

Las herramientas de la inmunología contemporánea: nova et vetera

JESÚS KUMATE *

La teoría y la práctica, los conceptos y el arte, la doctrina y la realidad, la ciencia y la tecnología, son dos aspectos de un mismo problema, las caras de Jano que no pueden separarse. Forman un entramado inconsútil, se retroalimentan, se apoyan, hacen posible su génesis y progreso e ineludiblemente, su desaparición o por lo menos modificaciones trascendentes.

En la historia de la biomedicina abundan los ejemplos del impulso o nacimiento de especialidades o nuevas ramas como resultado del desarrollo o invención de instrumentos que ampliaron el campo de observación, refinaron la medición o discriminaron elementos perturbadores de la observación o de la medición. El estetoscopio de Laennec, el oftalmoscopio de Von Helmholtz, los condensadores apocromáticos de Abbé, los guantes de caucho inventados por Halstead, los rayos X por Röntgen, el electrocardiógrafo por Einthoven o la tomografía axial computarizada por Cormack y Hounsfield son algunos ejemplos de tecnología que nació como respuesta a necesidades clínicas o como resultado de progresos en un campo aparentemente no relacionado con la biología.

En todos los terrenos de la ciencia y en la biomedicina en particular, es fundamental establecer

criterios objetivos para conocer la existencia y naturaleza de los fenómenos sujetos de la investigación y si es posible, medir exactamente sus magnitudes y sus efectos.

En las primeras maniobras profilácticas, la variación y después la vacunación, la evaluación fue cuántica, i.e.: protección o susceptibilidad. El mismo criterio fue utilizado en el inicio de la inmunología científica. Pasteur definió el éxito o el fracaso según sobrevivieran o murieran las gallinas vacunadas contra el cólera, las terneras contra el carbunco o Joseph Meister después de recibir la vacuna antirrábica en 1885. Todavía en la noche de Navidad de 1891, Behring juzgó de la utilidad del suero antidiftérico en función de la mejoría ante la agresión del bacilo diftérico.

El microscopio fue la herramienta que permitió conocer fenómenos aún ignorados que plantearon preguntas acerca de su mecanismo y significación, que movieron a emitir hipótesis que fueron sometidas a la prueba experimental y aportaron conocimientos para edificar el cuerpo de doctrina de la inmunología. Nuttall describió en 1888 la bacteriólisis de *Vibrio cholerae* inoculado intraperitonealmente a cobayos previamente inmunizados. En 1895 Bordet inició sus trabajos acerca del complemento y en el último lustro del siglo XIX, se descubrieron los fenómenos de aglutinación y fagocitosis de las bacterias, la precipitación y la floculación de los antígenos solubles. En 1903, Wright descubrió la opsonización y Richet y Portier la anafilaxis, y en 1907, von Pirquet sistematizó el fenómeno de la hipersensibilidad retardada.¹

Desde la introducción de las cutirreacciones, la inmunología sufrió un estancamiento en sus posibilidades tecnológicas para explorar los fenómenos biológicos en la base de las reacciones antígeno-anticuerpo. Hubieron de transcurrir casi 30 años hasta que en 1937 Tiselius y Kabat aplicaron la nueva técnica de electroforesis para localizar los anticuerpos en la fracción gamma de la migración proteica en el campo eléctrico.

Los trabajos de Heidelberg en el Instituto Rockefeller, al final de los veinte y principios de los treinta, sentaron las bases cuantitativas de la inmunología. Gracias a las reacciones de precipitación, se pudieron conocer las cantidades precisas de anticuerpos precipitados; se logró cuantiar a los participantes en la fijación del complemento y en el fenómeno de la aglutinación.

El interregno 1907-1937 es ejemplo de cómo la insuficiencia tecnológica puede limitar las posibilidades de evaluar hipótesis y de cómo la falta de hipótesis susceptibles de comprobación experimental, no estimula el desarrollo de tecnología. La bacteriología y la serología hicieron de la inmunología una sierva de las respuestas defensivas o nocivas ante los microbios patógenos y se perdió de vista que el sistema inmunitario y la competencia inmunológica operan en la base de un fenómeno biológico más fundamental, i.e.: la capacidad de reconocer entre lo propio y lo extraño y la individualidad biológica.

Las técnicas de las antiglobulinas desarrolladas

* Académico titular. División de Inmunoquímica. Unidad de Investigación Biomédica. Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social.

en 1938 por Coombs hicieron posible el estudio de los llamados anticuerpos incompletos; Coons, en 1941, inventó la inmunofluorescencia y permitió el estudio, al nivel celular *in situ*, de todas las reacciones inmunológicas, con el impacto consiguiente en los fenómenos autoinmunes. En la misma década se introducen los medios semisólidos para el estudio de las reacciones de precipitación y de inmediato las técnicas de Oudin y Ouchterlony fueron maniobras rutinarias en los laboratorios de serología.

En la década de los cincuenta, aparecieron la inmunoelectroforesis, se desarrollaron ampliamente la inmunodifusión radial cuantitativa y las variantes de la hemoaglutinación, que no sólo diversificaron las técnicas serológicas sino incrementaron la sensibilidad y simplificaron muchos procedimientos otrora complicados en su operación.²

Desde el advenimiento de las primeras técnicas inmunológicas, el ingenio y la personalidad de los investigadores han producido una diversificación sin igual en otros campos de la biomedicina. Si consideramos como primarias a las reacciones antígeno-anticuerpo que miden las interacciones, independientemente de los efectos que las tornan objetivas a nuestros sentidos, se cuentan como tales a la capacidad de combinación con antígeno (ABC) o reacción de Farr y a la diálisis en equilibrio. Las técnicas de aglutinación, precipitación, floculación y antiglobulina son secundarias, en tanto que las de fijación de complemento, inmunofluorescencia indirecta y los ensayos inmunoenzimáticos son terciarias.

El reconocimiento creciente de la esencia en los fenómenos inmunológicos hizo que otras disciplinas biomédicas usaran herramientas serológicas. La hematología y los bancos de sangre, los laboratorios clínicos, los estudios de histocompatibilidad, la medicina forense, la industria de los alimentos, la reumatología, la alergia, la patología, la bioquímica, la farmacología, la embriología, la fisiología, la genética y la oncología, entre otras, encontraron útil la especificidad, sensibilidad, versatilidad y posibilidad cuantitativa de los procedimientos serológicos.

Inmunología contemporánea

Las técnicas inmunológicas han evolucionado hacia una mayor sensibilidad, como resultado de refinamientos y del empleo de vehículos antigénicos como la hemoaglutinación, los ensayos por inhibición o competencia con el antígeno, la anafilaxia pasiva, la inmunohemólisis pasiva y la fijación del complemento cuantitativo en escala micro. Sin embargo, fue la invención de los radioinmunoensayos el factor decisivo para ampliar los límites de sensibilidad de la escala de los microgramos a la de los nanogramos y picogramos. Este avance tecnológico revolucionó a otras disciplinas como la endocrinología, la cardiología, la microbiología, la oncología, la enzimología, la alergia, la neurología, la urología y otras, en que han recibido carta de

naturalización y son parte de la información habitual que se maneja en las actividades diarias.

La técnica conocida como radioinmunoensayo tiene casi 30 años de existencia; es una extensión de los ensayos inmunológicos, en donde se estudia la competencia de dos antígenos, casi iguales en sus determinantes antigénicos pero distinguibles, ya sea por la secuencia cronológica de su aplicación o por alguna marca distintiva, radiactiva en el caso del radioinmunoensayo. El principio es el operante en las reacciones de inhibición de precipitación, aglutinación, hemoaglutinación, inmunofluorescencia, por un hapteno o por un antígeno.

Un antígeno con marca radiactiva, compite con un antígeno "natural o nativo" ante un sistema de anticuerpos monoespecíficos de alta afinidad; la elevada actividad específica de la marca radiactiva, la gran sensibilidad de las cuentas, la especificidad de las reacciones inmunológicas y la reproducibilidad (precisión) con que pueden realizarse las pruebas, han dado como resultado un método capaz de medir concentraciones del orden de nano-, pico y hasta femtogramos, *i.e.* 1×10^{-9} , 1×10^{-12} y 1×10^{-15} g, con la especificidad de las reacciones inmunológicas que pueden discriminar la posición de un grupo hidróxilo en los carbonos y aun la configuración de los sustituyentes de un carbono. La precisión asequible en los radioinmunoensayos es semejante al de los métodos espectrofotométricos más reproducibles.³

El reactivo inmunológico por excelencia, son los anticuerpos en forma de sueros hiperinmunes o globulinas gamma purificadas, a pesar de ser etiquetadas en ocasiones de inmunoglobulinas con actividad dirigida contra un determinante antigénico, *inmunodominante* de los muchos (cientos) presentes en la molécula de un antígeno. Si a lo anterior se agrega la posibilidad de que la capacidad de respuesta inmunológica, condicionada genéticamente, elimine o amplifique la producción de anticuerpos, se tiene una familia muy variada de moléculas que han aparecido como resultado del estímulo antigénico y que aportan especificidades diferentes, afinidad y avidéz distintas como producto de por lo menos cinco clases de Ig. (G, M, A, D y E), cada una de las cuales tiene varias subclases (cuatro en IgG, dos en IgA e IgM y probablemente varias en IgD e IgE).

El término *diversidad de anticuerpos* y sobre todo la posibilidad de explicarlo, ha ocupado la atención de los inmunólogos desde el nacimiento mismo de la disciplina. Pasteur y Ehrlich propusieron hipótesis al respecto y actualmente se manejan las teorías de la mutación somática y de la línea germinal con intermedios, todos con base y apoyo experimental, sin que pueda formularse una explicación completamente satisfactoria.

En 1975, Kohler y Milstein⁴ publicaron un trabajo donde se describió la producción de anticuerpos con especificidad restringida, como resultado de la fusión de células de mieloma de ratón (neoplasia de células plasmáticas) con células del bazo de un ratón inmunizado contra eritrocitos de carnero. En el heterocariote producto de la fusión,

se combinaron la capacidad de reproducirse en cultivo de tejidos (*inmortalización*) y la información para producir anticuerpos con especificidad al antígeno empleado como inmunógeno. La respuesta monoclonal permitió, por primera vez, obtener anticuerpos dirigidos contra un determinante antigénico único.

El desarrollo de estos *hibridomas* ha tenido consecuencias importantísimas; es posible reconocer diferencias antigénicas antes insospechadas, *v.gr.*: el virus de la rabia no es único; existen variantes antigénicas que pueden explicar el fracaso ocasional de la vacuna de Pasteur; se han generado antisueros, en verdad monoespecíficos, que han permitido identificar hasta diez etapas en la maduración de los linfocitos T, los antígenos embrionarios, los neoantígenos asociados con las neoplasias, la especificidad de todas las pruebas diagnósticas, el desarrollo de anticuerpos protectores con especificidad definida y que sobre todo constituyen importante ayuda para purificar mezclas antigénicas, como en el caso de las proteínas que, con base en ingeniería genética, se están produciendo en bacterias, como por ejemplo insulina e interferón.⁵

Se han producido *hibridomas* por la fusión de plasmocitos de mieloma con linfocitos de pacientes con encefalitis subaguda esclerosante.⁶ Se anticipa que entre las aplicaciones en clínica humana se puedan tener anticuerpos protectores contra cualquier agente microbiano patógeno, o contra agentes y drogas tóxicas. La manipulación de la respuesta de anticuerpos podrá, mediante anticuerpos facilitadores, proteger a los trasplantes de la reacción de rechazo.

Tendencias futuras

Aun en nuestro tiempo, la inmunología para el médico no ha traspasado la etapa de una ciencia básica, útil para fines diagnósticos, que ha hecho posible las vacunaciones y los antisueros, pero que no ha contribuido decisivamente en la terapéutica. El que su área aplicativa quede dentro de los dominios de la medicina preventiva y del laboratorio clínico, la hacen todavía de carácter secundario para los intereses y preferencias del médico práctico.

El alcance universal de la inmunología se refleja en muchas maniobras terapéuticas. Algunos ejemplos representativos son:

1. La inmunosupresión, que ha permitido la permanencia de los aloinjertos y trasplantes de órganos, el control y remisión de patología autoinmune y de las reacciones de hipersensibilidad inmediata y tardía o el control de la respuesta inflamatoria, comprende toda la gama de la medicina interna y de la cirugía actuales.
2. La solución de las isoimmunizaciones por incompatibilidad feto-materna por factor Rh, tiene una base inmunológica que manipula la permanencia del antígeno y la interferencia, por

retroinhibición, en la producción de anticuerpos.

3. La terapia repositiva de componentes humorales (anticuerpos, complemento, hormonas tiroideas, lisozima, transferrina, factores inhibidores y otros) o celulares (transfusiones de neutrófilos), es un recurso ordinario y de aplicación cada vez más frecuente en la práctica médica.
4. La alergia y sus métodos desensibilizantes, a pesar de las incógnitas respecto a los mecanismos involucrados, ofrecen medios prácticos para obtener alivio.
5. La aplicación del factor de transferencia aporta mejoría en condiciones tales como el síndrome de Wiskott-Aldrich, la candidosis mucocutánea diseminada, otras micosis y probablemente la lepra lepromatosa.

A finales del siglo XIX y principios del XX, la inmunología, como parte de la microbiología, se identificaba tecnológicamente con la serología; los materiales de estudio eran el suero sanguíneo o la sangre total; los reactivos, antisueros, glóbulos rojos de carnero, suero fresco de cobayo y "suero fisiológico"; los animales de experimentación, conejos, cobayos y caballos; los instrumentos, baños María, estufas, microscopios y tubos de ensayo; la expresión de los resultados, en forma de positivo o negativo y cuando mucho, aproximaciones semicuantitativas como + - ++++ o bien diluciones y títulos.

Actualmente, el inmunólogo es un biólogo celular que maneja e identifica subpoblaciones de células inmunocompetentes, en ocasiones por sistemas analíticos automatizados.⁷ Y aunque las reacciones antígeno-anticuerpo son en su mayoría las mismas de principio de siglo, la tecnología contemporánea presenta las siguientes modalidades:

- a. Gran diversidad de técnicas serológicas, como inmunoadherencia, inmunofluorescencia, inmunoensayos, marcas para microscopía electrónica, identificación y cuantificación de receptores.⁸
- b. Interacción con técnicas de otras disciplinas como la genética, la bioquímica, la patología, la farmacología, entre otras.
- c. Tendencia cuantitativa de técnicas otrora cualitativas, como las de hipersensibilidad retardada.⁹

En los últimos años, la inmunología ha contribuido al arsenal terapéutico de la medicina con tal variedad y cantidad de fármacos y procedimientos, que desde 1980 apareció una revista periódica: *Immunopharmacology*; y en los capítulos de la terapéutica de numerosas enfermedades, los términos: inmunosupresor, coadyuvante, inmunomodulador, inmunorregulador, estimulante inmunológico, bloqueador inmunológico y reforzador inmunológico, son de uso diario.

Algunas de las aportaciones recientes de la inmunología a la terapéutica son:

- a. El control del edema angioneurótico hereditario con andrógenos incompletos (no virilizantes).¹⁰
- b. La corrección del defecto bactericida en el síndrome de Chediak-Higashi mediante vitamina C.¹¹
- c. La mejoría lograda con agentes colinérgicos en las anomalías fagocíticas de los monocitos en la malacoplauia.¹²
- d. Las remisiones completas obtenidas en las histiocitosis X por la administración de extractos tímicos de bovino, con respuestas favorables en todo semejantes a las conseguidas con quimioterapia y radioterapia agresivas.¹³
- e. La reversibilidad completa de los efectos tóxicos de la digoxina y digitoxina por el uso de antisueros con fragmentos F_{ab} y F(ab)₂ procedentes de animales inmunizados *ex profeso*.¹⁴
- f. La remoción de autoanticuerpos o de complejos antígeno-anticuerpo circulantes, por plasmaféresis, es una maniobra terapéutica de eficacia comprobada en lupus eritematoso disseminado,¹⁵ miastenia gravis,¹⁶ síndrome de Goodpasture,¹⁷ púrpura trombocitopénica idiopática,¹⁸ algunas formas de nefritis, diabetes por anticuerpos contra la insulina,¹⁹ macroglobulinemias y ciertas variedades de melanoma.²⁰
- g. La eliminación de linfocitos T por leucoféresis es útil en el manejo de los pacientes con síndrome de Sézary y probablemente en la micosis fungoides.²¹
- h. El efecto favorable de la castración y de la administración de estrógenos en los enfermos con cáncer de próstata tiene una base inmunológica, *i.e.*, se tiene un aumento del tamaño de todos los órganos linfoides y hay respuestas más enérgicas en la hipersensibilidad retardada, la sensibilización tóptica y la reacción de injerto *versus* huésped. La formación de anticuerpos a antígenos timo-dependientes es más pronunciada, pero no se afecta la respuesta a los antígenos timo-independientes.²²
- i. En las enfermedades cuya fisiopatología reside en la circulación y depósito de complejos antígeno-anticuerpo, como las colagenopatías, endocarditis bacteriana subaguda, lepra lepromatosa, enfermedad del suero, algunas glomerulonefritis, leucemias, linfomas y neoplasias sólidas con metástasis, como los carcinomas del pulmón, colon y páncreas, el internista dispone de medidas útiles probadas, que van desde la talidomida en la reacción leprosa, la penicilamina en la artritis reumatoide y en la cirrosis biliar primaria, los antiinflamatorios (esteroides y no esteroides) hasta las plasmaféresis.²³ Por otra parte, las técnicas serológicas que descubren la presencia de los complejos en el plasma son de utilidad pronóstica en la evolución del padecimiento.²⁴

REFERENCIAS

1. Wilson, G. S. y Miles, A.: *Principles of bacteriology*,

- virology and immunity*. 6a. ed. Londres, Edward Arnold, 1975.
2. Weir, D. M.: *Handbook of experimental immunology*. 2a. ed. Londres, Blackwell Scientific Publ. 1973.
3. Yalow, R. S.: *Radioimmunoassay: a probe for the fine structure of biologic systems*. Science 200:1236, 1978.
4. Kohler, G. y Milstein, C.: *Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity*. Nature 256:495, 1975.
5. Milstein, C. y Lennox, E.: *The use of monoclonal antibody techniques in the study of developing cell surfaces*. En: *Developmental biology*. Nueva York, Academic Press. 1980, vol. 15, p. 1.
6. Croce, C. M.; Linnebach, A.; Hall, W.; Steplewski, Z. y Koprowski, H.: *Production of human hybridomas secreting antibodies to measles virus*. Nature 288:488, 1980.
7. Horan, P. K. y Wheeless, L. L.: *Quantitative single cell analysis and sorting*. Science 198:149, 1977.
8. Cinader, B.: *Immunology of receptors*. Nueva York, Marcel Dekker Inc. 1977.
9. Rose, N. R. y Friedman, H.: *Manual of clinical immunology*. 2a. ed. Washington, American Society for Microbiology. 1980.
10. Gelfand, J. A.; Sherins, R. J.; Alling, D. W. y Frank, M. M.: *Treatment of hereditary angioedema with danazol*. New Engl. J. Med. 295:1444, 1976.
11. Boxer, L. A.; Watanabe, A. M.; Rister, M.; Besch, H. R.; Allen, J. y Baehner, R. L.: *Correction of leukocyte function in Chediak-Higashi syndrome by ascorbate*. New Engl. J. Med. 295:1041, 1976.
12. Abdou, N. I.; Napombejara, C.; Sagawa, A.; Ragland, C.; Stechschulte, D. J.; Nilsson, U.; Gourley, W.; Watanabe, I.; Lindsey, N. J. y Allen, M. S.: *Malakoplakia: evidence for monocyte lysosomal abnormality correctable by cholinergic agonist in vitro and in vivo*. New Engl. J. Med. 297:1414, 1977.
13. Osband, M. E.; Lipton, J. M.; Lavin, P.; Levey, R.; Vawnter, G.; Greenberger, J. S.; McCaffrey, R. P. y Parkman, R.: *Demonstration of abnormal immunity, T-cell, histamine H2-receptor deficiency, and successful treatment with thymic extract*. New Engl. J. Med. 304:146, 1981.
14. Smith, T. W.; Haber, E.; Yeatman, L. y Butler, V. P.: *Reversal of advanced digitalis intoxication with Fab fragments of digoxin antibodies*. New Engl. J. Med. 294:797, 1976.
15. Editorial: *Plasma exchange in SLE*. Lancet 1:688, 1980.
16. Pinching, A. J.; Peters, D. K. y Davis, J. N.: *Remission of myasthenia gravis following plasma exchange*. Lancet 2:1373, 1976.
17. Lockwood, C. M.; Rees, A. J.; Pearson, T. A.; Evans, D. J. y Peters, D. K.: *Immunosuppression and plasma exchange in the treatment of Goodpasture's syndrome*. Lancet 1:711, 1976.
18. Branda, R. F.; Tate, D. Y.; McCullough, J. J. y Jacob, H. S.: *Plasma exchange in the treatment of fulminant idiopathic (autoimmune) thrombocytopenic purpura*. Lancet 1:688, 1978.
19. Mugge, M.; Flier, J. S.; Abrams, R. A.; Harrison, L. C.; Deisseroth, A. B. y Kahn, C. R.: *Treatment by plasma exchange of a patient with autoantibodies to the insulin receptor*. New Engl. J. Med. 300:477, 1979.
20. Hersey, P.; Isbister, J.; Edwards, A.; Murray, E.; Adams, E.; Biggs, J. y Milton, G. W.: *Antibody-dependent, cell mediated cytotoxicity against melanoma cells induced by plasmapheresis*. Lancet 1:825, 1976.
21. Edelson, R.; Facktor, M.; Andrewa, A.; Lutzner, M. y Schein, P.: *Successful management of the Sézary syndrome*. New Engl. J. Med. 291:293, 1974.
22. Castro, J. E.; Medawar, P. B. y Hamilton, D. N. H.: *Orchidectomy as a method of immunopotentialiation in mice*. En: *Immunopotentialiation*. Ciba Foundation Symposium No. 18. Amsterdam, Elsevier. 1973, p. 237.
23. Wiggins, R. C. y Cochrane, C. G.: *Immune-complex-mediated, biologic effects*. New Engl. J. Med. 304:518, 1981.
24. Theofilopoulos, A. N. y Dixon, F. J.: *Detection of immune complexes: techniques and implications*. Hosp. Pract. 16:107, 1980.