

## LA INMUNOLOGIA DEL FUTURO

OSIAS STUTMAN

*Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, USA*

**Resumen** La inmunología es ciencia joven, más joven que MEDICINA, si consideramos que las bases sólidas de la inmunología actual se inician en los años 70-80 con la definición de los receptores de las células B y T. A pesar de esa juventud muchos de los modelos biológicos básicos tales como transducción de señales, recombinación de genes, apoptosis o regulación del ciclo celular han sido iniciados o desarrollados desde modelos que usan células del sistema inmune. Aunque no es fácil hacer proyecciones de futuro, en este ensayo incluimos ocho áreas en las que es de esperar progresos importantes en el futuro. Estas áreas incluyen las bases biológicas de la homeostasia, los mecanismos exactos de la presentación de antígeno por células presentadoras profesionales (lo que implica una redefinición de la noción de antígeno basada en fragmentos peptídicos de proteínas complejas), las interacciones multifactoriales, la sociología celular basada en moléculas de adhesión y moléculas de la matriz extracelular, el desarrollo de antagonistas útiles de moléculas activas, la definición de las propiedades de los sistemas inmunológicos regionales (piel, intestino), la inmunidad contra parásitos y finalmente los mecanismos estructurales de las enfermedades autoinmunes. De los adelantos en estas áreas y en otras imposibles de predecir, creemos que se originarán terapias inmunológicas para prevención (vacunas) y tratamiento (antagonistas, etc) de enfermedades infecciosas, parasitarias y otras formas de enfermedades inflamatorias, incluyendo las autoinmunes clásicas.

**Abstract:** *Immunology of the future.* Immunology is a young science, much younger than MEDICINA, since its modern biological foundations were established only in the 70s-80s with the definition of the T and B cell receptors. In spite of its relative youth, many key basic biological knowledge such as signal transduction, gene recombination, apoptosis and cell cycle regulation have been initiated or expanded using cells from the immune system. Although it is not easy to predict the future, we include in this essay eight areas in which we can expect important developments. These include the definition of the biological basis of homeostasis, the exact mechanisms of antigen processing and presentation by professional antigen presenting cells (which implies also the redefinition of our notions of antigen, now based on the recognition of small peptides from larger molecules), the analysis of multifactorial interactions, the sociology of cell interactions based on adhesion molecules and components of the extracellular matrix, the development of useful antagonists of active inflammatory molecules, the definition of the properties of regional immune systems (such as skin and gut), the definition of the immunities against parasites and finally the definition of the structural basis for autoimmunity. The advances in these areas (and in others which are now impossible to predict) will produce, we think, immunological therapies for prevention (vaccines) and treatment (antagonists, etc.) of infectious, parasitic and other forms of inflammatory diseases, including autoimmunity.

**Key words:** immunology, autoimmunity, history

### Inmunología del pasado y del presente

H.L. Mencken en su diccionario de citas útiles, publicado en 1942, casi al mismo tiempo que el trabajo de Astrid Fagreus demostrando que los anticuerpos que se detectan en suero son producidos por las células plasmáticas (las "células B" actuales), menciona una frase de Thomas Jefferson de 1816 donde dice *I like the dreams of the future better than the history of the past*. Esa es también mi preferencia y es por eso que acepté con satisfacción hacer una revisión especulativa sobre la inmunología del próximo siglo sin citas bibliográficas

puntuales y ofreciendo lo que espero sean algunas predicciones útiles. Por pudor literario no cito las ideas de Borges sobre el futuro, pues de hacerlo no haría predicción alguna, pues el futuro como tal es de dudosa existencia independiente.

A pesar de Jefferson, ciertos datos de la historia del pasado (de la inmunología) nos serán útiles para preguntarnos qué es lo que ocurrirá en el futuro. Si dejamos de lado ciertas premoniciones inmunológicas casuales tales como el comentario de Tucídides durante una epidemia de peste diciendo que los que habían sobrevivido la enfermedad tenían que ser los enfermeros pues están protegidos o las vacunaciones de Jenner, la inmunología como ciencia biológica se inicia a mediados del siglo XX. La serología de los grupos sanguíneos de Landsteiner en los años 20 es extraordinaria

bioquímica de proteínas con un ligero tinte inmunológico pero sólo es marginal a los conceptos que luego definieron la inmunología actual, a pesar de ser el análisis de antígenos complejos, de marcadores genéticos y de tener un importante impacto clínico. Los estudios, también en los años 20, sobre la inflamación local definen a los macrófagos y leucocitos como participantes característicos y hasta George Bernard Shaw sabe que los macrófagos de Metchnikoff son células importantes (ver *The Doctor's Dilemma*). Pero es recién cuando se caracterizan las células inmunológicas no macrófagicas (las células B y las células T), que se define la estructura de las inmunoglobulinas (es decir los anticuerpos) y se dividen funcionalmente los órganos linfo-hemopoiéticos en periféricos (bazo, ganglios linfáticos, etc.) y centrales (medula ósea y timo) que comienza a desarrollarse la idea de un "sistema inmunológico" (SI) interactivo y puede decirse que nace la inmunología moderna. Este cambio es reciente y comienza a ocurrir en los años 60. Baste como ejemplo recordar que la estructura del receptor para antígeno de la célula T se define recién en 1983.

La única función de este párrafo es establecer que la inmunología es una disciplina biológica joven y por lo tanto poder justificar los abundantes errores conceptuales cometidos en su nombre. La contrapartida de esta noción es la de valorar algunos de los extraordinarios logros conceptuales de esta joven inmunología. Por ejemplo, definir la estrategia recombinatoria molecular que utiliza regiones variables (V), regiones constantes (C) y regiones de juntura (J) para generar la diversidad del repertorio de los receptores de las células B (las inmunoglobulinas, Ig) y de las células T, que es modelo evolutivo prestado del maíz. Otro buen ejemplo es el de algunos antígenos de superficie como CD45 que tienen isotipos distintos que se expresan en células T o B y son generados por *alternate splicing* del mismo gen. La rápida incorporación de técnicas estructurales y bioquímicas (no digo moleculares pues la llamada "biología molecular" es sólo la bioquímica y enzimología de los ácidos nucleicos, como observa Francis Crick) al análisis de las preguntas funcionales biológicas que nos planteaban las células del sistema inmunológico (SI) y sus productos solubles o asociados a membrana, produjeron importante información. Y tal como debe ser en ciencias interactivas, produjo respuestas a preguntas fundamentales sobre activación y expresión de genes, diferenciación celular y desarrollo embriológico que se pueden aplicar a otros campos de la biología celular. Como un buen ejemplo de esta progresión utilizaré un estudio de mi propio laboratorio. En los años 70 se describen las células con actividad citotóxica espontánea (*natural killer* y *natural cytotoxic cells*, células NK y NC) en roedores y humanos, capaces de matar células tumorales o infectadas por virus, sin inmunización previa. Una pregunta básica sobre estas células efectoras era definir qué tipo

de estructura utilizaban como receptor. En 1980 propusimos que las células NK y NC utilizaban receptores de tipo lectina (capaces de reconocer azúcares incluidos en glicoproteínas de membrana) y demostramos que efectivamente, la citotoxicidad *in vitro* se podía inhibir con concentraciones fisiológicas de ciertos azúcares, preferentemente los relacionados con D-manosa (Stutman et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 2895-8). Esta predicción resultó correcta más de 15 años después, cuando uno de los dos tipos de receptores clonados que se expresan en células NK humanas y de roedor resultaron ser lectinas (*C-type lectins* que se asocian a Ca) con especificidad para D-manosa y otros manósidos.

Dos comentarios aparte sobre los receptores NK. El primero es puramente anecdótico y es que para publicar en PNAS el trabajo debe ser presentado por un miembro de la Academia y el presentador de nuestro trabajo fue Lewis Thomas que había investigado la sociología celular basada en interacciones de tipo lectina entre células y micoplasmas, pero con quien habíamos tenido agrias disputas sobre la generalización de sus teorías sobre vigilancia inmunológica antitumoral. El segundo comentario es sobre el otro tipo de receptor en las células NK que es muy particular pues es capaz de producir una señal inactivadora de la actividad citotóxica y tiene especificidad para ciertos antígenos de transplante en humanos y roedores. Es muy probable que este tipo de receptor inhibitorio vuelva a despertar el interés sobre el intenso pero fugaz fenómeno de los años 60-70 conocido como las "células supresoras" que luego cayeron en cierto descrédito al no encontrar un apoyo estructural para los fenómenos inhibitorios observados *in vitro*.

La idea que el SI es un sistema de defensa contra invasores externos es parte de la tradición conceptual de la inmunología y es la que ha generado toda la terminología militar o guerrera que forman su *slang* particular. Se habla de invasores y de ataques y de destrucciones y de células "asesinas" y de sistemas de vigilancia. Se compara la producción de peróxido por los macrófagos con unos "lanzallamas", etc. Lo que se olvida en esta argumentación es la útil simbiosis en que viven nuestras bacterias intestinales que nos ayudan en la síntesis de vitamina K y probablemente otras cosas (puede argumentarse que el tracto intestinal es "el exterior" y por lo tanto no es una verdadera invasión, pero eso no concuerda con el tipo de interacciones bacteria-célula en el intestino). Aquí debemos recordar otra vez a Lewis Thomas como un verdadero campeón de la simbiosis útil y de la posibilidad que durante la evolución nuestras células incorporaran bacterias que luego se transforman en las mitocondrias actuales con su código genético individual. Igualmente los tejidos linfáticos y linfocitos intestinales son un sistema especial que existe en un estado de activación perpetua, rara vez vista en ganglios linfáticos periféricos. Sobre estos linfocitos aso-

ciados al tracto intestinal hablaremos más abajo. El concepto de invasión externa produce otra noción importante aunque falsa que sirvió como esquema ideológico para importantes avances experimentales y es la idea que el SI discrimina y reconoce lo propio (el yo) de lo ajeno (el no-yo) del invasor patógeno, promulgadas a principios de siglo por Ehrlich y en los años 50 por Burnet.

Un corolario de esta dualidad yo/no-yo es la noción que el SI debe hacer primero un inventario de lo propio, purgar las células capaces de reaccionar contra el yo y promover la diversidad de las células encargadas de reconocer lo ajeno. Otro corolario de esta teoría es que los ejemplos de enfermedades autoinmunes, donde el SI reacciona contra lo propio, son aberraciones donde el SI pierde su autocontrol. Estudios posteriores, a principios de los 80 (iniciados por los trabajos de Zinkernagel y Doherty) demostraron que el SI es totalmente incapaz de reconocer lo verdaderamente ajeno y que sólo reconoce lo ajeno presentado en el contexto del yo, donde los propios antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) actúan como elementos de restricción. En otras palabras, el SI sólo reconoce lo ajeno en el contexto de lo propio. Pero, como era de esperar, la idea que el SI purga células T autorreactivas, también ha sido demostrada experimentalmente en ratones, donde para las células T hay un proceso intratímico, que hace una selección negativa de las células con afinidad alta por los antígenos MHC propios, especialmente cuando están asociados a superantígenos endógenos. Esta selección negativa se acompaña también de una selección positiva que favorece la expansión de minorías con afinidad intermedia o baja por los MHC propios y de esta manera se genera el repertorio individual básico que expresará la progenie T en la periferia. Pero la periferia no es inerte y también colabora en refinar el repertorio y hay ejemplos de selección negativa periférica para ciertos antígenos.

Se me ha deslizado la palabra "superantígeno" que requiere alguna explicación. La frecuencia de precursores de células T capaces de reaccionar con un antígeno externo como por ejemplo el MHC de otra cepa de ratón o de otra persona es de aproximadamente 1/3000. En cambio la frecuencia de precursores de células T capaces de reaccionar contra un superantígeno es aproximadamente 1/20. Esto es debido a que los "superantígenos" virales o bacterianos se pueden asociar directamente a las moléculas de Clase II del MHC en las células presentadoras de antígeno (APC; *Antigen Presenting Cells*). Uno de los modelos de superantígeno mejor estudiados es el llamado "endógeno" del ratón que es debido a la transmisión genética en algunas cepas de *open reading frames* asociados al virus inductor de tumores mamarios que se expresa en la glándula mamaria y también en las células B del animal. La asociación directa entre superantígeno y Clase II sin intervención de las

APC genera una señal fuerte pero poco específica que estimula un número alto de células T, aproximadamente de la misma magnitud que la respuesta no específica a un mitógeno. Pero, a pesar de estos ejemplos, la presentación de antígeno nos iba a deparar una nueva sorpresa.

Los recientes estudios cristalográficos de los antígenos de Clase I y Clase II del MHC produjeron resultados esperados y dos sorpresas. Los resultados esperados fueron que ambas moléculas tienen un surco (*groove*) externo que parece diseñado como un lugar donde un péptido puede incrustarse y así ser presentado por la APC a la célula T o B. La primera sorpresa fue que el surco sólo puede contener péptidos pequeños (9 aminoácidos para Clase I y hasta 15 para Clase II). La segunda sorpresa fue que en todos los estudios cristalográficos el surco aparecía ya ocupado. Cuando se comenzaron a aislar estos péptidos asociados a MHC comenzó a definirse una serie de familias de fragmentos antigénicos, muchos de ellos relacionados a antígenos propios. Igualmente, se inició una activa búsqueda de los péptidos antigénicos en una variedad de antígenos exógenos usados durante muchos años en estudios inmunológicos. Como era de esperar, se encontró que en muchos casos, toda la antigenicidad de una molécula compleja residía en uno o dos péptidos pequeños y todos de las dimensiones que pueden ser manejadas por el surco tanto en Clase I como en Clase II. Cabe recordar que mientras los antígenos de Clase I se expresan constitutivamente en casi todas las células del organismo, los de Clase II se expresan en un número restringido de tipos celulares (macrófagos, células B, células de Langerhans de la piel, etc.) pero su expresión puede inducirse por infecciones y mediadores solubles de la inflamación (citocinas) en otros tipos celulares. De estos problemas salen preguntas nuevas y se desarrolla un campo específico de las llamadas APC "profesionales". Es decir, que tanto los macrófagos como las células B que expresan Clase I y Clase II podrían ser APC, y en algunos casos así funcionan. Pero cuando se hicieron comparaciones de eficacia de presentación se vio que las células más eficientes eran una minoría en la serie macrófágica pero con una morfología especial que les valió el nombre de "células dendríticas" en los tejidos linfáticos, muy similares a las células de Langerhans de la piel. Las APC profesionales (incluyendo las menos profesionales como los macrófagos y células B) además de presentar antígeno también producen citocinas como resultado de la interacción con las células efectoras T o B que son necesarias para expandir la población que responde. Pero, tal como lo viene sugiriendo esta presentación del tema, se necesitan dos funciones más para presentar antígenos exógenos. Primero, la APC debe ser capaz de incorporar el antígeno por fagocitosis o endocitosis y segundo debe ser capaz de degradar y

cortar el antígeno con endopeptidasas en fragmentos adecuados para asociarlos a nivel intracitoplasmático con su MHC apropiado y luego expresar el complejo péptido/MHC en su superficie. Este segundo aspecto que ha sido llamado *antigen processing* (procesamiento) aún contiene grandes lagunas conceptuales y sabemos que debe existir, pero en la mayoría de los casos no sabemos exactamente cómo existe. Es decir que una bacteria o un virus o cualquier otro antígeno complejo no son reconocidos como tal mientras están intactos, sino que sólo son reconocidos cuando los pequeños fragmentos antigénicos preparados por la APC son incorporados al surco de la molécula de MHC en la superficie de la célula y presentados a las células efectoras.

Aunque en la breve sección sobre el futuro mencionaré algunas de las áreas que delinearán la inmunología del próximo siglo, aquí presentaré algunas de las preguntas del presente. ¿El procesamiento del antígeno es aleatorio o direccional? Si es direccional, ¿cómo sabe la APC donde cortar? Por ahora, no hay respuesta a esta pregunta. Si es aleatorio la frecuencia de péptidos antigénicamente correctos debe ser baja, lo que puede corresponder con la realidad de una baja frecuencia de células capaces de reaccionar con un antígeno dado y que luego se expanden clonalmente creando la masa crítica que forma la respuesta inmunológica detectable. Por otra parte, hay un ejemplo que demuestra que la falta de respuesta a algunos antígenos propios se debe a que las APC no producen el fragmento adecuado. Un experimento importante del laboratorio de Charlie Janeway en Yale demostró ya hace años esta posibilidad, aún antes que la subdisciplina inmunológica de las APC se hubiera desarrollado. Janeway demostró que si se inmunizaba un ratón con el determinante antigénico sintético de su propia lisozima el animal producía una fuerte respuesta, que sin embargo, nunca ocurría espontáneamente (el determinante antigénico de la lisozima tiene 6-7 aminoácidos y tiene un 90% de identidad en casi todas las especies estudiadas). La interpretación de este experimento con nuestros conocimientos actuales es que las APC del ratón no pueden producir el péptido antigénico adecuado. Si esta es regla general para los autoantígenos podría explicar la falta de respuestas intensas contra antígenos propios, pero es aún campo de estudio futuro. Por otra parte, el experimento comentado no nos soluciona el dilema de cortes aleatorios o direccionales. Es probable que dentro de los próximos 5 años el funcionamiento de las APC y sus sistemas enzimáticos sea descifrado, pues existen procedimientos para enriquecer y hacer crecer *in vitro* a estas importantes células. Es probable que cuando se conozcan los mecanismos de funcionamiento de las APC empiecen a detectarse los "experimentos de la naturaleza", es decir las deficiencias genéticas de algunos aspectos del procesamiento de antígeno. Es probable que terapias ba-

sadas en la re-introducción de las propias APC después de manipulaciones *in vitro* puedan ser útiles en terapias inmunológicas.

Es posible que el mapa antigénico universal se complete en el siglo que viene. Por mapa antigénico entiendo la tipología de bacterias, virus, etc. basada en los fragmentos antigénicos que se definan en moléculas complejas. Es probable que de este mapa se establezcan las características básicas de la antigenicidad. La idea de "antígeno" siempre fue tautológica y se define como "antígeno" a toda molécula que despierta una respuesta inmunológica. La definición bioquímica de antígeno permitirá también diseñar nuevas vacunas usando ADN que codifique un péptido antigénico. Es probable que estos estudios puedan extrapolarse al análisis y tratamiento de tumores, como ya parece ocurrir en el caso del melanoma. En resumen, creo que el campo del procesamiento antigénico y la biología estructural de las APC es un campo fundamental de desarrollo futuro.

Unos procedimientos que generan grandes expectativas fueron la capacidad de introducir genes exógenos (y producir animales transgénicos) o de eliminar uno o varios genes (KO; *knock out*) o de introducir nuevos genes (*knock in*) que reemplacen los KO en ratones. La utilidad de estos animales o de líneas celulares derivadas de ellos es innegable. Lo que es también innegable es que cuando las técnicas se estandarizaron y los procedimientos se simplificaron, se empezó a generar una cantidad enorme de trabajos sin hipótesis previa en los cuales se hacía el KO de un gen sólo para ver qué pasaba.

También es aquí el momento de hablar de humildad científica. La única finalidad del método experimental es generar predicciones que se puedan comprobar experimentalmente. Un ejemplo de una buena predicción, basada en los conocimientos previos de la biología de la célula B, fue la de hacer el KO de la cadena  $\mu$  de las Ig y demostrar que eso producía la reacción esperada, es decir una profunda deficiencia de células B. Otro buen ejemplo fue imaginar que debía existir algún tipo de recombinasa necesaria para efectuar la recombinación VCJ de las Ig y del receptor de la célula T, aislar y definir las dos recombinasas RAG-1 y RAG-2 y luego hacer su KO, demostrando que son sistemas redundantes y que el KO de cada una produce una profunda deficiencia de células T y B exclusivamente. En el otro extremo están los KO de varias interleucinas (IL) que son productos solubles de células inmunes con variadas funciones (de las cuales ya hay 18) o de algunas de las proteínas que regulan el ciclo celular y ver con sorpresa que es poco lo que pasa al eliminar el gen, pues son sistemas con alta complementaridad. Por ejemplo, el KO de IL-2 o de sus receptores, considerado como el factor de crecimiento de las células T *in vitro*, no tiene casi ningún efecto en el desarrollo y mantenimiento de células T en los ratones

con KO de esos genes. En cambio, el KO de IL-7 o su receptor, produce una detención importante del desarrollo de las células T, a pesar de que sus efectos *in vitro* son menos espectaculares. Puede decirse que IL-2 es redundante pero IL-7 no. Es decir que aún conocemos muy poco de los factores de crecimiento que controlan el desarrollo y el mantenimiento homeostático de las células T en la periferia.

Las ideas preconcebidas también producen miopía. Es notable que no se hayan estudiado aún los KO de IL-2 para determinar qué utilizan para mantener su sistema T en buen estado (IL-7? Otras citocinas?). Otro ejemplo interesante ha sido el KO de TNF (*Tumor Necrosis Factor*) donde se demostró que la deficiencia de esta citocina que se creía involucrada en las defensas antitumorales produce profundos defectos en las defensas contra bacterias tales como micobacterias y *Listeria*. Es decir que debe incluirse al TNF en los sistemas de defensa más generales. Otro ejemplo de nuestro laboratorio (en prensa) es que usando KO de los dos receptores para TNF (p55 y p75) hemos podido demostrar que tanto en KO de un receptor como de los dos, se detecta una hipertrofia tímica (los timos contienen entre 3 y 5 veces más células que en los normales). Además demostramos que la hipertrofia se debe a que TNF controla la producción de precursores de timocitos (que aún no expresan CD3, CD4 o CD8) eliminando algunos por apoptosis y haciendo proliferar a otros y que de esta manera mantiene el control homeostático de la maduración intratímica de las células T. Un aspecto inesperado es que TNF también controla la respuesta normal de los timocitos inmaduros a IL-7, pues en los KO de los receptores de TNF o de TNF, la respuesta proliferativa *in vitro* a IL-7 es entre 10 a 20 veces más alta que en los normales. Es decir que la hipertrofia tímica se debe a la falta del control negativo que TNF produce a nivel de los timocitos más inmaduros y en el control de su respuesta a IL-7.

Quiero indicar aquí que el motivo de estudiar TNF y timo fue el hallazgo que el único tejido normal donde se produce TNF constitutivamente es el timo y que esta idea heterodoxa no fue bien recibida por las agencias norteamericanas que financian la investigación. Esta lista de quejas y aciertos podría hacerse larga y prefiero no presentar más ejemplos pues hay ejemplos de todo tipo. A veces parece que la idea del obispo Berkeley en 1713 de considerar a las ciencias como una rama de la teología, puede aplicarse a muchos de los conceptos canónicos que aún dominan la inmunología celular.

Aunque ya hace años que las deficiencias inmunitarias genéticas o inducidas (quimioterapia o drogas inmunosupresoras) nos enseñaron que las deficiencias de inmunidad celular aumentan la susceptibilidad de los pacientes hacia un espectro muy reducido de agentes patógenos oportunistas (*Pneumocystis carinii*, *Mycobacterium avium*, etc.) fue sólo después de la aparición del

SIDA que estas nociones cobraron vigencia. Lo mismo puede decirse de las defensas de estos pacientes contra los cánceres, pues también se encontró un espectro reducido de tumores oportunistas (linfomas "Non-Hodgkin", cáncer de cervix, algunos tumores cutáneos) pero ninguno de los tumores prevalentes en pacientes normales de edades semejantes. Es decir que si nos preguntamos ¿para qué sirve el SI? la respuesta debe ser: para muchas cosas relacionadas con la homeostasis general incluyendo las defensas contra peligros oportunistas que nos pueden matar si no tenemos un SI funcional. Creo que producir una respuesta ampliada a la pregunta anterior es uno de los claros objetivos de la inmunología futura.

En un informe reciente (septiembre de 1999) que cubre el período 1996-1998, se describe que en Cataluña el SIDA ha dejado de ser la primera causa de mortalidad en jóvenes de 19-29 años, cosa que se atribuye a "las terapias antirretrovirales". Lo interesante es que en un periódico catalán sólo se menciona ese hecho (y también la disminución de nuevos casos de infección por HIV) mientras que en un periódico nacional editado en Madrid se comenta que el SIDA es ahora la 3ª causa de muerte en ese grupo joven, después de los accidentes de tráfico y los suicidios. Es decir que esperemos que en el futuro la salud pública y la inmunología pública aumenten su sensibilidad hacia problemas más sociales y peor financiados, especialmente en tiempos en que los debates sobre manipulaciones genéticas casi han transformado a la bioquímica (tal como la definimos más arriba) en una rama de las ciencias sociales. Los libros de divulgación con títulos tan sugestivos como *Clone: The road to Dolly and the Path Ahead* o *The Biotech Century: Harnessing the Gene and Remaking the World* siguen proliferando y han creado una zona de penumbra científica donde se mezclan genes y sociedad y donde en algunos casos los comentarios ofrecen vida eterna en un paraíso molecular adonde todos los que congelen algunas de sus células podrán llegar en siglos futuros.

Naturalmente que están ocurriendo cosas sorprendentes y debemos estar preparados para valorar y aceptar los cambios. Los estudios sobre algunos ratones con orejas fluorescentes por transferencia de genes de luciferina de luciérnaga publicados recientemente en *Nature* son mucho más espectaculares que los modestos resultados del tratamiento de las deficiencias de adenosina-deaminasa con células hemopoiéticas transfectadas con la enzima. Pero eso no quiere decir que se deban abandonar los esfuerzos de producir sistemas viables para terapias génicas en humanos. Las tormentas sobre tomates transgénicos parecen estar pasando y es probable que de la misma manera que se aceptó sin protesta que la vainilla se cultive en invernaderos y no se recoja en selvas tropicales, lleguemos a

tolerar los beneficios que la manipulación genética de plantas nos seguirá dando en el futuro. Por otra parte, debo reconocer que hoy no puedo producir una hipótesis válida que pueda tener valor predictivo respecto al verdadero impacto que la bioquímica (es decir la "biología molecular" y su sanbenito llamado "ingeniería genética") pueda tener en nuestro futuro inmunológico, excepto como una herramienta más en el análisis estructural de la biología de todas las células que forman el sistema inmune.

## El futuro

Los comentarios sobre el futuro incluidos al final del texto sobre el pasado y el presente son como una válvula de regulación para lo que voy a incluir en esta sección. Si la inmunología es la biología celular y estructural del linfocito y sus secuaces y las neurociencias son la biología celular y estructural de las neuronas y sus secuaces, espero que el futuro esté lleno de interacciones entre las diferentes disciplinas biológicas. Más que hacer predicciones sonoras, prefiero hacer una lista personal de los problemas inmunológicos que me son más allegados y cuya solución me parece un objetivo deseable.

1) La homeostasis (Walter Cannon, 1927) sigue siendo una incógnita. Todos los sistemas, incluyendo el SI, saben contar células y mantener equilibrios muy constantes de sus componentes en condiciones normales. Algunos sistemas (por ejemplo el timo y el cerebro) producen grandes excesos de células durante la ontogenia para luego hacer una selección reductiva de donde se elabora el desarrollo postnatal. Tanto la sobre-producción como la reducción selectiva tienen valores muy constantes para cada especie. Por lo tanto, quisiera que en el futuro se defina el sistema de contabilidad del SI. Es probable que por su relativa accesibilidad el SI sirva como buen modelo para definir los mecanismos de la homeostasis celular.

2) La presentación de antígeno y la fisiología de las APC creo que están en el centro de los paradigmas funcionales del SI. La posibilidad de definir y mejorar y hasta de crear determinantes antigénicos nuevos puede estar en el centro mismo del futuro inmunológico. La definición completa del mecanismo de las APC puede producir una nueva generación de terapias antigénicas y vacunas para tratar variedad de infecciones y enfermedades autoinmunes. Una vez conocidos los péptidos antigénicos relevantes será posible desarrollar vacunas de ADN que codifican tales péptidos para inmunización activa. No creo que todo lo comentado esté en un futuro muy lejano.

3) Las interacciones entre sistemas están casi olvidadas. Una razón creo que es nuestra dificultad para

manejar múltiples variables. Las falacias reduccionistas nos han hecho cometer graves errores (aún recuerdo las épocas de la inmunología tumoral en que la inmunidad celular era buena contra los cánceres mientras la inmunidad humoral era mala y favorecía al tumor). Es altamente improbable que un solo factor sea responsable exclusivo de una función biológica definida y que funcione con plena independencia de su entorno. El significado de los receptores para opioides y variados neuropéptidos en los linfocitos es por ahora sólo descriptivo. La inmunología de los KO de receptores opiáceos, que yo sepa, aún no ha sido comenzada. Igualmente, con pocas excepciones tales como las citocinas pirógenas (IL-1, IL-6, TNF), el significado de los receptores para variadas interleucinas en sistema nervioso central y periférico así como en algunas glándulas endocrinas tampoco es una popular área de estudio.

4) Ha habido progreso en las descripciones de las variadas moléculas de adhesión en procesos inflamatorios, metástasis, etc. Falta aún, y creo que también será tema de un futuro cercano, que se definan mejor las funciones de las moléculas de adhesión en el desarrollo y funcionamiento del sistema inmune. Esto debe formar parte de un proyecto más amplio que defina los "micro-ambientes" donde ocurre la diferenciación de las células del SI y donde, con toda seguridad, las moléculas de adhesión tendrán un papel importante. La gran mayoría (probablemente todos) de los factores solubles (citocinas, interleucinas, interferones) ejercen sus funciones a distancias pequeñas y probablemente utilicen gradientes de concentración por donde las células del SI se deslizan. Los factores solubles tienen funciones sistémicas (es decir aparecen en suero) únicamente en condiciones de desequilibrio homeostático y en su mayoría se comportan como reactantes de fase aguda. Es muy deseable que se definan los mecanismos de los mediadores solubles del SI, tanto de los efectos locales en "micro-ambientes" así como los efectos sistémicos cuando ocurren. Aquí también hay que evitar la falacia reduccionista que favorece al factor preferido de cada investigador, pues ya es bien claro que muchos de los que parecían efectos directos de un factor son en realidad efectos indirectos y mediados por otro factor cuya expresión es inducible. Aquí también daré un ejemplo de mi laboratorio para apoyar esta idea. El TNF es capaz de unirse a proteínas de la matriz extracelular (fibronectina, laminina, merosina). Esta unión puede ser inhibitoria (si la molécula se une a través de sus dominios funcionales) o presentadora a corta distancia (si la unión se hace de modo que los dominios funcionales queden expuestos) y la evidencia experimental indica que es presentadora y que el TNF adherido a proteínas de la matriz extracelular retiene toda su actividad funcional.

5) Un área muy activa en biología es la producción de antagonistas a moléculas activas. Naturalmente esto

también ya ocurre en inmunología con los mediadores solubles y usa varias estrategias. La capacidad de hacer moléculas híbridas, por ejemplo con las regiones citoplasmáticas de los receptores y el dominio extracelular de otro receptor ya ha producido importante información sobre los sistemas de transducción de señales. Cuando se definen mejor los dominios funcionales de las citocinas e interleucinas es probable que se puedan diseñar mejores antagonistas "naturales" para uso terapéutico, especialmente en moléculas que tienen disociados los *binding sites* o lugares de unión al receptor de los dominios funcionales que dan la señal de activación (como nuestros estudios con TNF parecen indicar). Muchas de estas citocinas son espadas de doble filo y pueden tener efectos benéficos o maléficos. En el caso de TNF ya mencionamos que participa en controles homeostáticos en el timo pero también es el mediador (o uno de los mediadores) de las lesiones que se producen en la artritis reumatoidea. Otros procedimientos posibles para crear antagonistas es construir ligandos asociados a productos que puedan inhibir los sistemas de activación de un receptor dado. Este tipo de manipulación puede ser de gran utilidad en manejar los efectos indeseables de la inflamación y pueden aplicarse a prácticamente todo sistema que use receptores. Pero también debemos recordar que algunas moléculas activas pueden tener interacciones con membranas celulares sin usar receptores convencionales. Esta es una área que no debe olvidarse. Nuevamente, dos ejemplos derivados del TNF. TNF tiene una región que se comporta como una lectina con especificidad para manósidos y puede adherirse y causar la muerte de tripanosomas usando ese modo de adhesión. Por ahora no hay evidencia de que TNF use tal estrategia con células eucarióticas. Por otra parte, a pH ácido los trímeros de TNF (a altas concentraciones TNF forma trímeros estables) pueden insertarse directamente en membranas artificiales y eso ocurre a pH similares a los que ocurren en sitios de inflamación local. Tampoco hay evidencia de que el TNF use tal estrategia en células intactas. Cito estos ejemplos porque son mecanismos posibles y probables y que no deben dejarse de lado por nuestra fascinación actual con los receptores convencionales.

6) Una de las sorpresas de la inmunología fue descubrir que el receptor de antígeno de la célula T es un receptor de baja afinidad. Si meditamos brevemente sobre esto veremos que esa baja afinidad es algo deseable, especialmente para controlar la magnitud de una respuesta inmunológica que puede tener efectos indeseables cuando es exagerada. Una de las respuestas que llegará muy pronto en este próximo siglo es el análisis funcional detallado de las interacciones antígeno/receptor T y que incluirán tiempo de contacto y otras variables. Esta información es esencial para comprender la base estructural de la inmunología celular.

7) El estudio de los SI regionales tales como los asociados al tracto intestinal y a la piel están en una etapa puramente descriptiva. Los linfocitos T de la lámina propia intestinal son probablemente de origen extratímico. Es probable que tengan un repertorio diferente pues predominan los receptores de tipo  $\gamma\delta$  mientras que en el resto de los linfocitos T predominan los de tipo  $\alpha\beta$ . Esperemos que el significado de estos dos importantes SI regionales, constantemente expuestos al "exterior" y en un estado de activación que no comparte el SI tradicional de los ganglios linfáticos periféricos, nos aclare los mecanismos de regulación permanente que pueden ser importantes en otros tipos de inflamación crónica.

8) La respuesta inmune a parásitos más complejos ha progresado mucho y esperamos que siga progresando. Son enfermedades de gran impacto social, especialmente en zonas endémicas en países en desarrollo. El argumento que son enfermedades debidas a pobres condiciones sociales y que pueden "erradicarse" con simples cambios estructurales en esos ambientes rurales, puede tener fundamento pero carece de fuerza para promover la investigación seria en ese campo.

9) Las enfermedades autoinmunes continúan siendo tratadas en su mayoría con terapias desarrolladas en los años 60-70. El desarrollo de nuevas terapias antiinflamatorias es alta prioridad para la investigación de la industria farmacéutica. Creo que los criterios altamente pragmáticos y purgados de dogmas y otras nociones tribales asociadas a la investigación en universidades y otras instituciones académicas que usa la industria nos deparará gratas sorpresas en el futuro. Los avances básicos sobre el fino detalle de mecanismos y regulaciones seguirán haciéndose a nivel académico, pero la rápida extrapolación creo que ya está firmemente en manos de la industria.

Creo que con nueve propuestas ya he delineado un futuro probable para la inmunología del próximo siglo.

### Un comentario final

En algún texto de Arnold Toynbee se dice que la historia está basada en "alianzas, dependencias y oposiciones". La ciencia también funciona así pues es esencialmente social e interactiva. Las ciencias biológicas y biomédicas tienen además un componente adicional y es el altruismo, es decir que sus productos pueden ser de utilidad a otros y mejorar sus condiciones de vida. Pero las ciencias también incluyen una paradoja del científico y es la noción de "prioridad" del descubrimiento (esto ha sido maravillosamente analizado por Robert K. Merton en *The Sociology of Science*, The University of Chicago Press, 1973) que carga la vida del científico académico o no de tensiones competitivas. A primera vista esta dicotomía altruismo/prioridad parece algo malo,

pero creo que es uno de los motores importantes de la investigación creadora. Respecto a alianzas, dependencias y oposiciones creo que son también los síntomas de una competitividad compleja donde se han creado estructuras de poder financiero y jerárquico (sea académico o no y donde deben incluirse las revistas científicas de gran difusión) que controlan o tratan de controlar la investigación creadora en ciencia. Estas estructuras agregadas a la ciencia son inevitables pero también son mejorables. Conceptualmente, creo que el único peligro que debemos evitar es a veces nuestro propio entusias-

mo, pues nos puede hacer dogmáticos y miopes a las evidencias que podemos tener frente a nuestros ojos. En algunas partes del texto ya mencioné dogmas, sistemas canónicos y falacias porque son realidades que nos pueden hacer científicos menos eficientes. Finalmente, creo que debemos mencionar el componente hedonista. Hay pocas profesiones en las que se nos paga por pensar y ejercitar nuestras cualidades de ingenio más humanas. Por lo tanto, como nos decía Don Bernardo Houssay, debemos estar muy agradecidos de tener el privilegio de poder trabajar en ciencias puras o aplicadas.

-----

En el Museo Wellcome de Historia de la Medicina (*The Wellcome Museum of the History of Medicine*), situado en el Museo de Ciencias (*Science Museum*) en Londres, se puede observar una reproducción en maqueta del anfiteatro de Anatomía de Padua, tal como era en 1594, con la siguiente inscripción:

*The anatomical theatre in Padua in 1594.*

*In 1594 the Anatomical Theatre was built in the University of Padua, for use by the great anatomist Fabricius ab Acquapendente (1533-1619). This is an accurate scale model of the theatre, which still exists in the old medical buildings of the University of Padua. For much of the Sixteenth and Seventeenth centuries this was the most famous Medical School in the world. The theatre could hold as many as 300 people, none of them further than 30 feet from the dissecting table. In 1600 the Englishman William Harvey (1578-1657) went from Cambridge to Padua - as a medical student. He would certainly have stood in the theatre watching the master supervise the dissections. This practical approach to anatomy was well established in the medical curriculum of the time. It was excellent preparation for Harvey's experimental work on the circulation of the blood, published in 1628.*

El anfiteatro anatómico de Padua en 1594

En 1594 se construyó el anfiteatro de anatomía de Padua, para el gran anatomista Fabricius ab Acquapendente (1533-1619). (En este Museo) está la réplica a escala exacta del anfiteatro, que todavía existe en los viejos edificios de la Escuela de Medicina de la Universidad de Padua. Durante la mayor parte de los siglos Dieciseis y Diecisiete esta Escuela Médica era la más famosa del mundo. En el anfiteatro podían caber hasta 300 personas, ninguna a más de 30 pies de la mesa de disección. En 1600, el inglés William Harvey (1578-1657) viajó de Cambridge a Padua – como estudiante de medicina. Debe haber estado en ese anfiteatro mirando mientras el maestro supervisaba las disecciones. Esta manera práctica de enseñar anatomía estaba bien establecida en el currículum médico de aquel tiempo. Era una excelente preparación para el trabajo experimental de Harvey sobre la circulación de la sangre, publicado en 1628.