

ARTICLES

DINAMISME TEMÀTIC DE LA IMMUNOLOGIA. CONSIDERACIONS SOBRE LA PROBLEMÀTICA ACTUAL

JORDI VIVES PUIGGROS

Director del Servei d'Immunologia.
Hospital Clínic i Provincial de la Facultat de Medicina.
C. Villarroel, 170 BARCELONA (DP 08036)

Una de les característiques més destacades de la Immunologia és el canvi que en el decurs del temps ha experimentat la seva temàtica. Aquesta peculiaritat no es limita als primers anys ni als temps més recents, sinó que acompanya a la Immunologia al llarg de tota la seva història.

En aquest breu article no exposarem tots els diversos temes que han estat motiu d'estudi en cada moment determinat, sinó que comentarem sols els punts que considerem més cabdals en l'estudi del sistema immune. Veurem com aquestes diverses temàtiques han estat abordades amb tecnologies diferents, que són les que han donat aspecte predominant a la temàtica en cada període determinat.

ORIGENS: SEROLOGIA (1880-1920)

En els descobriments succeeix com en les teories, en el sentit de que sempre existeixen antecedents mal delimitats que fan difícil precisar el moment en que s'ha efectuat un descobriment o formulat una teoria. Malgrat aquestes dificultats, i pel que fa al nostre camp d'estudi, es tendeix a considerar les vacunacions començades per JEN-

NER el 1798, amb la verola vacuna, com l'inici de la Immunologia.

Si analitzem críticament allò que realitzà JENNER veurem que aquest metge anglès es limità a reproduir un fet que havia observat. Si en aquell moment s'hagués preguntat a JENNER què havia succeït en els subjectes vacunats li hauria estat impossible trobar una resposta. En aquell moment es desconeixen del tot els fenòmens biològics que tenien lloc en les vacunacions realitzades. Prova d'aquesta ignorància és que el tipus de vacunacions efectuades per JENNER no fou aplicat a altres malalties.

Havia de passar gairebé un segle, fins el 1881, per a que LOUIS PASTEUR efectués en forma controlada les primeres vacunacions contra el carboncle (antrax). Els experiments portats a terme per PASTEUR, mitjançant la vacunació amb gèrmens patògens atenuats per diversos mitjans, implicaven coneixements fenomenològics que permetien progressar de forma metòdica en el descobriment del sistema immune de l'organisme. Potser per això es pot afirmar que amb PASTEUR s'inicià la Immunologia.

A partir de l'època de PASTEUR, i

més precisament durant tota la resta del segle passat i principis del present, la Immunologia ha estat estretament lligada a la Microbiologia, perquè les malalties infeccioses eren la principal causa patògena i les vacunacions i la sueroteràpia n'eren les millors eines preventives i terapèutiques. Veiem, doncs, com en els seus primers períodes la Immunologia consistia únicament en la prevenció i tractament serològic de les malalties infeccioses. La serologia microbiana era la tecnologia principal.

IMMUNOQUÍMICA (1920-1940)

No fou fins l'època d'en LANDSTEINER, amb l'estudi dels grups sanguinis, i posteriorment amb la utilització dels haptens com antigens (1920), que la Immunologia començà a deslligar-se de la Microbiologia. Es començava a delimitar una nova visió que es centrà gradualment en la Immunoquímica. Això no esdevingué per atzar, sinó que fou determinat en bona part pels grans avenços de la bioquímica durant la primera meitat d'aquest segle.

Durant les dècades de 1930 i 1940, la Immunoquímica constituí el tema de vanguardia de la Immunologia, desplaçant en certa manera els estudis immunològics de la relació inicial amb els germens patògens. Els estudis sobre la reacció antígen-anticòs eren objectius de recerca fonamentals. Molt probablement, aquestes recerques venien també influïdes pels grans avenços que en aquell període s'estaven produint en els estudis enzimàtics. D'altra part, l'enzimologia promovia i a la vegada s'enriquia dels estudis estructurals de les proteïnes.

Tornant a la Immunologia, no seria exagerat afirmar que els grans avenços

d'aquell temps sobre la química de les proteïnes inspiraren en gran manera a HAUROWITZ per a formular, el 1930, la teoria instruccionalista. Segons aquesta teoria, l'antigen transmet informació a l'organisme sobre com han d'ésser els anticossos que reaccionin amb ell. Es a dir, instrueix a l'organisme sobre quin tipus de reactivitat han de tenir els anticossos.

IMMUNOLOGIA CEL·LULAR (1940-1960)

Els treballs de LANDSTEINER sobre hipersensibilitat retardada i de MEDAWAR sobre Immunologia del transplantament obriren una nova temàtica centrada en l'anàlisi dels components cel·lulars del sistema immune. LANDSTEINER, al voltant del 1942, obtingué la transferència passiva de la immunitat per mitjà de la transferència cel·lular. P. MEDAWAR, entre els anys 1944 i 1953, demostrà que les cèl·lules limfocitàries eren les responsables del rebuig dels trasplantaments. Així mateix, pels treballs de MEDAWAR es feu palesa la possibilitat d'induir tolerància envers els òrgans o teixits estranys.

A partir d'aquests treballs experimentals, i fonamentalment amb la identificació dels limfòcits com a cèl·lules responsables de la immunitat específica, el focus d'interès immunològic es desplaçà gradualment cap a l'estudi dels components cel·lulars. Aquesta nova orientació fou molt fructífera i aviat es conegué quins eren els òrgans principals que constituïen el sistema immune. Així mateix, es pogué demostrar, al llarg dels anys següents, quines eren a grans trets les vies maduratives del sistema immune i també la heterogeneïtat limfocitària, sobretot la subdivisió dels limfòcits en dos grans tipus: els limfòcits T i B.

GENÈTICA MOLECULAR DEL SISTEMA IMMUNE (1960-1980)

Si bé els estudis cel·lulars i serològics havien mostrat que els limfòcits eren les cèl·lules centrals del sistema immune i que els anticossos eren les molècules principals dels mecanismes de defensa específica, des del punt de vista immunoquímic quedava encara per esbrinar l'estructura de les immunoglobulines. Aquest era un punt fonamental que no podia deixar-se de costat. Es creia que el seu coneixement aportaria la clau del que en aquell moment s'havia convertit en el principal problema de la Immunologia. Aquest problema consistia en conèixer l'origen de la diversitat dels anticossos.

En la resolució d'aquest problema es concentraren els principals esforços, aportant-hi tota la tecnologia disponible: des dels estudis estructurals en mielomes fins a les més variades tècniques cel·lulars, entre les que mereix especial atenció la tècnica de cèl·lules formadores de plaques, introduïda per N.K. JERNE.

Precisament N. K. JERNE havia proposat, l'any 1955, la teoria de la selecció natural per a explicar la formació d'anticossos. Aquesta teoria, contràriament a la hipòtesi instruccionalista proposada per HAUROWITZ, postulava que els limfòcits ja estaven compromesos a reaccionar específicament amb un antigen abans de tenir contacte amb ell. Es a dir, que la població limfocitària estava constituïda per milions de limfòcits, cada un d'ells capaç de reaccionar amb un antigen diferent. L'únic que hauria de fer l'antigen al penetrar en l'organisme seria seleccionar el limfòcit que fos capaç de reaccionar amb ell.

Una teoria semblant, encara que menys elaborada, havia ja estat propo-

sada per P. EHRLICH l'any 1900. Aquesta teoria es denominava de les cadenes laterals. En ella P. EHRLICH postulava que les cèl·lules tenien unes molècules al voltant de la membrana que serien capaces de reaccionar amb les substàncies estranyes. En els casos en que aquestes molècules o cadenes laterals reaccionessin amb els propis components de l'organisme es desencadenaria l'autoimmunitat, que en aquell temps P. EHRLICH denominava "horror autotòxicus". Aquesta hipòtesi de P. EHRLICH mai fou tinguda en consideració, sobretot després dels treballs de LANDSTEINER, en que demostrava que simples substàncies químiques amb molt poques diferències entre sí podien ésser discriminades pel sistema immune.

Contràriament al poc èxit de la teoria de P. EHRLICH, la proposada per N. K. JERNE, encara que rebutjada inicialment pels químics de proteïnes, trobà més acceptació, especialment per l'incipient grup de genètics moleculars. D'aquesta manera, la teoria de N. K. JERNE serví de base a F. MACFARLANE BURNET per a formular la hipòtesi de la selecció clonal en la formació d'anticossos.

Posteriorment a aquesta formulació es dissenyaren gran nombre de models experimentals per a verificar-la. Els resultats de les diverses pautes experimentals demostraren l'encert de la teoria de la selecció clonal, i això comportà que en el decurs del temps la teoria instruccionalista fos totalment abandonada.

No obstant, la teoria de la selecció clonal deixava encara plantejat l'enigma dels mecanismes genètics que originen la diversitat dels anticossos. Veiem, doncs, que el tema central de la Immunologia ja no era immunoquímic, ni tampoc cel·lular. El principal

problema de la Immunologia durant quasi vint anys ha estat un problema genètic.

Aquest problema podia ja abordar-se en aquell moment gràcies als ràpids avenços que s'efectuaven en el camp de la genètica molecular. Per a explicar l'origen de la diversitat dels anticossos es postulaven dues teories: la hipòtesi de la línia germinal i la de la mutació somàtica. La primera postulava que tots els anticossos estaven codificats en el genoma. La basada en la mutació somàtica, definia l'existència d'uns pocs gens que codificarien les parts variables de les immunoglobulines i que presentarien un alt grau de mutació somàtica.

La solució del problema de l'origen de la diversitat dels anticossos s'obtingué bàsicament a partir de l'aplicació de les tècniques de biologia molecular, que portà a terme principalment SUSUMU TONEGAWA. Aquest investigador descobrí que la diversitat s'originava fonamentalment per recombinació genètica dels gens codificadors de les regions constants i variables de les immunoglobulines. Tanmateix existeixen a més altres gens, denominats D (diversity) i J (joining) que intervenen també en el procés de recombinació genètica.

Si bé la recombinació genètica és el mecanisme fonamental per a originar la diversitat, es demostrà que existeixen altres mecanismes addicionals, tals com la mutació somàtica. Cal dir també que un cert nombre d'errors en el procés de recombinació genètica contribueix per altra via a amplificar la diversitat.

La solució del problema de l'origen de la diversitat significava la resolució d'un problema central de la Immunologia. Això va fer que creguessin molts investigadors que la Immunologia ha-

via arribat a la seva fi com a problema peculiar de la Biologia. Tanmateix quedaven encara molts problemes per a resoldre. Entre ells cal esmentar la inducció de la tolerància, l'estructura del receptor T, l'autoimmunitat i l'heterogeneïtat de les poblacions limfocitàries, per a citar tan sols alguns del més rellevants.

Malgrat aquest gran nombre de problemes, pot afirmar-se que en la dècada dels 80 s'ha avançat molt en la solució de bastants d'ells. En la actualitat es coneixen ja alguns dels mecanismes que indueixen a la tolerància. Es coneix també amb molta més precisió la complexitat dels processos autoimmunes, i gràcies al creixent coneixement dels marcadors de membrana es delimita millor la gran heterogeneïtat de les poblacions limfocitàries.

Els canvis temàtics que hem exposat s'han centrat únicament en els que hem considerat problemes cabdals de la Immunologia en el curs del temps. Tanmateix no hem d'oblidar que a més dels temes exposats, la Immunologia ha tractat molts altres problemes, els quals s'han desenvolupat seguint un camí paral·lel al dels temes comentats, i reflectint també la dinàmica canviant de la Immunologia. Obviament, l'estudi d'aquests problemes implicava també la posta a punt d'una gran diversitat tecnològica.

Entre els temes que no hem abordat cal esmentar les reaccions de hipersensibilitat immediata i anafilàctiques, on es comprova que les reaccions immunes poden resultar lesives per a l'organisme. Aquest concepte fou posteriorment confirmat amb la descripció de les primeres malalties autoimmunes.

Els mecanismes de citotoxicitat, les reaccions d'hipersensibilitat retardada,

l'estudi del sistema principal d'histocompatibilitat i l'anàlisi i descripció dels factors que integren el sistema del complement són altres mostres de la

complexitat temàtica de la Immunologia que s'ha anat desenvolupant al llarg del temps.

CONSIDERACIONS SOBRE LA PROBLEMÀTICA ACTUAL

Aquesta diversitat tecnològica que s'ha exposat explica en gran manera el fet de que hagi estat difícil pels investigadors i especialistes d'altres disciplines poder seguir acuradament els avenços que s'anaven produint en el camp de la Immunologia. Al marge de que una terminologia molt pròpia fos motiu de confusió en els no iniciats, el fet de que el sistema immune tingui una problemàtica peculiar i diferenciada de la resta de sistemes biològics ha dificultat també la comprensió de la Immunologia pels especialistes d'altres disciplines.

Aquesta problemàtica peculiar es centra en dos temes fonamentals: la diversitat del sistema de reconeixement i el problema de la discriminació entre el propi i el no propi. L'origen de la diversitat, tal com hem vist, en la actualitat està ja resolt. El segon punt implica els problemes de la tolerància i l'autoimmunitat, que no estan encara totalment resolts. Sembla que tan l'un com l'altre poden ésser motivats per diversos mecanismes. En la actualitat aquests dos problemes són focus molt actius de recerca i s'estan projectant models experimentals i patològics molt diversos per a abordar-los.

Conjuntament amb aquests dos grans temes, han sorgit alguns camps d'estudi dins de la Immunologia que avui dia són focus de recerca molt actius. A continuació passaré a anunciar-los i comentar-los encara que sigui en forma molt breu:

Òrgans del sistema immune

Tan els òrgans primaris com secundaris del sistema immune són encara motiu d'intensa recerca. Si bé s'accepta que el timus es l'òrgan principal de maduració tímica i el moli d'os és l'òrgan de maduració dels limfòcits B, es desconeixen encara molts aspectes d'aquests processos. No es sap encara amb precisió com es duen a terme els processos d'educació i maduració tímics. Tampoc es coneixen les possibles vies de maduració extratímiques. Pel que fa als limfòcits B, són motiu d'intensa recerca els factors que intervenen en la maduració d'aquestes cèl·lules i el coneixement del microambient que necessiten per a madurar.

Pel que pertoca als òrgans perifèrics, en la actualitat s'estan descrivint les molècules de membrana que juguen un paper important en la migració dels limfòcits en les zones T i B dels ganglis limfàtics i de la melsa.

Heterogeneïtat cel·lular

Dins del camp de les poblacions limfocitàries, en l'actualitat s'està aprofundint en la possible existència de subpoblacions de cèl·lules T i de limfòcits B. Així mateix, s'estan analitzant els mecanismes intracel·lulars mitjançant els quals els limfòcits B actuen com a cèl·lules presentadores d'antigen. Altre punt de gran interès consis-

teix en desxifrar quines són les estructures de reconeixement de les cèl·lules NK (natural killer).

Immunoglobulines

Si bé l'estructura de les immunoglobulines és totalment coneguda, actualment s'estan efectuant estudis moleculars per a conèixer els mecanismes genètics que regulen la recombinació dels gens de les immunoglobulines. Així mateix, s'estan estudiant els mecanismes reguladors de la transcripció d'aquests gens i els factors que determinen els isotips de les immunoglobulines.

Histocompatibilitat

El descobriment l'any 1974 de la restricció MHC, es a dir, la necessitat de que els antigens estranys es lliguin a les molècules d'histocompatibilitat pròpies per a ésser reconegudes per les cèl·lules T, implicà l'obertura de noves vies de recerca. Entre aquestes cal destacar les formes de processament intracel·lular de l'antigen i les vies d'acoplament als antigens d'histocompatibilitat.

Altres temes d'interès, encara que extraordinàriament difícils d'abordar, és el coneixement de la base molecular que permeti explicar l'associació entre els antigens HLA i la susceptibilitat a patir de certs tipus de malalties, la majoria d'elles de caràcter autoimmune.

Antigens de diferenciació

L'estudi de les glicoproteïnes de membrana és un dels camps més actius de la Immunologia humana. L'estudi de la seva estructura i funció està permetent conèixer els mecanismes d'interacció cel·lular.

Així mateix, permet també delimitar la diversitat funcional de les diverses subpoblacions limfocitàries. Dins l'estudi d'aquesta diversitat funcional destaca la caracterització de les cèl·lules memòria. Darrerament s'estan descrivint diversos marcadors de membrana que sembla que caracteritzen una població limfocitària que podria correspondre a les cèl·lules memòria.

L'estudi de les glicoproteïnes de membrana ha aportat també moltes dades pel coneixement dels mecanismes de transducció de senyals a l'interior de la cèl·lula. Dintre d'aquest context s'ha evidenciat que varies glicoproteïnes de membrana tenen activitats quinasa o fosfatasa, que impliquen poder catalitzar algunes de les fosforilacions i defosforilacions proteiques que tenen lloc durant l'activació limfocitària.

Receptor de cèl·lules T

Malgrat que l'estructura del receptor de l'antigen en les cèl·lules T es coneix amb força detall, s'ha demostrat que aquest receptor està unit a tota una sèrie de molècules que formen un complex molecular denominat CD3. Algunes d'aquestes molècules transduïxen senyals a l'interior de la cèl·lula. A més, s'ha observat que altres proteïnes de membrana que activen a la cèl·lula T o B necessiten de la presència del complex CD3 per a portar a terme la seva funció. En l'actualitat és motiu de recerca activa la relació entre aquestes molècules i l'anàlisi del tipus de senyal que transmet el complex CD3.

Interleucines

Per últim, cal remarcar els avenços que s'estan produint en la descripció i caracterització de les interleucines.

S'han descrit ja més de 15 i una característica sorprenent és el fet que la seva acció, en general, no es limita al sistema immune sinó que són molècules pleiomòrfiques. Aquest aspecte és molt important, doncs les interleucines poden representar la base molecular del lligam entre el sistema immune i la resta dels sistemes de l'organisme.

PERSPECTIVES

Tenint en compte el dinamisme de la Immunologia que hem exposat, ens podem preguntar quins podrien ésser els camps d'estudi de la Immunologia en un futur immediat. A grans trets es pot considerar que les futures àrees de recerca de la Immunologia poden englobar-se en quatre grans camps: 1) Biologia cel·lular; 2) Biologia del desenvolupament; 3) Relacions amb la resta de sistemes de l'organisme, i 4) Anàlisi de sistemes. Comentaré per separat cada un d'aquests quatre aspectes.

1) Biologia cel·lular:

En l'actualitat un dels camps més actius de la Immunologia és el que fa referència a les vies i senyals d'activació. La descripció d'alguns d'aquests sistemes en el sí del sistema immune ha estat d'utilitat per al seu coneixement en la resta de sistemes biològics i viceversa. La descripció de receptors de membrana, factors de creixement i els seus mecanismes de interacció han estat útils per a comprendre els que actuen en el sistema immune.

Sense cap dubte, l'aprofundiment en aquests temes aportarà dades per a un millor coneixement de fenòmens, tan els immunològics com la tolerància i els possibles mecanismes de supressió. Dins d'aquest camp s'han

d'esmentat també els estudis sobre les relacions entre les glicoproteïnes de membrana, els fenòmens d'adhesió, les senyals de transducció i els canvis que es produeixen en el citoesquelet en el decurs de l'activació limfocitària.

2) Biologia del desenvolupament:

La *drosophila* ha estat molt utilitzada en els estudis sobre la biologia del desenvolupament, degut en gran part a que es l'organisme sobre el qual es té més informació genètica. Aquest fet ha convertit a la *drosophila* en l'organisme d'elecció en els estudis de biologia del desenvolupament.

El mateix pot succeir amb el ratolí, que ha estat l'organisme d'elecció en l'estudi del sistema immune. Les dades sobre el sistema immune i parcialment també sobre la genètica d'aquest organisme són tan amplis que el ratolí pot servir també com a model en l'estudi de la biologia del desenvolupament. En aquest cas, els estudis es concentrarien molt probablement en la biologia del desenvolupament del sistema immune. Aquestes recerques, si es porten a terme, vindrien sens dubte facilitades per la utilització de ratolins transgènics.

3) Relacions amb la resta de l'organisme

Una de les dades més sorprenents d'aquests darrers anys, ha estat la troballa de que les interleucines, considerades inicialment com a factors de creixement o diferenciació específics del sistema immune, poden actuar sobre gran nombre de tipus cel·lulars pertanyents a altres sistemes de l'organisme. També al contrari, factor solubles produïts per cèl·lules d'altres sistemes poden actuar sobre les cèl·lules del siste-

ma immune. Aquest pleotropisme aporta una base molecular a les interaccions del sistema immune amb altres sistemes de l'organisme. Cal considerar, doncs, que les recerques sobre les interleucines constituïran una via per a conèixer com canvis en altres sistemes de l'organisme poden actuar sobre el sistema immune i al contrari. Una dada molt rellevant d'aquestes interaccions es la gran prevalència de les malalties autoimmunes en les femelles. Aquesta interrelació entre sistema endocrí i sistema immune és tan sols una mostra de les que poden aportar els estudis a nivell molecular de les interaccions entre els diversos sistemes.

Anàlisi de sistemes:

Un dels problemes més difícils d'abordar en tot sistema biològic és el de la seva regulació. En el sí de la Immunologia s'han proposat varies formes de regulació. Una d'elles, no exposada mai en forma explícita i coherent, es centra en el paper que pot desenvolupar l'equilibri entre cèl·lules col·laboradores i supresores en la regulació del sistema immune.

Altra hipòtesi sobre la regulació fou exposada en forma precisa i coherent

per N. K. JERNE (1974). Aquesta hipòtesi postula l'existència d'una xarxa d'interaccions idiotip/anti-idiotip com a mecanisme regulador del sistema immune. Sens dubte, aquesta teoria ha abordat en forma clara el problema de considerar el sistema immune com un tot, en contra de les últimes tendències experimentals centrades en l'estudi detallat i per separat dels diversos elements que integren el sistema immune.

Un tercer postulat defensat per J. GRAS consisteix en considerar la relació entre quantitat d'antigen i d'anticòs específic com a eix fonamental de la homeostasi immunològica.

Molt probablement, l'anàlisi del sistema immune com a un sistema global amb les seves propies lleis queda enmarcat dins d'una problemàtica que és comú a altres sistemes biològics, els quals es caracteritzen precisament per la seva complexitat. De la mateixa manera que la demostració de lleis generals que regulin el sistema immune serà de gran valor per a la resta de sistemes experimentals, no hi ha cap dubte de que la complexitat i interrelació dels sistemes biològics representaran factors de dificultat en la recerca d'aquestes lleis generals.