

ACADEMIA IBEROAMERICANA DE FARMACIA
GRANADA-SEVILLA

**“INMUNOLOGÍA MICROBIANA: EN LA FRONTERA
ENTRE DOS CIENCIAS”**

DISCURSO
PRONUNCIADO POR EL

ILMO. SR. D. ALFONSO RUIZ-BRAVO LÓPEZ

EN EL ACTO SOLEMNE DE RECEPCIÓN COMO
ACADÉMICO CORRESPONDIENTE

EL DÍA 27 DE ENERO DE 2.004

Y

CONTESTACIÓN DEL

EXCMO. SR. D. FRANCISCO RUIZ BERRAQUERO

GRANADA 2.004

**INMUNOLOGÍA MICROBIANA:
EN LA FRONTERA ENTRE DOS CIENCIAS**

DISCURSO

PRONUNCIADO POR EL

ILMO. SR. D. ALFONSO RUIZ-BRAVO LÓPEZ

Granada, 2004

Dedico estas reflexiones sobre ciencia a mi Padre, que siempre amó el conocimiento y que se maravillaba del complejo y exacto funcionamiento de la maquinaria biológica, y agradezco a todas aquellas (muchas) personas que me han ayudado en mi vida profesional, destacando, sobre todas ellas, a mi esposa María, que tomó en su momento el relevo de mi Madre como fuerza impulsora, y que comparte conmigo, desde hace más de veinte años, la emoción de descubrir algunos de los más pequeños secretos de la naturaleza.

Excmo. Sr. Presidente de la Academia Iberoamericana de Farmacia,
Ilmos. Sres. Académicos,
Queridos amigos y compañeros,
Señoras y Señores,

En primer lugar, gracias a todos por estar presentes en este acto, y gracias, muy especialmente, a la Academia Iberoamericana de Farmacia, por contarme desde hoy entre sus miembros. Es un honor que sólo puedo atribuir al afecto de quienes me propusieron, y al que solo puedo corresponder ofreciendo mi esfuerzo y mi entusiasmo al servicio de esta Institución. Es sin duda este uno de esos momentos que piden el recuerdo de todos los que, en diversos momentos de la vida, nos ofrecieron su esfuerzo, su consejo o, simplemente, su compañía. Familia, maestros, amigos, ... de todos me encuentro deudor, con aquella clase de deudas que engrandecen el ánimo, porque nos hacen sentirnos siempre acompañados en el camino. Algunos faltan ya, otros continúan a mi lado; no los nombraré individualmente, porque cada uno de ellos sabe que, de una forma o de otra, están siempre conmigo. Si debo, en cambio, en este foro, mencionar mi reconocimiento a dos Profesores de Microbiología que, además de figurar por derecho propio entre los mejores amigos de los que hacía mención, tienen que ver muy directamente con este acto. Alberto Ramos Cormenzana, además de haberme guiado durante muchos años tanto en la docencia como en la investigación, es el principal responsable de mi presencia aquí; y Francisco Ruiz Berraquero, cuyo inimitable estilo docente ha subyugado siempre a quienes hemos tenido la suerte de conocerle, ha aceptado ser quien responda al reglamentario discurso de recepción. El hecho de que me acompañen hoy, junto a otras personas igualmente cercanas, da a este acto un sentido entrañable para mí.

En octubre de 1973, un alumno de quinto curso de la licenciatura de Farmacia solicitaba a su profesor de Microbiología entrar en el Departamento, como alumno interno, e iniciar una Tesina de Licenciatura. El profesor era Alberto Ramos, recién llegado de Barcelona para ocupar la cátedra que había dejado vacante su maestro, Vicente Callao Fabregat. El alumno era yo.

En la década de los 70, la Inmunología estaba iniciando el espectacular despegue que la llevaría, durante años sucesivos, a ocupar las posiciones más destacadas en las publicaciones científicas de mayor prestigio. Y la Microbiología no era ajena a ese despegue. Alberto Ramos, siempre atento a los progresos de la ciencia microbiológica, estaba especialmente interesado en los trabajos de varios investigadores, entre los que sobresalía el oncólogo francés Georges Mathé, sobre la capacidad de algunos microorganismos y fracciones microbianas para estimular, de forma no específica, los mecanismos inmunitarios. La inmunopotenciación por microorganismos parecía abrir nuevas perspectivas en la inmunofarmacología, incluyendo la inmunoterapia del cáncer.

Aunque buena parte de aquellas esperanzas se vieron frustradas con el paso de los años, lo cierto es que la investigación sobre inmunomoduladores de origen microbiano, rebautizados con las denominaciones más modernas de “agentes modificadores de la respuesta biológica” e “inmunomodulinas”, ha persistido vigorosa hasta nuestros días. Para mí, esta fue la puerta a través de la cual entré en contacto con las realidades de la ciencia experimental. Y era una puerta abierta a una fértil aunque poco explorada parcela, en la ancha frontera entre dos ciencias. Han transcurrido tres décadas desde entonces, y, en mi modesta actividad investigadora, he sido testigo de algunos de los avances más fascinantes en el conocimiento del mundo de los microorganismos y en el de las complejas redes de células y moléculas que nos permiten subsistir entre ellos. En esta mi intervención de hoy ante ustedes quisiera recordar sucintamente algunos de esos avances, no ya como mero ejercicio de memoria, sino, sobre todo, como testimonio de reconocimiento a maestros, compañeros, colaboradores y a la propia Universidad, que me han ofrecido el privilegio de vivir, aunque haya sido en muy modesta escala, lo que Severo Ochoa denominaba, tan acertadamente, “la emoción de descubrir”, la fascinación, en suma, de la ciencia.

1. LOS ORÍGENES.

El conocimiento de la existencia de enfermedades transmisibles es la raíz común de la Microbiología y la Inmunología, y se remonta sin duda más allá de los tiempos históricos. La ciencia aparece como tal cuando se plantean las primeras preguntas racionales, en demanda de explicaciones lógicas que establezcan relaciones causa-efecto. Y estas preguntas solo son posibles en un marco cultural adecuado; antes de que tal entorno exista, solo pueden aparecer las figuras aisladas y escasamente influyentes, por no comprendidas, de algunos precursores. Este fue el caso de Fracastoro de Verona. En el s. XVI, Girolamo Fracastoro escribía sobre gérmenes que causaban enfermedades contagiosas... Sus profetizados gérmenes no llegaron a materializarse en entes físicos hasta el siglo siguiente, bajo las nítidas lentes de aumento fabricadas con paciencia y esmero por Anthony van Leeuwenhoeck. Ni siquiera entonces, entre los siglos XVII y XVIII, puede hablarse de auténtica ciencia de los microorganismos, dado que nadie parecía interesado en encontrar un significado a los recién descubiertos seres, ni nadie se planteaba preguntas sobre las peculiaridades de su existencia.

De forma igualmente empírica, a lo largo del s. XVIII se impulsó la práctica de la inmunización frente a la viruela, culminando con la conocida publicación de Edward Jenner “Inquiry into the cause and effects of the variolae vaccinae”, en 1798. Hubo que esperar hasta mediados del siglo siguiente para que se iniciase el abordaje científico del mundo de los microorganismos, la identificación de los que causan enfermedades y la posibilidad de aprovechar la capacidad de defensa del organismo para obtener la tan ansiada inmunidad. Abordaje que fue capitaneado por Louis Pasteur, un químico que en 1850 se interesaba por los isómeros ópticos del ácido tartárico ... La concatenación de cuestiones que le llevaron desde los cristales ópticamente activos hasta las vacunas frente al carbunco o la rabia es, sin duda, una de las historias más interesantes de las ciencias biomédicas. De cómo el espíritu científico se apoderaba del estudio de la inmunidad da cuenta el hecho de que, al terminar el s. XIX, ya contendían entre sí dos grandes teorías que trataban de explicarla: Ellie Metchnikoff, impresionado por la actividad de las células fagocíticas infiltradas en los tejidos en el curso de las reacciones inflamatorias, fue el adalid indiscutible de la denominada “teoría celular”, mientras que

los sucesivos hallazgos del sistema del complemento, capaz de lisar bacterias Gram-negativas, y de anticuerpos neutralizantes de exotoxinas tan letales como las de la difteria y el tétanos, incorporaron otros nombres ilustres (Jules Bordet, Paul Ehrlich, Emil Von Behring, Shisaburo Kitasato) como líderes de la “teoría humoral”. La controversia no terminó en empate (que, desde nuestra perspectiva actual, hubiese sido lo justo): la teoría humoral terminó por imponerse, lo que tuvo importantes consecuencias. El marco teórico, en el que la mayoría de los científicos se instala a la hora de proponer nuevas hipótesis, favorecía la investigación sobre anticuerpos y factores humorales; la capacidad tecnológica también se decantaba en el mismo sentido, ya que trabajar con células en una época en la que no se sabía cómo cultivarlas ni apenas era posible mantenerlas con vida *in vitro* durante algún tiempo, resultaba ciertamente más complicado que hacerlo con sueros, susceptibles de manipulaciones ya desarrolladas por la fisicoquímica. Ello explica que, durante más de 50 años, fueran escasos los avances en el conocimiento de la inmunidad celular, mientras que la serología progresaba y, con ella, el estudio de las inmunoglobulinas ocupaba las páginas centrales de los tratados sobre Inmunología¹.

Mientras tanto, la Microbiología extendía su progreso a una diversidad de áreas. La mayor parte de los agentes causales de infecciones bacterianas habían sido identificados al comenzar el siglo XX (neumococo, estreptococos, estafilococos, meningococo, gonococo, agentes de la peste, la brucelosis, el carbunco, la tuberculosis, la lepra, la sífilis, etc...). El estudio de los virus se había instaurado a partir de los hallazgos de Ivanowsky y Beijerinck. Las dos jóvenes Ciencias entraban en su mayoría de edad, en camino hacia los espectaculares avances que aguardaban en la segunda mitad del s. XX.

2. DOS CAMINOS DIFERENTES...

2.1. Microbiología: los hechos van por delante.

La genética lleva la batuta.

La mitad del s. XX conoció algunos progresos que cambiaron nuestra forma de ver y entender el mundo de los microorganismos. Por ejemplo, la microscopía electrónica data de los años 30, pero las primeras micrografías de secciones finas de bacterias fueron obtenidas en 1953, por Chapman e Hiller². Pero, si hay que buscar un cambio crucial asociado a la investigación bacteriológica, lo encontramos, sin duda, en la genética bacteriana. Aunque hubo importantes pasos previos, su nacimiento se asocia, generalmente, con la publicación, en 1943, del célebre "test de las fluctuaciones" de Luria y Delbrück², que, aplicado al caso concreto de la aparición de mutantes resistentes a un bacteriófago, permitió demostrar el carácter aleatorio de las mutaciones. Un año después, Avery, Macleod y McCarty demostraron que la información genética está contenida en el DNA, cuya estructura de doble hélice quedaría establecida por Watson y Crick en 1953. En 1961, Jacob y Monod propusieron el operón como modelo de regulación de la expresión génica en bacterias, y ese mismo año se confirmó la existencia del ARN mensajero y se desveló el código genético. Los avances conceptuales parecían ir de la mano de los hechos científicos, pero se preparaba una auténtica revolución tecnológica que, durante bastante tiempo, tomaría claramente la delantera a las propuestas teóricas. Smith y Wilcox descubren, en 1970, las endonucleasas de restricción, las herramientas necesarias para iniciar la era del DNA

recombinante. El primer plásmido híbrido, obtenido en el laboratorio, fue introducido en células de *Escherichia coli* en 1973 por Cohen, Chang, Boyer y Helling². La ingeniería genética era ya una realidad, que pondría inmediatamente al servicio del ser humano unas perspectivas casi ilimitadas de aplicaciones biotecnológicas. Los avances técnicos se sucedieron a un ritmo vertiginoso, suministrando herramientas cada vez más poderosas, de las que no podemos por menos que mencionar dos de especial trascendencia: la posibilidad de amplificar secuencias génicas mediante la reacción en cadena de la polimerasa, introducida por Mullis en 1983 y seguida de una diversidad de procedimientos similares; y la secuenciación automatizada del DNA, que, con la incorporación de eficientes programas informáticos, inauguró la genómica bacteriana con la secuenciación, en 1995, del cromosoma de *Haemophilus influenzae*, por un equipo bajo la dirección de Craig Venter y Hamilton Smith. La genómica está cambiando, en alguna extensión, nuestra forma de entender a los seres vivos y, en concreto, a los microorganismos. Esta nueva visión si está aportando aquellos marcos teóricos en los que la Microbiología parecía desfasada en comparación con la Inmunología. Los genomas bacterianos se contemplan como un "núcleo" ("core") de genes esenciales (que codifican los rRNAs, las ATP-asas y otros procesos metabólicos fundamentales) y una constelación de islas genómicas, que albergan genes cuyas funciones definen la adaptabilidad de la bacteria para explotar diversos nichos ecológicos (genes de resistencia a agentes químicos, degradación de compuestos, secreción, simbiosis, patogenicidad, etc.) y que han llegado al genoma por transferencia lateral. La genómica comparada ha confirmado algunas ideas sobre el origen y evolución de las bacterias patógenas. En efecto, la patogenicidad requiere la adquisición de nuevos genes, que codifican factores de virulencia, pero también la delección de ciertas secuencias puede exaltar la virulencia (y no ser meramente el resultado de una pérdida de funciones, por ejemplo biosintéticas, que son suplantadas por el hospedador). La comparación de genomas revela que el de *E. coli* K-12 (no patógeno) contiene 0.54 Mb que no están presentes en el serotipo patógeno O157:H7 (enterohemorrágico o verocitotóxico), pero a su vez este posee 1 Mb de DNA ausente en las cepas K-12. Estas diferencias representan alrededor de un tercio de los respectivos genomas, pese a lo cual ambas bacterias son indiscutiblemente identificables como pertenecientes a la especie *E. coli*. Desde el punto de vista evolutivo, los genomas bacterianos actuales se consideran como el resultado de dos fuerzas selectivas: la eficiencia metabólica, que se incrementa conforme más reducidos son los genomas, y la adaptabilidad, que al promover la persistencia de genes de utilidad ocasional (en función de factores ambientales) tiende a incrementar los contingentes génicos.

El gen que codifica el rRNA 16S.

El estudio sistemático de los microorganismos necesita su clasificación en taxones, de acuerdo con criterios que aseguren apropiados niveles de homogeneidad en cada taxón. Clásicamente, la clasificación de las bacterias se ha basado en criterios fenotípicos, ya que estos eran los únicos asequibles, y el sueño de conseguir una clasificación "natural", basada en las relaciones filogenéticas establecidas a lo largo de la evolución, era precisamente eso, un sueño. La incorporación gradual de algunos criterios muy generales y poco exactos, como el índice G + C, no alteró significativamente los esquemas; pero entre los años 70 y 80, la actividad de Woese se tradujo en una auténtica ruptura, cuyo rasgo más característico fue la recusación de la dicotomía de procariontes y eucariontes para establecer una tríada de máximos taxones: bacterias, arqueas y eucariontes. Esta revolución conceptual se apoyaba en gran medida

en el análisis del gen que codifica el rRNA 16S, mediante el uso de sondas apropiadas. El éxito de esta aplicación se debe a la coexistencia en el rDNA de partes muy conservadas durante la evolución y partes que muestran un mayor grado de variación; las primeras son útiles para reconstruir la filogenia de taxones alejados entre sí, las segundas permiten clasificar especies dentro de un género. La taxonomía bacteriana que, por su general aceptación, pudiéramos denominar “oficial”, expresada en los manuales “Bergey”, se tomó su tiempo antes de aceptar el análisis del rDNA como criterio fundamental para establecer una clasificación filogenética, pero, finalmente, lo hizo en la 2ª edición del del "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", cuyo primer volumen, aparecido en 2001, acepta los dominios *Archaea* y *Bacteria* y propone un total de 25 grandes grupos (*phyla*), dos en el dominio *Archaea* y 23 en el dominio *Bacteria*. Pero, si el espíritu científico de los microbiólogos de mi generación ha podido asistir a este proceso con la satisfacción de llegar a vivir la tan ansiada aspiración de la clasificación natural, la vocación docente se ve comprometida en el difícil reto de hacer accesible a los alumnos unos esquemas taxonómicos notoriamente complejos, en comparación con los que se manejaban hace unos pocos años.

Los microorganismos patógenos toman contramedidas.

La capacidad de las bacterias para generar resistencias que invalidan el empleo de agentes antimicrobianos se puso de manifiesto desde la introducción de estos en la terapia de los procesos infecciosos. Si en 1932 Domagk introdujo la primera sulfonamida, sólo cinco años después se tenía noticia de la aparición de cepas resistentes de *Neisseria gonorrhoeae*. El primer antibiótico utilizado en medicina humana, la penicilina, lo fué en 1940 (21 años después de su descubrimiento por Fleming), y ya en 1941 se detectaban las primeras resistencias. De forma similar, el descubrimiento de la estreptomocina, en 1944, fue seguido por la detección de resistencias, sólo un par de años después. Sin embargo, el relativamente rápido ritmo de descubrimiento e introducción de nuevas familias de agentes antibacterianos alimentó durante años el sueño de un control casi total sobre las enfermedades infecciosas, y eso que la década de los 60 conoció la identificación de los factores R, plásmidos conjugativos portadores de resistencias, frecuentemente múltiples (frente a varias clases de antimicrobianos), y la aparición de las primeras cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. Como microbiólogo, yo viví esa época de injustificada autocomplacencia, hasta que, en los últimos tiempos, hemos debido reconocer la dura realidad: las bacterias parecen ser más rápidas y eficaces en sus contramedidas que los investigadores en sus esfuerzos por mantener la supremacía de la terapia antimicrobiana. Es fácil citar algunos ejemplos inquietantes, como la aparición de cepas multirresistentes de *Mycobacterium tuberculosis*, entre ellas la famosa cepa W del genotipo Beijing, resistente a isoniazida, estreptomocina, rifampicina, etambutol, kanamicina y otros agentes antituberculosos, lo que ha causado, en algunos brotes, hasta un 74% de mortalidad. La emergencia de *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA) ha supuesto otro desafío. Respecto de las bacterias gramnegativas, deben mencionarse las cepas de meningococos resistentes a penicilinas y de gonococos resistentes a las nuevas quinolonas; asimismo, cepas de *Pseudomonas* han desarrollado resistencia a cefalosporinas; y se ha documentado repetidamente la incidencia de multirresistencias en *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter baumannii* y *Burkholderia cepacia*, de suerte que algunas de tales cepas llegan a ser prácticamente inatacables por los agentes antimicrobianos conocidos, lo que resulta especialmente grave por su elevada incidencia en sujetos inmunocomprometidos y

enfermos en unidades de cuidados intensivos. Pero la ciencia no es amiga de transmitir mensajes descorazonadores, y los profesores de Microbiología tenemos hoy el compromiso de informar sobre las respuestas que tenemos a nuestro alcance, entre ellas, la ampliación y mejora del arsenal terapéutico, basada en los avances de la química combinatoria y en el descubrimiento de nuevas dianas en las estructuras y funciones bacterianas; y la observancia de unos criterios racionales en la prescripción y uso de medicamentos antimicrobianos.

2.2. Inmunología: una ciencia dominada por las construcciones teóricas.

Las inmunoglobulinas y la generación de la diversidad.

La primera mitad del s. XX fue, para los inmunólogos, el reino de la serología y de los anticuerpos. En 1939, Tiselius y Kabat encontraron que las moléculas con actividad anticuerpo son, por su movilidad electroforética, gammaglobulinas. Ya por estos años se percibía la necesidad de una teoría que explicase la notable diversidad de especificidades reconocidas por los anticuerpos; admitiendo que la especificidad debiera requerir una complementaridad geométrica entre los respectivos sitios de unión de antígenos y anticuerpos, la respuesta más plausible residía en la llamada “teoría instructiva”: los antígenos (o las partes específicas de ellos, es decir, sus epítopes) actuarían como moldes sobre los que se construiría la parte específica (complementaria) del anticuerpo. Esta explicación fue apadrinada, entre otros, por Pauling y Landsteiner (1940). Sin embargo, en los años 50 se sabía que las moléculas de anticuerpos eran sintetizadas como cualquier otra proteína, lo que hacía difícil la aceptación de una teoría instructiva³. En 1959 apareció la obra de Burnet proponiendo una teoría de selección clonal, inspirada en una propuesta anterior de Jerne: las células productoras de anticuerpos, organizadas en clones, poseen en su superficie receptores específicos; los linfocitos de cada clon llevan receptores de una única especificidad; cuando llega el antígeno, se une a los receptores específicos para él, seleccionando para la respuesta aquellos clones con las especificidades adecuadas⁴. Recuerdo haber utilizado repetidas veces en clase la ingeniosa metáfora de Ivan Roitt para explicar las dos teorías: un antígeno viene representado por una persona que puede hacerse un traje a la medida (teoría instructiva), o puede probarse gran número de trajes previamente confeccionados, para elegir aquél que le sienta mejor (teoría selectiva). A partir de 1958, los minuciosos estudios de diversos investigadores, entre los que descuellan los nombres de Porter y Edelman, revelaron que una inmunoglobulina está constituida por cuatro cadenas polipeptídicas, dos mayores, las cadenas pesadas (H), y otras dos menores, las ligeras (L). Y en 1965 se publicó el primer estudio detallado de secuencias de aminoácidos de proteínas de Bence-Jones, equivalentes a cadenas L, estableciendo la existencia de zonas constantes y zonas variables: era el primer paso para establecer las bases estructurales de la especificidad de los anticuerpos, que inclinaría definitivamente la balanza a favor de la teoría de selección clonal⁵. Pero se planteaba una nueva disputa: ¿cómo se codificaba tanta diversidad de especificidades? Una posible respuesta admitía la existencia de un gen distinto para cada especificidad, lo que equivalía a la existencia de más de un millón de genes codificando partes variables de cadenas L y H; esta teoría de multigenes en la línea germinal fue modificada por Dreyer y Bennett, postulando la novedosa idea de que cada cadena (L o H) estaría codificada, no por un gen, sino por dos, de los cuales uno correspondería a la parte constante y otro a la variable; en la línea germinal, existiría un gen C para cada región constante y un gen V para cada uno de los millones de partes variables, y en las células B ocurriría la recombinación de los genes

C de cada cadena con genes V elegidos al azar. Por tanto, la teoría de la línea germinal incorporaba, en el modelo de Dreyer y Bennet, la novedad de la recombinación somática. Alternativamente, la teoría de la mutación somática proponía la existencia de pocos genes para partes variables, pero conteniendo “puntos calientes” que promoverían mutaciones suficientes para generar anticuerpos de cada especificidad; es decir, cada individuo produciría su propio repertorio de especificidades “de novo”. Gally y Edelman propusieron una alternativa al modelo de recombinación somática, según la cual unos pocos genes para partes variables se recombinarían con los genes de partes constantes, y las imprecisiones en la recombinación generarían el repertorio de especificidades. La solución no se hizo esperar demasiado: en 1976, Honjo y Tonegawa⁶, aplicando técnicas de hibridación de DNA, demostraron que los genes que codifican partes variables y constantes se encuentran distantes en la línea germinal, pero una reorganización del DNA los sitúa contiguos en las células productoras de anticuerpos. Este trabajo inició una exhaustiva prospección de los genes de las inmunoglobulinas, estableciendo los distintos acontecimientos de recombinación que, a partir de un determinado número de fragmentos V y J, para las cadenas L, y V, D y J, para las H, son capaces de generar el repertorio completo de especificidades. Es ilustrativo que uno de los más importantes avances tecnológicos que me ha sido dado contemplar en mi vida profesional, la obtención de hibridomas productores de anticuerpos monoclonales, apareciese como un resultado colateral de los esfuerzos de César Milstein y sus colaboradores por dilucidar los mecanismos de recombinación y expresión de los genes de inmunoglobulinas⁷.

Cooperación celular: antígenos de histocompatibilidad, receptor de células T y presentación de antígenos.

Ante el espectacular desarrollo actual de la inmunología, no deja de resultar sorprendente que hasta la década de los 60 no se conociese qué funciones pudieran realizar los linfocitos. Los experimentos de Raff demostraron que la eliminación de gran número de linfocitos desde el canal torácico de la rata tiene efectos inmunosupresores, que estos linfocitos son capaces de transferir inmunidad específica de una rata inmunizada a otra virgen, y que son poblaciones de células heterogéneas, algunas de las cuales poseen inmunoglobulinas en la superficie celular, mientras que otras no⁸. Al finalizar la década, se habían identificado las dos poblaciones linfocitarias: las células B, productoras de inmunoglobulinas y responsables de la inmunidad humoral, y las células T, generadas en el timo y mediadoras de la inmunidad celular. Pero los papeles que cada tipo de célula debía jugar en la respuesta de anticuerpos frente a los antígenos llamados timodependientes no estaban claros, lo que dio juego para un notable número de especulaciones y modelos teóricos que pretendían explicar los mecanismos de cooperación entre la subpoblación T “helper” (T_H) y los linfocitos B. Algunos autores postulaban que la activación de los linfocitos B precisaría de dos señales, una primera, específica, generada por la unión del antígeno al receptor inmunoglobulínico de superficie, y una segunda, inespecífica, procedente de la interacción con células T_H ; otros defendían la existencia de una única señal, mitogénica, consecuencia del entrecruzamiento de varios receptores inmunoglobulínicos unidos a los determinantes antigénicos, que se presentarían repetidos en los antígenos multiméricos (antígenos timoindependientes, con mitogenicidad intrínseca), o cuyo entrecruzamiento (en el caso de antígenos timodependientes) resultaría de su concentración en la superficie de células T_H . Esta controversia ha quedado fielmente reflejada en las sucesivas ediciones de textos de inmunología como el debido a Roitt⁹.

Otros enigmas inmunológicos iban a confluír en el debate sobre la cooperación entre células T y B. Por un lado, el propio receptor específico de las células T o TCR (“T-cell receptor”), cuya naturaleza resistía a los esfuerzos por desvelarla, hasta el punto de que se le calificaba de “elusivo”. Por otra parte, los sorprendentes hallazgos de que la respuesta inmune frente a antígenos sencillos está bajo el control de unos genes denominados Ir, cuyos alelos pueden determinar el que los animales inmunizados (ratones, cobayas) se comporten como “buenos respondedores” o “malos respondedores”. Los genes Ir se ubican en medio del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), conocido por albergar los genes que codifican los antígenos más importantes en el rechazo de injertos alogénicos: otro punto oscuro de la inmunología, incapaz de encontrar la razón por la que la evolución ha seleccionado y conservado unas moléculas cuya única razón aparente era complicarle la vida a los cirujanos ocupados en el trasplante de órganos (y más todavía a sus trasplantados). A principios de los 70, se había demostrado la existencia de restricciones de histocompatibilidad, tanto en la cooperación entre células T y B para la respuesta de anticuerpos (trabajos de Katz, Benacerraf y asociados), como en el reconocimiento y destrucción, por linfocitos T citotóxicos, de células infectadas por virus (contribuciones de Zinkernagel y Doherty): en ambos casos, las células que interaccionan deben pertenecer al mismo individuo o a individuos con antígenos MHC compatibles. En un intento para entender estas restricciones, se llegó a postular la existencia de dos receptores en las células T, uno específico para el antígeno y otro que reconocería las moléculas compatibles codificadas por el MHC.

La década de los 80, beneficiaria de la tecnología del DNA recombinante, trajo la solución inesperada a estas cuestiones. Los genes responsables del TCR fueron finalmente clonados, y se pudieron explicar, en términos moleculares, observaciones previas sobre el hecho de que estos linfocitos nunca interaccionan directamente con el antígeno; este debe ser procesado y presentado por una célula auxiliar¹⁰. El procesamiento incluye la degradación parcial de los antígenos proteicos, algunos de cuyos péptidos resultantes se unen a partes polimórficas de las moléculas de histocompatibilidad, para ser presentados a las células T; el TCR reconoce, simultáneamente, una estructura extraña, el oligopéptido procedente del procesamiento del antígeno, y otra propia, las partes polimórficas de la molécula MHC que lo presentan. El papel biológico de los antígenos de histocompatibilidad quedó definitivamente de manifiesto cuando se comprobó que las células T_H se guían, en su inspección de moléculas MHC, por su marcador de superficie CD4, molécula que tiene afinidad por partes no polimórficas de los antígenos MHC de clase II; mientras que los linfocitos T citotóxicos (CTL) hacen lo propio mediante el marcador CD8, con afinidad por partes no polimórficas de los antígenos MHC de clase I. Aquellos antígenos que han sido sintetizados fuera de la célula presentadora, y que esta ingiere por endocitosis (antígenos exógenos), son procesados por proteasas lisosomiales y los péptidos resultantes se asocian a moléculas MHC-II; pero los antígenos sintetizados dentro de la célula presentadora (antígenos endógenos, por ejemplo los fabricados por patógenos intracelulares) son procesados por una vía distinta y los péptidos que resultan se asocian a moléculas MHC-I. Para completar el cuadro, es preciso saber que la expresión de los genes MHC-II está restringida a determinados linajes celulares: células dendríticas y de Langerhans, macrófagos y células B, mientras que prácticamente todas las células nucleadas del cuerpo expresan sus genes MHC-I. Por tanto, los productos del MHC tienen el papel de dirigir la respuesta inmune en un sentido (cooperación entre T_H y B y

respuesta de anticuerpos) u otro (respuesta de CTL), en función de la naturaleza extra- o intracelular del agente patógeno frente a cuyos antígenos se responde.

Desde el Horror Autotoxicus hasta la educación intratímica y el exorcismo de algunos fantasmas.

En 1897, Paul Ehrlich formuló su teoría de las cadenas laterales como una generalización de la capacidad de reacción celular, que incluía una explicación de la formación de anticuerpos. Según este modelo teórico, las células poseerían una diversidad de receptores superficiales, que podrían actuar como anticuerpos neutralizantes de toxinas, para captar y asimilar nutrientes, o para ayudar a la eliminación de bacterias y cuerpos extraños; incluso, tales receptores serían capaces de unir fármacos, promoviendo su acción sobre las células. El descubrimiento de que algunos anticuerpos pueden ser citotóxicos planteó la posibilidad de que la base de algunas patologías pudiese residir en la formación de anticuerpos autoagresivos. Pero las primeras exploraciones experimentales en este sentido fueron incapaces de demostrar la formación de autoanticuerpos en respuesta a la inmunización con antígenos propios. Esto llevó a Ehrlich, justo a principios de siglo, a establecer el principio del *horror autotoxicus*, según el cual las células de un organismo no poseen receptores funcionales capaces de reconocer antígenos propios. Esta idea se estableció con la firmeza de un “paradigma” kuhniano, a pesar de que, desde el primer momento, se vió desafiada por sucesivos hallazgos de autoanticuerpos aparentemente implicados en patologías diversas (hemoglobinuria paroxística, tiroiditis, encefalomiелitis) durante el primer decenio y persistió hasta que, a mediados del s. XX, se inició un cambio conceptual, a partir de la introducción del concepto de tolerancia¹. Los mecanismos de tolerancia se establecieron, inicialmente, en términos de la dosis de antígeno (tolerancia a dosis bajas y altas), su estado físico (antígenos moleculares, no agregados), y la inmadurez del sistema inmune (tolerancia en periodos fetal y neonatal). Desde 1971, a raíz de una publicación de Gershon y Kondo, comenzó a hablarse de células T con capacidad para inhibir respuestas inmunes específicas; las “células T supresoras” fueron definidas funcionalmente en diversos modelos experimentales, e incluso se les adjudicó un determinado fenotipo. Sin embargo, como se ha comentado en el epígrafe anterior, el hallazgo de las restricciones de histocompatibilidad promovió los modelos de doble reconocimiento, propio más extraño, lo que a su vez condujo al concepto de la educación intratímica: las células pre-T adquieren su competencia inmunológica (es decir, sus receptores específicos de superficie y su capacidad de respuesta) en un entorno de células presentadoras tal que se suceden dos tipos de selección, una positiva (se seleccionan las células cuyos receptores reconocen con alguna afinidad antígenos MHC propios) y otra negativa (se eliminan las células con receptores que reconocen con alta afinidad antígenos MHC propios presentando péptidos propios). El resultado es que solo abandonan el timo las células T maduras con capacidad para reconocer con alta afinidad combinaciones de antígenos MHC propios y péptidos extraños. Los defectos en los procesos de selección intratímica pueden ser factores predisponentes para estados de autoinmunidad. Mecanismos similares operan sobre la maduración de los linfocitos B, si bien con menor eficacia, ya que en los individuos normales existen clones B autorreactivos, aunque no producen autoanticuerpos patogénicos (de alta afinidad) si no reciben la apropiada cooperación de células T_H. En cuanto a la subpoblación de células T supresoras, se tornó un fantasma execrado de las publicaciones inmunológicas, debido a los repetidos fracasos para establecer y estudiar clones, y a la posibilidad de explicar muchas situaciones de depresión de respuestas específicas mediante los complejos

mecanismos inmunorreguladores protagonizados por la red de citokinas. En el curso de mi propia actividad investigadora, he tenido la oportunidad de establecer la operatividad de un circuito de supresión en ratones infectados experimentalmente con la enterobacteria *Yersinia enterocolitica*: la infección estimula la capacidad de las células T_H1 (ver el epígrafe siguiente) para producir interferón gamma, el cual activa a los macrófagos, los cuales liberan radicales de nitrógeno activo que, finalmente, originan nitritos que inhiben la linfoproliferación¹¹. Cabe pues hablar de células reguladoras, que en determinadas situaciones pueden suprimir determinadas respuestas, aunque recientemente algunos autores han insistido en la existencia de subpoblaciones T especialistas en inmunosupresión.

Comunicación entre células: diálogo a distancia (citokinas) y mediante reconocimiento de moléculas de la superficie celular.

La existencia de circuitos de cooperación entre células implica una capacidad de estas para intercambiar información. Los modelos experimentales utilizados para analizar la respuesta inmune habían puesto de manifiesto la existencia de factores solubles producidos por linfocitos T, que parecían mediar algunos mecanismos de cooperación y regulación. En el 4º Congreso Internacional de Inmunología, celebrado en París en 1980, se postulaba la existencia de factores específicos de antígeno y de factores no específicos, todos ellos producidos por células T^{12, 13}. En realidad, era una historia antigua, ya que desde los años 50, Lawrence y sus colaboradores venían estudiando la posibilidad de transferir inmunidad específica, desde un individuo inmunizado a otro virgen, mediante lisados de leucocitos: se trataba del llamado “transfer factor”, una categoría de moléculas de naturaleza indeterminada, a la que recientemente se ha atribuido una masa molecular entre 5 y 5.5 Kdal, junto con la capacidad para transferir hipersensibilidad retardada frente a antígenos específicos, tanto administrada por vía oral como parenteral¹⁴. La ausencia de información sobre la estructura de los factores de transferencia y su falta de conexiones con el paradigma actual de la respuesta inmune, bien asentado en bases celulares y moleculares, son causa de la escasa atención que actualmente se les presta en los medios científicos, si bien algunos autores persisten en su búsqueda y caracterización¹⁵. Volviendo a los años 80, no deja de sorprendernos el notable número de factores con actividad cooperadora o supresora específica para un determinado antígeno, descritos por investigadores de reconocida solvencia, que en algunos casos llegaban a estimar el peso molecular y otras características de la molécula en cuestión, y que el posterior desarrollo de la inmunología molecular ha dejado en nada. Tal vez estemos ante un ejemplo del subjetivismo (influencia de ideas preconcebidas), que el físico Langmuir denominó “ciencia patológica”¹⁶. La lectura actual de aquellos trabajos permite, en algunos casos, reconocer las fuentes de confusión: fueron varios los investigadores que reportaron actividad específica en productos de genes Ir conteniendo fragmentos inmunógenos del antígeno utilizado en el ensayo, lo que puede significar que, simplemente, tenían moléculas MHC-II asociadas a péptidos procedentes del procesamiento del antígeno por células presentadoras. Es obvio que, en otros casos, los sobrenadantes de cultivos contenían citokinas cuya actividad, aunque inespecífica, contribuía a los efectos supuestamente observados.

Los factores inespecíficos, prontamente denominados linfokinas y, de forma más genérica, citokinas, fueron reconocidos por siglas que aludían a sus actividades más relevantes: MIF (“macrophage migration inhibitory factor”), TRF (“T cell replacing

factor”), TCGF (“T cell growth factor”), etc. Obviamente, un mismo factor era descrito frecuentemente por distintos autores con diferentes siglas. Esta situación confusa era un candidato perfecto para beneficiarse de las técnicas de biología molecular. En 1986, se celebró en Toronto el VI Congreso Internacional de Inmunología, en el que se acordó restringir la denominación “interleukina” a aquellas moléculas con un espectro de acción bien definidos sobre células diana, y codificadas por genes clonados y secuenciados. En la fecha en que se escriben estas líneas, una treintena de interleukinas han sido definidas de acuerdo con tales criterios, a las que hay que añadir otras citokinas igualmente caracterizadas, pero que conservan sus denominaciones y sus siglas clásicas, como es el caso de los interferones alfa, beta y gamma, o de diversos factores estimuladores de colonias hemopoyéticas. Sabemos que la capacidad de respuesta de las células inmunocompetentes, su ajustada regulación y los mecanismos efectores de las respuestas descansan en una compleja red de moléculas de intercomunicación. La distinción entre subpoblaciones T_H1 y T_H2 , según sus perfiles de producción de citokinas (interleukina 2 e interferón gamma para las T_H1 , interleukinas 4, 5, 6 y 10 para las T_H2), ha sido una de las aportaciones más interesantes del conocimiento de esta red, ya que ha permitido entender los papeles de ambas subpoblaciones: las células T_H1 (o T_H inflamatorias) intervienen en la inmunidad celular, frente a patógenos intracelulares, especialmente mediante la activación de macrófagos mediada por el interferón gamma; mientras que las T_H2 cooperan con los linfocitos B en las respuestas de anticuerpos frente a antígenos timodependientes, ya que las interleukinas 4, 5 y 6 promueven la proliferación y diferenciación B y las reorganizaciones génicas que tienen como consecuencia los cambios de clase de las inmunoglobulinas producidas en el curso de tales respuestas.

Además de comunicarse a distancia, enviando mensajes a través de la red de citokinas, las células son capaces de intercambiar información aprovechando sus contactos físicos. Intervienen moléculas de la superficie celular, que interaccionan entre sí como ligandos y receptores. En algunos casos, las interacciones tienen como objeto estabilizar la unión de las células que van a intercambiar información, o dirigir los intercambios en la dirección más oportuna (el caso de la molécula CD4, que dirige a las células T_H hacia células que expresen MHC-II, o de CD8, que hace lo propio con los CTL hacia células que expresen MHC-I). Pero también, la expresión o represión de determinados genes puede reflejar el estado de activación de la célula y su historia reciente. Por ejemplo, un linfocito T_H que ha reconocido un oligopéptido extraño presentado por una célula dendrítica, inicia su proceso de activación y, como consecuencia, expresa la molécula superficial CD154, que es ligando de CD40 en la superficie de las células B. Si una célula B se une a una T_H y percibe, mediante CD40, que CD154 está presente en la superficie de dicha célula, está recibiendo el mensaje de que la célula T_H se ha encontrado poco antes con una presentadora de antígeno y ha iniciado su activación. Obviamente, un diálogo de este tipo solo será posible si ambos linfocitos reconocen específicamente epítopes en el mismo antígeno. No menos de una docena de moléculas superficiales (incluyendo los receptores específicos de antígeno) intervienen en las interacciones célula-célula que sustentan los fenómenos de presentación de antígenos y cooperación celular¹⁷.

3. ...PERO DOS CAMINOS QUE SE CRUZAN: LA FÉRTIL FRONTERA.

¿Qué poderoso factor ha mantenido, durante millones de años, la presión selectiva que ha ido modelando un sistema con la notable complejidad del sistema

inmune? Esta cuestión debe, además, incorporar la consideración de que se trata de un sistema potencialmente peligroso para el propio individuo: las enfermedades autoinmunes y, en general, las manifestaciones inmunopatológicas son buena prueba de ello. Aunque tampoco han faltado las especulaciones más sofisticadas en la búsqueda de respuestas, hay un consenso general en que los mecanismos inmunitarios se hacen necesarios para que los organismos pluricelulares, cada vez más organizados y, por tanto, ofreciendo una variedad de nichos apetecibles para distintos microorganismos, puedan salvaguardar su medio interno de las infecciones y sobrevivir. La famosa frase “somos recién llegados a un mundo de bacterias” explica esta necesidad de defensa frente a unos adversarios temibles, especialmente por su rápida y eficaz capacidad de adaptación. Las enfermedades infecciosas, la necesidad de conocerlas y de disponer de medios para diagnosticarlas, tratarlas y prevenirlas, han construido una ancha y fructífera “tierra de nadie” en las fronteras de la Microbiología y la Inmunología.

3.1. El estudio de los antígenos microbianos.

Serotipia y serología.

La Microbiología Clínica, cuyo objetivo es el diagnóstico de laboratorio de las infecciones, ha obtenido continuos y decisivos préstamos de la Inmunología, especialmente de las técnicas de reacción entre antígenos y anticuerpos *in vitro*, base de la serotipia, por una parte, y de la serología, que durante decenios dominó el espectro de técnicas diagnósticas, y que aún hoy día conserva posiciones frente a la indudable y arrolladora expansión de las aplicaciones diagnósticas basadas en los poderosos procedimientos de la biología molecular. Pero también otras parcelas de la Microbiología han sido tributarias de la metodología inmunológica; baste recordar que el estudio de las relaciones antigénicas entre microorganismos ha sido un utilísimo recurso para la taxonomía, antes del advenimiento de técnicas que permiten investigar relaciones genómicas.

Papel patogénico de los antígenos microbianos.

No son pocas las infecciones por bacterias y por virus que se acompañan de secuelas inmunopatológicas. El estudio de la persistencia de antígenos microbianos, ya sea circulantes (originando inmunocomplejos) o en articulaciones, ha conducido a un mejor conocimiento de situaciones de hipersensibilidad con manifestaciones cutáneas (eritema nodular), renales (glomerulonefritis) o artríticas. Otro aspecto de gran interés lo constituye la investigación de reacciones cruzadas entre antígenos microbianos y antígenos tisulares, ya que aportan explicaciones para las secuelas autoinmunes de algunos procesos infecciosos, de las que son ejemplos patologías como tiroiditis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, diabetes juvenil, etc.

Superantígenos.

La observación de que algunas exotoxinas bacterianas son capaces de activar gran número de células T, induciendo proliferación y producción de citocinas, condujo a Philippa Marrack y colaboradores a proponer para ellas, en 1989, el nombre de superantígenos. Los superantígenos tienen una interacción muy peculiar con las células T, ya que deben ser presentados por células auxiliares y en asociación con moléculas MHC-II, pero esta presentación no incluye endocitosis ni procesamiento por proteasas:

el superantígeno se une directamente a la molécula MHC-II y de esta forma interacciona con los segmentos variables de la cadena β , una de las dos cadenas que constituyen el heterodímero del TCR. La otra cadena, α , no participa en el reconocimiento de los superantígenos. Por tanto, todos los clones que posean las adecuadas especificidades $V\beta$ responderán a un superantígeno, sean cuales sean sus especificidades $V\alpha$. Además, un mismo superantígeno suele ser capaz de unir más de una especificidad $V\beta$ y lo hace con alta afinidad, lo que elimina la necesidad de moléculas coestimuladoras. Esta capacidad para activar muchos clones T se traduce en una liberación masiva de citocinas, a lo que contribuyen asimismo las propias células presentadoras, como los macrófagos, que resultan asimismo activados, lo que conlleva graves consecuencias patológicas. Los superantígenos bacterianos están implicados en cuadros patológicos como shock debido a intoxicación alimentaria por enterotoxinas estafilocócicas, el síndrome de shock tóxico y el síndrome de piel escaldada, ambos por exotoxinas estafilocócicas, y otras patologías causadas por *Streptococcus pyogenes*, *Mycoplasma* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, el serotipo O8 de *Yersinia enterocolitica*, etc. La existencia de estas moléculas con tal hiperreactividad inmunitaria ha dado pie a diversas especulaciones sobre su significación biológica (¿para qué necesitan algunas bacterias patógenas fabricar superantígenos?)¹⁸.

3.2. Interacciones no específicas con la inmunidad.

Los coadyuvantes de la respuesta inmune.

Aunque mantenido en segundo término por la preponderancia de los estudios sobre la respuesta inmune específica y sus aplicaciones, el conocimiento de los efectos no específicos de microorganismos y sus fracciones sobre el sistema inmune tiene sus raíces en la primera mitad del s. XX. Era la época dorada de la seroterapia cuando se estableció el concepto de coadyuvante de la respuesta inmune, definidos como sustancias que, administradas junto con un antígeno, potenciaban la respuesta de anticuerpos específicos. En los años 40, el coadyuvante completo de Freund puso de manifiesto las propiedades inmunopotenciadoras de las micobacterias. Formulado como una suspensión de *Mycobacterium tuberculosis*, inactivada por calor, en un vehículo de aceite mineral (Bayol y Arlancel), el coadyuvante de Freund es capaz de incrementar muy notablemente la respuesta de anticuerpos específicos frente a antígenos emulsionados en él. El efecto coadyuvante se relacionó con la inducción de respuesta inflamatoria y con la liberación gradual del antígeno. Precisamente, la fuerte reacción inflamatoria que se cronifica en forma de granuloma impidió la aplicación del coadyuvante de Freund en clínica humana.

Luchando contra el cáncer.

A principios del s. XX, Coley, basándose en la observación casual de la regresión de un sarcoma inoperable como resultado aparente de una infección estreptocócica, preconizó el tratamiento de enfermos de cáncer con bacterias muertas, administradas por vía intratumoral o sistémicamente. Las “vacunas” de Coley obtuvieron algunos éxitos llamativos, aunque, finalmente, la falta de consistencia de sus resultados las llevaron al olvido. Pero, unos 50 años después, se inició una sucesión de observaciones sobre la capacidad de la cepa BCG de *Mycobacterium bovis*, utilizada como vacuna antituberculosa, para potenciar la capacidad de respuesta del sistema inmune. Su aplicación al tratamiento del cáncer fue especialmente impulsada por el

oncólogo francés Georges Mathé, quien argumentaba que las recidivas tumorales tras las regresiones aparentemente totales conseguidas con los tratamientos convencionales de quimioterapia, radioterapia o cirugía, se deben a la persistencia de algunas células cancerosas (la “enfermedad residual imperceptible”), que, sin embargo, podrían ser destruidas por el sistema inmune, a condición de estimular adecuadamente los mecanismos inmunitarios potencialmente tumorocidas¹⁹. La administración de BCG parecía capaz de conseguir esta inmunopotenciación. Los modelos experimentales probaron que BCG podía incrementar la respuesta inmune específica frente a antígenos de prueba, administrados por una vía distinta e incluso con un cierto intervalo de tiempo (aunque también tuvieron éxito algunos ensayos de administración intratumoral de BCG, y otros tratamientos locales que, como la administración intravesical, persisten hasta nuestros días). Esta capacidad de BCG y de otros microorganismos, como las antiguas corinebacterias anaerobias actualmente clasificadas como *Propionibacterium granulosum* o *Propionibacterium acnes*, para potenciar de forma no específica distintos parámetros inmunitarios, condujo a la utilización del término de “coadyuvantes sistémicos de la inmunidad”.

Orquestar los componentes de la respuesta: evolución de conceptos.

La evidencia de que muchos de estos coadyuvantes podían actuar, de forma selectiva, sobre determinados mecanismos inmunitarios, y no sobre otros, e incluso potenciar unos y deprimir otros, o bien potenciar o deprimir una misma respuesta, dependiendo de factores como el intervalo temporal con la administración del antígeno de prueba, dio lugar al concepto de agentes inmunomoduladores. Numerosas bacterias, tanto Gram-positivas como Gram-negativas, mostraron poseer propiedades inmunomoduladoras, lo que dio lugar a una serie de investigaciones encaminadas a identificar las fracciones bacterianas responsables. Una de ellas resultó ser el componente ubicuo de la pared bacteriana, la mureína; y se pudo determinar que la mínima fracción de mureína que retiene actividad inmunomoduladora es el muramildipéptido. Un componente típico de la membrana externa de la pared de bacterias Gram-negativas, el lipopolisacárido (LPS), utilizado en ensayos *in vitro* como mitógeno estándar de linfocitos B, evidenció también capacidad para modular *in vivo* la respuesta de anticuerpos y para estimular macrófagos. Dado que las interesantes propiedades inmunomoduladoras del LPS van unidas a sus efectos indeseables como endotoxina (fiebre, hiperglucemia, trombocitopenia, leucopenia seguida de leucocitosis), diversos investigadores se esforzaron en modificar la molécula para obtener derivados semisintéticos que, como el monofosforil-lípido A, retuvieran aquellas con mínima toxicidad: estos estudios sobre relaciones estructura-acción iban estableciendo bases moleculares en un campo caracterizado, inicialmente, por conocimientos excesivamente empíricos. En los años 80 comenzó a hablarse de “agentes modificadores de la respuesta biológica” o BRM (“biological response modifiers”), con lo que trataba de ponerse de manifiesto que la mayoría de los inmunomoduladores son capaces de ejercer un amplio espectro de acciones, a través de su interacción con sistemas moleculares inespecíficos como el complemento, y con diversas células, tanto de la inmunidad innata como de la específica, e incluso con células de otros tejidos, induciendo la producción de las correspondientes citokinas. De hecho, las propias citokinas se incluyeron en este concepto, en calidad de BRMs endógenos. Finalmente, algunos autores fijaron su atención en el hecho de que algunos BRMs exógenos, como el LPS, están también implicados en la patogenia de los microorganismos que los poseen; se ha propuesto el

término de “modulinas” para estos factores de virulencia que ejercen efectos moduladores sobre la inmunidad.

Como se ve, esta evolución de conceptos no obedece simplemente a los caprichos de la moda (de los que, desdichadamente, no está exenta la ciencia), sino que es el reflejo de un conocimiento cada vez más profundo del sistema inmune y de los mecanismos de acción de los agentes capaces de modificar su capacidad de reacción. Los BRMs modifican la capacidad de respuesta o incluso inducen la activación de células que desempeñan funciones cruciales en la inmunidad, especialmente a través de la producción de citocinas, por lo que la creciente información sobre estos mensajeros intercelulares está permitiendo una comprensión mejor de la acción inmunomoduladora.

La inmunomodulación por microorganismos: en busca de las fracciones activas.

Diversas estructuras microbianas presentan actividad inmunomoduladora. Durante millones de años, la coevolución de microorganismos patógenos y sus hospedadores pluricelulares ha seleccionado aquellas moléculas de la superficie celular capaces de unir estructuras microbianas ubicuas para inducir respuestas defensivas. Recientemente, Janeway ha propuesto las siglas PAMPs (de “pathogen-associated molecular patterns”) para designar a estas estructuras comunes a grandes grupos de microorganismos, y PRRs (“pattern recognition receptors”) para sus receptores. La interacción entre PAMPs y PRRs, comparada con la de antígenos y receptores específicos de células B o T, ilustra bien las diferencias entre la inmunidad innata y la inmunidad específica²⁰. Los genes que codifican PRRs están presentes en la línea germinal con sus configuraciones definitivas, se expresan de forma homogénea en amplias poblaciones celulares y desencadenan respuestas inmediatas. En cambio, los receptores linfocitarios específicos de antígeno están codificados por genes reorganizados a partir de fragmentos variables y constantes presentes en la línea germinal, su expresión es clonal y generan respuestas que incluyen acontecimientos de proliferación y diferenciación celular, por lo que la aparición de los mecanismos efectores se retrasa varios días. La discriminación entre propio y extraño es perfecta en el caso de los PRRs, ya que estos solo reconocen estructuras microbianas; pero es imperfecta en el caso de los receptores linfocitarios específicos, ya que sabemos de la existencia de clones de linfocitos autorreactivos, lo que implica la necesidad de mecanismos que aseguren la ausencia de respuestas autoinmunes.

El introductor de los conceptos de PAMP y PRR, Charles Janeway, describió, en 1997, un gen humano, homólogo del gen Toll de *Drosophila*; este está implicado en la formación del eje dorsoventral en los embriones de la mosca del vinagre, mientras que la versión presente en mamíferos codifica un receptor implicado en la inmunidad innata. Actualmente se conocen 10 genes “Toll-like”, que codifican los denominados TLRs (“Toll-like receptors”). Los TLRs son, sin duda, los PRRs más interesantes ubicados en la superficie de células de mamífero, y reconocen una diversidad de PAMPs: LPS, lipoproteínas de bacterias Gram-negativas, peptidoglicano, flagelina, lipopéptidos de micobacterias, lipopéptidos de micoplasmas, RNA bicatenario de origen viral, etc. Su presencia en células como los monocitos y macrófagos (que expresan todos los TLRs conocidos hasta ahora, excepto TLR3), las células dendríticas y los mastocitos, evidencia el importante papel que estos receptores juegan en la inmunidad no específica.

Mecanismos de acción: el modelo del LPS.

La principal crítica que se ha hecho desde algunos sectores de la Inmunología moderna a las investigaciones sobre agentes inmunomoduladores y BRMs se ha referido a su carácter predominantemente descriptivo y a la base excesivamente empírica de sus aplicaciones terapéuticas. Dada la fuerte carga teorizante que, como ya se ha comentado, caracteriza a la Inmunología, estas acusaciones parecen especialmente severas; pero, si en un principio pudieron tener una base real, hace ya algunos años que la perdieron, por cuanto muchos investigadores se han esforzado en indagar los mecanismos de acción de estos agentes en los niveles celular y molecular. Podemos poner como ejemplo el progreso en el conocimiento de los mecanismos de acción del LPS, desde su temprana caracterización como mitógeno de células B, antígeno timo-independiente y estimulador de macrófagos, hasta la actual situación en la que las vías de señalización en las células estimuladas han sido minuciosamente investigadas.

El LPS o endotoxina de las bacterias Gram-negativas constituye la cara exterior de la membrana externa característica de este amplísimo grupo de bacterias. Con variaciones menores, la molécula de LPS adopta una estructura en la que se distinguen tres partes: el lípido A, un disacárido esterificado con ácidos grasos y β -hidroxiácidos, en el que reside la toxicidad y otras actividades biológicas; el núcleo ("core") o antígeno R, un heterosacárido denominado antígeno R; y la porción más externa, el antígeno O, constituida por la repetición de moléculas idénticas de un oligosacárido, frecuentemente ramificado. La capacidad del LPS para estimular macrófagos, induciendo la producción de una amplia diversidad de citocinas (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-8, IL-12, GM-CSF) y potenciando otras actividades de estas células como la fagocitosis y la citotoxicidad, se sitúa actualmente en la base de los mecanismos inmunomoduladores de esta molécula.

Una proteína plasmática es el primer receptor del LPS liberado por bacterias; por esta función, se la ha denominado LBP ("LPS binding protein"). El complejo LPS-LBP se une a un receptor de la superficie celular, CD14. A su vez, el complejo LPS-LBP-CD14 interacciona con TLR4, que genera la señal de activación. Se han descrito dos vías de transducción de la señal desde el dominio intracelular de TLR4 hasta el núcleo²¹. La que determina una activación celular más rápida depende de la proteína MyD88, que es un adaptador universal para todos los TLRs conocidos; su resultado final es la inactivación de I κ B y la subsiguiente entrada del factor de transcripción NF- κ B en el núcleo. Sin embargo, el hecho de que el LPS sea capaz de activar macrófagos deficientes en MyD88 ha revelado la existencia de al menos una vía alternativa, independiente del adaptador universal. Y aún es posible que exista una tercera, que conduciría a la activación de un factor de transcripción diferente, IRF-3.

Las células de los ratones de la raza C3H/HeJ son refractarias a la activación por LPS, lo que ha hecho de estos animales una herramienta muy útil en investigaciones en las que interesa descartar la participación de esta modulina en un determinado proceso. El descubrimiento de TLR4 permitió identificar la alteración genética responsable de la incapacidad de los ratones C3H/HeJ para responder al LPS; se trata de una mutación en el gen *tlr4* que reemplaza un aminoácido de la parte intracelular del receptor, lo que impide la generación de la señal de activación.

¿Y cuáles son las perspectivas...?

En el presente, la investigación sobre BRMs de origen microbiano y sus aplicaciones clínicas prosigue en varias direcciones. Por una parte, se insiste en la búsqueda de nuevos microorganismos o fracciones con actividad inmunomoduladora: es el caso de OK432, un preparado de estreptococos muertos con penicilina, utilizado en terapia antitumoral en Japón^{22,23}; de KP40, una preparación de *Propionibacterium avidum* inactivada por calor²³; o varios polisacáridos producidos por microalgas como *Spirulina platensis* o *Chlorella pyrenoidosa*²⁴. Pero también continúan los estudios sobre agentes clásicos como BCG, que, si bien no ha mostrado eficacia en ensayos clínicos de inmunoterapia inespecífica del melanoma²⁵, si parece prometer utilidad como coadyuvante en vacunas preparadas con células inactivadas de melanoma²⁶ o de otros tumores²⁷, además de su eficacia en la aplicación intravesical para suprimir recidivas de cáncer de vejiga²⁸. Se desarrollan modelos experimentales para diseccionar los mecanismos de acción de los BRMs: en el nivel celular, prestando especial atención a la acción de determinados BRMs sobre células cuyo papel en la elaboración de la respuesta inmune se ha visto revalorizado en los últimos años, como las células dendríticas^{22,23}; en el nivel de la comunicación intercelular y la inmunorregulación por citokinas²⁹; y, finalmente, en el nivel de las vías de transducción de señales, en el que cabe resaltar el reciente descubrimiento de la proteína Nod2 como el sensor intracelular que reconoce el muramil-dipéptido para llegar finalmente a la activación de NF- κ B^{30,31}.

4. A MODO DE EPILOGO...

Cuando no las habitan los celos, cuando no existen para separar, las fronteras son lugares privilegiados por donde fluyen y se entremezclan razas y culturas, estilos y costumbres. Ubicado en la ancha tierra de nadie entre dos ciencias en expansión, he asistido, desde los años setenta, a la fructífera simbiosis de ideas y hechos experimentales procedentes de ambas. He podido constatar que, por encima del ritmo exponencial, vertiginoso (en el sentido literal de producir vértigo), que en un momento dado ha llegado a apoderarse de la actividad investigadora, es siempre posible y especialmente gratificante contemplar la evolución de las ideas. Y, en esta dimensión, el progreso no siempre ha significado que las preguntas sean contestadas; a menudo, simplemente cambiaron: algunas preguntas perdieron su sentido y fueron sustituidas por otras.

La irrupción, relativamente abrupta, de la biología molecular, ha suministrado poderosas herramientas de trabajo que han permitido entender mejor el funcionamiento de los seres vivos, pero también ha introducido algunas falacias. Hay muchas cuestiones de gran interés, tanto en Microbiología como en Inmunología, y, muy especialmente, en la frontera entre ambas, cuyas respuestas demandan enfoques *ex vivo* o *in vivo*, para ubicar los fenómenos observados en una dimensión de realidad práctica.

Mi dedicación como Profesor de Inmunología durante muchos años me ha llevado a constatar la sobreabundancia de propuestas teóricas que han jalonado el progreso de la Inmunología, en notable contraposición con el escenario recorrido por la Microbiología. Raras veces han consentido los inmunólogos una acumulación de datos en demanda de explicación. En honor de las personas que han ejercido el liderazgo intelectual en esta ciencia, es obligado reconocer que, mayoritariamente, las hipótesis han dirigido a la experimentación en el sentido correcto, anticipando a menudo las soluciones que se verían consolidadas por los datos empíricos.

El estudio de la inmunomodulación por microorganismos ha sido, durante más de un cuarto de siglo, el hilo conductor de buena parte de mis esfuerzos como investigador. Esta parcela ha seguido una evolución típica, auténtico paradigma del avance científico, desde el empirismo de los primeros años, continuado por una búsqueda insistente de los mecanismos de acción que aportasen unas bases racionales a las aplicaciones farmacológicas y un mejor entendimiento de los aspectos inmunopatológicos de las infecciones, para llegar finalmente a los planteamientos estrictamente moleculares. Quede como modesta aportación personal, más que los datos y conclusiones de las distintas publicaciones, más que los proyectos y los logros, la reivindicación de los modelos que permiten evaluar las respuestas del animal entero, que son los que, finalmente, nos revelan la verdadera significación biológica y farmacológica de las actividades investigadas.

Y, mi conclusión final, no es otra que el convencimiento de que, no ya mi humilde papel de actor de reparto, pero ni siquiera el de apasionado espectador, hubieran sido posibles sin la ayuda de las ya muchas personas que, en un momento o en otro, han compartido conmigo las horas de laboratorio o las inquietudes de la docencia, como maestros, como compañeros, como alumnos. A todos ellos expreso una vez más mi sincero reconocimiento.

He dicho.

9. REFERENCIAS.

- (1) Silverstein, A.M. 1989. A history of immunology. Academic Press, San Diego.
- (2) Brock, T.D. 1990. The emergence of bacterial genetics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- (3) Jerne, N. 1974. Towards a network theory of the immune system. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) 125 C:373-389.
- (4) Burnet, M. 1959. The clonal selection theory of acquired immunity. University Press, Cambridge.
- (5) Nisonoff, A., Hopper, J.E. y Spring, S.B. 1975. The antibody molecule. Academic Press, New York.
- (6) Hozumi, N. y Tonegawa, S. 1976. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73:3628-3632.
- (7) Kohler, G. y Milstein, C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256:495-497.
- (8) Raff, M.C. 1973. T and B lymphocytes and immune responses. Nature 242:19-23.
- (9) Roitt, I. 1972 (1ª edición), 1975 (2ª edición), 1978 (3ª edición). Inmunología esencial. Editorial Jims, Barcelona.
- (10) Pernis, B., Silverstein, S. y Vogel, H.J. (eds.) 1988. Processing and presentation of antigens. Academic Press, San Diego.
- (11) Ruiz-Bravo, A., Moreno, E. and Jimenez-Valera, M. 2001. Intestinal infection of BALB/c mice with *Yersinia enterocolitica* O9 causes major modifications in phenotype and functions of spleen cells. Microbiology 147:3165-3169.
- (12) Tada, T. y Hayakawa, K. 1980. Antigen-specific helper and supresor factors, p. 389-402. En M. Fougereau y J. Dausset (eds.), Progress in immunology IV. Academic Press, London.

- (13) Schimpl, A., Hübner, L., Wong, C. y Wecker, E. 1980. Nonantigen-specific T cell factors, p. 403-412. En M. Fougereau y J. Dausset (eds.), Progress in immunology IV. Academic Press, London.
- (14) Kirpatrick, C. H., Hamad, A.R. y Morton, L.C. 1995. Murine transfer factors: dose-response relationships and routes of administration. *Cell. Immunol.* 164:203-206.
- (15) Kirpatrick, C.H. 2000. Transfer factors: identification of conserved sequences in transfer factor molecules. *Mol. Med.* 6:332-341.
- (16) Kohn, A. 1988. Falsos profetas. Editorial Pirámide, Madrid.
- (17) Sell, S. 2001. Immunology, immunopathology, and immunity. ASM Press, Washington.
- (18) Herman, A., Kappler, J.W., Marrack, P. y Pullen, A.M. 1991. Superantigens: mechanisms of T-cell stimulation and role in immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 9 :745-772.
- (19) Mathé, G. 1976. Immunothérapie active des cancers. Expansion Scientifique Française, Paris.
- (20) Janeway, C.A. y Medzhitov, R. 2002. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 20 :197-216.
- (21) Takeda, K., Kaisho, T. y Akira, S. 2003. Toll-like receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 21:335-376.
- (22) Kuroki, H., Morisaki, T., Matsumoto, K., Onishi, H., Baba, E., Tanaka, M. y Katano, M. 2003. Streptococcal preparation OK-432: a new maturation factor of monocyte-derived dendritic cells for clinical use. *Cancer Immunol. Immunother.* 52:561-568.
- (23) Toyokawa, H., Inaba, M., Takai, S., Satoi, S., Beuth, J., Ko, H.L., Matsui, Y., Kwon, A.H., Kamiyama, Y. y Ikehara, S. 2002. Enhancement of circulating dendritic cell activity by immunomodulator (OK432 and KP-40). *Anticancer Res.* 22:2137-2145.
- (24) Pugh, N., Ross, S.A., ElSohly, H.N., ElSohly, M.A. y Pasco, D.S. 2001. Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from *Spirullina platensis*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Planta Med.* 67:737-742.
- (25) Molife, R. y Hancock, B.W. 2002. Adjuvant therapy of malignant melanoma. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 44:81-102.
- (26) Vilella, R., Benitez, D., Mila, J., Vilalta, A., Rull, R., Cuellar, F., Conill, C., Vidal-Sicart, S., Cos, J., Yachi, E., Palou, J., Malvehy, J., Puig, S., Marti, R., Mellado, B. Y Castel, T. 2003. Treatment of patients with progressive unresectable metastatic melanoma with a heterologous polyvalent melanoma whole cell vaccine. *Int. J. Cancer* 106:626-631.
- (27) Dols, A., Meijer, S.L., Hu, H.M., Goodell, V., Disis, M.L., Von Mensdorff-Pouilly, S., Verheijen, S., Alvord, W.G., Urba, W.J. y Fox, B.A. 2003. Identification of tumor-specific antibodies in patients with breast cancer vaccinated with gene-modified allogeneic tumor cells. *J. Immunother.* 26:163-170.
- (28) Broghammer, E.L. y Ratliff, T.L. 2002. Immunotherapy of urologic tumors: principles and progress. *Urol. Oncol.* 7:45-56.
- (29) O'Donnell, M.A., Luo, Y., Chen, X., Szilvasi, A., Hunter, S.E. y Clinton, S.K. 1999. Role of IL-12 in the induction and potentiation of IFN- γ in response to Bacillus Calmette-Guérin. *J. Immunol.* 163:4246-4252.
- (30) Girardin, S.E., Boneca, I.G., Viala, J., Chamaillard, M., Labigne, A., Thomas, G., Philpott, D.J. y Sansonetti, P.J. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J. Biol. Chem.* 278:8869-8872.

(31) Chamailard, M., Girardin, S.E., Viala, J. y Philpott, D.J. 2003. Nods, Nalps and Naip: intracellular regulators of bacterial-induced inflammation. *Cell. Microbiol.* 5:581-592.

Contestación al discurso de Ingreso
en la Academia Iberoamericana de Farmacia

del **Ilmo. Sr. D. Alfonso Ruiz-Bravo López**

Pronunciado por el Académico de Número

Excmo. Sr. D. Francisco Ruiz Berraquero

Excmo. Sr. Presidente de la Academia Iberoamericana de Farmacia.
Ilustrísimas señoras académicas.
Ilustrísimos señores Académicos.
Ilustrísimo Sr. D. Alfonso Ruiz-Bravo. Señoras y señores.
Compañeros, compañeras.
Amigos y amigas.

Permítanme comenzar mi contestación al discurso –magnífico discurso- del Profesor Ruiz-Bravo con una cita del famoso y convencido republicano de Roma; el ilustre Marco Tulio Cicerón que en el inicio de su discurso, “Pro Marco Marcello” dice así:

Diuturni silentii, patres conscripti, quo eram his temporibus usus, non timore aliquo, sed partim dolore, partim verecundia, finem hodiernus die attulit, idemque initium quae vellem quaeque sentirem meo pristino more dicendi.

Lo que traducido dice mas o menos así:

Senadores: el día de hoy señala el final del prologado silencio que he guardado en estos años , no por temor alguno, sino en parte por dolor y en parte por respeto. El día de hoy supone también reanudar como he hecho siempre la expresión de mis opiniones y sentimientos.

Cicerón, no duda en abandonar su silencio de casi seis años, para defender a Marco Marcelo ex-consul de la República.

El que os habla fue, no hace mucho tiempo, presidente de esta academia.

Por motivos personales, pedí ser sustituido en el cargo ya que no podía dedicarle el tiempo necesario como hubiera sido mi deseo. Por razones diversas, no me resultó tan fácil liberarme de la citada responsabilidad. En el transcurso de este relevo se produjeron algunas manifestaciones y comportamientos que no fueron de mi agrado y que entendí, posiblemente exagerando su importancia, que mi comportamiento que fue siempre leal y desinteresado no se merecía. Temas que bien podrían denominarse de cortesía académica. Nada serio. Nada trascendente.

En todo caso y a la vista de mi pequeño disgusto e incomodidad, pensé que sería bueno tomarme unas vacaciones. Para olvidarlo y un poco también como inofensiva represalia. Tan inofensiva e inocente que con seguridad no se haya percatado de mi ausencia ningún otro académico salvo yo mismo.

Cuando Alfonso Ruiz-Bravo me pidió, con el asentimiento de la Academia, que contestase a su discurso, me di cuenta, primero, de que la propuesta representaba para mi, una satisfacción que no podía, ni quería declinar y en segundo lugar que era una buena ocasión para suspender éstas ya demasiado largas y si se quiere absurdas vacaciones académicas reincorporándome de nuevo a mis obligaciones como numerario.

Que lo que haya supuesto de esfuerzo por mi parte; ceder en mi dolido orgullo , sea el modesto obsequio que te hago hoy amigo Alfonso. Regalo compensado

sobradamente por la oportunidad de contestar a tu discurso- magnífico discurso- y sobre todo por el honor que ha representado siempre compartir tu amistad.

Quiero agradecer a nuestro presidente lo amable que ha sido al permitirme entregar el discurso con cierto retraso. Valga en mi defensa lo corto del plazo que tuve para prepararlo.

La Academia Iberoamericana de Farmacia puede sentirse satisfecha con la incorporación de este nuevo académico pues con él se incorpora a la misma, no solo un valioso hombre de ciencia, lo cual es ciertamente importante, sino también -y no es menos importante- un hombre de mente abierta, un hombre inteligente, universal, y culto. También lo hace un hombre bueno.

La ciencia está tan especializada que tiende a producir científicos con una gran preparación en las áreas de que se ocupan pero tan poco formados en otros aspectos de la cultura, del humanismo, del mundo que los rodea, que en contra de lo que suelen pensar ellos mismos, les perjudica hasta para la misma ciencia que dicen hacer.

Algunos funcionan como capataces en vez de como maestros y se esterilizan por el afán de publicar mucho y a toda costa, despreciando los temas que no le llevan a estos objetivos sin pensar en las necesidades de la ciencia en general, en los problemas de su entorno en particular, o en las inquietudes y preguntas que genera tu propia concepción de la materia.

Antonio Machado lo resume con su perfecta sencillez: *Todo necio, confunde valor y precio.*

Como he apuntado, el profesor Ruiz Bravo es además de buen científico un ser humano lleno de sensibilidad y de afecto por sus semejantes. De trato exquisito; sus alumnos pueden hablar de lo que afirmo con conocimiento de causa. Conversador incansable y amenísimo, de una amplia cultura y gran sentido del humor. También es amante de la buena mesa –con la única aunque importante limitación de no comer pescado- él que es hombre nacido y crecido frente a la mar oceana ya que Tánger y Las Palmas fueron sus ciudades, hasta los diez y siete años. Además su sensibilidad al pescado es tan exquisita como la de una reacción antígeno-anticuerpo, siendo capaz de detectar elementos traza. ¡Algún defecto tendría que tener!.

Mi amistad con el es antigua y sólida. No es mas antigua porque él es mucho mas joven que yo. Cuando nos conocimos, Alfonso era un recién licenciado y yo un adulto de mediana edad casado y con hijos, lo que no fue óbice para crear una excelente relación. Posiblemente por tener algunos rasgos de carácter parecidos y el compartir bastantes aficiones, como el amor a los libros, al cine y a la música.

Fundamental fue por supuesto el interés común por la ciencia y la enseñanza de la misma.

Ambos estudiamos Farmacia, por la misma razón: por tratarse de una licenciatura multidisciplinaria. Incapaces en un principio de decidirnos por una materia concreta.

El que les habla también gusta de conversar con los amigos y la buena mesa, pescado incluido, lo que ha dado pié a multitud de ratos inolvidables compartidos con el nuevo académico. Tampoco olvidaré nunca su decisión de acompañarme a Madrid cuando anduve enzarzado en aquellas tremendas oposiciones que duraban un montón de

días con sus siete interminables ejercicios. Su presencia a mi lado en momentos tan duros fue para mi una auténtica demostración de amistad que no olvidaré nunca. Y seguiría contando muchos recuerdos, recuerdos de una larga amistad que te ayudan a vivir.

Puede parecer que me será difícil ser imparcial al hablar del nuevo académico. Evidentemente. No puedo, ni quiero ser imparcial al juzgar al amigo. Pero sí puedo, porque es muy fácil, exponer la valía científica, los logros académicos del Dr. Ruiz Bravo, ya que son evidentes, y figuran en su *curriculum vitae*.

La inmunología es una materia tremendamente sugestiva. Nacida de la microbiología en su época dorada, es desde hace ya mucho tiempo una parcela de la ciencia con entidad propia, pero que por sus características, forma parte importante de muchos *curricula* académicos diferentes que la estudian o la utilizan por la magnífica herramienta analítica que representa.

El sistema inmune es como todos sabemos un formidable mecanismo de reconocimiento y defensa constituido por lo que en su día se deslindó como inmunidad humoral o debida a anticuerpos, la serología y por la inmunidad celular, debida a células. Sabemos, se nos ha hecho de ello un resumen magistral, que ambas respuestas proceden en último término de células relacionadas y reguladas por infinidad de mecanismos en los que intervienen otros tipos celulares y diferentes mensajeros químicos. Pero podemos decir que continúan reflejando dos aspectos principales y todavía separables de un mismo sistema. Esta dualidad representó históricamente dos campos científicamente enfrentados y las diferentes escuelas han mantenido a lo largo del tiempo intensas aunque incruentas batallas defendiendo sus diferentes posturas.

Como dice el Dr. Ruiz-Bravo, en estos momentos ambos contendientes están empatados y los temas de trabajo se centran cada vez mas en las conexiones entre diferentes tipos celulares. Pero hasta hace muy poco la inmunidad humoral había ganado la contienda de forma llamativa. Las razones de esta asimetría en el crecimiento nos llevaría muy lejos pero me atrevo a apuntar en dos direcciones. Una, la mas evidente que con las técnicas de que se disponía en sus comienzos y el estado del conocimiento científico en general, fue mas fácil abordar el estudio de los anticuerpos -los estudios serológicos- que además y desde su inicio ofrecieron resultados de gran valor aplicado como el descubrimiento de sueros y vacunas, argumento para una prioridad absoluta porque permitían nada menos que prevenir y curar enfermedades infecciosas. En segundo lugar estaba, la autoridad de Pasteur y su Instituto. Este genio de la ciencia, eligió ocuparse de la serología, el aspecto humoral de la defensa inmune. Sus logros como sabemos fueron extraordinarios, como todo lo que intentó a lo largo de su larga y fecunda vida científica.

Pasteur, es uno de esos personajes de la historia, como Shakespeare, Leonardo o Einstein, que por la cantidad y trascendencia de sus logros parecen diferentes al resto de los demás seres humanos incluidos los mas valiosos, como si procedieran de una civilización superior de otra galaxia. En todo caso, Pasteur, extraterrestre o simplemente un hombre de talento excepcional, seguro que previó, lo que ahora sabemos todos, que la ciencia todavía no estaba suficientemente preparada para abordar a fondo el tema de la respuesta celular.

Precisamente por la grandeza de Pasteur, quedó en parte oculta la grandeza de Metchnikoff cuyos hallazgos en inmunidad debida a células-fundamentalmente la fagocitosis- fueron igualmente trascendentes aunque quizás, por lo indicado, prematuros.

Cuando el Profesor Ruiz-Bravo comenzó a hacer inmunología sabía que aceptaba grandes riesgos.

Nadie en el departamento ni casi en la Universidad de Granada en aquel entonces, experimentaba en Inmunología. Bien es verdad y hay que destacarlo, que en el terreno teórico y bibliográfico tuvo la ayuda inestimable de su director, como la tuvimos todos los que trabajamos en el laboratorio. Lo he dicho en otras ocasiones y repito hoy, que es admirable el esfuerzo que el Profesor Ramos Cormenzana dedicó siempre a estar informado de los progresos de la microbiología en todos sus campos. Era como un "internet" viviente. Creo que no se le ha valorado suficientemente este enorme trabajo que le lleva costando infinidad de horas de sueño, mucho té, mucha coca-cola, y también parte de sus ingresos, que dedicaba a adquirir libros y revistas que los magros presupuestos del departamento en aquellos tiempos no cubrían. Muchas gracias en nombre de todos nosotros al Dr. Ramos Cormenzana.

Pero además de este "aislamiento" Ruiz Bravo tuvo la osadía de trabajar en temas frontera con una fuerte implicación de la inmunidad celular en lo que han sido sus trabajos sobre inmunomodulación fundamentalmente con *Yersinia*, tema controvertido, difícil y desanimante muchas veces aunque con el atractivo de ser frontera de conocimientos y con una importante implicación aplicada .

El Dr. Ruiz-Bravo ha publicado mas de una cincuenta de trabajos en revistas de la especialidad de prestigio internacional y pese a ser todavía joven, ha dirigido un elevadísimo número de tesis doctorales: 17, lo que representa una buena prueba de su generosidad científica y entrega a la formación de investigadores. Igualmente tiene en su haber como primer responsable un importante número de programas de investigación.

Y nunca ha tenido la intención, no se si la tentación, de pasarse a campos diríamos "mas rentables", menos ariscos, lo que revela un investigador de raza, que investiga fundamentalmente para su propia satisfacción intelectual sin olvidar por ello la posible utilidad de su trabajo. Que sigue por donde le marcan sus hallazgos y no exclusivamente por los incentivos que pueda marca el ministerio o la comunidad europea como hemos hecho muchos otros, en alguna ocasión.

No quiero extenderme en mi intervención que es de acompañamiento y cortesía, y que no debe prolongarse en exceso.

Pero quiero glosar una de las afirmaciones que ha hecho en su discurso el Profesor Ruiz-Bravo .

Dice, y dice muy bien nuestro nuevo académico: *¿Qué poderoso factor ha mantenido durante millones de años, la presión selectiva que ha ido modelando un sistema con la notable complejidad del sistema inmune? Y sobre todo lo siguiente: Esta cuestión debe, además, incorporar la consideración de que se trata de un sistema potencialmente peligroso para el propio individuo...*

Quiero recordar, que esta situación se repite en biología algunas veces y no es sino una afirmación del enorme poder de supervivencia de la vida sobre la tierra, del poder de la evolución.

Sabemos que la evolución es oportunista y que la causa última de la variación -la mutación- se produce al azar. Por ello existen soluciones complicadas y a veces raras; porque no ha aparecido una mejor opción válida para ese medio y momento. Una rueda hubiera sido buena para hacer mas eficaz el desplazamiento en tierra, pero no existe, porque o no se ha puesto en el camino de la evolución o apareció en un momento inoportuno. Es curioso que el único caso de diseño biológico de una rueda durante muchos millones de años ha sido el corpúsculo basal del flagelo de las bacterias.

El oxígeno, es vital para los organismos aerobios. Representa el aceptor terminal de electrones en la respiración que es un sistema efectivísimo de obtención de energía para los seres vivos, infinitamente mas eficaz que todos los modelos anaerobios que dejan siempre restos de combustible sin quemar.

Pero el oxígeno molecular es muy reactivo, provoca al actuar sobre gran variedad de compuestos de los seres vivos, fundamentalmente enzimas, la producción de radicales libres de oxígeno que son tremendamente tóxicos. Todos los organismos aerobios requieren pues mecanismos de defensa frente al oxígeno molecular y los radicales libres que producen. Así, la catalasa y otras oxidasas, la superóxido dismutasa, los pigmentos carotenoides, etc. actúan de extintores de radicales libres de oxígeno en organismos aerobios.

Así como el oxígeno pese a su toxicidad ha sobrevivido en la evolución de muchos organismos por la eficacia de la respiración celular, el sistema inmune se ha perpetuado por razones muy semejantes.

No existe entre los seres vivos un mejor mecanismo de vigilancia y defensa frente a moléculas extrañas que el sistema inmunitario.

Esa casi infinita capacidad de reconocer moléculas extrañas diferentes junto a la posibilidad de distinguir las que le son propias y no responder a ellas, la memoria inmunológica, la estrategia para elaborar todo tipo de moléculas de respuesta con una economía admirable de genes, la asombrosa especificidad de la respuesta inmune, la posibilidad de poder realizar muchas de estas reacciones in vitro.... etc, Todo ello con los nuevos hallazgos en inmunidad celular, la biología molecular y la ingeniería genética nos lleva de la mano al terreno de investigación mas trascendente del momento como son los trasplantes de órganos y células y la naturaleza y tratamiento del cáncer. Posiblemente junto a la busca de antivirásicos los temas cruciales de la investigación biológica del siglo XXI.

Gracias a la dedicación de todos los inmunólogos como el Prof. Ruiz Bravo a esta apasionante ciencia a lo largo de los años se han ido desvelando una parte importante de los misterios que ofrecía pero subsisten todavía muchos interrogantes. También pervive esa atracción especial del cerebro humano por comprender los problemas que representan el gran secreto de la vida y la muerte, el principal problema del hombre inteligente y para el que de momento la ciencia no tienen respuestas.

Y termino con una felicitación.

A la Academia Iberoamericana de Farmacia por la incorporación de un académico que por sus muchos valores ha de contribuir a su prestigio y desarrollo.

Al Profesor Ruiz-Bravo por su nombramiento y excelente discurso.

A su mujer María y a sus hijos María y Sito por la parte tan importante que les corresponde en este logro de su marido y padre.

Y a todos ustedes. Gracias por su atención.

He dicho.