limfosiete	Daagliks	ip.	Woodruf et al., 1951a. Woodruff, 1960.
Konyn	ALP	Limfknoopselle	1.2-2.0x10^8 sk. 3 maal weekliks uitmekaar en 1 week later gebloei. ALP bewaar teen -20°C.	-	-	Limfopenie van 15% van normale waarde binne 4 uur	+		In vivo: 1) Humorale antiliggaamproduksie 2) Velallotransplantasie	Voor antigeen Na timektomie	ip.	Jeejeebhoy, 1965a. Jeejeebhoy, 1965b.
Konyn	ALS	Timosiete of limfknoopselle	Verskeie gebiede im. en sk. een keer per week, vyf maal en weekliks gebloei vir 5 weke. Soms weer 2 versterkende immuniseringsdosisse, en weer 4 maal een keer per week gebloei.	+		Limfosiet-,timosiet- en rooibloedselagglutinasie	+(+)		In vivo: 1) Velallotransplantasie 2) Vertraagde velreaksies 3) Limfopenie	Voor transplantasie. Enkel of kroniese toediening	ip.	Nagaya et al., 1965. Nagaya et al., 1966.

DONOR	ALS ALP ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOI-BLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE	ANTILIGGAME NORMALE- OF ALS - IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSINGS
Konyn	ALS	Timosiete	2-4 c^3 iv. 4 maal.						In vitro: 1) Limfosietagglutinasie en sitotoksisiteit onder verskeie omstandighede			Pappenheimer, 1917a. Pappenheimer, 1917b.
Konyn	ALS	Limfknoopselle en timosiete	$3x10^7$ selle ip. en $3x10^7$ selle sk. daagliks vir 5 dae; na 'n week is dié dosisse herhaal en weer na 2 dae. Twee dae later gebloei, 'n week gelaat, en weer 5 dae per week geïmmuniseer vir 2 weke en 2 dae later gebloei. Die driewekesiklus herhaal.. Sera bewaar teen -90^oC.	+	+	Graad van limfopenie	+		In vivo: 1) Bloedbeeld In vitro: 1) Sitotoksisieteit	Akuut en kronies	iv. en ip.	Sachs et al, 1964.
Perd	ALS 19S 7S $F(ab)_2$ Fab IgG	Ductus thoracicus-selle	$1.03-1.07x10^9$ iv. 3 maal een keer per week, na twee weke weer een maal, en na 10 dae gebloei.			Limfopenie van $< 2,000/mm^3$ binne 4 uur	+		In vitro: 1) Limfosietagglutinasie 2) Limfositolise In vivo: 1) Humorale antiliggaam-produksie 2) Velallotransplantasie 3) Eliminasiestudies van perdimmunoglobulien	Voor antigeen	ip.	James en Anderson, 1967c. James et al, 1967d. James, 1967b. James, 1968. Woodruff et al, 1967. Anderson et al, 1967. Clark et al, 1967.
Marmot	ALS	Miltweefsel	Emulsie sk. toegedien en gebloei 47 dae daarna.						In vitro: 1) Leukosietagglutinasie 2) Leukositolise			Metchnikoff, 1899.
						ANTIMARMOT						
Konyn	ALS	Limfknope	Emulsie sk. toegedien en gebloei 47 dae daarna.						In vitro: 1) Leukosietagglutinasie 2) Leukositolise			Metchnikoff, 1899.
Konyn	ALS	Miltselle en limfknoopselle	Sk. 2 maal, 8 uur uitmekaar, en gebloei 15 dae.	-	-		-	+	In vitro: 1) Leukosietagglutinasie 2) Leukositolise 3) Rooibloedselaggluti-nasie. In vivo: 1) Bloedbeeld na toediening	Groot en klein dosisse	sk.	Besredka, 1900.
Konyn	ALS	Limfknoopselle	Selle iv. daagliks 21 maal toegedien, en 10 dae later gebloei. Sera bewaar met 0.5% fenol, in yskas na Seitz-filtrasie.	+	+		+		In vivo: 1) Bloedbeeld na toediening	Wissel	ik.	Chev et al, 1936. Chev et al, 1937.
Konyn	ALS	Limfknoopselle en miltselle	Selle ip. een keer per week vir 6 of 8 weke.	soms			-		In vivo: 1) Histologiese beeld van weefsels na ALS-toe-diening	Voor weefsels verwyder	sk.	Flexner, 1902.
Konyn	ALS	Miltselle en nierselle	Nie gespesifiseer nie.	+ en					In vitro: 1) Effek op ameboïde be-weging van leukosiete			Christian et al, 1965.

DONOR	ALS ALP ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOIBLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE	ANTILIGGAME TEEN NORMALE OF ALS-IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSINGS
Konyn	ALS	Timosiete en limfknoopselle	10^9 selle iv. 2 maal 14 dae na mekaar en 'n week later gebloei Seitz-filtrasie van sera en bewaar teen -20°C.	+	+	Beskerming van 'n velallotrans-plantaat.			In vivo: 1) Normale limfosiet-oordragtoets	Ontvanger of donor voor oor-drag van selle.	sk.	Levey et al., 1966a. Levey et al., 1967a.
Konyn	ALS	Timusweefsel	Emulsie ip. 3 keer in 1 week en toe gebloei.						In vitro: 1) Limfosietagglutinasie. 2) Limfositolise In vivo: 1) Effek van ALS-toediening op ontvanger			Moorhead, 1905.
Konyn	ALS	Peritoneale eksudaatselle	Selle im. een maal per week vir 4 weke en na 2 weke gebloei. Sera bewaar teen -15°C.	-	soms		+		In vitro: 1) Hemagglutinasie 2) Limfosietagglutinasie 3) Komplementbinding 4) Presipitasie			Stuart, 1962.
Konyn	ALS	Timosiete	$8x10^7$ selle iv. op 2 opeenvolgende dae, en ip. op die 3de dag, 'n week later is die siklus herhaal en 'n week later $8x10^7$ selle ip. gevolg deur 2 daaglikse iv. toedienings. 'n Week later gebloei. Sera gefiltreer deur millipore-filters.	+	soms		+		In vivo: 1) Kontaksensitisering met DNCB	Voor antigeen	ip.	Turk et al., 1967.
Konyn	ALS	Limfknoopselle	Selle en Freund volledig in voetsole of sk. toegedien. Na 3 en 4 weke gebloei. Maandeliks 'n versterkende immuniseringsdosis en 'n week later gebloei. Bewaar met 'n bietjie mertiolaat teen -20°C.				+(+)		In vivo: 1) Tuberkulienreaksie 2) Kontakallergiereaksies 3) Velallotransplantasie 4) Allergiese enkefalo-miëlites 5) PCA-reaksie	Wissel van kort tot lang tydperke	ip. soms sk. of id.	Waksman et al., 1961.
Konyn	ALS	Limfknoopemul-siefiltraat	Antigeen en Freund volledig im. maandeliks vir 6 maande en 'n week later gebloei.	+	+		+		In vivo: 1) Bloedbeeld na ALS-toediening 2) Arthusreaksie 3) Kontakallergie teen DNCB	Voor bestude-ring	ik.	Wilhelm et al., 1958.
Konyn	ALS	Leukosiete	Nie gespesifiseer nie	+ en -					In vitro: 1) Spesifisiteit van ALS-antiliggame met die volgende toetse: a. Komplementbinding b. Limfosietagglutinasie c. Limfositolise			Witebsky et al., 1930.
Gans	ALS	Timusweefsel	Emulsie ip. 3 keer in een week en toe gebloei.						In vitro: 1) Limfosietagglutinasie 2) Limfositolise In vivo: 1) Effek op ontvanger van ALS			Moorhead, 1905.
Eend	ALS	Timosiete	Selle ip. 4 keer elke 10 dae, daarna gebloei.						In vitro: 1) Komplementbinding In vivo: 1) Sitotoksisiteit			Ritchie, 1908.

DONOR	ALS ALP ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOIBLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE	ANTILIGGAME TEEN NORMALE OF ALS-IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSINGS
Perd	ALS	Limfknoopselle	1-1.86x10^9 selle iv. een keer per week, 3 maal per dag en 'n week later gebloei. Soms versterkende immuniseringsdosisse na 24 dae van 4x10^9 selle en gebloei 7 dae later. Sera gestoor teen -20°C.		+	ANTIVARK.			In vivo: 1) Veltransplantasie (Auto- en allotransplantasie)	Tydens en na transplantasie tot met verwerping.	iv.	Lucke, 1968
Marmot	ALS	Miltsellé en limfknoopselle	Selle sk. een keer per agt maande drie maal, en gebloei na 150 dae.			ANTIKONYN.	-		In vitro: 1) Limfosietagglutinasie 2) Limfositolise 3) Rooibloedselagglutinasie In vivo: 1) Bloedbeeld na toediening.	Groot en klein dosisse	sk.	Besredka, 1900.
Marmot	ALS	Miltweefsel	Emulsies in toenemende hoeveelheid ip. elke 6 tot 8 dae, 6 maal en daarna gebloei.						In vitro: 1) Leukositolise			Funck, 1900.
Marmot	ALS	Limfknoopweefsel	Emulsie sk. toegedien en 47 dae later gebloei.						In vitro: 1) Effek op neutrofielgranulosiete en mononukleêre agranulosiete			Metchnikoff, 1899.
Marmot	ALS	Timusweefsel	Emulsie ip. 2 of 3 keer per week toegedien en toe gebloei.					-	In vitro: 1) Limfosietagglutinasie 2) Limfositolise In vivo: 1) Effek op ontvanger na toediening			Moorhead, 1905.
Rot	ALS	Miltselle	Verskeie inspuitings.						In vitro: 1) Effek op amebofede beweging van leukosiete			Christian et al., 1905.
Gans	ALS	Limfknoopselle en miltselle	Selle ip. 13 keer in 5 maande elke een tot 2 weke. Tussenin gebloei.					+	In vivo: 1) Bloedbeeld na ALS-toediening		ip. of sk.	Bunting, 1903.
Gans	ALS	Limfknoopselle en miltselle	Weeklikse ip.-toedienings vir 6 of 8 weke en daarna gebloei.	soms				-	In vivo: 1) Histologiese beeld na toediening		sk.	Flexner, 1902.
Eend	ALS	Mononuklêere selle	Selle iv. 20 keer toegedien en 8 dae later gebloei.					+	In vivo: 1) Effek op fagositose			Matsumo, 1932.
Perd	ALS	Ductus thoracicus-sellę	0.8-2.7x10^9 selle weekliks iv. 4 maal, later gebloei. Die siklus 6 keer herhaal. Sera gefiltreer deur millipore-filter en bewaar teen -20°C.	+	+	ANTIHOND. Limfosietagglutinasie	+(-)		In vivo: 1) Nierallotransplantasie	Voor, tydens en na transplantasie	iv.	Abaza et al, 1966.

DONOR	ALS ALP ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOIBLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE	ANTILIGGAME TEEN NORMALE OF ALS-IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSINGS
Perd	ALS-IgG ALP ALS	Limfknoopselle miltselle en timosiete	Verskeie sk.-toedienings en gebloei.		soms of +	Limfosietagglutinasie	+(-)		In vivo: 1) Nierallotransplantasie 2) Leverallotransplantasie 3) Effek op ontvanger na ALS-toediening	Aan donor voor transplantasie Aan ontvanger voor en na transplantasie	Alle roetes sk. ip.	Cerrilli et al., 1967. Iwasaki et al., 1967. Starzl et al., 1966. Starzl et al., 1967a.
Perd	ALS	Limfknoopselle	$5x10^9$ selle + Freund volledig verskeie areas sk. toegedien; na drie weke 3 iv.-toedienings per week vir 7 weke en na 'n verdere 2 weke gebloei. Sera bewaar met 'n bietjie mertiolaat teen -20°C.	+	+	Limfosietagglutinasie	+(-)	-	In vivo: 1) Nierallotransplantasie	Voor en na transplantasie	sk.	Monaco et al., 1966. Monaco et al., 1967.
Perd	ALS	Ductus thoracicus-selle	$2x10^9$ tot $3x10^9$ selle iv. 2 maal per week vir 6 tot 7 weke en $2x10^9$ die daaropvolgende week. Daarna gebloei.		+	Limfosietagglutinasie	+(-)	+	In vivo: 1) Nierallotransplantasie 2) Leverallotransplantasie	Na transplantasie	iv.	Pichlmayr, 1966. Pichlmayr et al., 1967.
Skaap	ALS		$25x10^8$ selle ip. 5 maal elke 4 dae en 6 weke na die eerste toediening gebloei, asook 1 week na elke versterkende immuniseringsdosis. Sera bewaar teen 4°C tot op 7 dae.		+	Sitotoksisiteit	-		In vivo: 1) Nierallotransplantasie	Na operasie	iv.	Mitchell et al., 1966.
						ANTI-AAP.						
Konyn	ALS ALS-IgG	Timosiete of limfknoopselle	$2x10^8$ selle sk. maandeliks toegedien. Gereeld tweeweekliks gebloei. Sera bewaar teen -20°C.	-	-	Sitotoksiese titer	+(-)	-	In vivo: 1) Velallotransplantasie 2) Sekondêre siekte a.g.v. beenmurgtransplantasie na heelliggaambestraling	Voor veltransplantasie of tydens en daarna ook. Na beenmurgtransplantasie	sk.	Balner et al., 1967a. Balner et al., 1967b. v. Bekkum et al., 1967.
Perd	ALS ALS-IgG	Timosiete of limfknoopselle	$2\text{-}10x10^9$ selle verskeie areas sk. toegedien elke 2 tot 4 weke, 5 maal herhaal en daarna gebloei.			Sitotoksiese titer	+(-)		In vivo: 1) Velallotransplantasie	Volle duurte van die velooorlewing	sk.	Balner et al., 1967.
						ANTIMENS						
Perd	ALS-IgG	Limfknoopselle timosiete en miltselle	Verskeie toedienings van selle.		soms	Limfosietagglutinasie	+(-)	+	In vivo: 1) Reaksie van pasiënte na toediening 2) Nierallotransplantasie	Voor en na die operasie	im.	Iwasaki et al., 1967. Starzl et al., 1967a. Starzl et al., 1967b.
Perd	ALS-IgG $F(ab')_2$ Fab	Timosiete van 'n kind, miltselle van volwassenes	5 iv.-toedienings van timosiete gevolg deur 'n iv.-toediening en 3 sk.-toedienings van miltselle.	soms	soms	Limfosietagglutinasie en sitotoksisiteit			In vitro: 1) Stimulering van limfosiete tot verhoogde ^3H-timidien- en uridienopname 2) Kwantitatiewe bepaling en isolering van die aktiewe antiliggaam.			Woodruff et al., 1967b. Woodruff et al., 1967c. Woodruff et al., 1967d. Woodruff et al., 1968. Anderson et al., 1967.

DONOR	ALS ALP ALS-IgG	ANTIGEEN-BRON	BEREIDINGS-METODE	INAKTIVEER	ADSORPSIE MET ROOIBLOEDSELLE	STANDAARDISASIE VAN AKTIWITEIT	PERIFERE LIMFOPENIE	ANTILIGGAME TEEN NORMALE OF ALS-IgG	SISTEEM WAARIN GEBRUIK	REGULERING VAN TOEDIENING	ROETE VAN TOEDIENING	VERWYSINGS
Konyn	ALS	Perifere witbloedselle	10^8 selle iv. 5 maal gedurende 1 maand en na 10 dae gebloei.						In vitro: 1) Witbloedselagglutinasie 2) Witbloedselmitose 3) Sitotoksisiteit			Gräsbeck et al., 1963.
Konyn	ALS	Perifere witbloedselle, mangelselle	Selle weekliks 5 maal iv. toegedien en na 8 dae is die diere gebloei.						In vitro: 1) Stimulering van limfosiete tot verhoogde ^{14}C-timidienopname			Holt et al., 1966. Ling et al., 1967.
Konyn	ALS-IgG	Limfknoopselle	Nie gespesifiseer nie.						In vivo: 1) Effek op pasiënte 2) Vertraagde hipersensitiwiteitsreaksies 3) Velallotransplantasie	Voor veltransplantasie	diep sk.	Monaco et al., 1967.
Konyn	ALS	Mangelselle	4 iv.-toedienings.						In vitro: 1) Limfosietagglutinasie 2) Limfositolise			Pappenheimer, 1917a. Pappenheimer, 1917b.
Konyn	ALS	Perifere limfosiete	11-20x10^6 selle 2 keer per week iv. toegedien 12 tot 14 maal.	+		Limfosiet-agglutinasie			In vitro: 1) Vergelyking tussen normale en leukemiese limfosiete met agglutinasie-reaksies			Steinberg et al., 1944. Steinberg et al., 1945. Steinberg et al., 1946.
Bok	ALS ALS-IgG	Miltselle en mangelselle	0.5x10^{10} iv, toegedien, gevolg deur 1.2x10^9 selle 21 dae later. Dier een week later gebloei.	+					In vitro: 1) Sitotoksisiteit 2) Limfosietagglutinasie 3) Limfosiettransformasie tot blastselle 4) Limfosietstimulasie tot verhoogde ^{14}C-timidien-opname.			Greaves et al., 1967.

(Kinne en Simmons, 1967). In ongepubliseerde resultate het Taub (aangehaal uit Jooste et al., 1968) wel verlenging van 'n veloorplanting van muise van die A-ras op CBA-muise verkry deur gebruik te maak van 'n ALS verkry in C57/Ks-muise teen CBA-timosiete. Daar moet egter in aanmerking geneem word dat enige verlenging van 'n allotransplantaat, verkry deur 'n iso-antiserum gerig teen die antigene van die donor van die transplantaat, toegeskryf kan word aan „enhancement", soos gedefinieer deur Kaliss (1958).

Dit is nie alleen heel, lewende limfoïede selle wat 'n „aktiewe" (d.i. 'n immuunonderdrukkende) antiserum lewer nie. Meer as een rumikroanatomiese fraksie van limfoïde selle is „aktief", veral die lipoproteïenfraksie (rumembraanfraksie). So ook gee epidermisselle en, in 'n mindere mate, L-selle (Levey en Medawar, 1966b; Medawar, 1967) sowel as muisembriofibroblaste (Jooste, 1967), „aktiewe" antisera ten opsigte van veloorplantings. Brent en sy medewerkers (1967a) het egter 'n minimale verlenging van veloorplantings verkry met epidermisselle as antigeen vir die „ALS", maar vind die verklaring hiervoor in 'n moontlike ondoeltreffende regulering van immunisering vir die verkryging van die antiserum. Daar is ook gemeld dat Dr. E.B. Hager (aangehaal uit Woodruff, 1967b) antisera in konyne verkry het deur gebruik te maak van Salmonella typhi-antigeen wat immuunonderdrukkende aktiwiteit besit het toe dit in 'n veloorplantingsisteem in konyne getoets is. Verskeie ander bakteriële antigene was egter oneffektief. Daar is al aangetoon dat Salmonella typherium 'n antigeen besit wat ook op muis-lewerselle voorkom (Jenkin, 1963).

Ook met in vitro-toetse is daar gevind dat antisera wat teen nie-limfoïede selle berei is, soortgelyke resultate as met die gewone antilimfosietantisera gee. So het Christian en Leen reeds in 1905 aangetoon dat antisera verkry teen verskeie ander somatiese selle, bv. milt, lewer, nier en hartspier, net soos antilimfosietantiserum 'n beperking van ameboïede beweging van leukosiete in vitro veroorsaak (Christian en Leen, 1905). Met ander in vitro-toetse, byvoorbeeld stimulering van limfosiete tot verhoogde DNA-produksie, was ALS effektief maar nie die antisera teen ander menslike antigene soos Hela-selle, eritrosietmembrane, bloedplaatjies, IgG, ens. nie (Holt et al., 1966; Ling et al., 1967). Adsorpsiestudies met die genoemde ooreenstemmende weefsels (Stuart, 1962; Sacks et al., 1964; Iwasaki et al., 1967) dui daarop dat selfs na immunisering met slegs limfoïede weefsel, ALS verskillende antiliggame bevat wat gerig is teen verskeie antigene wat ook op ander weefsels, bv. lewer, nier, spier ens. voorkom.

Toe ALS, berei teen timosiete, vergelyk is met 'n antiserum berei teen selvrye ekstrakte van limfknope, het Turk en Willoughby (1967) gevind dat waar albei 'n perifere effek besit (dit is, onderdrukking van die inflammatoriese proses wat saamgaan met vertraagde hipersensitiwiteit), die antitimosietantiserum 'n baie sterker sentrale effek (dit is, op die limfknope) getoon het. Moorhead (1905) was blykbaar die eerste persoon wat timosiete as bron van antigeen gebruik het maar hy het geen effek daarmee verkry nie. 'n Vergelyking tussen ALS verkry met timosiete en met limfosiete (van limfknope) as antigeen het laat blyk dat timosiete en beter ALS lewer as limfosiete (Nagaya en

Sieker, 1965; Balner en Dersjant, 1967a). (Dit is baie interessant in dié opsig dat Potworoski en Nairn (1967) meld dat hulle 'n antigeen spesifiek vir die timus vasgestel het).

Verhitting van die timosiete teen 48.5°C vir 20 minute (Jooste et al., 1968) het geen nadelige effek op die aktiwiteit van ALS gehad nie. Hierteenoor meld Besredka (1900) dat voorafbehandeling van die limfknope met hitte of absolute alkohol, die leukolitiese eienskappe van die verkrygde ALS verswak het.

Daar is nog nie 'n metode gepubliseer waarvolgens die limfoïed-antigeen gestoor kan word sonder dat die effektiwiteit daarvan verlore gaan nie. Na hulle ondersoek in hierdie rigting moes ook Jooste et al., (1968) rapporteer dat limfosiete na indompeling in dimetielsulfoksied (DMSO) teen -79°C gestoor is, minderwaardig was.

Uit die voorafgaande blyk dit dus dat die aktiewe deel van ALS 'n hele groep antiliggame verteenwoordig. Hierdie antiliggame is gerig selfs teen antigene wat op selle buite die limfoïede weefsel voorkom. Dat laasgenoemde egter die beste bron van antigene is, word algemeen aanvaar. Dit kan wees dat limfoïde selle ryklik bedeeld is met antigene wat in die „transplantasieteenreaksiegebied" optree, soos ook gesuggereer word deur die vermoë van limfosiete om immunologiese toleransie teenoor alle orgaan- en weefseltransplantate te bewerkstellig (Medawar, 1967).

Soos eintlik verwag kan word is antisera ook reeds berei teen ander soorte witbloedselle sowel as teen hemopoïetiese selle. Op grond hiervan kon aangetoon word dat 'n antineutrofielantiserum 'n skynbaar spesifieke vernietigende invloed op die fagosiete van die perifere bloed het (Matsumo, 1932). In vivo-toediening van hierdie antiserum het geen merkbare invloed op die sirkulerende limfosiete nie, maar veroorsaak 'n totale neutropenie, nie alleen in die perifere bloed nie, maar ook in die weefsels en beenmurg (Chew et al., 1936). Die graad en duur van die neutropenie word beïnvloed deur die roete van toediening soos intrakardiaal (ik.), intraperitoniaal (ip.), subkutaan (sk.), ens. Humphrey (1955) het aangetoon dat die omgekeerde passiewe Arthus-reaksie in die marmotte wat met bogenoemde antisera neutropenies gemaak is, gemodifieer is en dat hierdie marmotte ook meer vatbaar vir bakteriële infeksies was.

'n Antiserum teen beenmurgselle is deur Funck (1900) berei wat ook bevind het dat dit 'n erger litiese werking teen neutrofiele as teen limfosiete besit. Flexner (1902) en later Bunting (1903) het aangetoon dat in vivo-toediening van hierdie antiserum 'n duidelik merkbare invloed op die beenmurg het en na 'n aanvanklike sitopenie 'n algehele hiperplasie daarvan veroorsaak.

Om die resultate van die eksperimentele ondersoeke met ALS te toets, word van 'n verskeidenheid metodes gebruik gemaak. Meestal kom dit neer op die gebruik van isotoniese soutoplossing (Sacks, 1964), die serum van ongeïmmuniseerde diere van dieselfde spesie as dié wat as donor vir die ALS gebruik is (meeste navorsers) of 'n antiserum berei teen nier en lewerselle van 'n ander spesie om sodoende ook heterofiele antiliggame in die kontroleserum verteenwoordig te kry (Chew en Lawrence, 1937). Sommige navorsers gebruik onbehandelde diere as kontrole.

1.2 In vitro-uitwerking

Soos reeds aangetoon, besit ALS 'n verskeidenheid antiliggame waarvan sommige gerig is teen die talle antigene teenwoordig op witbloedselle as geheel, en op limfosiete in die besonder. Hierdie antiliggame kan op verskeie maniere aangetoon en gemeet word.

Met immunofluoressensietegnieke kan aangetoon word dat konynantimuis-ALS muistimosiete en -limfosiete bedek (Levey en Medawar, 1966a; Woodruff et al., 1966). ALS veroorsaak inhibisie van beweeglikheid en fagositose van witbloedselle (Stuart, 1962). Wanneer ALS vir 20 minute teen 56°C verhit word om die komplement daarin teenwoordig te vernietig, agglutineer dit witbloedselle. (Pappenheimer, 1917a; Steinberg en Martin, 1944, 1945; Gray et al., 1964, 1966; Monaco et al., 1966a, 1966c, 1967a; Nagaya en Sieker, 1966; Woodruff et al., 1966, 1967a; Brent et al., 1967a; Gowland, 1967; Greaves et al., 1967; Iwasaki et al., 1967; Currey en Ziff, 1968). Onder die regte omstandighede in weefselkulture, stimuleer dit limfosiete tot blasttransformasie en verhoogde opname van ^{3}H-timidien of ^{3}H-uridien in sellulêre DNA of RNA, (Gräsbeck et al., 1963; Holt et al., 1966; Greaves et al., 1967; Ling et al., 1967; Martin et al., 1967; Woodruff et al., 1967b). In hierdie toets is dit blykbaar verkieslik dat geen komplement teenwoordig moet wees nie (Holt et al., 1966). In teenwoordigheid van die ooreenstemmende antigene, bv. limfosiete en timosiete, bind ALS komplement in vitro (Ritchie, 1908; Witebsky en Koniya, 1930; Cruickshank, 1941; Russe en Crowle, 1965b). Daar is voorts vasgestel dat ALS in teenwoordigheid van komplement, lise van limfosiete veroorsaak (Funk, 1900; Ritchie, 1908; Pappenheimer, 1917a, 1917b; Gräsbeck et al., 1963; Sacks et al., 1964; Gray et al., 1966; Woodruff et al., 1966; Brent et al., 1967a).

Nuutbereide ALS bevat gewoonlik rooibloedselagglutiniene en -lisiene, soos reeds deur die vroegste navorsers aangetoon is (Besredka, 1900; Christian en Leen, 1905). Die hoeveelheid teenwoordig in die betrokke ALS hang af van die hoeveelheid kontaminasie van rooibloedselle in die immuniseringsantigeenpoel, sowel as van die teenwoordigheid van antigene teenwoordig op die limfoïede weefsel wat ooreenkom antigene wat op rooibloedselle teenwoordig is. Hierdie rooibloedselantiliggame kan maklik uitgeadsorbeer word met die ooreenstemmende rooibloedselle sonder merkbare verlies van die „aktiwiteit" van ALS (Pappenheimer, 1917a, 1917b; Wilhelm, 1958; Sacks, 1964; Gray et al., 1966; Iwasaki et al., 1967; Ling et al., 1967; Currey en Ziff, 1968; o.a.). Hierdie feit word deur alle navorsers aanvaar en adsorpsie van die oortollige rooibloedselantiliggame maak deel uit van die bereidingsroetine van ALS.

1.3 Standaardisering van die „sterkte" van ALS

Elke poel ALS wat berei is, verskil in graad van immuunonderdrukking van elke ander een, weens die inherente verskille tussen die vermoëns van individuele donors van ALS om op die immunologiese prikkeling te reageer, selfs waar die roete van antigeenadministrasie identies is (Jooste et al., 1968). Hierdie omstandigheid bemoeilik noodwendig die standaardisering van die sterkte van ALS waarvoor reeds verskeie

metodes, soos in tabel 1 opgesom, ontwikkel is.

In vitro-metodes sal vanselfsprekend die eienskappe wat vooraf bespreek is, betrek. Daarmee word dan die agglutinasie- of litiese titer van die ALS bepaal. Nog 'n in vitro-metode is die inhibisie van ALS op die rosetformasie wat verkry word met 'n immunosietadhesietegniek (skaaprooibloedselle rangskik in 'n rosetformasie om sekere miltselle en hierdie miltselle word sodoende getel) (Bach en Antoine, 1968).

In vivo-metodes behels o.a. die perifere limfopenie wat verkry word na ALS-toediening (Woodruff en Anderson, 1963; Sacks, 1964; Jeejeebhoy, 1965a, 1965b; Denman et al., 1967b; Hirsch en Murphy, 1967), of die vermoë van ALS om limfositiese choriomeningitis klinies en histologies te verhoed na die inokulasie van ICR-muise van 1 week oud met LCM-virus (Hirsch en Murphy, 1967). 'n Verdere in vivo-metode bestaan uit die berekening van die gemiddelde oorlewingstydperk (GOT) van velallotransplantate in 'n groep van 8 tot 12 muise, nadat 'n gestandaardiseerde hoeveelheid ALS subkutaan op die tweede en vyfde dag (dag +2, +5), na die veloorplanting toegedien is (Levey en Medawar, 1966a, 1966b). Hierdie metode is tot dusver die enigste metode wat direk die immunologiese onderdrukkingsvermoë van die ALS in die transplantasiegebied evalueer. Daar is nog nie bewys dat enige ander standaardiseringsmetode direkte oorsaaklike korrelasie met die vermoë van die ALS om immuunreaksies te onderdruk, toon nie.

Die navorsingsgroep van die NIMR, Mill Hill, Londen, het gevind dat alle „aktiewe" ALS sitotoksies is, maar nie alle sitototoksiese ALS was in vivo aktief nie (Jooste et al., 1968). So is ook aangetoon dat voëlantisera wat nie soogdierkomplement bind nie, onaktief was in die betrokke soogdiere (Riethmüller, 1967; Jooste et al., 1968). Soos later aangetoon sal word (vgl. bl.) besit sekere fragmente van die IgG-fraksie van ALS in vitro- en sekere in vivo-eienskappe wat met dié van ALS ooreenstem, maar hulle kan nie allotransplantate beskerm nie.

„Aktiewe" serum kan verkry word deur 'n enkele immuniseringsdosis aan die donor van die ALS. Alhoewel 'n tweede toediening van die antigeen „sterker" ALS lewer, lei verdere antigeentoediening tot die vorming van 'n groter spektrum „onnodige" antiliggame, bv. rooibloedselagglutiniene, wat óf 'n inhiberende effek op die ALS-aktiwiteit kan hê, óf uitgeadsorbeer moet word voordat die ALS gebruik kan word (Medawar, 1967; Currey en Ziff, 1968; Jooste et al., 1968). Die aktiwiteit van ALS kan uitgeadsorbeer word met 'n hoë verhouding limfoïede selle (Waksman et al., 1961; Levey en Medawar, 1967b; Medawar, 1967), wat daarop dui dat die aktiewe deel van ALS in wese 'n antiliggaam is. Alhowel Iwasaki et al., (1967) 'n 90%-verlies van aktiwiteit na herhaalde adsorpsies met nier- of lewerweefsel aangetoon het, kon Levey en Medawar (1966a, 1967a) die toksiese antiliggame sonder verlies van ALS-aktiwiteit verwyder, deur adsorpsie van hul konynantimarmot-ALS met asetoonpoeiers of deeglik gewaste vergruisings long- en nierweefsels sonder die verlies van die ALS-„aktiwiteit" (Levey en Medawar 1966a, 1967a).

1.4 In vivo-uitwerking

Reeds vanaf die vroegste navorsing oor hierdie gebied is dit bekend dat die werking van ALS merendeels spesiespesifiek is (Besredka, 1900; Christian en Leen, 1905, Witebsky en Koniya, 1930; Cruickshank, 1941; Gray et al., 1964, 1966: en ander).

Alle werkers besef dat die patroon en regulering van ALS-toediening met die daaropvolgende immunologiese prikkeling (sien tabel 1) saamhang. Berenbaum (1967) bewys dat vir die onderdrukking van 'n humorale antiliggaamproduksie, die ALS óf vóór óf gelyktydig met die antigeen toegedien moet word maar nie daarna nie. So ook in die geval van transplantate vind baie navorsers dat ALS reeds vóór die oorplanting toegedien moet word, (Monaco et al., 1965a, 1966b; Nagaya en Sieker, 1965; Starzl et al., 1966, 1967a, 1967b; Balner en Dersjant, 1967a). Levey en Medawar (1966a) gebruik egter weer die sisteem van ALS-toediening ná die veloorplanting. Die doeltreffendheid van hierdie lg. metode hang heel moontlik saam met die vermoë van ALS om 'n reeds bestaande toestand van sensitiwiteit teen te werk soos later weer bespreek word.

Die roetes van toediening verskil baie tussen die navorsers en ook in hulle uitwerking (tabel 1). So het Chew en Lawrence (1937) aangetoon dat 'n intrakardiale (ik.) ALS-toediening van 0.5 ml vir marmotte dodelik is maar 'n intraperitoneale-(ip.) toediening van dieselfde hoeveelheid, nie. Ewe-eens kan 'n intraveneuse-(iv.) toediening maklik tot 'n skokreaksie lei (Sacks, 1964; Pichlmayr, 1966; Balner en Dersjant, 1967a). Aangesien subkutane-(sk.) en ip.-toedienings nie hierdie gevaar inhou nie, word hierdie roetes deur die meerderheid navorsers gebruik.

Alhoewel ALS nie na 'n sk.- of ip.-toediening toksies is nie, is die regulering vir 'n kroniese toediening tog belangrik. 'n Te groot daaglikse dosis (iv. of sk.) kan lei tot atrofie van die limfoïedweefsel en die gevolglike afsterwe van die dier (Nagaya en Sieker, 1965; Monaco et al., 1966a, 1966b). 'n Kleiner dosis het nie hierdie gevaar nie (Nagaya en Sieker, 1965), maar hier hang dit baie van die regulering van die toediening af. 'n Sogenaamde kroniese toepassing, dit is, 'n gereelde toediening met kort tussenposes, is die beste en onderdruk antiliggaamproduksie teen die IgG-fraksie van die ALS (vgl. bl.21) (Gray et al., 1966; Lance, 1967; Pichlmayr et al., 1967). Hierteenoor het Lance (1967) met muise gevind dat herhaling, na relatiewe lang tussenposes, van 'n aantal nabymekaargelee toedienings, die diere teen die immunoglobuliene van die ALS geïmmuniseer het. Verdere ALS-toedienings het dus gelei tot tagifilakse en transplantaatverwerping.

Soos reeds gemeld, was Woodruff (1960) die eerste persoon wat die moontlike toepassing van ALS in die transplantasiegebied ondersoek en dit toe boonop afgekeur het. Die suksesvolle toepassing van ALS as immuunonderdrukkingsmiddel is egter gou bewys by velallotransplantate op muise, rotte, varke en marmotte, sowel as mense (Waksman et al., 1961; Woodruff en Anderson, 1963, 1964; Gray et al., 1964; Monaco et al., 1965b, 1966b, 1967a; Nagaya en Sieker, 1965; Russe et al., 1965a; Levey en Medawar, 1966a, 1966b; Balner en Dersjant, 1967a; Hoehn en Simmons, 1967; Kinne en Simmons, 1967; Lance 1967; Martin, 1967; Lucke et al., 1968). Dit is ook suksesvol toegepas by

nierallotransplantate in honde (Abaza et al., 1966; Mitchell et al., 1966; Monaco et al., 1966a, 1967; Pichlmayr, 1966; Starzl et al., 1966, 1967a; Pichlmayr et al., 1967) en rotte (Guttman et al., 1967a) en by leweroorplantings in honde Starzl et al., 1966, 1967a; Pichlmayr et al., 1967). Starzl meld dat dit makliker is om 'n lewerallotransplantaat met ALS te „beskerm", as 'n nierallotransplantaat. In al bogenoemde transplantasieëeksperimente is ALS volgens verskillende reguleringsmetodes (tabel 1) aan die ontvanger van die transplantaat toegedien. Guttman et al., (1967a, 1967b) is egter van mening dat 'n vooraftoediening van ALS aan die donor van die orgaan by nieroorplantingseksperimente met rotte 'n verlenging van die oorlewingstydperk van die transplantaat bewerkstellig. Met soortgelyke eksperimente in 'n hondesisteem kon Cerilli et al., (1967) egter nie hierdie resultate van Guttman bevestig nie.

Wanneer 'n dier eers eenkeer met 'n sekere antigeen kennis gemaak het, sal 'n daaropvolgende blootstelling aan dieselfde antigeen 'n heftiger immunologiese reaksie tot gevolg hê en 'n gevolglik vinniger vernietiging van die antigeen, d.w.s. versnelde verwerping van die transplantaat sal geskied. Die beskouing is dat hierdie sekondêre reaksie met 'n sogenaamde „immunologiese geheue" saamhang. ALS besit egter die vermoë om ook 'n sekondêre velallotransplantaat te beskerm as dit tydens die tweede oorplanting toegedien word (Waksman et al., 1961; Levey en Medawar, 1966a, 1966b, 1967b; Monaco et al., 1966b). Indien die tydperk tussen die laaste ALS-toediening en die transplantasie van die sekondêre transplantaat egter verleng word, besit ALS nie meer die vermoë om 'n tweede transplantaat se oorlewingstydperk te verleng nie. Wel besit dit die vermoë om hierdie sogenaamde „immunologiese geheue" uit te wis sodat die dier voor die oorplanting van die tweede transplantaat terugkeer tot 'n „rein" toestand; dit is, asof hy nog nooit met die betrokke antigeen kennis gemaak het nie. Die dier reageer asof hierdie betrokke transplantaat weer 'n primêre is. (Abaza et al., 1966; Levey en Medawar, 1966b; Möller, 1967; Lance, 1968).

Behalwe allotransplantate besit ALS ook die vermoë om rotvelxenotransplantate op muise te berskerm (Monaco et al., 1966b), sowel as mens- en marmotxenotransplantate op muise (Levey en Medawar, 1966a).

ALS het egter 'n veel wyer toepassingsveld as net dié van orgaan- en weefseloorplanting. So het Inderbitzin reeds in 1956 bewys dat dit die velreaksie teen tuberkulien en dinitrochlorobenzeen in marmotte kon onderdruk (Inderbitzin, 1956). Hierdie bevinding is deur ander gestaaf (Wilhelm et al., 1958; Waksman et al., 1961) en daar is verder ook aangetoon dat vertraagde velreaksies teen gereinigde difterietoksoïed onderdruk kon word (Waksman et al., 1961). Dit geld ook vir die velreaksies teen beesserumalbumien (BSA) in rotte (Nagaya en Sieker, 1966) en dié teen trichofiton, monilia en parotitis in die mens (Monaco et al., 1967a; Starzl et al., 1967b).

Toediening van ALS kom in sy uitwerking ooreen met sjirurgiese timektomie t.o.v. die veroorsaking van tumors by vatbare muisrasse (CBA-ras) sowel as in rasse (C3H-ras) wat gewoonlik na neonatale inokulasie van Adenovirus-tipe-12 weerstandbiedend is.

Dit beskerm muise teen limfoïede choriomeningitis na LCM-virusinokulasie (Gledhill, 1967; Hirsch en Murphy, 1967), asook teen die effek van 17-D-geelkoorsvirus (Hirsch en Murphy, 1967). Van Bekkum et al., (1967) het voorts gevind dat alle ape onder konyn-anti-aap-ALS-behandeling gesterf het aan ernstige virusinfeksies. Law en Allison (persoonlike mededeling) het by muise wat met Maloney-leukemievirus en ALS behandel is 'n baie hoë insidensie leukemie gevind. Die leukemie was egter van 'n totaal verskillende histologiese tipe as dié wat gewoonlik na inokulasie met slegs Maloney-leukemievirus vertoon word.

'n Coomb-positiewe hemolitiese anemie ontstaan spontaan in die NZB-muisras. Toediening van ALS twee-maal per week vanaf die tweede maand na geboorte vir twee maande onderdruk hierdie verskynsel en negatiewe antiglobulientoetse word verkry (Denman et al., 1967a, 1968a). Die spontane niersiekte wat in B/W-muise ontstaan kon egter nie met ALS-toediening verhoed word nie. (Denman et al, 1966).

Eksperimentele allergiese enkefalomiëlitis kan verhoed word deur ALS-toediening (Waksman, 1961) en Currey en Ziff (1966) het gevind dat ALS-toediening die allergiese artritis in rotte, wat gewoonlik ná inspuiting van volledige Freund-adjuvant ontwikkel, verhoed het. Indien hierdie laasgenoemde vier gevalle verteenwoordigend is van outo-immuunsiektes by die mens, blyk dit dat sekere immunologiese afwykinge op ALS-toediening sal reageer, terwyl ander weer nie sal nie.

Die immuunonderdrukkingseffek van ALS word op verskeie maniere versterk of verswak. Medawar en sy kollegas het byvoorbeeld gevind dat 'n subletale dosis X-strale (450 r) in muise, vóór ALS-toediening, die gemiddelde oorlewingstydperk (GOT) van 'n velallotransplantaat langer beskerm het as in kontroles waar net ALS-toediening gebruik is. Toe die bestraling egter na die ALS-toedienings geskied het, is die GOT verkort. Daar moet op gelet word dat, ná so 'n bestraling, 'n aktiewe selproliferasie plaasvind en die verskil tussen die twee eksperimente bestaan daarin dat ALS in eersgenoemde geval toegedien is aan die prolifererende selle terwyl die proliferasie in die laasgenoemde geval ná die ALS-toediening gevolg het (Levey en Medawar, 1966b).

'n Hipersekretoriese respons van die bynierkorteks, met 'n gevolglike verhoogde sirkulerende korikosteroonkonsentrasie, kan 'n limfositolitiese uitwerking hê (De Vries, 1950; Dougherty, 1960). Toediening van konynantimuis-ALS van A/Jax-muise veroorsaak ook 'n styging in die kortikosteroonkonsentrasie van die normale 7 tot 14 mg/100 ml plasma tot waardes bokant 25 mg/100 ml plasma. Hierdie styging is nie 'n niespesifieke effek van konynserum nie want NKS-toediening het geen styging in kortisoonkonsentrasie veroorsaak nie. Sommige diere het egter 'n limfopenie sonder 'n styging van kortisoon-konsentrasie getoon terwyl ander diere 'n volgehoue limfopenie gehad het selfs nadat hul kortisoonkonsentrasie tot die normale waardes teruggekeer het. Hierdie groep navorsers het tot die gevolgtrekking gekom dat die verhoogde kortikosteroonkonsentrasie tydens hulle ondersoek eerder 'n reaksie was op die selvernietiging wat deur die ALS veroorsaak word, as wat dit vir die limfopenie verantwoordelik was (Gray et al., 1966).

Toediening van hidrokortisoonasetaat saam met ALS gee 'n beter immuunonderdrukking in die veltransplantasiesisteem as ALS alleen (Levey en Medawar, 1966b; Hoehn et al., 1967.) Hierteenoor het ALS plus adrenalektomie weer die teenoorgestelde effek, want die GOT-waardes is teenoor dié van die kontroles (slegs ALS-toediening) verkort (Levey en Medawar, 1966b).

'n Ander metode wat die sirkulerende limfosiete laat verminder, t.w. die dreinering van die Ductus thoracicus, het ook 'n sinergistiese effek met ALS op die GOT-waardes van veloorplantings in rotte gehad (Woodruff et al., 1963, 1964). Alhoewel splenektomie geen effek op die werking van ALS het nie (Cruickshank, 1941; Monaco et al., 1965a), kan volwasse timektomie die werking van ALS in muise versterk beide ten opsigte van GOT-verlenging van primêre of sekondêre veloorplantings en die onderdrukking van primêre en sekondêre antiliggaamreaksie teenoor skaaprooibloedselle (SRBS) met gevolglike limfopenie (Monaco et al., 1965a, 1965b, 1967). Hierdie resultate is in rotte bevestig (Jeejeebhoy, 1965a, 1965b). Daar is egter geen versterking van die effek van ALS by 'n mens gevind wat 'n vroeëre timektomie ondergaan het nie (Starzl et al., 1967a). Daar was ook geen aanvanklike verskil in die getimektomeerde muise en „normale" muise met ALS-toediening op die reaksie teen 'n velallotransplantaat in muiseksperimente wat deur Levey en Medawar gedoen is nie (Levey en Medawar, 1966b) maar hulle data, as 'n geheel gesien, steun die postulaat dat timektomie die langtermynherstel van 'n immunologiesonderdrukte toestand vertraag.

ALS het laastens ook 'n sinergistiese uitwerking op immuunsuppressors soos asothioprien, prednisone, bromodeoksiuridien en tioguanien, wat gewoonweg in die kliniek toegepas word, met die gevolg dat die dosisse van hierdie middels verminder kan word om die verwerpingsreaksie te onderdruk na ALS-toediening bygebring is (Hoehn en Simmons, 1967; Starzl et al., 1967a, 1967b).

Toediening van ALS of die IgG-fraksie daarvan (vgl. bl.29) in genoegsame dosisse onderdruk die primêre antiliggaamproduksie teen verskeie antigene in verskeie spesies (tabel 1), soos bv. SRBS in muise (Monaco et al., 1965b, 1966b; Berenbaum, 1967; Frenkel et al., 1967) en rotte (Currey en Ziff, 1966; Anderson et al., 1967, James and Anderson, 1967a; Woodruff et al., 1967a) teen alumgepresipiteerde beesserumalbumien (BSA) in rotte (Anderson et al., 1967; James en Jubb 1967c; Woodruff et al., 1967a; James, 1968), asook in muise (Levey, 1967), en teen Salmonella-11-antigeen wat met Freund-adjuvant gemeng is (Gray et al., 1964). ALG (antilimfosietglobulien) was egter nie in staat om antiliggaamproduksie teen 'n humorale antigeen, nl. "Keyhole limpet hemocyanin", in rotte te onderdruk nie (Frenkel et al., 1967). Die effek van ALS op 'n sekondêre antiliggaamproduksie is egter geensins noemenswaardig nie (Gray et al., 1964; Monaco et al., 1965b, 1966b; James en Anderson, 1967a; James en Jubb, 1967c.).

Heteroë antilimfosietantiserum of die globulienfraksie daarvan is self 'n antigeen, en daar is gevolglik ingegaan op die moontlikheid of ALS antiliggaamproduksie teen homself kan verhoed, of teen die globulienfraksie van ongeïmmuniseerde diere van

dieselfde spesie wat as donor vir die ALS gebruik is. Die resultate verkry is effens teenstrydig en daar kan hier aan die begin genoem word dat, in die dae toe antitetanus-antiserum as sodanig meer gereeld toegedien is, die ontvangers van taamlike groot hoeveelhede perdserum in drie groepe verdeel kon word, naamlik dié wat vinnig daarop reageer, gemiddeld, en derdens, 'n groep waar geen immuuneliminasie vir ongeveer 40 dae gevind is nie en wat dus baie varieer het (Humphrey, 1967b).

Daar is gevind dat daar met ALS-toediening geen antiliggame teen die antiserum, of so nie, nie teen die IgG- en albumienfraksie daarvan ontwikkel het nie (Gray et al., 1966; Levey en Medawar, 1966a; Monaco et al., 1966a; Balner en Dersjant, 1967a); Lance (1967) het aangetoon dat solank as daar tydens kroniese ALS-toediening geen antiliggame teen die IgG-fraksie aangetoon kon word nie, 'n velallotransplantaat by muise beskerm is, maar toe antiliggame ontwikkel het, het verdere ALS-toediening gelei tot tagifilakse en verwerping van die transplantate. Sodra muise gesensitiseer is teen die IgG-fraksie van ALS (ALS-IgG), kan verdere ALS-toedienings ook tot ernstige anafilaktiese skok lei, soos wel in muise gevind is (Rees - persoonlike mededeling).

Aan die ander kant het Besredka alreeds in 1900 antiliggame teen ALS in die ontvanger daarvan aangetoon (Besredka, 1900). Hierdie bevinding van antiliggaamproduksie teen ALS- of IgG-fraksie daarvan is deur verskeie ander navorsers ná hom bevestig (Currey en Ziff, 1966; Denman et al., 1967b; Iwasaki et al., 1967; Pichlmayr et al., 1967). Nieteenstaande hierdie toestand is die effek van ALS nie benadeel nie (Currey en Ziff, 1966; Levey en Medawar, 1966a). Trouens deur die IgG-fraksie van die „normale" serum en van die ALS met radioisotope te merk (gewoonlik met ^{131}I) is immuuneliminasie na intensiewe ALS toediening in diere verkry (Anderson et al., 1967; Clark et al., 1967; Guttman et al., 1967a, 1967b).

Soos later bespreek sal word (vgl. bl.31) word baie onnodige elemente wat antigenies vir die donor is, met 'n ALS-inspuiting toegedien, want alhoewel die aktiewe deel meestal in die IgG-fraksie van die ALS geleë is, bestaan daar 'n moontlikheid dat die oorgrote meerderheid elemente in die IgG-fraksie nie antilimfosities is nie, en gevolglik moontlik geen bydrae tot immuunonderdrukking lewer nie (Anderson et al., 1967; Woodruff et al., 1967c).

Daar is reeds aangetoon dat ALS 'n onderdrukkende effek op beide sellulêre en humorale immunologiese reaksies besit. Deur die dosis wat vir beide tipes immunologiese reaksies benodig word te vergelyk, is daar gevind dat 'n groter dosis benodig word om 'n humorale antiliggaamreaksie te onderdruk as 'n sellulêrbemiddelde een (Waksman et al., 1961). Die algemene stelling volg dus dat ALS verkiesliker en makliker 'n effek toon op immunologiese reaksies wat deur selle (limfosiete) bemiddel word, soos byvoorbeeld 'n allotransplantaatverwerpingsreaksie (Allison et al., 1967; Gledhill, 1967; Levey en Medawar, 1967b; en talle ander). Hierdie stelling word ook oortuigend gestaaf deur die gesonde toestand waaronder eksperimentele diere tydens ALS-behandeling verkeer. Dit dui dus daarop dat die diere nog weerstand kan bied teen die in-

dringende mikroörganismes van hul omgewing. Daar is ook aangetoon dat muise wat onder 'n langtermyn ALS-behandeling was - genoegsaam om 'n velallotransplantaat te beskerm - nog in staat was om antiliggame teen Salmonella-H-antigene te vervaardig, en ook sirkulerende antiliggame teen spesifieke H2-antigene van die donor besit het (Balner en Dersjant 1967a; Lance, 1967). Die diskriminerende werking van ALS word ook duidelik aangetoon deur die effek van heelliggaambestraling met dié van ALS in muise te vergelyk. Heelliggaambestraling van 600 r beskerm A-ras-veltransplantate op CBA-muise vir dieselfde tydperk as twee toedienings 0.125 ml van 'n „goeie ALS (Brent en Medawar, 1966; Levey en Medawar, 1966a). Die bestraling van 600 r veroorsaak egter 'n langdurige benadeling van die ontvanger se vermoë om humorale antiliggame te vervaardig (Micklem en Brown, 1961; Micklem en Loutit, 1966). Hierteenoor toon so 'n lae dosis ALS geen merkbare effek op antiliggaamproduksie van die ontvanger nie (Levey en Medawar, 1967b).

'n Verdere afleiding wat uit die aangehaalde resultate volg, is dat ALS primêr op die sirkulerende perifere witbloedselle inwerk. Resultate wat hierdie stelling steun is deur verskeie werkers aangeteken (Denman en Frenkel, 1968b, 1968c). Die moontlikheid dat die primêre veranderinge, na ALS-toediening, op die sirkulerende witbloedselle betrekking het, is die eerste keer deur Flexner, (1902) geopper, maar hy het terselfdertyd aan die waarskynlikheid hiervan getwyfel.

ALS is byna gladnie in staat om sensitisering deur 'n besonder lae intraveneuse dosis (5×10^6) allogeneïese limfoïede selle (Brent en Medawar, 1961) te verhoed nie (Levey en Medawar, 1967a, 1967b). Hierdie bevinding kan verklaar word deur die bevinding van Bainbridge et al., (1966) dat limfoïede selle na 'n intraveneuse toediening na die sentrale limfknope gaan, terwyl sensitisering deur 'n veloorplanting d.m.v. sirkulerende limfosiete geskied (Gowans, 1965; Medawar, 1965).

Daar is gevind dat na ALS-toediening aan die ontvanger van die limfoïede selle in 'n normale limfosietoordragtoets (NLO-toets) in marmotte, die daaropvolgende velreaksie totaal onderdruk word. Dit verg egter 'n voorafgaande kronies, langdurige ALS-toediening aan die donor van die selle, voordat die reaksie in die ontvanger van die selle onderdruk kan word (Levey en Medawar, 1966a, 1967a, 1967b). 'n Moontlike vertolking hiervan is dat, in eersgenoemde geval, die limfoïede selle wat oorgedra word, perifeer ten opsigte van die toegediende ALS is, maar in laasgenoemde geval is die limfknoopselle van die donor wat vir die toets gebruik word sentraal geleë ten opsigte van die toegediende ALS.

Denman en sy medewerkers (1968a) het gevind dat sirkulerende limfosiete die immunologiese vermoë teen SRBS van muise na 'n kroniese ALS-IgG-toediening herstel het, maar dat die selle van sentrale limfoïedorgane nie hierdie vermoë besit het nie. Deur die distribusie van ALS-IgG met immuunfluoressensie, ^{131}I-merking te volg en die weefsels elektronmikroskopies te ondersoek, het hierdie werkers ook tot die gevolgtrekking gekom dat ALS-IgG primêr met sirkulerende limfosiete reageer (Denman en Frenkel, 1968b).

Turk en Willoughby (1967) meld dat ALS 'n perifere sowel as sentrale effek toon. Hulle definieer die perifere effek as die onderdrukking van die velreaksie teen dinitrochlorobenseen en laasgenoemde as die histologiese beeld van die sogenaamde „timusafhanklike areas" van limfoïede organe, na die toediening van ALS. Alhoewel die benaming „timusafhanklik" geregtelik baie kontroversieël is vir hierdie gebiede, verteenwoordig hulle blykbaar tog 'n gebied van sirkulerende limfosiete wat aan selbemiddelde immuunreaksies deelneem (de Sousa en Parrot, 1966).

Dit is te verwagte dat, aangesien ALS 'n versameling van antiliggame is en o.a. ook Forssman-antiliggame en verskeie „orgaanantiliggame" bevat (Witebsky en Koniya, 1930; Stuart, 1962), toediening daarvan aan 'n dier 'n effek van een of ander aard op verskillende selle van die ontvanger sal hê, hetsy as gevolg van die „aktiewe" antiliggame daarin teenwoordig, of as gevolg van die ander „passasierantiliggame" wat daarmee saamgaan. Matsumo (1932) het aangetoon dat ALS-toediening fagositose bevorder. Sy verklaring vir die bevinding is dat ALS die mononukleêre selle verwyder maar nie die fagosiete, naamlik die neutrofiele granulosiete, benadeel nie.

Met in vitro-agglutinasietoetse is aangetoon dat ALS, wat hoë titers teen limfosiete het, baie lae titers teen epidermisselle toon, en dat 'n „ALS" teen epidermisselle vervaardig, velallotransplantate slegs 3 dae langer as kontroles beskerm (Brent et al., 1967a). Dit sou dui op min antigeniese ooreenkomste tussen limfoïede selle en epidermisselle, en die epidermale selle van die ontvanger van ALS vrywaar teen die inwerking van ALS. Nogtans is die resultate van Levey en Medawar (1966b) teenstrydig hiermee, aangesien hulle „sterk ALS" berei het met muisstertvelepidermisselle in konyne.

Daar bestaan egter baie „bewyse" wat dui op 'n gemeenskaplike stamsel tussen hemopoëtiese en limfoïede selle, wat sou neerkom op antigeniese ooreenkomste tussen hierdie selle. Inkubasie van rotmilt- of -beenmurgselle in 'n 1 : 10 verdunde oplossing van ALS in vitro voor toediening daarvan aan F1-hibriede het inderdaad die splenomegalie en „sekondêre siekte"- sindroom wat, onderskeidelik, gewoonlik op soortgelyke behandeling volg, verhoed. Dit steun die opvatting aangaande die moontlike antigeniese ooreenkomste tussen hierdie selle (Field en Gibbs, 1968).

Nogtans staan die meeste waarnemings van die effek van ALS op die selle van die ontvanger, in verband met die witbloedselle as sodanig. Die resultate in hierdie verband verkry, wissel baie tussen werkers en mag saamhang met die bereidingsmetode en roete van toediening van die ALS (vgl. tabel 1). Daar word gemeld dat ALS-toediening geen effek op sirkulerende neutrofielgranulosiete het nie (Matsumo, 1932, Woodruff, 1960; Waksman et al., 1961), of wel 'n tydelike neutrofilie laat ontstaan. (Bunting, 1903; Chew en Lawrence, 1937; Wilhelm et al., 1958; Sacks et al., 1964, Pichlmayr, 1966). Pichlmayr en sy medewerkers het weer na elke ALS-toediening in honde 'n vermindering in granulosiete gevind en terselfdertyd 'n verskuiwing na links, dit wil sê, sogenaamde jonger selle het in die perifere bloed te voorskyn gekom (Pichlmayr et al., 1967).

Wilhelm en sy kollegas (1958) meld dat 'n eosinofílie gelyktydig met neutrofilie

na ALS ontstaan, in teenstelling met 'n eosinopénie na 'n normale konynserumtoediening (NKS). Na beide ALS- en NKS-toediening het die basofiele verdwyn (Wilhelm et al., 1958).

Dit is vanselfsprekend dat ALS 'n besondere invloed op die limfosiete van die ontvanger sal hê. Alle navorsers behalwe Mitchell et al., (1966), is dit eens dat 'n limfopenie in die ontvanger volg na 'n akute ALS-toediening. (Chew en Lawrence, 1937; Cruickshank, 1941; Woodruff en Forman, 1951a; Woodruff et al., 1951b; Woodruff, 1960; Stuart, 1962; Woodruff en Anderson, 1963; Gray et al., 1964, 1966; Denman et al., 1965, 1968a; Nagaya en Sieker, 1965, 1966; Abaza et al., 1966; Monaco et al., 1966a, 1967a; Starzl et al., 1966, 1967; Balner en Desjant, 1967a; Balner et al., 1967b; Brent et al., 1967a, 1967b; Frenkel et al., 1967; Guttman et al., 1967c; Hoehn en Simmons, 1967; Iwasaki et al., 1967; Kinne en Simmons, 1967; Levey en Medawar, 1967b; Medawar, 1967; Pichlmayr et al., 1967; Turk en Willoughby, 1967).

Navorsers verskil ook van mening oor die belangrikheid van die limfopenie na ALS-toediening, ten opsigte van die immuunonderdrukking wat volg. Sommige meen die limfopenie is noodsaaklik (Waksman, 1961; Kinne en Simmons, 1967), waarteenoor die meerderheid meen dat immuunonderdrukking nie afhanklik is van die tydelike limfopenie wat op ALS-toediening volg nie (Woodruff en Anderson, 1964; Abaza et al., 1966; Levey en Medawar, 1966a, 1966b, 1967b; Monaco et al., 1966a; Balner en Dersjant, 1967a; Balner et al., 1967b; Brent et al., 1967a; Guttman et al., 1967c, James en Jubb, 1967c; Starzl et al., 1967a; Iwasaki et al., 1967). Oor wat ná die aanvanklik limfopenie, na ALS-toediening, gebeur, verskil verskillende navorsers onderling. ALS veroorsaak blasttransformasie van limfosiete en verhoogde opname van ^{3}H-timidien en ^{3}H-uridien in vitro (vgl. bl.16). Die induksie van blasttransformasie is selfs ook in vivo waargeneem (Denman et al., 1965, 1968a; Iwasaki et al., 1967; Monaco et al., 1967a). Hierdie waarneming ondersteun ook die bevindinge aangaande hiperplasie wat in limfoïede weefsel na ALS-toediening (en aanvanklike limfopenie) waargeneem word. (Besredka, 1900; Flexner, 1902; Bunting, 1903; Ritchie, 1908; Chew en Lawrence, 1937; Starzl et al., 1966; Martin en Miller, 1967; Medawar, 1967; Monaco et al., 1967a). Aan die ander kant kon Turk en Willoughby (1967) by marmotte geen bewys van limfoïede hipertrofie na ALS-toediening vind nie.

Afgesien daarvan of die effek van ALS suiwer lities of ook stimulerend is, bly dit van kardinale belang om te bepaal wat die immunologiese vermoë van die („oorblywende") limfoïede selle in 'n dier is na ALS-behandeling. 'n Metode om hierdie eienskap van immunologies-bevoegde selle te bepaal, is die sogenaamde „transplantaat-teen-ontvanger-reaksie" ("graft versus host reaction"), soos beskryf deur Simonsen (1962). Die reaksie vind plaas deurdat toegediende selle wat immunologies bevoegd is om op te tree, antigeniese verskille in die ontvanger waarneem, en dan immunologies daarop reageer. Die ontvanger van hierdie immunologies-bevoegde selle se eie immunologies-reagerende vermoë kan op enigeen van, of aldrie die volgende behandelinge totaal onderdruk word: (a) 'n hoë bestralingsdosis, (b) deur die diere in die neonatale tydperk te gebruik wanneer

hulle immunologiese sisteem nog byna nie ontwikkeld is nie, óf (c) deur een van die parentaaltipe-selle in die nakomeling van 'n F1-kruising tussen twee rasse in te spuit. In laasgenoemde geval sal die ontvanger geen antigeniese andersheid in die toegediende selle opmerk nie, maar die transplantaatselle sal die antigeniese andersheid van die ander parentaal individu in die F1-nakomeling waarneem en daarteen optree. Die immunologiese reaksie van hierdie toegediende selle kan lei tot sogenaamde sekondêre siekte of die afsterwe van die ontvanger soos gevind kan word in eersgenoemde twee gevalle, of tot spenomegalie in laasgenoemde gevalle. Die graad van die reaksie hang saam met die graad van antigeniese andersheid tussen die donor en ontvanger en kan bepaal word deur die persentasie proefdiere (gewoonlik muise) wat sterf of sekondêre siekte opdoen, of deur die numeriese bepaling van die miltindeks (dit is die miltgewig oor liggaamsgewig), of deur die fagositiese indeks (k) van die miltselle. Volgens hierdie kriteria onderdruk of vernietig gekontroleerde, genoegsame ALS-toediening die immunologiese vermoë van limfoïede selle van die ontvanger van ALS (Balner et al., 1967b, Boak et al., 1967a, 1967b; Brent et al., 1967a, 1967b; Ledney en van Bekkum, 1967; Levey en Medawar, 1967a; Monaco et al., 1967; Monaco, Russel en Gowland, 1967b; van Bekkum et al., 1967; van der Werf et al., 1967; Field en Gibbs, 1968). Daar is selfs aangetoon dat nie alleen miltselle se immunologiese vermoë onderdruk is nie, maar ook dat die limfosiete van die Ductus thoracicus in muise nie 'n transplantaat-teen-ontvangerreaksie (TTO-reaksie) in neonatale F1-hibriedontvangers kan veroorsaak, na ALS toediening aan die seldonors nie (Boak et al., 1967b). Wanneer die sentrale limfoïedorgane van die donor, byvoorbeeld milt, vir die verkryging van die selle gebruik word, moet daar 'n tydsverloop van 24 uur tussen die ALS-toediening en die gebruik van die limfoïede organe wees, voordat die TTO-reaksie onderdruk kan word (Brent et al., 1967a, 1967b). Dit steun weer eens die idee dat ALS eerstens op sirkulerende perifere limfoïede selle inwerk (vgl. bl.23).

Daar is verder aangetoon dat die selle hulle immunologiese potensiaal verloor nie alleen na ALS-behandeling in vivo nie maar slefs ook na 'n in vitro-inkubasie van die selle in ALS van slegs 5 minute. Soos op smere waargeneem is, is die selle na so 'n proses baie broos, en, ten einde die moontlikheid uit te skakel dat die selle na ALS-behandeling so broos sal wees dat hulle deur die meganiese proses van die selsuspensie-bereiding vernietig word, het van der Werf et al., (1967) ook intakte limfknope onder die nierkapsel van die ontvanger ingeplant. Ook met hierdie metode was die TTO-reaksie, wat histologies as 'n geweldige infiltrasie van mononukleêre selle in die nier en 'n gevolglike nekrose van die renale weefsel waargeneem sou word, na ALS-toediening onderdruk. Dit is opmerklik dat die ontvangers wat die TTO-reaksie oorleef het nie immunologies tolerant of chimeras was toe hul later daarvoor getoets is nie (Monaco et al., 1967a; van der Werf et al., 1967). Dit blyk dus dat die toegediende selle, in hierdie eksperimente, nie verdeel en in die ontvanger bly voortbestaan het nie (van der Werf et al., 1967).

By 'n bespreking van die uitwerking van ALS moet ook gelet word op die nakomelinge

van daardie selle wat oorspronklik met ALS in kontak gekom het. Dit blyk bv. dat muise wat 'n letale bestraling (900r met 'n kobaltbom) ondergaan het, sonder enige nadelige nagevolge herkoloniseer word met limfoïede en hemopoëtiese selle van singeneïese donors (donors van dieselfde hoogsingeteelde muisras). Dit word aanvaar dat die selle wat na die bestraling in die „ontvolkte" milieu kom tot proliferasie gestimuleer sal word en een of meer selverdelings sal ondergaan. Wanneer die donors van die selle eers 'n kroniese dosis ALS (soortgelyk aan die hoeveelheid wat die TTO-reaksie onderdruk het) ontvang het tot 'n dag of twee voordat die selle verwyder is, dan is die immunologiese vermoë van die ontvanger, ongeveer 10 dae na herkolonisasie, om 'n velallotransplantaat te verwerp, baie swakker as dié van kontroles waar die seldonors geen serum of NKS ontvang het nie. As aanvaar word dat die immunologies bevoegde selle tydens die herkoloniseringsproses ook deur minstens een seldelingsproses gegaan het dan sou hierdie bevinding beteken dat die nakomelinge van die aanvanklike ALS-behandelde selle ook nog 'n mate onbevoegdheid besit (Levey en Medawar, 1967a, 1967b; Medawar, 1967).

Dit is natuurlik van belang om te weet waar die antiliggame wat in ALS teenwoordig is en die aktiwiteit van ALS verteenwoordig, na in vivo-toediening daarvan in die donor gelee is. Daar is nog nie veel oor sistematiese ondersoeke na hierdie probleem gepubliseer nie, en die sodanige resultate as wat wel beskikbaar is, verskil baie van mekaar. Dit kan wel saamhang met die verskillende ALS-bereidingsmetodes wat aanleiding kan gee tot die verkryging van antiliggame met verskillende bindingsaffiniteite, soos trouens deur Woodruff et al., (1967c) gevind is. As dit so is dan moet die resultate verskil want dan sou 'n hele spektrum antiliggame vergelyk word vanaf dié met lae bindingsaffiniteite wat kruisbindings sal toon, tot die met hoë spesifieke bindingsaffiniteit wat spesifiek met slegs die gegewe antigeniese bindingsplek sal reageer. Die opsporing van die ALS-antiliggaam berus op die gebruik van die gemerkte ALS-IgG-molekule. Die merking kan geskied met fluoressienisotiosianaat sodat die fluoressensie in histologiese preparate waargeneem kan word, of deur die koppeling van die molekule aan 'n radioaktiewe stof, bv. ^{131}I. In laasgenoemde geval kan die lokalisasie na toediening bepaal word, óf deur outoradiografie, óf telling van die organe in 'n putkristalsintillasieteller, óf deur heelliggaamtelling.

'n Spesifieke lokalisasie van die ALS-antiliggaam in die timus eerder as in die limfknope van die ontvanger word deur Levey en Medawar (1966a) gemeld en hul resultate word ondersteun deur dié van Hintz en Weber (1965). Laasgenoemde vind egter ook 'n lokalisasie in limfknope, been en dwarsgestreepte spiere. Hulle vind die ligging van ALS in die timus en in dwarsgestreepte spiere interessant omdat timomata en myasthenia gravis gelyktydig voorkom en daar 'n vermoede bestaan dat laasgenoemde moontlik 'n antigeenantiliggaam-etiologie het. 'n Ander navorsingsgroep wat ook timosiete as antigeenbron vir ALS gebruik, het egter gevind dat, alhoewel na in vitro-blootstelling van histologiese preparate en weefselafdrukke aan ALS-IgG, daar met immuunfluoressensie aangetoon is dat die ALS-IgG in al die limfoïede weefsels gelee is. Na in vivo-toediening

van ALS is 'n beperkte lokalisasie van ALS-IgG in die milt en limfknope gevind met óf 'n baie beperkte (Denman en Frenkel, 1968b) of absoluut geen (Denman et al., 1965) infiltrasie daarvan in die timus nie. Hierdie navorsers het ook gevind dat die lokalisasie in die milt, om die sentrale bloedvate en in limfknope, om die korteksvate voorkom, maar dat dit in die beenmurg verspreid was.

Oor die histologiese veranderinge na ALS-toediening verskil die navorsers in hulle bevindinge. Cruickshank (1941) en Boak et al., (1967b) kon geen histologiese veranderinge opspoor wat spesifiek aan ALS-toediening toegeskryf kon word nie. Die moontlikheid bestaan natuurlik dat sommige van die histologiese veranderinge wat waargeneem word, nie aan die immuunonderdrukkingselement van ALS te wyte is nie, maar eerder veroorsaak kan word deur ander elemente in ALS wat as passasiers saam toegedien is. Die ware toedrag van sake sal seker eers vasgestel kan word wanneer die aktiewe faktor van ALS suiwer geïsoleer word en alleen toegedien word.

Volgens sommige ander navorsers lei die in vivo-toediening van ALS wel tot hiperplasie van die limfoïede weefsels. Limfknope en milte vergroot, aktiewe follikels en kiemsentra word gevind en plasmaselvermeerdering vind plaas (Flexner, 1902; Balner en Dersjant, 1967a; Balner et al., 1967b; Iwasaki et al., 1967). Hierteenoor herken sommige ondersoekers weer verskillende grade limfosietuitputting na ALS-toediening (Waksman et al., 1961; Woodruff en Anderson, 1964; Nagaya en Sieker, 1965; Gray et al., 1966; Levey en Medawar, 1966a). Turk en Willoughby (1967) het limfosietuitputting spesifiek in die parakortikale area van die limfknoop, in die gebied om die sentrale arteriole van die milt en in die korteks van die timus gevind. Hulle meld dat die limfopenie wat in die sogenaamde „timusafhanklike areas" ontstaan het, deur fibroblasthiperplasie opgevolg is. 'n Limfosietuitputting met 'n daaropvolgende hiperplasie en die meegaande plasmaselvermeerdering word ook deur ander werkers (Denman et al., 1967b, 1968a; Monaco et al., 1967a) gerapporteer. Martin en Miller (1967) meen dat hulle kan onderskei tussen die histologiese beelde wat verkry word na die toediening van „gewone" ALS en ALS, wat na herhaalde immuniserings verkry is, d.w.s. 'n meer hiperimmuun-ALS. Hulle het bv. hiperplasie met kiemsentra-ontwikkeling verkry na toediening van die oorspronklik bereide ALS en limfosietuitputting met die toediening van ALS wat na nog verdere immunisering van die ALS-donor, verkry is.

Dit is eienaardig dat die ontvangers van ALS nog die vermoë besit om intensiewe infiltrasie van die niertransplantaat sonder verwerping van die nier te veroorsaak (Starzl et al., 1967a, 1967b). Bespreking van die histologiese waarnemings van transplantate as sodanig na ALS-toediening val buite die bestek van hierdie verhandeling. Opsommend kan net genoem word dat dit wissel van die normale struktuur van transplantate sonder enige tekens van verwerping, tot die aanvangstadia van verwerping met, onder andere, verspreide limfosietinfiltrasie, verdikking van die basaalmembraan van die glomeruli van die nierallotransplantate, atrofie van die nierbuisies, en verspreide plasmaselinfiltrasie (Mitchel et al., 1966). Hierdie eerste tekens van verwerping kan

optree voordat die afname in die funksionering van die allotransplantaat waargeneem word. Verdere ontwikkeling van die reaksies lei wel tot uiteindelike verwerping van die transplantaat na staking van die ALS-toediening, soos reeds voorheen genoem.

1.5 Karakterisering van die ALS-antiliggaam

Nóg die IgM-ALS (19 s-fraksie van ALS) as sodanig, nóg die 2 ME-reduksieproduk daarvan besit enige limfosietagglutinerende effek in vitro (Brent et al., 1967a). Dit besit ook nie immuunonderdrukkingseienskappe in 'n velallotransplantaatsisteem nie (James en Medawar, 1967b). Die IgM-fraksie besit egter die antirooibloedselantiliggame (Humphrey, 1967c; James en Anderson, 1967a; Woodruff, 1967a; Woodruff et al., 1967a). Verkryging van die IgG-fraksie van ALS sal dus die volume rooibloedselle benodig vir die verwydering van laasgenoemde antiliggame, voor die toediening van ALS-IgG, baie verminder.

Daar is nou deeglik bewys dat die aktiwiteit van ALS nie alleen in die globulienge-deelte van ALS, verkry na ammoniumsulfaatpresipitasie, geleë is nie (Monaco et al., 1966b; Denman et al., 1967a; Iwasaki et al., 1967; Currey en Ziff, 1968), maar dat, met verdere fraksionering tot die immunoglobulien-G-fraksie (IgG of 7 s-γ-globulien), die aktiwiteit ook daarin geleë is (Ciba-bespreking, 1967a; James, 1967a; Levey en Medawar, 1967b; Medawar, 1967).

So is aangetoon dat ALS-IgG velallotransplantate (Anderson et al., 1967; James en Anderson, 1967a; James en Medawar 1967b; Woodruff et al., 1967a), sowel as nier- en lewerallotransplantate beskerm (Guttman et al., 1967b; Starzl et al., 1967a, 1967b). Primêre humorale antiliggaamproduksie teen BSA (Anderson et al., 1967; James en Jubb, 1967c; Woodruff et al., 1967a) of ook SRBS (Anderson et al., 1967; James en Anderson, 1967a; Woodruff et al., 1967a; Currey en Ziff, 1968) word onderdruk na ALS-IgG-toe-diening, en so ook die ontstaan van adjuvantartritis, na toediening van Freund-adjuvant (Currey en Ziff, 1968). Die antiglobulientoets in NZB-muise word op dieselfde wyse onderdruk (Denman et al., 1968a). In vivo-toediening van die ALS-IgG veroorsaak ook die verkryging van 'n perifere limfopenie (Denman et al., 1965, 1967b, 1968a; Guttman et al., 1967b; James en Jubb, 1967c; Starzl et al., 1967b; Currey en Ziff, 1968; Denman en Frenkel, 1968b, 1968c) en is nie in staat om antiliggaamvorming teen die IgG-fraksie van ALS of die normale serum van die ALS-donor te verhoed nie (Denman et al., 1967b; Guttman et al., 1967b, 1967c; Starzl et al., 1967b; Currey en Ziff, 1968). Alhoewel Currey en Ziff (1968) min effek van die ALS-IgG van konynantirot - ALS op 'n velreaksie teen PPD verkry het, het Starzl die vernietiging van die vertraagde tipe hipersensitiwiteits-velreaksies teen PPD, parotitis, en trichofiton by die mens gevind (Starzl et al., 1967b).

In vitro is soortgelyke reaksies met ALS-IgG as met ALS as sodanig verkry, nl. limfosietagglutinasie (Anderson et al., 1967; Brent et al., 1967a; Woodruff et al., 1967a, 1967b) limfositolise (Woodruff et al., 1967a) en verhoogde opname van ^{3}H-gemerkte timidien en uridien (Anderson et al., 1967; Woodruff et al., 1967a, 1967b). DNA-stimulasie

is ook met ALS-IgG in vivo verkry deur Denman en sy kollegas (Denman et al., 1968a).

Reduksie van 'n konynantimuis-ALS-IgG met 2-merkaptoetanol (2ME) het geen verlies van aktiwiteit veroorsaak nie (Brent et al., 1967a; James en Medawar, 1967b), maar soortgelyke behandeling van perdantimuis-ALS-IgG het geen beskerming daarna aan velallotransplantate gebied nie (James en Medawar 1967b). Dit mag wees dat in die perd-ALS die IgA(T) ook bydra tot die aktiwiteit en daarom die verskillende resultaat gee (James en Medawar 1967b), want ons vind dat ander navorsers ook van mening is dat 'n konyn-ALS-IgG beter in die rotsisteem is as wanneer 'n perd die donor van die ALS-IgG is (James en Anderson, 1967a).

Verdere fragmentasie van die IgG-molekules met behulp van proteolitiese ensieme tot die $F(ab')_2$- en Fab-fragmente, met die afgebreekte Fc-fragment, het egter nog nie tot dusver bewys dat die „aktiwiteit" van ALS in enige van die fragmente alleen geleë is nie. Die $F(ab)_2$-fragment agglutineer limfosiete wel in vitro (Anderson et al., 1967; Guttman et al., 1967b; Iwasaki et al., 1967; James en Anderson, 1967a; Woodruff et al., 1967a, 1967b). Dit veroorsaak ook verhoogde opname van ^{3}H-gemerkte timidien en uridien (Anderson et al., 1967; Woodruff et al., 1967b), maar is natuurlik nie in staat om limfositolise te veroorsaak nie (Guttman et al., 1967b; Woodruff et al., 1967a). Alhoewel Guttman et al., (1967b) gevind het dat die in vivo-toediening van die $F(ab')_2$-fragment 'n immuunonderdrukkende effek op nierallotransplantate in rotte gehad het, is alle ander werkers se resultate strydig hiermee (Chard, 1968). Hulle kon na die toediening van $F(ab')_2$ geen onderdrukking van humorale antiliggaamproduksie teen SRBS (Anderson et al., 1967; James, 1967, 1967c; James en Anderson, 1967a; James, 1967b; Woodruff et al., 1967a) of teen BSA in rotte verkry nie (Anderson et al., 1967; James, 1967b; Woodruff et al., 1967a). Toediening van hierdie fragment was ook nie in staat om velallotransplantate in rotte te beskerm (Anderson et al., 1967; Woodruff et al., 1967a), of om 'n TTO-reaksie in muise te onderdruk nie (Naysmith en James, 1968).

Alhoewel die Fab-fragment wel aan limfoïede selle bind, soos aangedui kan word deur gebruikmaking van die Coomb-toets (James en Anderson, 1967a), gee dit geen positiewe resultate soos verkry met IgG-fraksie in vitro of in vivo nie (Anderson et al., 1967; James en Anderson 1967a; Woodruff et al., 1967a; 1967b). Dit blyk dus tot dusver dat nóg die divalente nóg monovalente antigeenbindende fragmente ($F(ab')_2$, en Fab onderskeidelik) alleen in staat is om na in vivo-toediening immunologiese reaksies te onderdruk en dat die Fc-fragment, wat komplement bind (Fujimoto et al., 1964), ook teenwoordig moet wees (Naysmith en James, 1968). Hierdie stelling word bevestig deur die onvermoë van eendantimuis-ALS om 'n perifere limfopenie na in vivo-toediening te veroorsaak, of 'n verlenging van 'n velallotransplantaat te verseker (Riethmüller, 1967; Jooste et al., 1968). (Voëlimmunoglobien bind nie die komplement van soogdiere tot 'n meetbare hoeveelheid nie.)

Ander eienskappe wat aan hierdie Fc-fragment gebind word, nl. membraanaanhegting, oordrag oor die plasenta, of immunogenesiteit (Naysmith en James, 1968) mag egter ook van belang wees.

Alhoewel die aktiewe antiliggaam (of antiliggame) van ALS in die IgG-fraksie geleë is, is dit vanselfsprekend dat die antiliggame teenwoordig in die IgG-fraksie, van spesifisiteit sal verskil, en in die geval van die antilimfositiese antiliggame verskil hulle weer in graad van bindingsvermoë. Woodruff et al., (1967c) meld reeds dat meer as 95% van die molekules in die IgG van hulle poele bereide-ALS, nie aan limfosiete gebind het nie. Om die effektiewe aktiewe antiliggame te verkry behels adsorpsie van die antiliggame aan die limfoïede selle om hulle te skei van die ander antiliggame, en dan weer die vrystelling van hierdie antiliggame deur afwassing in die regte pH-milieu. Eksperimente op dié gebied is nog maar in die beginstadium en slegs matige sukses is tot nog toe met die isolering van hierdie aktiewe komponent verkry (Lance, persoonlike mededeling; Woodruff, 1968).

1.6 Kliniese toepassing van ALS

In die huidige era waar weefsel- en orgaan-oorplanting so op die voorgrond getree het, is dit vanselfsprekend dat die kliniese toepassing van ALS van aktuele belang is en die moontlikhede op hierdie gebied is dadelik ingesien. (Ciba-bespreking, 1967b). Die besluit om die literatuuroorsig te beperk tot publikasies wat voor die einde van Maart 1968 verksyn het, sluit egter 'n breedvoerige bespreking van hierdie aspek uit, want die resultate verkry met die kliniese gebruik van ALS, ALG of ALS-IgG tel onder die jongste op die gebied van ALS-navorsing.

Alhoewel die Amerikaanse sjirurg T.E. Starzl die eerste was om tot die daad oor te gaan is dit bekend dat die kliniese gebruik van ALS nie meer tot die span van professor Starzl beperk is nie maar ook uitgebrei het tot ander Amerikaanse spanne (Monaco et al., 1967a), in Engeland posgevat het, en tot 'n baie groot mate in Europa toegepas word. Selfs in die Republiek van Suid-Afrika is die beroemde harttransplantaatpasiënt, dr. Blaiberg, met hierdie middel behandel. Die werklike resultate is nog nie bekend nie, want dit sal 'n langtermyn evaluasie moet wees. Die verwagtings wat gekoester word is hoog, maar daar is tog redes wat maan tot groot versigtigheid en die noodsaaklikheid van nog basiese navorsing beklemtoon, soos uit die tans bekende resultate blyk.

In die eerste kliniese gebruik van ALS tydens nieroorplantings is dit saam met ander immuunonderdrukkingsmiddels, nl. asothioprien en prednisone gebruik, en daar is gevind dat die dosisse van die sitostatiese middels sodoende verminder kon word. Die nierfunksies van die pasiënte was normaal vir die meer as 6 maande wat verloop het tot die publikasie, en waar ALG toegedien is aan drie pasiënte met reeds falende nierallotransplantate, is die nieruitskeidings van twee nie verbeter nie, maar wel gestabiliseer.

Ten nadeel van die kliniese toediening van ALS is egter die bevindings dat pyn en koors met die subkutane en intradermale toediening van die ALG gepaard gegaan het (vgl. ook Monaco et al., 1967a; Woodruff et al., 1967a). Daar is swelling en edeem van die inspuitingsarea waargeneem, wat drie tot ses uur na die toediening 'n hoogtepunt bereik en vergesel gegaan het met die erge pyn wat soms selfs verdowingsmiddels vereis het.

Die graad en intensiteit van pyn het egter met verdere ALG toedienings afgeneem. Ongeveer 15% van die pasiënte het tydens behandeling bewyse van anafilaktiese skok getoon, maar dit kon maklik behandel word. Histologiese en elektronmikroskopiese ondersoek van die transplantaat het geen deponering van die perdantiliggame getoon nie en ook geen bewyse van 'n vreemde proteïennefritis gelewer nie (Starzl et al., 1967a, 1967b).

Dit is van belang om die nadelige resultate wat verkry is met ALS-toediening as geheel in oënskou te neem vir die verdere evaluering van die gevare verbonde aan die kliniese toepassing van ALS. Dit moet egter ook beklemtoon word dat 'n werklike evaluasie van die wesenlike gevare nie gemaak sal kan word voordat die ALS-IgG gereinig kan word van die onnodige passasierelemente teenwoordig nie. Slegs dan sal die werklik patologiese gevolge veroorsaak deur die ALS-IgG met reg geëvalueer kan word.

Virusinfeksies na ALS-behandeling het voorgekom by honde (Abaza et al., 1966) en in ape (Balner et al., 1967b, van Bekkum et al., 1967). Die lokale velreaksies na ALS-toediening in pasiënte is reeds bespreek en is ook deur ander navorsers verkry (Monaco et al., 1967a; Iwasaki et al., 1967; Russel, 1967; Woodruff, 1967). Waar die toediening van ALG of ALS aanleiding kan gee tot die ontwikkeling van antiliggame teen die IgG-fraksie, bestaan die gevaar van die ontwikkeling van serumsiekte na 'n kroniese ALS-behandeling, soos inderdaad in enkele gevalle by mense gevind is (Monaco et al., 1967a). Deponering van die globulien in die basaalmembrane van die glomerulêre kapillêre is in honde gevind (Iwasaki et al., 1967), maar nog nie in mense nie. In laasgenoemde geval is die deponering wat wel gevind is, deur IgM- of β_1A- en β_1C-globulien gevorm (Starzl et al., 1967b). In ape is ook vaskulêre inkorting gevind, byvoorbeeld algemene artritis na ALS-behandeling, maar dit is nie na immunoglobulienbehandeling teëgekom nie (Balner et al., 1967a). Trombositopenie is ook na ALS-behandeling by ape (van Bekkum et al., 1967) sowel as by mense (Starzl et al., 1967b) aangeteken, maar is nie in een geval as 'n ernstige nagevolg beskou nie aangesien die prognose op terapie baie goed was.

Dat ongeadsorbeerde ALS antiliggame teen rooibloedselle bevat is reeds bespreek. Dit is dus nie verstommend dat gevalle van anemie na soortgelyke ALS-toediening verkry is nie (Iwasaki et al., 1967; Starzl, 1967;) of dat die verskynsel verminder of verdwyn het na adsorpsie van ALS met ooreenstemmende rooibloedselle, of deur die gebruik van ALS-IgG nie (Monaco et al., 1966a; Starzl, 1967).

In rotte wat tolerant teenoor konyn-IgG is, het daaglikse toediening, vir periodes van tot 'n maand, van konynantirot-ALS-IgG (wat met rotrooibloedselle geadsorbeer is), gelei tot kageksie, insluitende hemolitiese anemie. Dit is as 'n verdere bewys aanvaar dat kageksie volg sodra die limfoïede massa laer as 'n kritiese grenswaarde verminder is, soos in hierdie eksperimente verkry is (Denman et al., 1965, 1967b).

1.7 Meganisme van werking van ALS

Wat die presiese wyse is waarop ALS, na in vivo-toediening daarvan, die immunologiese vermoë van die ontvanger onderdruk of vernietig, is nog nie bekend nie. Die ant-

woord op hierdie vraag sal nie slegs van akademiese waarde wees nie, maar sal ook belangrik wees vir die kliniese toepassing, want die effektiefste metode van gebruik hang tog nou saam met die insig van presies hoe die proses geskied. Verskeie teorieë het na vore gekom, elk waarvan baie interessant is en moontlik 'n deel van die waarheid behels, maar nog nie een teorie verklaar al die effekte wat met ALS-toediening verkry is nie.

Dit is vanselfsprekend dat 'n sitotoksiese teorie as 'n moontlike verklaring van die meganisme van werking van ALS beskou sal word. Die teenstrydige waarnemings oor die limfopenie wat volg op ALS-toediening en die onderdrukking van die immunologiese vermoë van die ontvanger is reeds bespreek. Oor die algemeen voel navorsers dat die immuunonderdrukking verkry nie van 'n volgehoue limfopenie afhanklik is nie (Levey en Medawar, 1966a, 1966b; Iwasaki et al., 1967; James en Anderson, 1967a; Woodruff, 1967a), want daar is gevind dat metodes wat 'n erger graad van perifere limfopenie veroorsaak, bv. ekstrakorporale bestraling van bloed, geen effek op die oorlewingstydperk van allotransplantate het nie (Jansen en Loubser, 1967). Die sitotoksiese teorie kan nogtans nie onvoorwaardelik oorboord gegooi word nie. Die blykbare noodsaaklikheid van die Fc-fragment van die IgG-molekule, vir die verkryging van immuunonderdrukking, toon weereens op die moontlike belangrikheid van komplement in die effektiewe meganisme.

Die vernietiging van slegs 'n sekere groep of klas limfosiete bied 'n moontlike verklaring wat meer veld wen (Chew en Lawrence, 1937; James, 1967a, 1967b; Levey, 1967; Martin en Miller, 1967; van der Werf et al., 1967; Woodruff et al., 1967a). Of hierdie sogenaamde „groep" of „klas" selle funksioneel, antigenies, t.o.v. graad van immunologiese vermoë, of deur ouderdom begrens word, is moeilik om vas te stel, want morfologies kan hulle nie onderskei word nie.

Die moontlikheid dat die limfoïede selle wat „oorbly" immunologies onbevoegd is, word deur die bevinding ondersteun dat transplantate in ontvangers onder ALS-behandeling tog infiltrasies van mononukleêre selle vertoon, sonder dat hierdie selle blykbaar enigsins vernietiging van die omliggende weefsel veroorsaak (Starzl et al., 1967a, 1967b).

Daar bestaan egter ook ander verklaringsbeginsels vir die voorafgaande. Daar is bv. reeds aangetoon dat ALS limfosiete in vitro bedek (vgl. bl.16) en dit is dus logies om te verwag dat dit limfosiete in vivo ook sal bedek. Dit vorm die grondslag vir die sg. verblindingsteorie waarvolgens aanvaar word dat waar die limfosiete deur die ALS bedek word, hulle „herkenningspunte" gemasker sal word en die selle as't ware verblind is sodat hulle nie antigene kan herken, hetsy op die afferente of efferente weë van die immuunrespons nie (Levey en Medawar, 1966a; Mitchell et al., 1966; Greaves et al., 1967; Field en Gibbs, 1968). So is ook gevind dat deur selle met ALS te behandel die daaropvolgende histoverenigbaarheidstipering met isoantisera verhinder word (Balner, 1967). Brent en sy medewerkers het gevind dat waar ALS die immunologiese bevoegdheid van selle verminder het om 'n TTO-reaksie te veroorsaak, die onvermoë herstel is nadat die ALS-behandelde selle vir 45 minute met 0,5% tripsien in vitro geïnkubeer

is (Brent et al., 1967a, 1967b). Hierdie teorie is self ook nie waterdig nie. Daar is reeds op bl. 30 getoon dat, alhoewel die $F(ab)_2$-fragment limfosiete in vitro kan bedek, dit geen aktiwiteit in vivo besit nie. Die moontlikheid dat ALS se invloed op limfosiete deur ten minste een seldeling bly voortbestaan (Levey en Medawar, 1966b), plaas hierdie teorie verder onder verdenking.

Daar is andersyds ook voorgestel dat ALS die transplantaat bedek en sodoende herkenning deur die limfosiete verhoed (Guttman et al., 1967a). Die werkende meganisme sal dan ooreenstem met die van „enhancement", soos deur Kaliss gedefinieer (Kaliss, 1958). Alhoewel die kruisreaksies van ALS met ander weefsels (vgl. bl.14) hierdie postulaat sou ondersteun, kan hierdie teorie nie die effek van ALS op humorale antiliggaamproduksie verklaar nie. Die eksperimente met rotte wat Guttman en sy medewerkers tot hierdie teorie gelei het, kon egter nie ook deur Cerilli et al., (1967) in honde herhaal word nie.

Soos hierbo gebruik word die term „enhancement" eintlik gebruik in verband met die vernietiging van die allotransplantaatverwerpingsreaksie deur die toediening van 'n iso-antiliggaam wat spesifiek teen antigene van die transplantaat gerig is. Daar is enkele navorsers wat van mening is dat die werking van ALS op hierdie meganisme berus (Govallo et al., 1966; Batchelor, 1967; Guttman et al., 1967a). Maar daar bestaan besliste bewyse dat 'n anti-CBA-ALS in die muissisteem net so effektief soos anti-A-ALS is om die oorlewingstydperk van A-rasvel op CBA-muise te verleng (Levey en Medawar, 1967b).

Die vraag ontstaan wel of ALS immunologiese toleransie bewerkstellig teenoor die transplantaat. Immunologiese toleransie (of paralise) word in die hedendaagse sin gedefinieer as 'n spesifieke antigeeninduseerde toestand van immunologiese onaktiwiteit. Spesifieke immunologiese toleransie en chimerisme is wel in muise verkry deur infusie van allogeneïese miltselle na volwasse timektomie plus ALS-toediening, maar sonder timektomie met slegs ALS-toediening kon toleransie en chimerisme nie verkry word nie (Monaco et al., 1966c; Woodruff, 1967d). Gevolglik word gevind dat alhoewel die lewensduur van transplantate met ALS-toediening verleng word, die vreemde weefsel tog uiteindelik na staking van die ALS-toediening verwerp word.

Die effek van ALS is onsensitief teenoor antigeniese verskille. Muise onder ALS-behandeling maak weinig verskil tussen sogenaamde sterk en swak histoverenigbaarheidsverskille by allotransplantate (Levey en Medawar, 1966b; Medawar, 1967), en aanvaar ook net so geredelik xenotransplantate (Levey en Medawar, 1966b; Monaco et al., 1966a).

Daar is verder ook nog nie bewys dat die toestand van onaktiwiteit wat deur ALS bewerkstellig word van 'n samevallende antigeniese prikkeling afhanklik is nie, of dat die beskermde veltransplantaat vir homself 'n bevoorregte posisie opbou deur voortdurende antigeniese stimulasie nie. Daar is reeds genoem dat die onaktiwiteit nie na staking van die ALS-toediening permanent voortduur nie en, in die eksperimente waarop

hierdie verhandeling berus, het die velallotransplantaatstimulasie heelwat later as die staking van ALS-toediening geskied, en was daar nogtans tydelike beskerming van die allotransplantaat.

Hiermee word egter nie ontken dat ALS kan meehelp om immunologiese toleransie tot stand te bring nie, soos reeds deur Monaco en sy medewerkers aangetoon is (Monaco et al., 1966c; Medawar, 1967).

„Steriele aktivering" is as teorie ook deur Medawar voorgestel na aanleiding van die hipertrofie met gepaardgaande blastselle wat na ALS-toediening in die limfoïede weefsels van proefdiere waargeneem is. Hieronder word verstaan dat die ALS-antiliggaam 'n algemene (nie spesifieke nie) aktivering van die limfosiete en gevolglike verlies van hul immunologiese potensiaal veroorsaak (Levey en Medawar 1966b; Iwasaki et al., 1967; Denman et al., 1968a). Die in vitro-reaksies van ALS op limfosiete, wat lei tot blasttransformasie en verhoogde opname van ^{3}H-gemerkte timidien en uridien (vgl. bl. 16), ondersteun hierdie teorie, maar die bevindinge dat die $F(ab')_2$-fragment óók hierdie vermoë in vitro besit (Woodruff et al., 1967b), sonder 'n gepaard gaande immuunonderdrukkingseffek in vivo, stry weer daarteen. Voorts het van der Werf et al., (1967) gevind dat muislimfosiete wat met ALS kontak gemaak het, nie verdeel en bly voortbestaan wanneer hulle aan 'n pasgebore ontvanger van 'n ander muisras toegedien word nie. Ook hierdie resultate plaas die teorie onder verdenking.

Die „kompeterende-antigeen-teorie" is ook as 'n moontlike verklaring beskou. Aangesien ALS teen limfosiete gerig is, is dit vanselfsprekend dat die antiliggaam in die ontvanger verkieslik aan 'n limfosiet sal kleef. Hier tree dit egter ook as 'n antigeen op, en die ALS-antiliggaam kan dus as 'n verpligte antigeen beskou word wat 'n voorsprong bo ander antigene sal hê, en die immuunbevoegde selle sodoende heeltemal in beslag sal neem (Guttman et al., 1967c; Medawar, 1967). Dit sal dus optree soos wat hoë dosisse hetereloë proteïne volgens Halpern et al., (1963) doen.

Hetereloë immunoglobiene, alhoewel hulle powere immunogene is, is besondere sterk antigene as hulle getoets word aan 'n alternatiewe immunologiese optrede, naamlik om immunologiese paralise te veroorsaak (Dresser, 1962). Hierdie teorie behels dus 'n spesifieke immunologiese verpligting van die limfosiete in teenstelling met die algemene „blokkasie" wat die vorige teorie postuleer. Dit verklaar egter nie die uitwissing van die immunologiese geheue nie (vgl. bl. 19) maar mag tog die onvermoë van ALS om antiliggaamproduksie teen homself te verhoed, soos deur sommige navorsers gevind is, verklaar. Limfosiete wat met die ALS-antiliggaam bedek is, sal moontlik deur makrofage gefagositeer word en sodoende antiliggaamproduksie daarteen stimuleer.

Soos reeds op bl.14 genoem is, bestaan daar by sekere navorsers die oortuiging dat timosiete beter antigene vir ALS as ander limfoïede selle daar stel en dat 'n timektomie (volwasse) die werking van ALS versterk (vgl. bl.21). Daar bestaan dus teorieë wat die timus as 'n belangrike orgaan by die werking van ALS inbring. Die werklike rol van die timus as sodanig op immunologiese verskynsels is self nog 'n geskilpunt

en die voorstaanders van 'n hormonale invloed van die timus op immunologiese reaksies van die liggaam opper die moontlikheid dat ALS hierdie humorale faktor inhibeer (Nagaya en Sieker, 1965a, 1965b). Verder is daar genoem dat ALS se sentrale effek spesifiek gerig is teen die sogenaamde timusafhanklike areas van die limfoïede weefsel wat behep is met sellulêre bemiddelde immuniteit (Turk en Willoughby, 1967) (vgl. bl.28). Jeejeebhoy (1965a) haal weer Miller se stelling aan dat beenmurgselle immunologiespotensiële selle bevat wat geaktiveer sal word slegs as die timus teenwoordig is (Miller, 1963). Volwasse timektomie, volgens Jeejeebhoy, verhoed dus die vorming van enige verdere immunologiespotensiële selle en antilimfosietplasma (ALP) verwyder dan dié wat reeds teenwoordig is.

Uit die voorafgaande blyk dat alle teorieë wat tot dusver voorgestel is hulle tekortkominge het en die uiteindelike ware antwoord wat verkry sal word nadat die aktiewe faktor van ALS suiwer geïsoleer is en as sodanig gebruik word, mag op totaal ander beginsels berus. Die verskillende teoretiese bespiegelinge dien egter as prikkeling vir, en gee rigting aan navorsing op hierdie gebied van ALS wat, alhoewel dit nog nie verklaar kan word nie, 'n besonder sterk immunologiese onderdrukkingsmiddel is.

2. WERKSWYSE EN BEVINDINGE

2.1 Proefdiere

As donors van ALS is Nieu-Seelandse witkonyne gebruik. Hulle is afsonderlik in draadhokke gehuisves, en ad lib. met groenvoer, kommersiële konynvoedsel en water gevoer.

Vir alle eksperimente is muise van die CBA-ras gebruik en volwasse A-ras manlike muise het as donors vir die veltransplantate gedien. Die volwasse muise is in standaard perspekshokke met draaddeksels in 'n temperatuurbeheerde kamer gehuisves. Hulle is ad lib. op kommersiële muisvoedsel en water gevoed. Dragtige muise is individueel in metaalhokke in dieselfde kamer gehuisves. Ten einde 'n standaard basislyn te verseker, was dit nodig om primaparae vir hierdie studies te gebruik. Hierdie muise is egter baie meer senuweeagtig as multiparae en gevolglik is besondere sorg gedra dat hulle so min as moontlik gesteur word. Die metaalhokke met metaaldeksels het die nodige donkerisolasie verseker, en die daaglikse reiniging van die hokke en aanvulling van die voedsel en water is met die uiterste sorg, en met so min geraas en gestamp as moontlik gedoen. Die hokke is vir die eerste paar dae na die geboorte van die werpsels nie skoongemaak nie - net die voedsel en water is aangevul. Hierdie voorsorgmaatreëls is getref om te verhoed dat die senuweeagtige wyfies tot kaniballisme gedryf word, en die hele werpsel sodoende doodgemaak en opgevreet word. Dit was nie nodig om die multiparae wat vir die neonatale studies gebruik is, so versigtig te hanteer nie.

2.2 Serumbereidings

ALS is van Nieu-Seelandse konyne verkry deur 10^9 lewende, gewaste timosiete

van vroulike, gespeende CBA-muise intraveneus toe te dien, gevolg deur 'n soortgelyke toediening 14 dae later. 'n Week na die tweede immuniseringsdosis is die konyne onder narkose uitgebloei en die sera verkry soos deur Levey en Medawar (1966a, 1966b) beskryf. Nadat die komplement van die ALS deur verhitting vir 30 minute teen 56°C vernietig is, is die ALS in 'n verhouding van 2 volumes serum tot 1 volume gewaste gepakte muisrooibloedselle geadsorbeer om die rooibloedselagglutiniene te verwyder. Daarna is die ALS Seitz-gefiltreer en teen -20°C in verseëlde ampulle gestoor. Die „sterkte" van die verskillende poele ALS, in terme van gemiddelde oorlewingstydperk (GOT) van stertvelallotransplantate, is soos deur Levey en Medawar (1966a) beskryf, bepaal. In die eksperimente waarop hierdie verhandeling gebaseer is, is ALS gebruik wat in „sterkte" gevarieër het tussen 21 tot 26 dae.

Die normale konynserum (NKS) wat as kontrole gebruik is, is van Nieu-Seelandse witkonyne verkry. Die komplement is weereens vir 30 minute teen 56°C vernietig, Seitz-gefiltreer en teen -20°C gestoor. Die NKS is nie met rooibloedselle geadsorbeer nie. Rooibloedselagglutiniene kom soms wel in baie klein konsentrasies in normale konynserum voor. Die oorsprong van hierdie lae titer antiliggame is onbekend, maar mag inderdaad antiliggame wees wat kruisreaksies toon en dus nie muisrooibloedselle as oorspronklike spesifieke antigene vereis nie. Indien daar wel 'n geringe hoeveelheid rooibloedselagglutiniene in die NKS, wat as kontrole-serum in die eksperimente gebruik is, teenwoordig was, sou dit feitlik geen invloed op die resultate gehad het nie, want die volume serum wat per muis toegedien is, was min, en dus sou die klein hoeveelheid agglutiniene wat toegedien is geïgnoreer kon word.

IgG-fraksies van normale konynserum (NKS-IgG) en konyn-ALS (ALS-IgG) is berei soos deur Lance en Dresser (1967) beskryf, terwyl die ^{131}I-merking daarvan volgens die metode van McFarlane (1958) uitgevoer is.

Alle inspuitings is subkutaan toegedien.

2.3 Velallotransplantasie

Om die biologiese doeltreffendheid van ALS te bepaal, is die tegniek van Billingham en Medawar (1951) aangepas vir muise wat 21 dae oud was. Algemene narkose is aan die 21-dae-oue CBA-ontvanger toegedien met behulp van Nembutal deur 'n verdunning van 1:9 van die standaardoplossing en 0.01 ml per gram liggaamsgewig ip. toe te dien. Nadat die hare van die area vir die transplantasie afgeskeer is, is die vel met 'n dun lagie Neomisien of selloidien gereinig. Die heterotopiese transplantaat van die A-ras-stertvel, is na transplantasie met vaseliengaas beskerm voordat die gipsverband aangebring is. Die gipsverband is natgemaak met 'n verdunning van 1:20 steriliseringsvloeistof wat uit 2.0g Hibitane in 100 ml 20% Cetavlon bestaan het. Die oorlewingsduur van die velallotransplantate is aangeteken en volgens die metode van Levey en Medawar (1966a, 1966b, 1967a) geëvalueer.

Aangesien onbehandelde 21-dae-oue vroulike CBA-muise tydens toetsoorplantings

nie statisties betekenisvol ($p \leq 0.05$) van manlike CBA-muise van dieselfde ouderdom verskil het ten opsigte van die graad van reaksie teen manlike A-ras-stertveltransplantate nie (tabel 2, fig. 1), is die resultate nie ten opsigte van geslag onderskei nie. In hierdie eksperiment was 27 manlike en 32 vroulike muise as ontvangers gebruik, en die GOT van A-ras-stertvel op hierdie onbehandelde 21-dae-oue CBA-muise gesamentlik, was 12,7 dae met 'n variasiegebied van 7,5 dae tot 16,5 dae (tabel 2).

TABEL 2

PERSENTASIE OORLEWING VAN A-RAS-STERTVELTRANSPLANTATE OP ONBEHANDELDE 21-DAE-OUE MANLIKE EN VROULIKE CBA-MUISE.

DAE	0.....	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
♂	100.....	100	100	100	100	92,5	81,4	59,2	29,6	7,4	3,7	0
♀	100.....	100	93,7	93,7	93,7	90,6	75,0	28,1	6,2	0	0	0

Gemiddelde oorlewingstyd ♂: 13,23 dae
♀: 12,31 dae
Gesamentlik : 12,73 dae

Aantal muise gebruik : ♂ = 27
♀ = 32

2.4 Ondersoek tydens dragtigheid

Vir toedienings tydens dragtigheid is die dag waarop die vaginale prop opgemerk is, as dag 0 geneem. Inspuitings is op die sesde, agtste of sestiende dag begin en elke alternatiewe dag toegedien tot en met die bevalling. Muise wat op die sestiende dag geen tekens van dragtigheid getoon het nie, is verwerp en aangeteken as „nie dragtig op dag 16 nie". As werpsels na die gewone dragtigheidstydperk van ongeveer 21 dae gebore is, is hul aangeteken as „normale geboortes" (tabel 4). Daar is noukeurig gelet op enige aborsies.

Die nageslag van muise wat volgens hierdie verskillende skedules tydens dragtigheid ingespuit is, het in al die toetse resultate van dieselfde orde gelewer en al die resultate is derhalwe saamgegroepeer.

Om die moontlike oordrag van ALS-IgG van die moeder na die fetus te toets, is ^{131}I-gemerkte-IgG (ALS of NKS) elke tweede dag aan swanger muise toegedien vanaf die agtste dag van dragtigheid. Onmiddellik na geboorte is die pasgeborenes in 'n put-kristalsintillasieteller getel om radioaktiwiteit te bepaal. Een werpsel is met eter doodgemaak, in 'n isotoniese soutoplossing gehomogeniseer en gesentrifugeer; die proteïen in die dryfvloeistof is met behulp van trichloorasynsuur neergeslaan en die persentasie radioaktiwiteit in die presipitaat bepaal.

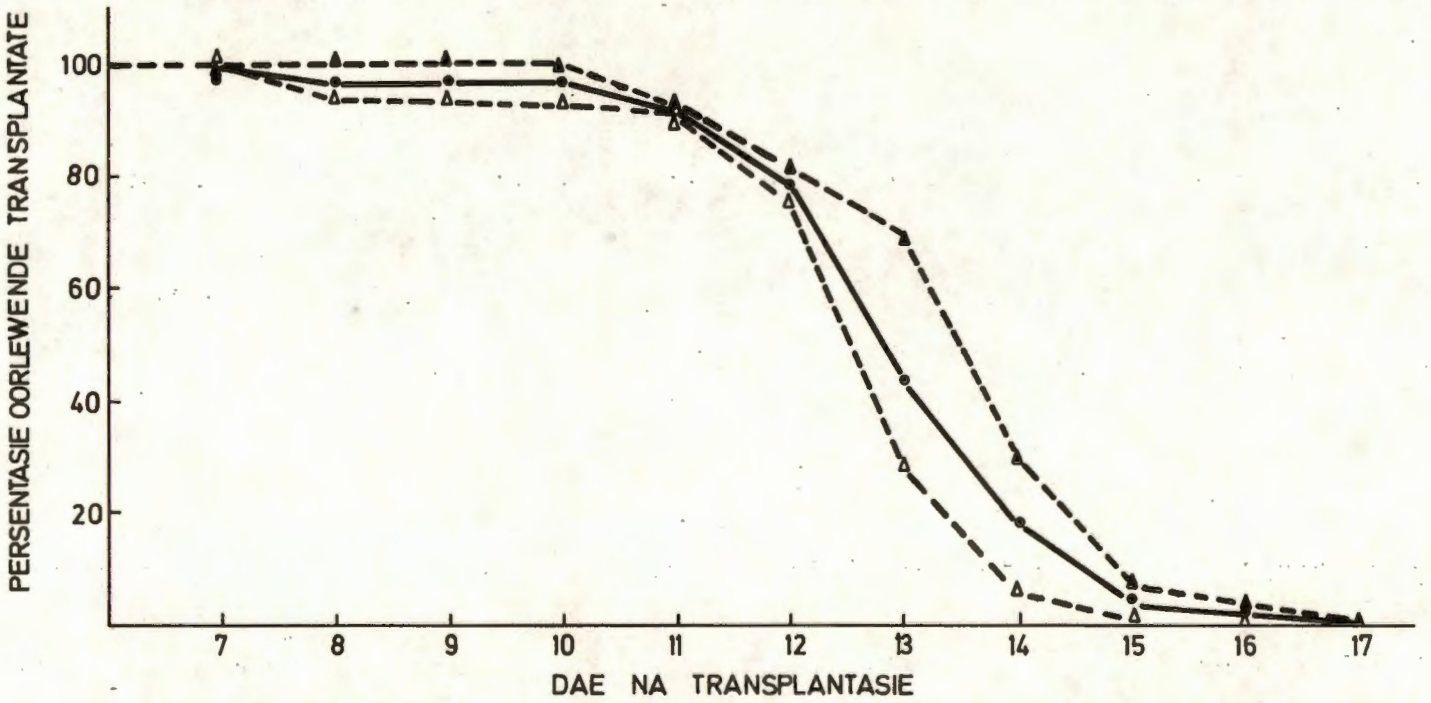


Fig.1

Oorlewing van stertveltransplantate van manlike A-ras-muise, op 21-dae-oue manlike en vroulike CBA-muise.

▲----▲ : ♂
Δ----Δ : ♀
●——● : gesamentlik.

Twee dragtige muise is met ^{131}I-NKS-IgG toegedien en twee met ^{131}I-ALS-IgG. Een van die laasgenoemde groep was verwerp as „nie dragtig op dag 16 nie". Die muise wat met ^{131}I-NKS-IgG tydens dragtigheid toegedien is het gesamentlik 15 (9 + 6) nakomelinge gehad, en die muis wat tydens dragtigheid met ^{131}I-ALS-IgG behandel is het 6 nakomelinge gehad. Radioaktiwiteit is waargeneem in al die neonate gebore van die primaparae wat óf met ^{131}I-NKS-IgG, óf ^{131}I-ALS-IgG behandel is. Voorlopige resultate het daarop gedui dat die persentasie transmissie van ALS-IgG minder as dié van NKS-IgG was. (Die waardes verkry was onderskeidelik 0,62 ± 0,06% teenoor 2,35 ± 0,34%). Drie-en-tagtig persent van die ^{131}I wat in die gehomogeniseerde werpsel teenwoordig was, is met trichloorasynsuur neergeslaan, derhalwe was die meeste radioaktiwiteit in die proteïenfraksie geleë.

Veertien primaparae is tydens dragtigheid met ALS ingespuit. Hiervan het 9 muise normale geboortes geskenk, 4 was as nie dragtig op dag 16 nie verwerp, terwyl een muis op dag 14 geaborteer het. Die 9 werpsels in hierdie groep het gesamentlik uit 51 nakomelinge bestaan. NKS is aan 9 primaparae tydens dragtigheid toegedien, waarvan 3 as nie dragtig op dag 16 nie verwerp is en 6 normale geboortes geskenk het met 'n totale aantal van 33 nakomelinge. In die groep muise wat geen behandeling tydens dragtigheid ontvang het nie, was 43 multiparae gebruik met gesamentlik 311 nakomelinge. Hierdie neonate is vir die ondersoek tydens die vroeë postnataalperiode gebruik (vgl. paragraaf 2.6).

TABEL 3

DIE INVLOED VAN ALS OF NKS OP DRAGTIGHEID IN MUISE

Serum toegedien tydens dragtigheid	Aantal vroulike muise gebruik.	Normale geboortes	„Nie dragtig op dag 16 nie"
ALS	14	64.3%	28.6%*
NKS	9	66.7%	33.3%

*Een muis het op dag 14 aborteer.

Daar was nie 'n statisties betekenisvolle verskil ($p \leq 0,05$), nóg in die persentasie „normale geboortes" (tabel 3), nóg in die aantal muise per werpsel (tabel 4) wat gebore is van wyfies wat met ALS of NKS tydens dragtigheid behandel is nie. Soos verwag kon word was die werpselgrootte in albei gevalle effens kleiner as dié van multiparae. Makroskopiese ondersoek van die pasgeborenes het geen afwykings getoon nie en die gemiddelde gewig by geboorte sowel as die gewigstoename van die nageslag van muise wat tydens dragtigheid met ALS behandel is, het nie statisties beduidend op die 5% peil van betekenis verskil, van die onbehandelde kontroles nie. Omdat ALS dus in hierdie opsig geen betekenisvolle invloed op die nakomelinge van die behandelde muise gehad

TABEL 4

DIE EFFEK VAN ALS OF NKS OP DIE GROOTTE EN GROEITEMPO VAN WERPSELS GEBORE UIT VROULIKE CBA-MUISE WAT TYDENS DRAGTIGHEID INGESPUIT IS.

Behandeling tydens dragtigheid	Gemiddelde aantal muise per werpsel	Gemiddelde gewig per nakomeling in gram.		
		Dag 1	Dag 3	Dag 21
Nil	7.2±1.84	1.21±.202	1.53±.190	7.5±1.50
ALS	5.6±1.73	1.18±.111	1.44±.141	8.12±.639
NKS	5.4±1.96	-	-	-

het in vergelyking met onbehandelde kontroles nie, was dit nie nodig geag om die NKS-behandelde groep in hierdie opsig as kontrole in te reken nie.

Velallotransplantasies is op 21-dae-ouderdom op 15 nakomelinge van die ALS-groep, en op 15 nakomelinge van die NKS-groep uitgevoer. Verder het 11 nakomelinge van 3 ALS-behandelde wyfies 'n verdere 0.1 ml ALS op dag 3, en 9 nakomelinge van 2 NKS-behandelde wyfies 'n verdere 0.1 ml NKS ook op dag 3, ontvang. Hierdeur wou ek vasstel of die moontlike onderdrukking van die immunologiese ontwikkeling van die nakomelinge, nie dalk deur 'n verdere serum-toediening net na geboorte, versterk sou word nie.

Soos fig. 2 aandui, het die vermoë van die nakomelinge in al hierdie eksperimentele groepe, om op 21-dae-ouderdom 'n velallotransplantaat te verwerp, nie verskil nie en is ook nie deur 'n verdere inspuiting van 0.1 ml ALS of NKS op 3-dae-ouderdom beïnvloed nie. Hierdie resultate is almal statisties op die 5% peil van betekenis volgens die U-toets van Wilcoxon (Mann-Whitney) getoets.

2.5 Ondersoek tydens laktasie

Om die uitwerking van ALS tydens laktasie te toets, is 0.5 ml ALS aan 3 moeders 'n dag voor die verwagte bevalling van die werpsel toegedien en daarna 0.3 ml op elke tweede dag totdat die werpsel gespeen is (dag 19). Hierdie groep was aanvanklik groter maar die noodsaaklike hantering van die senuweeagtige primaparae net na die geboorte van die werpsels, het tot gevolg gehad dat 3 wyfies hulle werpsels opgevreet het. Die werpselgroottes van die muis in dié eksperiment was 8, 5 en 8 en die gemiddelde gewigte van hierdie werpsels op 21 dae was 6.12 ± 0.48 g, 8.0 ± 0.32 g en 4.72 ± 0.46 g onderskeidelik. Die GOT-waardes van stertvelallotransplantate op dag 21, op hierdie nakomelinge gesamentlik was 10.2 dae, met 'n variasiegebied van 9.5 tot 12.5 dae. Die GOT-waardes van die drie groepe afsonderlik het nie statisties beduidend op 'n 5% peil van betekenis van mekaar verskil nie.

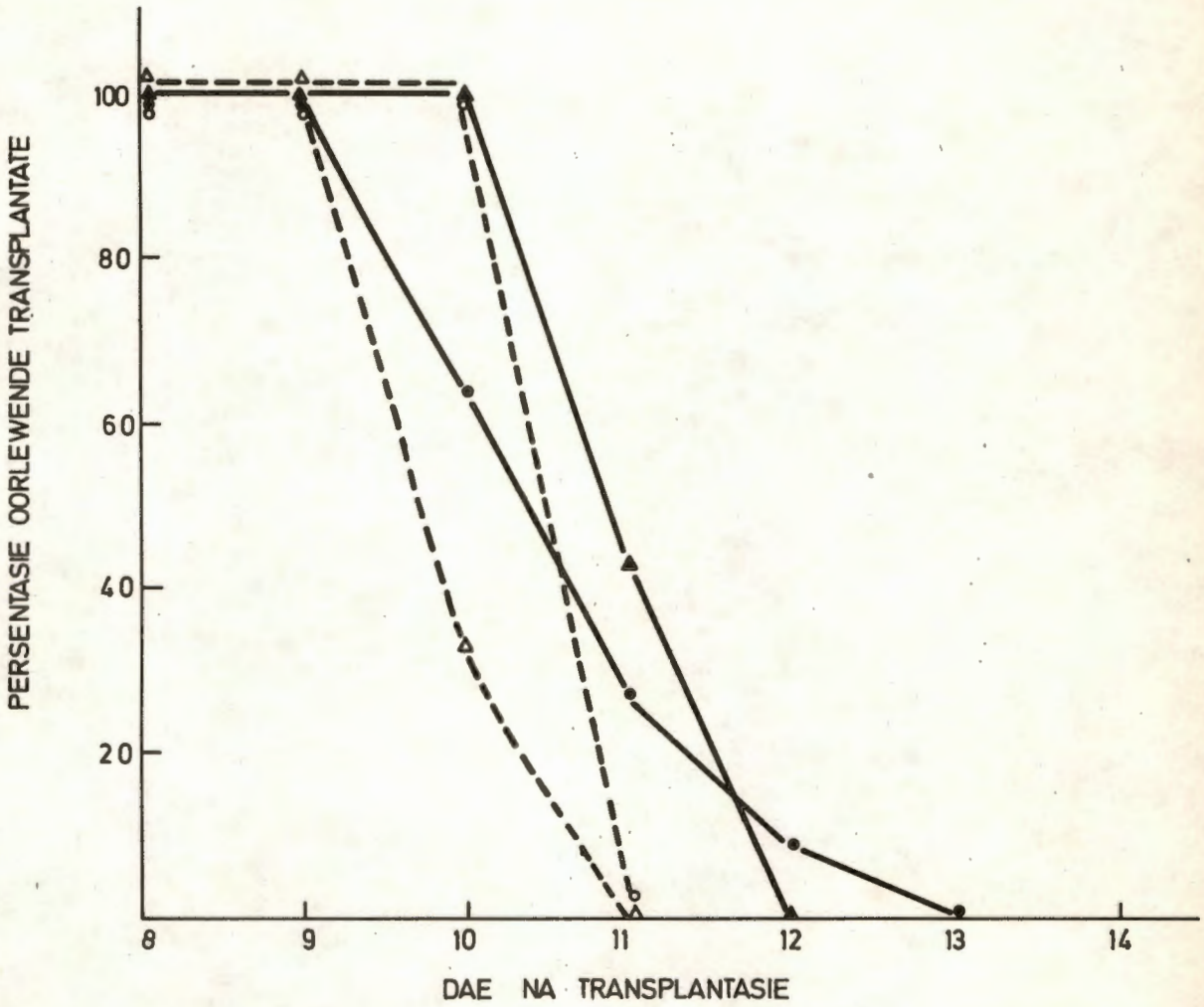


Fig.2

Oorlewing van stertveltransplantate van manlike A-ras-muise, op 21-dae-oue CBA-muise, gebore uit vroulike muise wat as volg behandel is:

▲----▲ : ALS tydens dragtigheid toegedien, (GOT: 10,9 dae)
●——● : ALS tydens dragtigheid toegedien, *0,10 ml op dag 3. (GOT: 10,5 dae)
Δ----Δ : NKS tydens dragtigheid toegedien, (GOT: 10,5 dae)
o——o : NKS tydens dragtigheid toegedien, *0,10 ml op dag 3. (GOT: 9,8 dae)

* 0,10 ml is op dag 3 aan die pasgeborenes toegedien.

2.6 Ondersoek tydens vroeë neonataalperiode

Vir die ondersoek van die invloed van ALS gedurende die vroeë neonataalperiode is die eerste inspuiting aan pasgebore muise binne 24 uur na geboorte toegedien en hierdie is as dag 1 aangeteken. Die volledige skema van die inspuitingskedule wat gebruik is, word in tabel 5 weergegee. Ek het die tydperk vanaf geboorte, tot net na die

TABEL 5

SKEDULE VAN ALS- OF NKS- TOEDIENING IN DIE VROEË POSTNATALE TYDPERK VAN CBA-MUISE, EN DIE GOT VAN MANLIKE A-RAS-STERTVELTRANSPLANTATE WAT OP HIERDIE MUISE, OP DIE OUDERDOM VAN 21 DAE, OORGEPLANT IS.

Toedieningsdae*	Hoeveelheid (ml)		GOT (dae en variasiegebied	
	Afsonderlik	Totaal	Met ALS behandel	Met NKS behandel
1 en 3	0.05+0.05	0.10	12.5 (9.5 - 15.5)	11.0 (10.5 - 12.5)
	0.10+0.10	0.20	12.11 (9.5 - 15.5)	10.7 (8.5 - 11.5)
1, 3 en 11	0.05+0.05+ 0.10	0.20	17.8 (11.5 - 31.5)	-
1 en 11	0.05 + 0.10	0.15	21.8ϕ (13.5 - 39.5) 29.75 (18.5 - 56.5) 15.8 (9.5 - 24.5)	11.1
	0.10+0.10	0.20	13.23 (9.5 - 20.5)	10.7 (9.5 - 12.5)
11	0.10	0.10	17.5 (12,5 - 26.5)	12.2 (8.5 - 15.5)
1, 11 en 23	0.05+0.10+ 0.20	0.35	32.7 (26.5 - 46.5)	-
23	0.20	0.20	29.5 (20.5 - 36.0)	-

*0 tot 24 uur na geboorte is as dag 1 geneem.

ϕL.W. dat die GOT-waardes deur verskillende poele ALS wat gebruik is, beïnvloed is.

neonate gespeen word, dit wil sê die eerste drie weke na geboorte van die muise, as die vroeë neonatale tydperk afgebaken. Hierdie tydperk is in drie fases verdeel, nl. (a) net na geboorte as fase 1, (b) halfpad deur die tydperk, dit wil sê dag 11, as fase 2, en (c) die einde van die tydperk, dit wil sê om en by dag 21, as fase 3. Hiervolgens is die seratoedienings gegroepeer. Toedienings op dae 1 en 3 is dus as tydens die eerste fase; op dae 1 en 11, of dae 1, 3 en 11 as tydens fase een en twee; slegs op dag 11 as tydens fase twee; op dae 1, 11 en 23 as tydens al drie fases en op dag 23 as tydens fase drie, geneem. Daar is dus met die skedule van seratoedienings, soos uiteengesit in tabel 5, beoog om die tye van toedienings tydens al drie die fases van die vroeë neonatale tydperk van die muise, te versprei.

Onder die 313 muise wat in hierdie eksperimente gebruik is, was daar 3 „runts" op die ouderdom van 11 dae en 16 muise wat tydens behandelings gevrek het. Die gemiddelde gewigte van muise by geboorte en op die ouderdom van 3, 11 en 21 dae, het nie onderling statisties beduidend op die 5% peil van betekenis, verskil nie; soos tabel 6 duidelik aantoon.

TABEL 6

GEWIGTE VAN MUISE WAT MET ALS OF NKS TYDENS DIE VROEË POSTNATALE TYDPERK INGESPUIT IS, EN VAN ONBEHANDELDE KONTROLES.

Behandeling		Aantal muise	Gemiddelde gewig in gram			
Serum	Dae		Dag 1	Dag 3	Dag 11	Dag 21
ALS	1+3	33	1.21±.117	1.57±.086	3.97±.408	7.11±1.035
ALS	1+11	34	1.22±.073	1.53±.040	4.24±.788	7.04±1.367
ALS	11	29	1.20±.086	1.46±.107	3.93±.583	7.0±.976
NKS	1+3	28	1.26±.074	1.56±.065	4.07±.378	7.20±.903
NKS	1+11	29	1.14±.120	1.45±.028	4.33±.449	7.94±.896
NKS	11	28	1.28±.120	1.58±.042	4.65±.586	8.0±.707
Nil	-	15	1.21±.202	1.53±.190	4.28±.9539	7.5±1.50

Die verskillende GOT-waardes wat in tabel 5 aangetoon word, is in groepe wat uit verskillende aantal muise bestaan het, bepaal. Die kleinste groep het uit 7 muise (ALS op dae 1, 11 en 23), en die grootste groep uit 22 muise (ALS op dae 1, 3 en 11) bestaan. Al die ander groepe het gewissel van 10 tot 15 muise per groep. Die verskille tussen al die GOT-waardes wat in tabel 5 aangedui word, is statisties volgens die U-toets van Wilcoxon (Mann - Whitney) ontleed.

Nie een van die skedules van NKS-behandeling van die neonate, het verlenging van velallotransplantate veroorsaak nie, en die GOT-waardes het ook nie onderling verskil

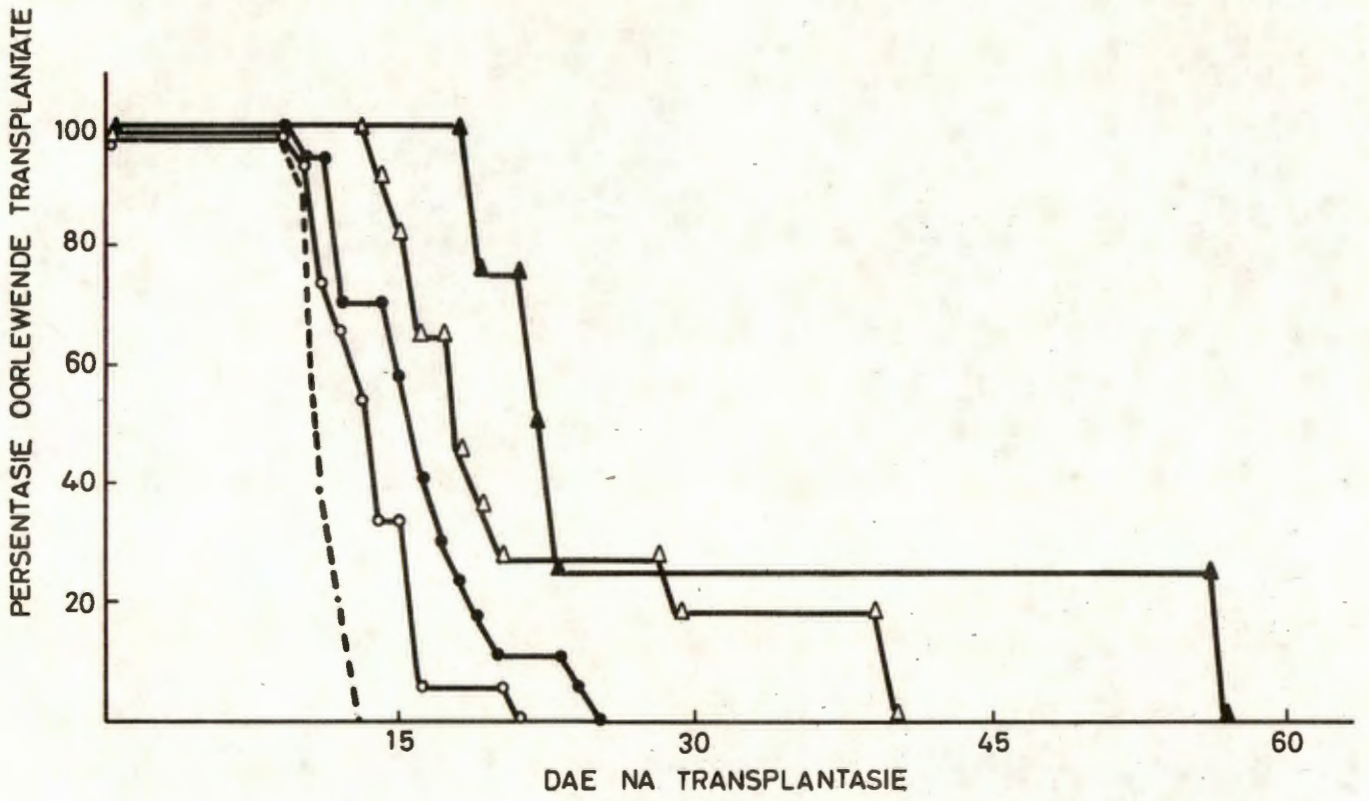


Fig.3

Oorlewing van stertveltransplantate van manlike A-ras-muise, op 21-dae-oue CBA-muise wat 0,05 ml op die 1e, en 0,10 ml op die 11e postnatale dag van verskillende poele ALS ontvang het.

▲——▲ : Serum XVIII	,GOT: 29,75 dae
Δ——Δ : Serum XIX	,GOT: 21,8 dae
●——● : Serum XVIII + XXI	,GOT: 15,8 dae
o——o : Serum XXII	,GOT: 13,23 dae
.----. : NKS	,GOT: 11,1 dae.

nie ($p \leq 0.05$). Dit is dus duidelik bewys dat die normale konynserum as sulks geen immuunonderdrukkende eienskappe besit nie. Wanneer die invloed van ALS teenoor NKS in die neonataalperiode van die muise vergelyk word, sal die GOT-waardes wat met NKS-toediening verkry is, as „normaal" beskou word.

Tabel 5 toon duidelik aan dat muise wat op dae 1 en 3 met ALS behandel is, velallotransplantate teen 'n „normale" tempo verwerp het, maar muise wat volgens al die ander skedules ingespuit is, het matig tot uitgesproke verlenging van velallotransplantaatoorlewing getoon. Die waardes het almal op die 1% peil van betekenis beduidend verskil.

Die invloed van verskillende poele ALS is ook in hierdie sisteem uitgetoets en soos fig. 3 en tabel 5 aantoon, het die graad van veltransplantaatverlenging met die verskillende poele ALS wat gebruik is statisties op die 1% peil van betekenis verskil.

Een-en-twintig-dae-oue muise is teen konyn-IgG geïmmuniseer deur ip.-inspuitings met 'n nommer-26-naald. Twintig mikrogram alum-gepresipiteerde NKS-IgG (Proom, 1943) gemeng met 4×10^8 Bordetella pertussis-organismes (RAP) is gebruik (Dresser, 1965).

Die elimineringsproses van ^{131}I-gemerkte ALS-IgG en NKS-IgG is bestudeer deur gebruik te maak van die metode van Dresser (1965). ALS of NKS is aan CBA-muise toegedien op dae 1 en 3, of 1 en 11, of slegs op dag 11 (vgl. tabel 5). Op dag 21 is die muise in twee groepe verdeel. Een groep is gebruik vir ^{131}I-ALS-IgG-eliminasiestudies. Die ander groep is teen RAP geïmmuniseer en die eliminasie van ^{131}I-NKS-IgG is drie weke later bepaal. In al die gevalle is 333 µg ^{131}I-gemerkte konyn-IgG (hetsy NKS of ALS) ip. toegedien, en 0.01 ml bloed is elke alternatiewe dag gebruik, om die agterblywende radioaktiwiteit in die bloedstroom te bepaal.

Muise wat vooraf met ALS en NKS op dae 1 en 3, 1 en 11, of slegs op dag 11 behandel is (vgl. tabel 5), is op dag 21 deur 'n kardiale punksie onder narkose uitgebloei en hul sera is deur diffusie in jel teen NKS, konyn-IgG en bokantikonyn-Fc, volgens die Ouchterlony-tegniek, getoets.

Toediening van hetsy ALS-IgG of NKS-IgG aan muise tussen dae 1 en 11 na geboorte, het tot 'n toestand van immunologiese paralise tot konyn-IgG gelei. Hierdie stelling word deur die volgende resultate ondersteun:

Die eliminasiekurwe van ^{131}I-ALS-IgG (fig. 4) toon aan dat die ALS-IgG, wat deur Lance en Dresser (1967) bewys is om immunogenies in volwasse muise te wees, 'n swak immunogeen in 21-dae-oue CBA-muise is. Voorafbehandeling tussen dae 1 tot 11 na geboorte met ALS of NKS het die muise nie aantoonbaar geïmmuniseer nie.

Fig. 5 toon aan dat muise wel op 21-dae-ouderdom teen die IgG-fraksie van konynserum geïmmuniseer kan word, want die ^{131}I-NKS-IgG is deur onbehandelde kontroles wat teen RAP op dag 21 geïmmuniseer is, op 'n geïmmuniseerde wyse geëlimineer. ^{131}I-NKS-IgG is op 'n normale wyse in onbehandelde 21-dae-oue muise geëlimineer, maar voorafbehandeling met ALS of NKS tussen dae 1 tot 11 het immunologiese paralise opgewek.

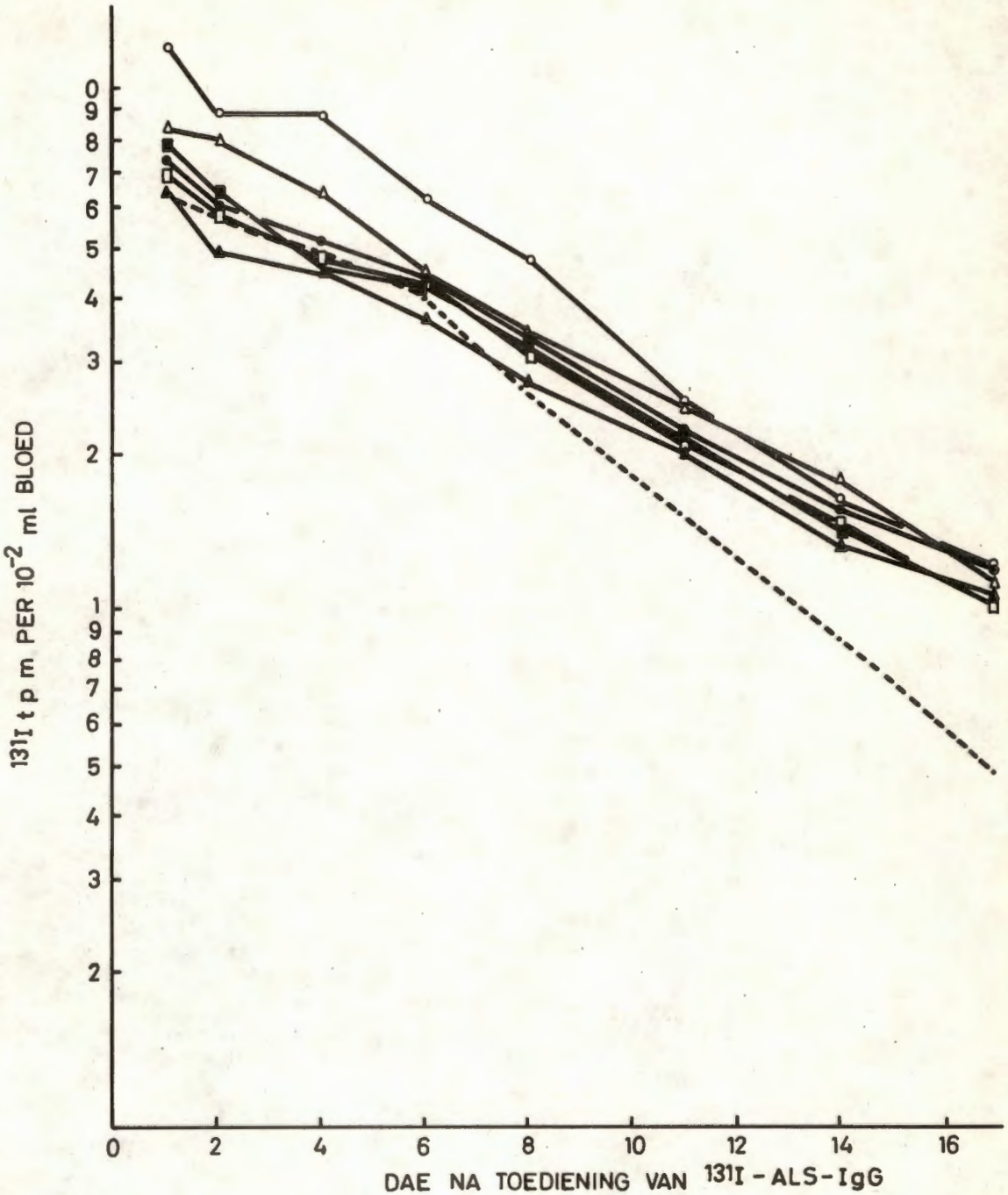


Fig.4

Eliminasie van ^{131}I-ALS-IgG uit die bloed van muise wat as volg behandel is:

▲——▲ : ALS toegedien op dae 1 en 3.
●——● : ALS toegedien op dae 1 en 11.
■——■ : ALS toegedien slegs op dag 11.
Δ——Δ : NKS toegedien op dae 1 en 3.
o——o : NKS toegedien op dae 1 en 11.
□——□ : NKS toegedien slegs op dag 11.
.-----. : Kontrole: 21-dae-oue CBA-muise.

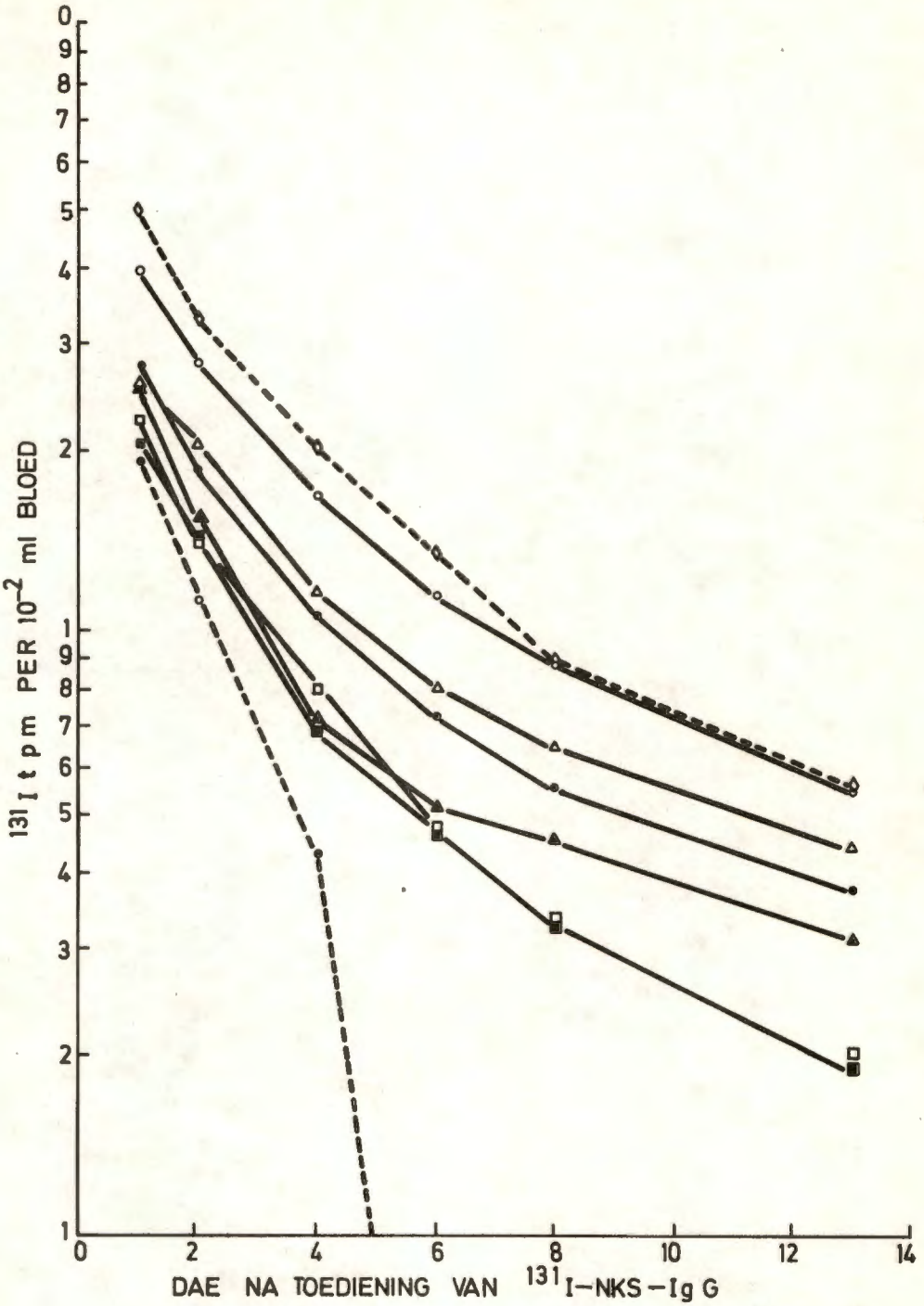


Fig.5

Eliminasie van ^{131}I-NKS-IgG uit die bloed van muise na behandeling as volg:

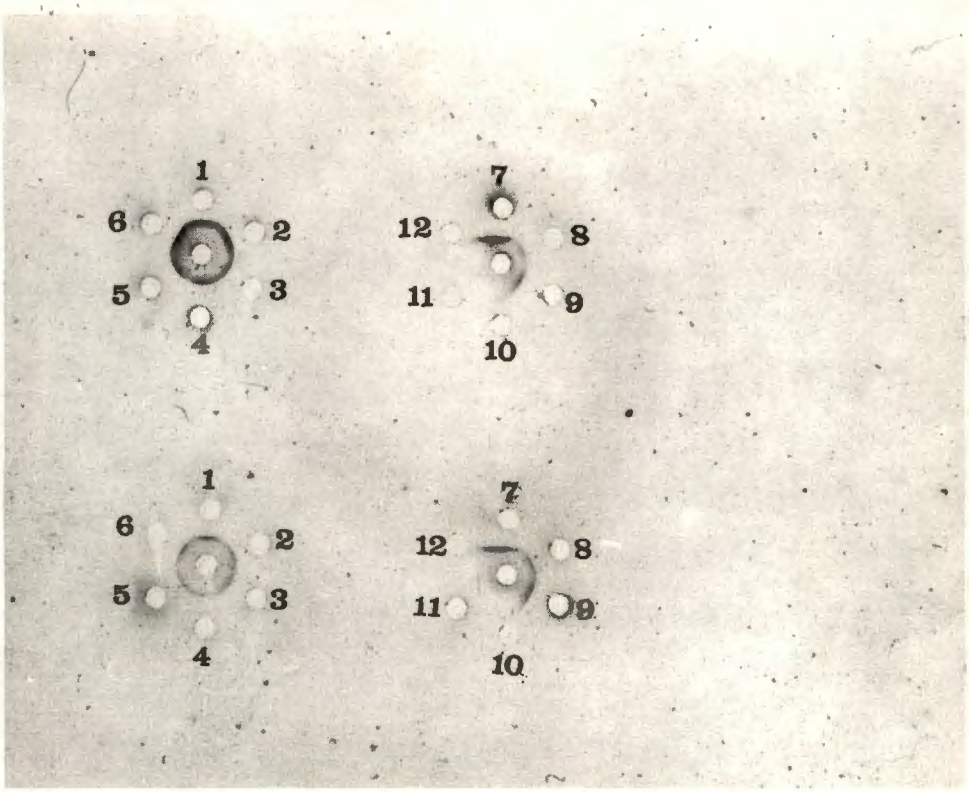
▲——▲ : ALS toegedien op dae 1 en 3
●——● : ALS toegedien op dae 1 en 11
■——■ : ALS toegedien slegs op dag 11

Almal op dag 21 met RAP geïmmuniseer.

Δ——Δ : NKS toegedien op dae 1 en 3
o——o : NKS toegedien op dae 1 en 11
□——□ : NKS toegedien slegs op dag 11

Almal op dag 21 met RAP geïmmuniseer.

•-----• : Geen behandeling vooraf nie, op dag 21 met RAP geïmmuniseer.
◇---◇ : Onbehandelde, 21-dae-oue CBA-muise.



Ouchtolony - jeldiffusie-toetsresultate:

Al die toetsmonsters is teen bokantikonyn-Fc getoets. Serummonsters is van 21-dae-oue CBA-muise verkry wat as volg tydens die neonataal-periode behandel is.

Ry 1: Gaatjies	1, 2, 3	: NKS op dae 1 + 3	: Presipitasielyne
	4, 5, 6	: NKS op dae 1 + 11	: Presipitasielyne
	7, 8, 9	: NKS slegs op dag 11	: Presipitasielyne
	10, 11, 12	: Normale muisserum	: Geen presipitasielyne
Ry 2: Gaatjies	1, 2, 3	: ALS op dae 1 + 3	: Presipitasielyne
	4, 5, 6	: ALS op dae 1 + 11	: Presipitasielyne
	7, 8, 9	: ALS slegs op dag 11	: Presipitasielyne
	10, 11, 12	: Normale muisserum	: Geen presipitasielyne

Duidelike presipitasielyne is gevorm tussen al die serummonster, op dag 21 verkry, wat getoets is teen bokantikonyn-Fc (fig. 6). Dit dui sirkulerende konyn-IgG in al die muise op dag 21 aan. NKS en konyn-IgG het geen presipitasielyne teen die sera van die 21-dae-oue muise gevorm nie, wat bevestig het dat geen aantoonbare antiliggame teen enige serumfraksie gevorm is nie.

3. BESPREKING

Transmissie van antiliggame van die moeder na die fetus en/of pasgeborene via die bloed en/of die melk is 'n aanvaarde feit. By konyne vind daar 'n selektiewe oordrag ten opsigte van globuliene, in vergelyking met ander serumfraksies, plaas (Brambell et al., 1960; Hemmings, 1961). Dit is ook bewys dat die transmissie of absorpsie van heterelo̤e γ-globuliene minder geredelik as dié van homolo̤e globuliene, plaasvind (Batty et al., 1954).

Die aktiewe fraksie van konyn-ALS is in die 7s-γ-globulien- (die IgG-)fraksie gele̤e, (vgl. paragraaf 1.5). Alhoewel dit heterelo̤e γ-globuliene vir die muise is, is dit nogtans moontlik dat hierdie aktiewe fraksie deur die plasenta en/of spysverteringskanaalwand oorgedra sal word, en 'n moontlike invloed op die ontwikkeling van die fetus se immunologiese sisteem kan uitoefen. Die teenwoordigheid van ^{131}I-gemerkte proteïen in pasgebore muise na behandeling van die moeder tydens dragtigheid, met hetsy ^{131}I-ALS-IgG of ^{131}I-NKS-IgG, ondersteun die aanname dat van die heterelo̤e γ-globulien deur die plasenta oorgedra is. Die bevinding dat minder ALS-IgG as NKS-IgG die fetus bereik het, is nie verrassend nie, aangesien adsorpsie aan die moeder se weefsels sekerlik die meerderheid van beskikbare ALS-IgG vir die oordrag deur die plasenta verwyder het, vanwe̤e die feit dat dit aktief teen muisantigene berei is.

Dit word algemeen aanvaar dat 'n vaginale prop nie 'n waarborg van bevrugting is nie, veral in geval van nulliparae. Dit verklaar waarskynlik die 30% tot 35% muise wat in die nie-dragtig-op-dag-16-nie-groep val, wat in beide die ALS- en NKS-behandelde groepe gevind is. As hierdie argument geldig is, dan is met hierdie ondersoek bewys dat toediening van ALS (of NKS) tydens dragtigheid nie normale dragtigheid benadeel het nie. Dit is ook bekend dat die eerste werpsels by muise gewoonlik kleiner in getal is, as die wat daarop volg. Dit is die rede waarom werpsels van die primaparae wat die ALS- en NKS-toedienings ontvang het enigsins kleiner was as die van multiparae wat as kontrole gebruik is. Dit sou beteken dat die ALS- en NKS-behandeling geen invloed op die werpselgrootte gehad het nie. Bowendien is ook die pre- en postnatale groei nie deur die ALS be̤invloed nie, want die nakomelinge van muise wat tydens dragtigheid met ALS behandel is, het normale gewigte by geboorte en normale groeitempo (gewigstoename) tydens die eerste 3 weke vertoon.

Hierdie resultate is strydig met dié van Kirby (1967) dat toediening van ALS inplanting van die ovum verhoed, of dragtigheid be̤eindig. 'n Verklaring vir die teenstrydige resultate sou moontlik gesoek moet word in die feit dat die ALS wat Kirby gebruik het,

nie van rooibloedselantiliggame gereinig was nie.

Russe en Crowle (1965b) het bevind dat, waar één ALS-toediening aan dragtige muise kort voor die bevalling nie die ontwikkeling van sensitiwiteit in hul nageslag vertraag het nie, voortgesette toediening daarvan tydens die hele dragtigheidstydperk wel die ontwikkeling van hipersensitiwiteitsreaksies effens vertraag het.

In die eksperimente wat hier beskryf is, is die vermoë om 'n allotransplantaat te verwerp as kriterium van immunologiese ontwikkeling geneem. Daar is gevind dat die nakomelinge van CBA-muise wat tydens dragtigheid met ALS of NKS behandel is, A-rasveltransplantate teen dieselfde tempo verwerp het. Hiervan kan afgelei word dat daar geen onderdrukking van hierdie immuunmeganisme in die ALS-behandelde groep voorgekom het nie.

Alhoewel hierdie twee eksperimente verskil op die tipe reaksie wat getoets is vir die bepaling van 'n moontlike invloed van ALS op die ontwikkeling van die immuunmeganismes van die fetus, is dit nogtans eienaardig dat die resultate op reaksies wat albei as selbemiddelde-immunologiese reaksies beskou word, sal verskil.

Halliday (1955) het aangetoon dat alhoewel 'n mate van immuniteit in rotte en muise reeds vóór geboorte oorgedra is, die grootste gedeelte eers na geboorte oorgedra is, en wel omdat moederlike antiliggame en ander γ-globuliene gedurende die grootste gedeelte van laktasie uitgeskei word in, en geabsorbeer word uit die melk, tot naby die tydstip waarop die diere gespeen word. ALS is dus aan lakterende muise toegedien om te bepaal of, indien die aktiewe fraksie van ALS die neonate via die melk sou bereik, dit enige nadelige invloed op die ontwikkeling van die neonate se eie immunologiese vermoëns sou teweegbring. Die werpsels van wyfies wat tydens laktasie met ALS ingespuit is, het normaalweg gegroei en hul vermoë om velallotransplantate op die ouderdom van 21 dae te verwerp, is nie belemmer nie. Hierdie resultate toon derhalwe dat toediening van ALS aan lakterende wyfies nie toksies vir die werpsel was nie en nie die ontwikkeling van die verwerpingsmeganisme ten opsigte van velallotransplantate benadeel het nie.

Toedienings van ALS of NKS aan pasgebore muise het nie die voorkomsyfer van „runts" in hoogingeteelde muise verhoog, nog hul groeitempo vertraag nie. As hierdie verskynsels as kriteria vir toksisiteit aanvaar word dan was die ALS in my ondersoeke nie toksies vir die jong diere nie. Die immunologiese vermoë van jong muise wat met ALS behandel is, is nogtans verminder want die pasgebore muise wat slegs een of twee toedienings, met 'n totaal van 0,1 tot 0,15 ml ALS ontvang het, en wat ten minste 10 dae ná die laaste ALS-inspuiting 'n velallotransplantaat ontvang het, was nogtans immunologies verswak. Tabel 6 toon duidelik aan dat muise hulle gewig vanaf die tiende tot die een-en-twintigste dag na geboorte verdubbel het en daar mag afgelei word dat die populasie van immunologiesbevoegde selle moontlik ook in dieselfde verhouding sou toegeneem het. 'n Moontlike verklaring vir my bevindinge is reeds deur Levey en Medawar (1967b) in 'n ander verband bespreek, nl. dat die moontlikheid bestaan dat die nakomelinge van selle wat deur ALS selektief onaktief gestel is, self vir een of meer selgenerasies

onaktief bly.

Die waarneming dat die effek van ALS in jong muise tydens 'n tydperk van snelle groei bly voortbestaan het, kan egter ook te wyte wees aan die voortbestaan van ALS self, weens die immunologiese paralise wat deur die toediening van relatiewe groot dosisse aan die jong muise veroorsaak is. Dat paralise wel voorgekom het, word duidelik aangetoon deur die eliminasiekurwe van die ^{131}I-ALS-IgG, die onvermoë van RAP om voorafbehandelde 21-dae-oue muise te immuniseer en die opsporing van konyn-IgG in hulle serum op 21 dae. Ek is egter nie oortuig dat die „ALS-aktiwiteit" op 21 in 'n hoë genoeg titer teenwoordig was vir 'n „de novo" immunologiese onderdrukkingseffek nie.

Daar moet aanvaar word dat daar verskeie antiliggame, wat teen verskillende antigene gerig is, in die IgG-fraksie van die ALS, teenwoordig is. Dit moet beklemtoon word dat die resultate hierbo beskryf, nie aantoon dat die antiliggaamkomponent in ALS-IgG wat vir velallotransplantaatbeskerming verantwoordelik is, self vanaf die laaste inspuiting tot en met dag 21 (die dag van transplantasie) bly voortbestaan het nie. Lance (persoonlike mededeling) het aangetoon dat 'n verrykte antilimfosiet-IgG-bereiding verkry deur ALS-IgG van limfosietmembrane af te was, baie vinniger (halfleeftyd is minder as 24 uur) in muise geëlimineer word as heel ALS-IgG. Deur dieselfde bereiding in die huidige ondersoek te gebruik, kon ek aantoon dat Lance se bevinding ook vir 21-dae-oue muise waar was. 'n Vroeëre paralise deur konyn-IgG het nie hierdie resultate beïnvloed nie. Met ander woorde, al was daar sirkulerende IgG in die bloedstroom teenwoordig, is die genoemde bereiding wat antiliggame bevat wat spesifiek teen muislimfosiete gerig is, besonder vinnig geëlimineer.

Alhoewel hierdie bevindige dus die waarskynlikheid verminder dat die verswakte immunologiese vermoë, aangetoon in hierdie eksperimente, as gevolg van die voortbestaan van die ALS-antiliggaam in 'n hoog genoeg titer is, op die tydstip wat die velallotransplantasie geskied het, elimineer dit nogtans nie die moontlikheid nie. In die huidige stand van ons kennis is dit nog nie moontlik om ten gunste van die een of die ander moontlikheid te besluit nie.

4. OPSOMMING

Die eksperimente van Metchnikoff (1899) het die onderwerp van antileukosietantiserum aan die wetenskap bekend gestel. Na hierdie eerste publikasie was daar sporadiese belangstelling in die onderwerp. Die verkryging van 'n spesifieke antilimfosietantiserum (ALS) het gevolg, en die bepaling van die effek van ALS op limfosiete in vitro en in vivo is deur verskeie navorsers aangepak. Die verhandeling gee 'n oorsig van die bevindinge op hierdie gebied, en wys op die vooruitgang en snelle toename in belangstelling van navorsers, toe aangetoon is dat ALS 'n merkwaardige immuunonderdrukkingsmiddel is. Die bespreking van die literatuur word beperk tot publikasies wat tot en met einde Maart 1968 verskyn het.

Die eksperimentele werk waarop die verhandeling berus, behels 'n evaluering van

die effek van ALS in die laat prenatale en vroeë postnatale periode in muise, aangesien daar deur ander navorsers tot dusver net met volwasse diere gewerk is.

Heterelоë antilimfosietantiserum (ALS) of normale konynserum (NKS) is tydens dragtigheid of laktasie subkutaan toegedien aan vroulike CBA-muise. Daar is gevind dat hul nageslag normaal groei, en op die ouderdom van 21 dae velallotransplantate teen dieselfde tempo verwerp as kontroles. Toediening van ALS of NKS het nie normale dragtigheid benadeel nie. ALS is nie in immunologies effektiewe konsentrasies toksies vir pasgebore muise nie. CBA-muise wat binne die eerste tien dae na geboorte met 0.05 ml tot 0.15 ml ALS behandel is en 'n transplantaat op dag 21 ontvang het, het A-ras-velallotransplantate langer as normaalweg behou (maksimum 56 dae, maksimum in kontroles 16 dae). Toediening van ALS of NKS binne die eerste 10 dae van lewe het muise ten opsigte van konyn-IgG geparaliseer. Hierdie effek is aangetoon deur die eliminasie van 'n toetsdosis ^{131}I-gemerkte konyn-IgG, wat toegedien is ná 'n uitdaging daarmee op die ouderdom van 21 dae in teenwoordigheid van adjuvant, te volg. Dit is ook bevestig deur sirkulerende konyn-IgG op dag 21 in die bloedstroom van hierdie muise aan te toon. Hierdie verlengde effek van ALS in jong muise tydens 'n periode van snelle groei, kan die gevolg wees van óf die voortbestaan van ALS as sodanig, óf 'n verandering in die nageslag van die selle wat oorspronklik daaraan blootgestel is.

LITERATUURVERWYSINGS

ABAZA, H.M., NOLAN, B., WATT, J.G. & WOODRUFF, M.F.A.	1966	Effects of ALS on survival of renal homotransplants in dogs. Transplantation 4: 618 - 632.
ALLISON, A.C., BERMAN, L. & LEVEY, R.H.	1967	Increased tumour induction by adenovirus type 12 in thymectomized mice and mice treated with ALS. Nature (Londen) 215: 185 - 187.
ANDERSON, N.F., CLARK, J.G., JAMES, K., REID, B.L. & WOODRUFF, M.F.A.	1967	Biological properties of ALS-antibody and antibody fragments. (In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in transplantation. Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 103 - 106.)
ANON.	1967	Inleidingsartikel, Antilymphocytic serum. Lancet 2: 661 - 662.
BACH, J.F. & ANTOINE, B.	1968	In vitro detection of Immunosuppressive activity of antilymphocyte sera. Nature (Londen) 217: 658 - 659.
BAINBRIDGE, D.R., BRENT, L. & GOWLAND, G.	1966	Distribution of allogeneic ^{51}Cr - labelled lymph node cells in mice. Transplantation 4: 138 - 153.
BALNER, H.	1967	Bespreking. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 85.)
BALNER, H. & DERSJANT, H.	1967a	Effects of antilymphocyte sera in primates. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 85-96.)
BALNER, H., VAN BEKKUM, D.W., DE VRIES, M.J., DERSJANT, H. & VAN PUTTEN, L.M.	1967b	Effect of antilymphocyte sera on homograft reactivity and G.v.H. reactions in rhesus monkeys. (In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in Transplantation, Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 449 - 456.)

BATCHELOR, J.R.	1967	Bespreking. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29 Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 107.)
BATTY, I., BRAMBELL, F.W.R., HEMMINGS, W.A. & OAKLEY, C.L.	1954	Selection of antitoxins by foetal membranes of rabbits. Proc. Roy. Soc. (Biol.) 142: 452 - 471.
BERENBAUM, M.C.	1967	Time dependent immunosuppressive effects of anti-thymocyte serum. Nature (Londen) 215: 1481 - 1482.
BESREDKA, A.	1900	La leucotoxine et son action. Ann. Inst. Pasteur. (Parys) 14: 390 - 401.
BILLINGHAM, R.E. & MEDAWAR, P.B.	1951	Technique of free grafting in mammals. J. Exp. Biol. 28: 385 - 402.
BOAK, J.L., FOX, M. & WILSON, R.E.	1967a	Activity of lymphoid tissues from antilymphocyte serum treated mice. Lancet 1: 750 - 752.
BOAK, J.L., FOX, M. & WILSON, R.E.	1967b	Activity of lymphoid tissues from antilymphocyte serum treated mice. (In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in Transplantation. Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 143 - 146.)
BRAMBELL, F.W., HEMMINGS, W.A., OAKLEY, C.L. & PORTER, R.R.	1960	The relative transmission of the fractions of papain hydrolyzed homologous γ globulin from the uterine cavity to the foetal circulation in the rabbit. Proc. Roy. Soc. (Biol.) 151: 478 - 482.
BRENT, L. & MEDAWAR, P.B.	1961	Quantitative studies on tissue transplantation immunity. V. The role of antiserum in enhancement and desensitization. Proc. Roy. Soc. (Biol.) 155: 392 - 416.
BRENT, L. & MEDAWAR, P.B.	1966b	Quantitative studies on tissue transplantation immunity VIII. The effects of irradiation. Proc. Roy. Soc. (Biol.) 165: 413 - 423.
BRENT, L., COURTENAY, T. & GOWLAND, G.	1967a	Immunological reactivity of lymphoid cells after treatment with anti-lymphocytic serum. Nature (Londen) 215: 1461 - 1464.

BRENT, L., COURTENAY, T.H. & GOWLAND, G. 1967b Anti-lymphocytic serum : Its effect on the reactivity of lymphocytes. (In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in Transplantation. Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 117 - 122.)

BUNTING, C.H. 1903 The effects of lymphotoxins and myelotoxins on the leucocytes of the blood and on the bloodforming organs. Univ. of Penna. Med. Bulletin 16: 200 - 216.

CERILLI, J., GROTH, C., TAYLOR, P. & DALOZE, P. 1967 The effect of donor treatment with heterologous antilymphocyte globulin on kidney homograft survival. Transplantation 5: 1334 - 1335.

CHARD, T. 1968 Isoantigenic specificity of rabbit anti-mouse lymphocyte sera : Properties in vitro and in vivo of their $F(ab')_2$ fragments. Nature (Londen) 218: 378 - 379.

CHEW, W.B., STEPHENS, D.J. & LAWRENCE, J.S. 1936 Antileucocytic serum. J. Immun. 30: 301 - 318.

CHEW, W.B. & LAWRENCE, J.S. 1937 Antilymphocytic serum. J. Immun. 33: 271 - 278.

CHRISTIAN, H.A. & LEEN, T.F. 1905 Some further observations on leucocytotoxins. Boston med. surg. J. U.S.A. 152: 397 - 398.

CIBA-bespreking. 1967a The effective immunoglobulin in ALS. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 142 - 144.)

CIBA-bespreking 1967b Clinical use of ALS. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 139 - 141.)

CLARK, J.G., JAMES, K. & WOODRUFF, M.F.A. 1967 Elimination of normal horse IgG labelled with Iodine -131 in rats receiving horse anti-rat lymphocytic IgG. Nature (Londen) 215: 869 - 870.

CRUICKSHANK, A.H.	1941	Anti-lymphocytic serum. Brit. J. Exp. Path. 22: 126 - 136.
CURREY, H.L.F. & ZIFF, M.	1966	Suppression of experimentally induced poly-. arthritis in the rat by heterologous anti-lymphocyte serum. Lancet 2: 889 - 891.
CURREY, H.L.F. & ZIFF, M.	1968	Suppression of adjuvant disease in the rat by heterologous antilymphocyte globulin. J. Exp. Med. 127: 185 - 203.
DENMAN, A.M., FRENKEL, E.P. & ZIFF, M.	1965	Effects of immune destruction of rat lymphocytes by rabbit anti-rat lymphocyte gamma globulin. Fed. Proc. 24: 305.
DENMAN, A.M., DENMAN, E.J. & HOLBOROW, E.J.	1966	Effect of anti-lymphocyte globulin on kidney disease in (N.Z.B.×N.Z.W.) F1 mice. Lancet 2: 841 - 843.
DENMAN, A.M., DENMAN, E.J. & HOLBOROW, E.J.	1967a	Suppression of Coombspositive haemolytic anaemia in NZB mice by antilymphocyte globulin. Lancet 1: 1084 - 1086.
DENMAN, A.M., MICHEAL, G.A. & FRENKEL, E.P.	1967b	Studies of the effect of induced immune lymphopenia I : Enhanced effects of rabbit anti-rat lymphocyte globulin in rats tolerant to rabbit immunoglobulin G. J. Immun. 99: 498 - 507.
DENMAN, A.M., DENMAN, E.J. & HOLBORROW, E.J.	1968a	Immunosuppressive effects of lymphoid cell proliferation in mice receiving antilymphocyte globulin. Nature (Londen) 217: 177 - 178.
DENMAN, A.M. & FRENKEL, E.P.	1968b	Mode of action of antilymphocyte globulin I: The distribution of rabbit anti-lymphocyte globulin injected into rats and mice. Immunology 14: 107 - 113.
DENMAN, A.M. & FRENKEL, E.P.	1968c	Mode of action of anti-lymphocyte globulin II: Changes in the lymphoid cell population in rats treated with anti-lymphocyte globulin. Immunology 14: 115 - 126.

DE SOUSA, M.A.B. & PARROT, D.M.V. 1966 The definition of a germinal center area as distinct from the thymusdependent area in the lymphoid tissue of the mouse. (In Cottier, H., Ordatchenko, N., Schindler, R. & Congdon, C.C., red. Germinal centers in immune responses. Berlyn, Heidelberg, New York, Springer Verlag, 1966, p. 361 - 370.)

DE VRIES, JOAN A. 1950 The effect of adrenocortico trophic hormone on circulating antibody levels. J. Immun. 65: 1 - 5.

DOUGHERTY, T.F. 1960 The lymphocyte and lymphocyte tissue. Paul B. Hoeber Inc. 1960.

DRESSER, D.W. 1962 Specific inhibition of antibody production. II. Paralysis induced in adult mice by small quantities of protein antigen. Immunology 5: 378 - 388.

DRESSER, D.W. 1965 Specific inhibition of antibody production. IV. Standardization of the antigen - elimination test; immunological paralysis of mice previously immunized. Immunology 9: 261 - 273.

FIELD, E.O. & GIBBS, J.E. 1968 Cross-reaction of anti-lymphocyte serum with haemopoietic stem cells. Nature (Londen) 217: 561.

FLEXNER, S. 1902 The pathology of lymphotoxic and myelotoxic intoxication. Univ. of Penna. Med. Bulletin 15: 287 - 295.

FRENKEL, E.P., LIEBERMAN, G. & BAUM, J. 1967 The effect of specific anti-small lymphocyte serum on immunologic responsiveness. Clin. Res. 15: 294.

FUJIMOTO., OKADA, M., KOUDO, Y. et al 1964 The nature of Masugi nephritis histo- and immunopathological studies. Acta. Path. Jap. 14: 275 - 310.

FUNCK, M. 1900 Das antileukocytäre serum. Zbl. Bakteriol, Parasitenk. u. Infektionskr. 27: 670 - 675.

GLEDHILL, A.W. 1967 Protective effect on anti-lymphocytic serum on murine lymphocytic choriomeningitis. Nature (Londen) 214: 178 - 179.

GOVALLO, V.I., GOLODNENKOVA, V.N. & PIDENKO, T.G. 1966 Die toepassing van hetereloë antilimfosiet antiserum in homotransplantasie. (In Petrovskogo, B.V., red. Die transplantasie van organe en weefsels. Moskou, Medicina, 1966, p. 398 - 399.)

GOWANS, J.L. 1965 The role of lymphocytes in the destruction of homografts. Brit. Med. Bull. 21: 106 - 110.

GOWANS, J.L. & Mc GREGOR, D.D. 1965 The immunological activities of lymphocytes. (In Kallos, P. & Waksman, B.H., red. Progress in Allergy. Basel, Karger, 1965, 9: 1 - 63.)

GOWLAND, G. 1967 Bespreking. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Anti-lymphocytif serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 144.)

GRÄSBECK, R., NORDMAN, C. & DE LA CHAPELLE, A. 1963 Mitogenic action of anti-leucocyte immune serum on peripheral leucocytes in vitro. Lancet 2: 385 - 386.

GRAY, J.G. MONACO, A.P. & RUSSEL, P.S. 1964 Heterologous mouse antilymphocyte serum to prolong skin homografts. Surg. Forum 15: 142 - 144.

GRAY, J.G. MONACO, A.P., WOOD, MARY L. & RUSSEL, P.S. 1966 Studies on heterologous anti-lymphocyte serum in mice I: In vitro and in vivo properties. J. Immun. 96: 217 - 228.

GREAVES, M.F., RIOTT, I.M., ZAMIR, R. & CARNAGHAN, R.B.A. 1967 Effects of anti-lymphocyte serum on responses of human peripheral - blood lymphocytes to specific and non-specific stimulants in vitro. Lancet 2: 1317 - 1319.

GUTTMAN, R.D., CARPENTER, C.B., LINQUIST, R.R. & MERRILL, J.P. 1967a An immunosuppressive site of action of heterologous antilymphocyte serum. Lancet 1: 248 - 249.

GUTTMAN, R.D., CARPENTER, C.B., LINDQUIST, R.R. & MERRILL, J.P. 1967b Studies of heterologous antithymocyte antibody and its pepsin digestion product. (In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in Transplantation. Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 141 - 142.)

GUTTMAN, R.D., CARPENTER, C.B., LINDQUIST, R.R. & MERRILL, J.P. 1967c Renal transplantation in the inbred rat III: A study of anti-thymocyte sera. J. Exp. Med. 126: 1099 - 1127.

HALLIDAY, R. 1955 Absorption on antibodies from immune sera by gut of young rat. Proc. Roy. Soc. (Biol.) 143: 408 - 413.

HALPERN, B.N., LIA COPOULOS, P., MARTIAL-LASFARGUES, C. & ARACTINGI, C.R. 1963 Allongement de la durée de survie des homogreffes cutanèes chez le lapin et le cobaye au cours de la paralysie immunitaire induite par l'administration de gamma globulines heterologues. CR Soc. Biol. 157: 740 - 743.

HEMMINGS, W.A. 1961 Protein transfer across the foetal membranes. Brit. Med. Bull, 17: 96 - 101.

HINTZ, B. & WEBBER, M.M. 1965 Antithymic antibody localization in the mouse. Nature (Londen) 208: 797 - 798.

HIRSCH, M.S. & MURPHY, F.A. 1967 Effects of anti-thymocyte serum on 17 - D yellow fever infection in adult mice. Nature (Londen) 216: 179 - 180.

HOEHN, R.J. & SIMMONS, R.L. 1967 Immunosuppressive drugs combined with heterologous antilymphocyte serum for allograft prolongation. Transplantation 5: 1409 - 1415.

HOLT, L.J., LING, N.R. & STANWORTH, D.R. 1966 The effect of heterologous antisera and rheumatoid factor on the synthesis of DNA and protein by human peripheral lymphocytes. Immunochemistry 3: 359 - 372.

HUMPHREY, J.H. 1955 The mechanism of Arthus reactions II: The role of polymorphonuclear leucocytes and platelets in reversed passive reactions in the guineapig.

Brit. J. Exp. Path. 36: 283 - 289.

HUMPHREY, J. 1967a Chairman's opening remarks. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Anti-lymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 1 - 3.)

HUMPHREY, J.H. 1967b. Bespreking. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 148.)

HUMPHREY, J.H. 1967c Bespreking. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 142.)

INDERBITZIN, T. 1956 The relationship of lymphocytes, delayed cutaneous allergic reactions and histamine. Int. Arch. Allerg. 8: 150 - 159.

IWASAKI, Y., PORTER, K.A., AMEND, J.R., MARCHIORO, T.L., ZÜHLKE, V. & STARZL, T.E. 1967 The preparation and testing of horse antidog and antihuman antilymphoid plasma or serum and its protein factors. Surg. Gynec. Obstet. 24: 1 - 24.

JAMES, K. 1967a Anti-lymphocytic antibody - a review. Clin. Exp. Immun. 2: 615 - 631.

JAMES, K. 1967b Some factors influencing the ability of anti-lymphocytic antibody to suppress humoral antibody formation. Clin. Exp. Immun. 2: 685 - 690.

JAMES, K. 1967c Bespreking. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 143.)

JAMES, K. & ANDERSON, N.F. 1967a Effect of anti-rat lymphocyte antibody on humoral antibody formation. Nature (Londen) 213: 1195 - 1197.

JAMES, K. & MEDAWAR, P.B. 1967b Characterization of antilymphocytic antibody. Nature (Londen) 214: 1052 - 1053.

JAMES, K. & JUBB, V.S. 1967c Effect of anti-rat lymphocyte antibody on humoral antibody formation. Nature (Londen) 215: 367 - 371.

JAMES, K. 1968 In vivo and in vitro effect of anti-lymphocytic IgG on sensitizing spleen cells. Nature (Londen) 217: 261 - 262.

JANSEN, C.R. & LOUBSER, J.S. 1967 The influence of extracorporeal irradiation of blood (ECIB) and lymph (ECIL) in homologous and heterologous transplantation. (In Brink, A.J., red. Organ transplantation in South Africa. Symposium on organ transplantation. Bellville, Universiteit van Stellenbosch Mediese skool, 1967, p. 53 - 55.)

JEEJEEBHOY, H.F. 1965a Effects of rabbit anti-rat lymphocyte plasma on immune response of rats thymectomised in adult life. Lancet 2: 106 - 107.

JEEJEEBHOY, H.F. 1965b Immunological studies on the rat thymectomized in adult life. Immunology 9: 417 - 425.

JENKIN, C.R. 1963 Heterophile antigens and their significance in the host parasite relationship. (In Dixon, Jr., F.J. & Humphrey, J.H., red. Adv. Immun. New York & Londen, Academic Press, 1963, 3: 351 - 376.)

JOOSTE, SOMARIE, V. 1967 The use of heterologous antilymphocytic serum in homotransplantation. (In Brink, A.J., red. Organ transplantation in South Africa. Symposium on organ transplantation. Bellville, Universiteit van Stellenbosch Mediese skool, 1967, p. 11 - 18.)

JOOSTE, SOMARIE V. LANCE, E.M., LEVEY, R.H., MEDAWAR, P.B., RUSZKIEWICZ, M., SHARMAN, RUTH & TAUB, R.N. 1968 Notes on the preparation and assay of antilymphocytic serum for use in mice. Immunology 00: 000 - 000.

KALISS, N. 1958 Immunological enhancement of tumour homografts in mice. Cancer Res. 18: 902 - 1003.

KINNE, D.W. & SIMMONS, R.L. 1967 Passive serologic transfer of allograft immunity in immunologically suppressed mice I: Immunosuppression by heterologous antilymphocyte serum. J. Immun. 98: 251 - 255.

KIRBY, D.R.S. 1967 Inhibition of egg implantation and induction of abortion in mice by heterologous immune serum. Nature (Londen) 216: 1220 - 1221.

LANCE, E.M. 1967 The effects of chronic ALS administration in mice. (In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in Transplantation. Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 107 - 116.)

LANCE, E.M. & DRESSER, D.W. 1967 Antigenicity in mice of antilymphocyte gamma globulin. Nature (Londen) 215: 488 - 490.

LANCE, EUGENE 1968 Erasure of immunological memory with antilymphocyte serum. Nature (Londen) 217: 557 - 558.

LEDNEY, G.D. & VAN BEKKUM, D.W. 1967 Suppression of acute secondary disease in the mouse with antilymphocyte serum. (In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in Transplantation. Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 441 - 447.)

LEVEY, R.H. & MEDAWAR, P.B. 1966a Some experiments on the action of antilymphoid antisera. Ann. N.Y. Acad. Sci. 129: 164 - 177.

LEVEY, R.H. & MEDAWAR, P.B. 1966b Nature and mode of action of antilymphocytic antiserum. Proc. Nat. Acad. Sci. 56: 1130 - 1137.

LEVEY, R.H. 1967 Recent studies of the properties and action of heterologous antilymphocytic antiserum. (In Curtoni, E.S., Mattiuz, P.K. & Tosi, R.M.,

red. Histocompatibility Testing 1967. Kopenhagen, Munksgaard, 1967. p. 47 - 54.)

LEVEY, R.H. & MEDAWAR, P.B. 1967a Further experiments on the action of antilymphocytic antiserum. Proc. Nat. Acad. Sci. 58: 470 - 477.

LEVEY, R.H. & MEDAWAR, P.B. 1967b The mode of action of antilymphocytic serum. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., p. 72 - 80.)

LING, N.R., KNIGHT, S., HARDY, D., STANWORTH, D.R. & HOLT, P.J.L. 1967 Antibody-induced lymphocyte transformation in vitro. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 41 - 50.)

LUCKE, J.N., IMMELMAN, E.J., SYMES, M.O., & HUNT, A.C. 1968 Use of horse anti-pig leucocyte serum to suppress the homograft reaction in pigs. Nature (Londen) 217: 560.

MARTIN, W.J. & MILLER, J.F.A.P. 1967 Site of action of antilymphocyte globulin. Lancet 2: 1285 - 1287.

MATSUMO, M. 1932 Uber den einfluss des Antikaninchen-leukozytenserums auf die phagozytose. Tohoku J. Exp. Med. 19: 168 - 195.

MC FARLANE, A.S. 1958 Efficient trace-labelling of proteins with iodine. Nature (Londen) 182: 53.

MEDAWAR, P.B. 1965 Transplantation of tissues and organs: Introduction. Brit. Med. Bull, 21: 97 - 99.

MEDAWAR, P.B. 1967 Biological effects of heterologous antilymphocytic antisera. (In Rapaport, F.T. & Dausset, J., red. Human transplantation New York, 1967, p. 000 - 000.)

METCHNIKOFF, E. 1899 Etudes sur la resorption des cellules. Ann. Inst. Pasteur (Parys) 13: 737 - 769.

MICKLEM, H.S. & BROWN, J.A.H. 1961 Rejection of skin grafts and production of specific iso-haemagglutinins by normal and X-irradiated mice. Immunology 4: 318 - 328.

MICKLEM, H.S. & LOUTIT, J.F. 1966 Some effects of ionizing radiation on immune responses and on the reticuloendothelial system. (In hulle Tissue grafting and radiation. New York, Londen, Academic Press, 1966 p. 42 - 49.)

MILLER, J.F.A.P. 1963 Immunity and the thymus. Lancet 1: 43 - 45.

MITCHELL, R.M., ROSS SHEIL, A.G., SLAFSKY, S.F. & MURRAY, J.E. 1966 The effect of heterologous immune serum on canine renal homografts. Transplantation 4: 323 - 329.

MÖLLER, G. 1967 Bespreking. (In Curtoni, E.S. Mattiuz P.L. & Tosi, R.M., red. Histocompatibility testing 1967. Kopenhagen, Munksgaard, 1967, p 53.)

MONACO, A.P., WOOD, MARY L. & RUSSEL, P.S. 1965 Effect of adult thymectomy on the recovery from immunological depression induced by antilymphocyte serum. Surg. Forum 16: 209 - 211.

MONACO, A.P., WOOD, MARY L. & RUSSEL, P.S. 1965b Adult thymectomy; deffect on recovery from immunologic depression in mice. Science 149: 432 - 435.

MONACO, A.P., ABBOTT, W.M., OTHERSEN, H.B., SIMMONS, R.L., WOOD, MARY L., FLAX, M.H. & RUSSEL, P.S. 1966a Antiserum to lymphocytes : prolonged survival of canine renal allografts. Science 153: 1264 - 1267.

MONACO, A.P., WOOD, MARY L., GRAY, J.G. & RUSSEL, P.S. 1966b Studies on heterologous antilymphocyte serum in mice II: Effect on the immune response. J. Immun. 96: 229 - 238.

MONACO, A.P., WOOD, MARY L. & RUSSEL, P.S. 1966c Studies on heterologous antilymphocyte serum in mice III: Immunologic tolerance and chimerism produced across the H-2 locus with adult thymectomy and anti-lymphocyte serum. Ann. N.Y. Acad. Sci. 129: 190 - 209.

MONACO, A.P. 1967 Bespreking.
(In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967. p. 37.)

MONACO, A.P., WOOD, MARY L., V.D. WERF, B.A. & RUSSEL, P.S. 1967a Effects of antilymphocyte serum in mice, dogs and man.
(In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 111 - 134.)

MONACO, A.P., RUSSEL, P. & GOWLAND, G. 1967b Bespreking.
(In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 135 - 136.)

MOORHEAD, T.G. 1905 The thymus gland.
Practitioner p. 733 - 741.

NAGAYA, H. & SIEKER, H.O. 1965 Allograft survival: effect of antiserums to thymus glands and lymphocytes.
Science 150: 1181 - 1182.

NAGAYA, H. & SIEKER, H.O. 1966 Lymphopenic effect of antilymphocyte serum.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121: 722 - 725.

NAYSMITH, J.D., & JAMES, K. 1968 Effect of $F(ab')_2$ from rabbit anti-mouse lymphocyte IgG on the graft versus host reaction in F1 hybrid mice.
Nature (Londen) 217: 260 - 261.

PAPPENHEIMER, A.M. 1917a Experimental studies upon lymphocytes. I: The reactions of lymphocytes under various experimental conditions.
J. Exp. Med. 25: 633 - 650.

PAPPENHEIMER, A.M. 1917b Experimental studies upon lymphocytes II. Action of immune sera upon lymphocytes and small thymus cells.
J. Exp. Med. 26: 163 - 179.

PICHLMAYR, R. 1966 Wirkung eines heterologen antilymphocytenserums auf die transplantatabstossung beim

hund.
Klin. Wschr. 44: 594 - 595.

PICHLMAYR, R., BRENDEL, W., MIKAELOFF, PH., DESCOTES, J. RASSAT, J.P., BOMEL, J. PICHLMAYR, I., FATÈH - MOGHADAM, A., THIERFELDER, St., MESSMER, K. & KNEDEL, M. 1967
Survival of renal and liver homotransplants in dogs treated with heterologous anti-lymphocyte serum.
(In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in Transplantation. Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 147 - 154.)

POTWOROWSKI, E.F. & NAIRN, R.C. 1967
Specific antigenicity of thymocytes.
Nature (Londen) 213: 1135.

PROOM, H. 1943
The preparation of precipitating sera for the identification of animal species.
J. Pathol. Bacteriol. 55: 419 - 426.

REIF, A.E. 1963
Immune cytolysis of mouse thymic lymphocytes.
J. Immun. 91: 557 - 567.

RIETHMÜLLER, G. 1967
Antilymphocyte serum.
Lancet 2: 1210.

RITCHIE, W.T. 1908
The specificity and potency of adrenolytic and thymolytic sera.
J. Path. Bact. 12: 140 - 153.

RUSSE, H.P., BIELSKI, R.K. & THOMPSON, J.S. 1965a
Prolongation of skin homograft survival with anti-thymus serum.
Clin. Res. 13: 290.

RUSSE, H.P. & CROWLE, A.J. 1965b
A comparison of thymectomized and anti-thymocyte serum treated mice in their development of hypersensitivity to protein antigens.
J. Immun. 94: 74 - 83.

RUSSEL, P.S. 1967
Bespreking.
(In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 35.)

SACKS, J.H., FILIPPONE, D.R. & HUME, D.M. 1964
Studies of immune destruction of lymphoid tissue. I Lymphocytotoxic effect of rabbit anti-rat lymphocyte antiserum.
Transplantation 2: 60 - 74.

SIMONSEN, M. 1962 Graft-versus-host reactions. Their natural history and applicability as tools of research. Progr. Allergy 6: 349 - 467.

STARZL, T.E., MARCHIORO, T.L., FARIS, T.D., MC CARDLE, R.J. & IWASAKI, Y. 1966 Avenues of future research in homotransplantation of the liver, with particular reference to hepatic supportive procedures, antilymphocyte serum and tissue typing. Amer. J. Surg. 112: 391 - 400.

STARZL, T.E. 1967 Bespreking. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 39.)

STARZL, T.E., MARCHIORO, T.L., PORTER, K.A., IWASAKI, Y. & CERILLI, G.J. 1967a The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human renal homotransplantation. Surg. Gynec. Obstet. 124: 301 - 318.

STARZL, T.E., PORTER, K.A., IWASAKI, Y., MARCHIORO, T.L. & KASHIWAGI, N. 1967b The use of heterologous antilymphocyte globulin in human renal homotransplantation. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 4 - 34.)

STEINBERG, B. & MARTIN, R.A. 1944 Agglutination of circulating leukocytes by antileukocytic sera. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 56: 50 - 52.

STEINBERG, B. & MARTIN, R.A. 1945 Factors influencing leuko-agglutination by antileukocytic sera. J. Immun. 51: 421 - 426.

STEINBERG, B. & MARTIN, R.A. 1946 Leukoagglutination differentiation of normal, leukocytic and leukemic cell types. J. Immun. 52: 71 - 75.

STUART, A.E. 1962 Properties of anti-leucocytic serum. Brit. J. Exp. Path. 43: 614 - 620.

THOMPSON, J.S. 1955 An in vitro study of antileukemic serum. Blood 10: 1228 - 1235.

TURK, J.L. & WILLOUGHBY, D.A. 1967 Central and peripheral effect of antilymphocyte sera. Lancet 1: 249 - 251.

V. BEKKUM, D.W., LEDNEY, G.D., BALNER, H., V. PUTTEN, L.M. & DE VRIES, M.J. 1967 Suppression of secondary disease following foreign bone marrow grafting with antilymphocyte serum. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29 Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 97 - 107.)

V.D. WERF, B.A., MONACO, A.P., WOOD, MARY L. & RUSSEL, P.S. 1967 The effect of anti-lymphocyte serum on immune competence of mouse lymphoid cells. (In Dausset, J., Hamburger, J. & Mathé, G., red. Advance in transplantation. Kopenhagen, Munksgaard, 1968, p. 133 - 140.)

WAKSMAN, B.H., ARBOUYS, S. & ARNASON, B.G. 1961 The use of specific "lymphocyte" antisera to inhibit hypersensitive reactions of the "delayed" type. J. Exp. Med. 114: 997 - 1022.

WILHELM, R.E., FISHER, J.P. & COOKE, R.A. 1958 Experimental depletion of mononuclear cells for the purpose of investigating reactions of the allergic contact type. J. Allerg. 29: 493 - 501.

WITEBSKY, E. & KONIYA, K. 1930 Ueber Leukozyten-Antikörper. Z. Immunitaetsforsch. 67: 480 - 496.

WOODRUFF, M. & FORMAN, B. 1951a Effect of antilymphocytic serum on suspensions of lymphocytes in vitro. Nature (Londen) 168: 35 - 36.

WOODRUFF, M.F.A., FORMAN, B. & FRASER, K.B. 1951b The effect of antilymphocytic serum on circulating antibody levels. J. Immun. 67: 57 - 62.

WOODRUFF, M.F.A. 1960 Administration of cytotoxic sera. (In sy The transplantation of tissues and organs. Illinois, Springfield, C.C. Thomas, 1960, p. 100 - 101.

WOODRUFF, M.F.A. & ANDERSON, N.A. 1963 Effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilym-

phocytic serum on the survival of skin homografts in rats.
Nature (Londen) 200: 702.

WOODRUFF, M.F.A. & ANDERSON, N.F. 1964 Effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocytic serum on the survival of skin homografts in rats.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 120: 119 - 128.

WOODRUFF, M.F.A., ANDERSON, N.F. & ABAZA, H.M. 1966 Experiments with antilymphocytic serum. (In Yoffey, J.M., red. The lymphocyte in immunology and haemopoiesis. Londen, Edward Arnold (Publishers) Ltd., 1967, p. 286 - 291.)

WOODRUFF, M.F.A. 1967a Immunological properties of ALS.
(In Porter, K.A., red. Tissue and organ transplantation. Londen, B.M.A. House, 1967, p. 466 - 469.)

WOODRUFF, M.F.A. 1967b Bespreking.
(In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 146.)

WOODRUFF, M.F.A. 1967c Bespreking.
(In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 35.)

WOODRUFF, M.F.A. 1967d Bespreking.
(In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 6.)

WOODRUFF, M.F.A., JAMES, K., ANDERSON, N.F. & REID, B.L. 1967a In vivo and in vitro properties of antilymphocytic serum.
(In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic Serum. Ciba foundation study group nr. 29, Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 58 - 68.)

WOODRUFF, M.F.A., REID, B. & JAMES, K. 1967b Effect of antilymphocytic antibody and antibody fragments on human lymphocytes in vitro. Nature (Londen) 215: 591 - 594.

WOODRUFF, M.F.A., REID, B.L. & JAMES, K. 1967c Quantitative studies with antilymphocytic antibody. Nature (Londen) 216: 758 - 762.

WOODRUFF, M.F.A., MEDAWAR, P.B. & MONACO, A.P. 1967 Bespreking. (In Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M., red. Antilymphocytic serum. Ciba foundation study group nr. 29. Londen, J. & A. Churchill Ltd., 1967, p. 141.)

WOODRUFF, M.F.A. 1968 Purification of antilymphocytic antibody. Nature (Londen) 217: 821 - 825.

AFKORTINGS WAT IN DIE VERHANDELING GEBRUIK WORD.

AFKORTING:	TERM:
ALG	Globulienfraksie van hetereloë antilimfosietantiserum.
ALS-IgG	Immunoglobulien-G-fraksie van hetereloë antilimfosietantiserum.
ALP	Hetereloë antilimfosietplasma.
ALS	Hetereloë antilimfosietantiserum.
BSA	Beesserumalbumien.
BSA	Aluingepresipiteerde beesserumalbumien.
DMSO	Dimetielsulfoksied.
DNA	Desoksiribonuleïensuur.
DNCB	Dinitrochlorobenseen.
GOT	Gemiddelde oorlewingstydperk.
IgG	Immunoglobulien-G (7S-γ-globulien).
IgM	Immunoglobulien-M (19S-γ-globulien).
id.	Intradermaal.
ik.	Intrakardiaal.
im.	Intramuskulêr.
ip.	Intraperitoneaal.
iv.	Intraveneus.
2ME	2-Merkaptoetanol.
NLO	Normale limfosietoordragtoets.
NKS	Nomale konynserum, dit wil sê, serum van ongeïmmuniseerde konyne.
NKS-IgG	Immunoglobulien-G-fraksie van normale konynserum.
RAP	Aluingepresipiteerde IgG gemeng met Bordetella pertussis-organismes.
RNA	Ribonukleïensuur.
PCA	Passiewe kutaniese anafilakse.
sk.	Subkutaan, onderhuids.
SRBS	Skaaprooibloedselle.
tpm	Tellings per minuut.
TTO-toets	Transplantaat-teen-ontvanger-toets.