Rev. Med. Univ. Navarra XIV; 287; 1970

UNIVERSIDAD DE NAVARRA. FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTOS DE MEDICINA INTERNA Y MICROBIOLOGIA

Inmunidad celular*

E. Ortiz de Landázuri, A. Chordi y B. Fidalgo

INTRODUCCIÓN

Respuesta inmunitaria del organismo: tipos.

Aunque el tema de nuestra ponencia estará más específicamente centrado sobre inmunidad celular, nos ha parecido lógico introducir dicho tema con unas breves consideraciones sobre el concepto actual de la respuesta inmunitaria para justificar lo específico de nuestro tema, y situarlo, a la vez, dentro de la temática general del problema.

Una de las fructíferas ventajas que ha tenido la Medicina de nuestros días al establecer un puente entre las disciplinas clínicas y básicas, ha sido el indudable progreso alcanzado en el campo de la inmunología. Consecuencia de los avances en el terreno de la bioquímica y fundamentalmente a través de estudios filogenéticos y ontogenéticos en el estudio del sistema inmunitario, protagonizados fundamentalmente por Good [12] y sus colaboradores en la Universidad de Minnesota, se da por establecido en la actualidad la existencia de dos sistemas inmunitarios —el celular y el humoral— definidos fundamentalmente a través de la vía por la cual se realiza la respuesta inmunológica del organismo en presencia del antígeno. Si la respuesta producida se evidencia a través de substancias vehiculadas en el suero, se habla de inmunidad humoral, y si por el contrario se hace a través del componente celular, se denomina inmunidad celular. Obviamente, cuando hablamos de respuesta en cualquiera de los dos casos, nos referimos a la demostración de anticuerpo en los respectivos compartimientos en general y a las proteínas séricas conocidas como inmunoglobulinas o células linfoides, que podríamos englobar como "inmunocitos en particular".

Parece evidente en el momento actual, que al menos en condiciones de experimentación, el que la respuesta se organice por una u otra vía, depende de mu-

---

* Ponencia presentada al IX Congreso Nacional de la Sociedad de Medicina Interna. Santiago de Compostela. Junio, 1970.

chos factores, dependiente de las características del receptor y del antígeno, siendo particularmente críticas las que a este último afectan; pero antes de entrar en estos detalles veamos con un poco más de detenimiento la estructura y el fundamento de la distinción de ambos sistemas.

Como ocurre muchas veces en Medicina, el fruto de un estudio clínico bien elaborado sirvió de fundamento al estado de conocimiento actual sobre esta materia. Las observaciones de Burton [2], entre otros, sobre determinados tipos de agammaglobulinemia o hipogammaglobulinemia, pusieron de manifiesto que la ausencia o disminución de la gammaglobulina sérica se acompañaba virtualmente de la incapacidad de dichos pacientes para formar células plasmáticas. En consecuencia, además de ser víctimas muy frecuentes de determinadas infecciones, respondían pobremente, o no lo hacían al estímulo con determinado tipo de antígenos. Sin embargo, conservaban la capacidad de producir una respuesta normal a la inoculación de tuberculina e incluso de rechazar un injerto heterólogo con la misma o parecida rapidez que un sujeto normal. En contraste, otras situaciones, tales como los llamados síndromes de Nezelof [20], el de Di George [6] o la enfermedad de Hodking [4], se caracterizan por una respuesta totalmente contraria. Alguna de estas situaciones, y en especial la primera, se caracterizan asimismo por la escasez o inexistencia de linfocitos, lo que ha motivado su denominación como "alinfocitosis", y que fue precisamente este paralelismo entre células plasmáticas y gammaglobulinas con buena respuesta humoral, por un lado, y ausencia de linfocitos y pobreza de respuesta celular, por otro, lo que ha constituido uno de los argumentos para separar ambos sistemas y delimitar alguno de sus componentes. La misma observación clínica puso de manifiesto, asimismo, otro hecho de importancia singular: el grupo de pacientes con déficit linfocítico y pobre respuesta celular exhibían, por otra parte, alguna alteración en la estructura o en el desarrollo del timo, por lo que se supuso que este órgano —cuya función en cierta forma sigue siendo un misterio— estaba directamente relacionado con este tipo de déficit en la respuesta inmunitaria.

Los estudios experimentales en la ontogenia y filogenia de los animales inferiores realizados por Good y col. [12], han permitido documentar científicamente estos hechos, tratando de ofrecer a la vez, una explicación racional al problema. En síntesis, estos estudios han confirmado que desde el pez lamprea hasta el pollo, en toda la escala filogenética, existe un órgano tímico más o menos organizado y en todos ellos se puede comprobar la existencia de una reacción inmunitaria por la vía celular, caracterizada por reacción de hipersensibilidad retardada tipo tuberculínico y tendencia al rechazo de injertos heterólogos, mientras que apenas responden, o no lo hacen, a la estimulación con antígenos solubles. Por el contrario, en el pollo, la existencia del timo se complementa con la aparición de otro órgano linfoide —la bursa de Fabricius— y en él coincide la respuesta inmunitaria descrita para los animales inferiores, sino que ya aparece en él una clara y distintiva respuesta humoral al estímulo antigénico con sustancias solubles. Es más, la posibilidad de abolir quirúrgicamente uno u otro órgano linfoide en este animal, ha permitido comprobar objetivamente cómo la abolición de la bolsa de Fabricio va seguida de la ausencia de respuesta humoral, y viceversa; la extirpación del timo de ausencia o disminución de la respuesta celular [16].

Para no alargar demasiado esta introducción, exponemos a continuación el esquema del propio Good, en el que se identifican y correlacionan los ele-

mentos timo, células linfoides y linfocitos, como componentes responsables fundamentales de la inmunidad celular, y bolsa de Fabricio, células plasmáticas e inmunoglobulinas, como representantes esenciales de la inmunidad humoral (véase fig. 1). A través de estos estudios la alteración inmunitaria en la célula humana ha sido interpretada más ajustadamente, con la única dificultad de no haber encontrado en la especie humana, de una manera definitiva, el órgano equivalente de la bolsa de Fabricio. El mismo Good y su escuela han aportado importantes observaciones documentando determinados órganos linfoides (placas de Peyer, amígdalas, etc.) como posibles representantes, pero tal extremo no ha sido definitivamente probado.

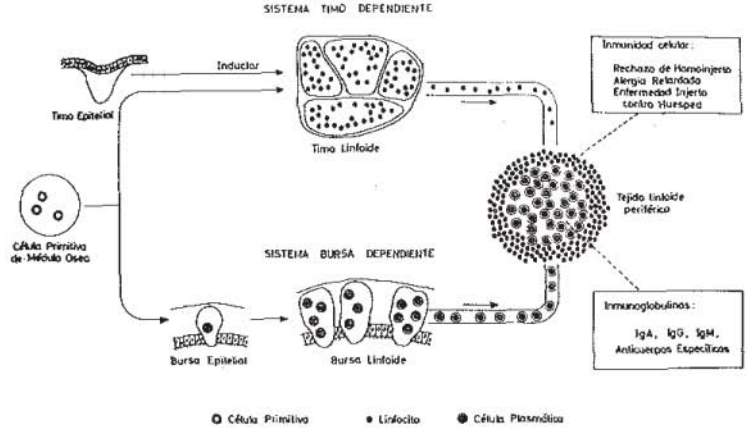

Fig. 1. Esquema representativo de los dos sistemas de respuesta inmunitaria (Good)[11].

Dejando aquí el problema general esquemáticamente representado, pasemos a considerar lo que es más específico de nuestro tema: la respuesta celular inmunitaria.

Para enfocar mejor el tema hemos de situarlo, asimismo, en sus justos términos. Por lo que hasta ahora llevamos expuesto podría dar la impresión de que la vertiente de la inmunidad celular tiene importancia solamente en lo que tiene de respuesta. Sin embargo, el problema es más complejo. Muy en resumen podemos decir que el mecanismo de la inmunidad celular queda más expresivamente designado como la reacción inmune mediatizada a través de las células, o de determinados tipos de células. Con ello queremos decir que en esta mediatización el papel del elemento celular, cualquiera que fuere, tiene una doble faceta, que incluye lo que se ha dado en llamar "el lado aferente y eferente del arco reflejo de la reacción celular inmune"[24] y que queda representado gráficamente en la figura 2. En este esquema puede verse que el componente celular influye, en primer lugar, como vehículo portador o transmisor de la información antigénica, procedente del tejido periférico, llevándola al ganglio linfático en primer lugar, para que pueda ocurrir el proceso del reconocimiento del antígeno como sustancia extraña. Aunque no se conoce con mucha seguridad, parece que este papel de transportador de información antigénica le corresponde en general al linfocito circulante, o al fagocito. Si esta célula, al atravesar el tejido periférico atrapa en su interior el antígeno (como puede ser el caso del fagocito) o sim-

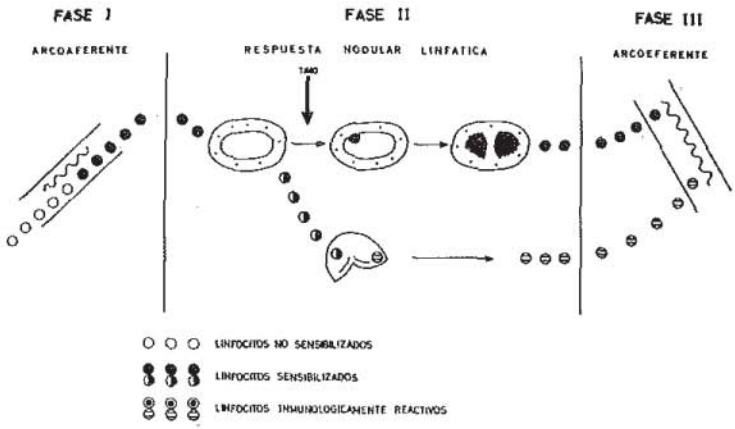

Fig. 2. Representación esquemática del arco de reflejo de la reacción celular inmune en su arco aferente y eferente (Turk [24], ligeramente modificado).

plemente queda de alguna manera marcado o "sensibilizado" por dicho material antigénico, es cosa que no se puede afirmar con seguridad, pero una gran mayoría de investigadores se inclina a considerar que la presencia del material antigénico en el linfocito induce en éste un RNA específico para el antígeno en cuestión, necesario para llevar la "información" hasta el ganglio linfático, constituyendo este proceso el lado aferente del arco a que antes aludimos. A nivel del ganglio linfático regional, primero, y después en los restantes órganos linfáticos del organismo, es donde ocurren los acontecimientos bioquímicos-citológicos que van a dar lugar a la salida de una célula encargada de reaccionar —en distinta forma, según el caso— con el antígeno presente en la periferia. El papel de la acción del timo al que aludimos anteriormente, parece que se realiza fundamentalmente a este nivel.

En el caso de la respuesta inmunológica que nos ocupa, una vez reducida la información antigénica a nivel del ganglio linfático, se organiza en él un tipo de diferenciación y organización celular que tiene como consecuencia la proliferación del área paracortical, con el angostamiento consiguiente del área medular. La proliferación de este área parece depender directamente de alguna sustancia liberada por el timo [26] y la consecuencia de la misma es la salida a la circulación en la que a la respuesta celular concierne de un tipo de linfocito específicamente preparado para reaccionar con el antígeno. En términos bioquímicos, tal preparación específica posiblemente supone una célula dotada con RNA mensajero, que dará lugar a la síntesis de proteínas específicamente —anticuerpos— dirigidas contra el antígeno que no son excretadas, como en el caso de las células plasmáticas, al exterior, sino que realizan su labor sin abandonar la residencia celular, razón por la que se les denomina como anticuerpos celulares. Este tipo de linfocitos posiblemente se emplea en su totalidad o en su mayoría en la reacción inmunológica, pero al mismo tiempo otra estirpe linfocitaria constituida fundamentalmente por linfocitos pequeños perdura en el organismo, incluso por meses y años, y se supone que constituye el órgano de la memoria inmunológica [22] que permite reconocer y reaccionar rápida y violentamente contra el mismo antígeno en un contacto posterior por diferido que éste sea. Al

menos, estos dos tipos de células forman el ingrediente esencial del arco eferente y a ellos se atribuye la responsabilidad de la reacción de hipersensibilidad retardada, y en ellas radica, en la opinión de la mayoría de los autores, el fundamento del llamado órgano de rechazo de los trasplantes [1]. Por tanto, la reacción celular inmunológica no es sólo respuesta. El componente celular es vía de entrada y vía de salida, vehículo pasivo y activo, complejidad celular y bioquímica, regulación y homeostasis e incluso algunas funciones más. Con haber avanzado tanto, la realidad es que aún desconocemos más, y muchas preguntas pueden formularse al respecto, tanto en el aspecto fundamental como en el aspecto clínico, que no trataremos ahora de abordar, por considerarlo alejado del objetivo de esta ponencia. En la línea de nuestro trabajo habitual nuestra aportación al tema es limitada e incluso pudiera tacharse de heterodoxa, sin embargo, en nuestra defensa diremos que es el fruto de una experiencia personal vivida en contacto con la clínica y el laboratorio, expuesta a un nivel general aunque aplicable a términos concretos.

Hemos abordado el tema a través de las consideraciones siguientes:

—La célula como portadora de antígenos.

—La célula como portadora de anticuerpos.

—Proyección clínica.

La célula como portadora de antígenos

Lógicamente, la célula, unidad funcional, posee múltiples sustancias con carácter antigénico. El estudio de estos antígenos y su conocimiento va adquiriendo cada vez más importancia por su participación en los procesos patológicos, así como su posible utilización en el diagnóstico, en el pronóstico y en la profilaxis de muchas entidades patológicas. Como los antígenos portadores por las células son la base de la puesta en marcha del arco aferente de la inmunidad, quisiéramos previamente exponer tres preguntas que nos hacíamos tan sólo hace dos o tres años en nuestro laboratorio y contarles tres experimentos que nosotros realizamos para contestarnos esas preguntas. Estas preguntas son: ¿Cómo la célula adquiere antígenos en su diferenciación celular hasta llegar a ser una célula totalmente diferente de otra? ¿Y cómo sucede esta adquisición de antígenos en el caso de la cancerización? ¿Qué diferencias hay entre las células de diferentes individuos, de diferentes razas, de diferentes especies, de diferentes reinos, y qué problemas plantea esta diferenciación en los trasplantes? ¿Dónde están los antígenos dentro de la célula y qué repercusión tiene la localización intracelular en los procesos inmunopatológicos como en el trasplante, el cáncer?

1. *Antígenos de la diferenciación celular*

Uno de los rasgos característicos de la célula son los antígenos celulares, lo mismo que lo son su forma y función. La composición antigénica celular, al igual que otro rasgo o característica celular, es la expresión de una serie de interacciones entre la información genética de las células, sus mecanismos de regulación y varios factores ambientales. Los antígenos celulares, así como cualquier otro rasgo celular, varían con la dotación genética de sus células. Los antígenos, que son expresión de la información genética propia de la especie, son antígenos específicos de especie. Sin embargo, no todos los antígenos son idénticos entre células diferentes con la misma dotación

genética, pero con su estado funcional del genoma diferente. Es decir, en las células existen dos tipos de rasgos o características, reguladas genéticamente. Unos, debidos a la información genética peculiar de la especie, y otros, debido a la normal evolución funcional del genoma. A nivel del individuo, la evolución del estado funcional del genoma, en su conjunto, es la evolución característica del individuo desde su ser embrionario al estado de senectud. A nivel celular, es la evolución desde las células blásticas al estado de diferenciación celular. Las células pigmentadas y cartilaginosas en algunos momentos de su evolución o en algunas circunstancias, no producen pigmento ni cartílago, a pesar de no modificar la dotación genética.

A nivel de las sustancias antigénicas también éstas se modifican en la diferenciación celular, disminuyendo los antígenos y aumentando los específicos de tejido.

Toda esta diferenciación celular, ¿qué relación tiene con los antígenos celulares? Nosotros hemos efectuado un estudio [5] que se muestra en la figura 3, en la cual hemos estudiado, mediante la técnica de inmunoelectroforesis, los antígenos inmunológicamente diferentes que poseían las células hepáticas en tres diferentes estadíos de evolución. En estadío de embrión indiferenciado, en hígado embrionario y en hígado adulto. Naturalmente, este estudio ha sido efectuado sobre embriones indiferenciados de rata de cinco días; el hígado embrionario era el hígado de embriones de doce días. Como se observa en esta figura, a medida que se va diferenciando la célula hacia hepatocito adulto va adquiriendo mayor número de antígenos más complejos, principalmente antígenos hepáticos, en el esquema designados con H), no existentes en otros órganos, y van desapareciendo los antígenos embrionarios o transitorios E). También hemos estudiado la

Fig. 3. Análisis antigénico obtenido por inmunoelectroforesis de tres niveles de diferenciación celular en células hepáticas (embrión indiferenciado y adulto) y hepatoma experimental por DENA. S: antígenos séricos. H: antígenos hepáticos. E: antígenos ausentes de hígado adulto y presentes en hígado embrionario. El número indica la movilidad electroforética relativa a la albúmina del antígeno correspondiente. (Chordi y col. 5).

célula del hepatoma de rata experimental producido experimentalmente mediante la ingestión durante cuarenta y dos semanas de dietilnitrosamina en el agua de

bebida. Como se observa en la figura 3, la cancerización experimental, por un lado disminuía los antígenos H propios de la diferenciación hepática, y por otro lado reaparecían los E presentes en el hígado embrionario y que no existían en el hígado adulto. Es decir, existía, por un lado, una simplificación antigénica en antígenos propios de hígado y una aparición de los antígenos embrionarios. Dos hechos que indicaban un retroceso en la diferenciación celular. En la figura 4 se expresa la comunidad antigénica en antígenos embrionarios o transitorios. Se observa cómo la existencia de antígenos embrionarios propios del hígado embrionario, estaban presentes en el hepatoma experimental producido por dietilnitrosamina, poseían una composición antigénica muy parecida a la del hígado embrionario de doce días en la rata. Este retroceso en la diferenciación celular o dediferenciación explica fácilmente los teratomas. Además, la simplificación antigénica con pérdida de antígenos propios de hígado pueden ser causantes de una pérdida del control de la mitosis. El punto central de la teoría inmunológica del cáncer tal como lo desarrolla Green [10], es que las células malignas lo son a causa de que ellas han perdido los antígenos específicos de tejidos y no están sujetas a mecanismos de control homeostático tisular.

La teoría inmunológica del cáncer, acertada o errónea, requiere que exista una pérdida de sustancia química específica de tejido en la superficie celular; es decir, aquellas expuestas a controles homeostáticos. Estos son, por esta teoría, los causantes o responsables del control de la mitosis y de la diferenciación.

De los resultados experimentales que vamos teniendo en los laboratorios, parece deducirse que en los casos de tumores experimentales los únicos que suelen vivir son aquellos cuyas modificaciones antigénicas no son acusadas y no dependen de antígenos de otras especies, sino más bien parece que se produce solamente una modificación en el estado funcional del genoma, sin alteración genética considerable, que podría repercutir en un rechazo de esta anomalía por los mecanismos defensivos.

Es decir, que la inmunidad celular juega tan importante papel en la cancerización, que solamente ésta tiene lugar cuando se escapa a la función defensiva de aquélla.

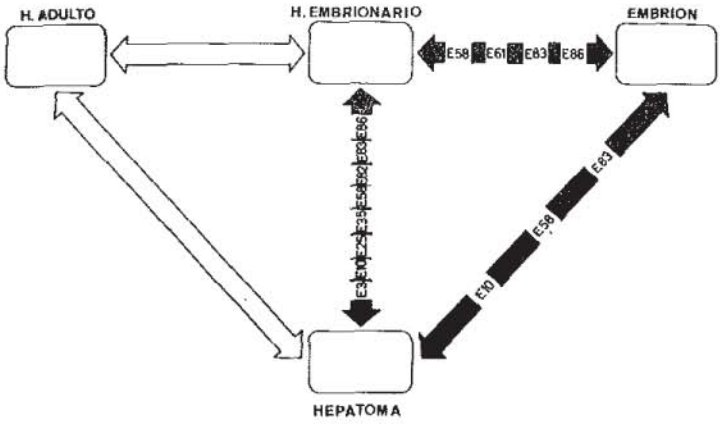

Fig. 4. Comparación antigénica entre los tres niveles de diferenciación celular y el hepatoma. Flechas en blanco, ausencia de reacción cruzada de antígenos embrionarios. (Chordi y col. [5]).

2. *Diferenciación de individuos, razas y especies*

Al ser la información genética peculiar para cada especie, raza e individuo, y al condicionar esta información de aminoácidos en la síntesis proteica, los antígenos comunes a dos individuos serán en mayor número cuanto más próximos sean genéticamente. Es decir, que a mayor diferencia en el DNA, mayor diferencia en los antígenos producidos por el control de ese DNA. ¿Se puede detectar esta similitud o diferencia antigénica expresiva de diferencias genéticas mediante técnicas a nuestro alcance?

A continuación exponemos unos estudios mediante inmunoelectroforesis de los antígenos encontrados en tres niveles de diferenciación o evolución de órganos. Son estudios sobre tres niveles diferentes: la diferenciación de individuos o cepas, la diferenciación de especies y la diferenciación de reinos. En la figura 5 podemos ver ocho cepas o razas diferentes dentro de la misma especie de E. coli [18]. Como se puede observar, predominan los antígenos comunes, pero alguna de ellas tiene algún antígeno no existente en otras, o carece de alguno de los antígenos que las otras generalmente poseen, pero, repetimos, lo que predominan son los antígenos comunes a todas ellas, porque pertenecen a la misma especie. En la tabla I se muestra la comunidad existente entre las diferentes especies dentro de una misma familia; encontrado en el estudio de Díaz y Leong [7]; las especies más próximas tienen antígenos más diferentes. Finalmente, en la tabla II se expone la comunidad existente entre las células de diferentes reinos encontrados por métodos habituales en nuestro laboratorio [17].

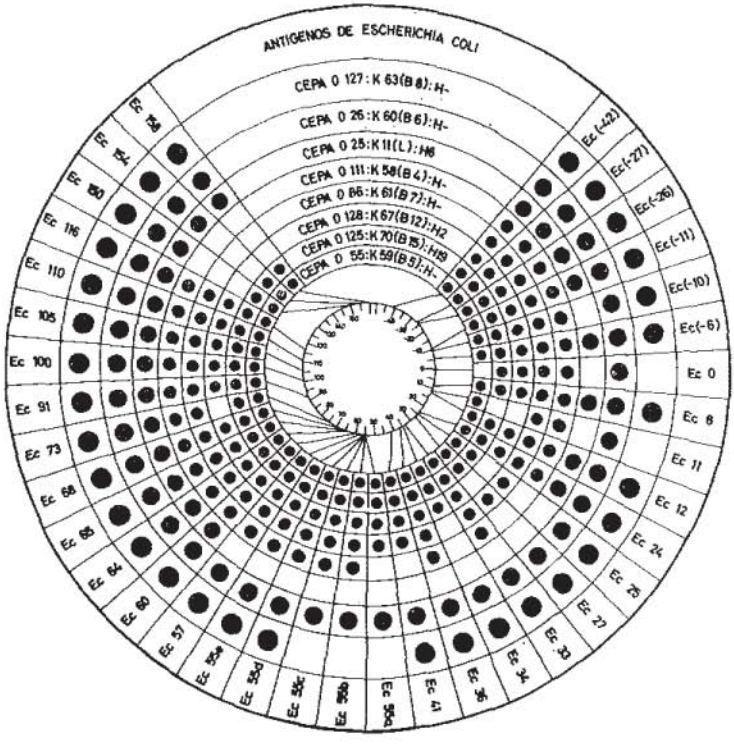

Fig. 5. Representación esquemática de los antígenos inmunológicamente diferentes de ocho cepas de E. coli, ordenados radicalmente según su movilidad electroforética relativa a la albúmina. (Múgica y col. [18]).

TABLA I

NUMERO DE BANDAS DE PRECIPITACION OBTENIDAS EN INMUNOELECTROFORESIS DE ANTIGENOS SOLUBLES DE LA FAMILIA PARVOBACTERIACEA *

	ANTIGENO							
ANTISUERO	Bordetella pertusis	Bordetella parapertu-sis	Bordetella bronchi-septica	Pasterure-lla multo-cida	P. pseudo-tuberculo-sis	Haemophi-lus in-fluenzae	Brucella meliten-sis	Brucella suis
Bordetella pertusis	16	13	13	5	0	3	0	0
Bordetella pa-rapertusis	13	16	13	5	1	3	0	0
Bordetella bron-chiseptica	11	11	14	2	0	1	0	0
Pasteurella pseu-dotuberculosis	0	0	1	2	13	0	0	0
Pasteurella multocida	0	0	0	14	1	1	0	0
Haemophilus influenzae	2	1	0	2	1	12	0	0

* Díaz y col.[7] modificado.

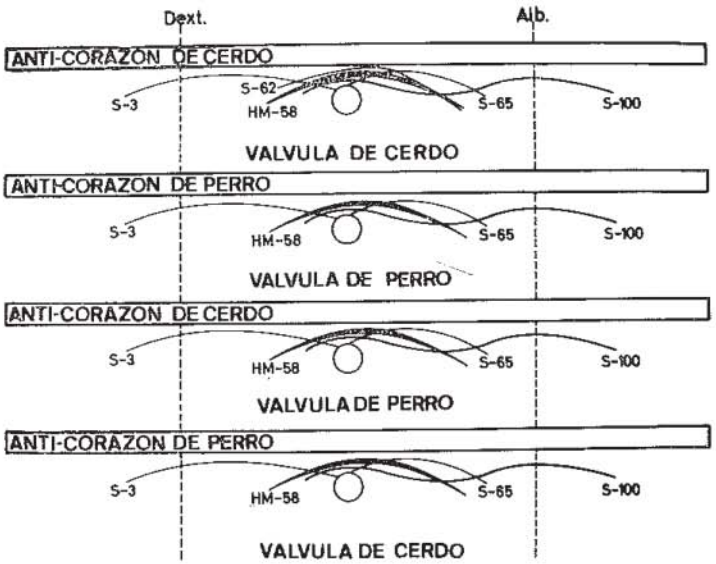

Fig. 6. Representación esquemática de los antígenos detectados por inmunoelectroforesis en las válvulas aórticas de perro y cerdo. (Lledías [15]).

Como puede observarse, con estos métodos de inmunoelectroforesis, no detectábamos ningún antígeno común entre los diferentes reinos.

¿Qué papel juegan estas diferencias antigénicas en un proceso como, por ejemplo, el de los trasplantes, y qué futuro les espera a los heterotrasplantes, es decir, a los trasplantes de unas especies animales a otras? Nosotros tenemos una experiencia respecto a los antígenos de las válvulas aórticas y pulmonares de corazón de diferentes especies; las válvulas, al estar compuestas principalmente por tejido colágeno, el cual posee unas proteínas poco evolucionadas en la escala biológica y que presenta comunidad antigénica entre varias especies. El análisis antigénico de estas válvulas de la especie canina y la especie suida, se muestran en la figura 6. Como se observa, cuatro de los cinco antígenos detectados, eran comunes a las dos válvulas pertenecientes a diferentes especies animales. Bajo esta base inmunológica, implantamos válvulas de cerdo en perro.

TABLA II

NUMERO MAXIMO DE PRECIPITACION ENTRE INMUNOSUEROS Y ANTIGENOS DE CELULAS DE MAMIFEROS, HONGOS Y BACTERIAS

ANTISUEROS	ANTIGENOS DE CELULAS		
	Mamíferos (23)*	Hongos (6)*	Bacterias (12)*
Mamíferos (16)*	148	0	0
Hongos (2)*	0	120	0
Bacterias	0	0	35

(*) El número entre paréntesis indica el número de tipos de células utilizados en el estudio (Martín-Rueda y col. [17]).

Los perros eran reoperados desde el día uno al sesenta. Las válvulas recuperadas se conservaban en perfecto estado, sin destrucción ni necrosis. No se detectó respuesta tumoral en ninguno de los 63 perros estudiados. Sí se encontró una reacción celular hacia el día cuarenta, con aparición de células pironina positivas en el tejido valvular que iba disminuyendo en los días sucesivos. La reacción biológica a estos heterotrasplantes fue, ausencia de respuesta humoral y ligera respuesta celular superada. Presentaba, por tanto, las mismas características de respuestas a un homotrasplante, ligeramente histocompatible. Sin duda alguna, la similitud antigénica entre las válvulas, condiciona este tipo de respuesta similar al homotrasplante.

3. *Localización intracelular*

La presencia de los antígenos en la superficie celular ha cobrado recientemente mucho interés, ya que su presencia en esta superficie celular es y significa la accesibilidad tanto a los sistemas humorales como a los sistemas celulares. Aunque el linfocito sea la única célula con capacidad de atravesar otras células, sin embargo, este fenómeno no es el más usual, de tal modo, que los antígenos localizados en la superficie siempre son mucho más accesibles a las propias células linfocitarias. Nosotros hemos efectuado varios estudios de distribución o localización intracelular de los antígenos. En la figura 7, en que se disponen ordenados según la movilidad electroforética los antígenos que hemos encontrado en el cáncer de estómago humano [21]. Como se ve, existen una serie de antígenos que nosotros hemos denominado con unas letras, según la ubicación de los mismos. Por ejemplo, los antígenos que se signan con una S, significan antígenos comunes con el suero; los que se ponen con una

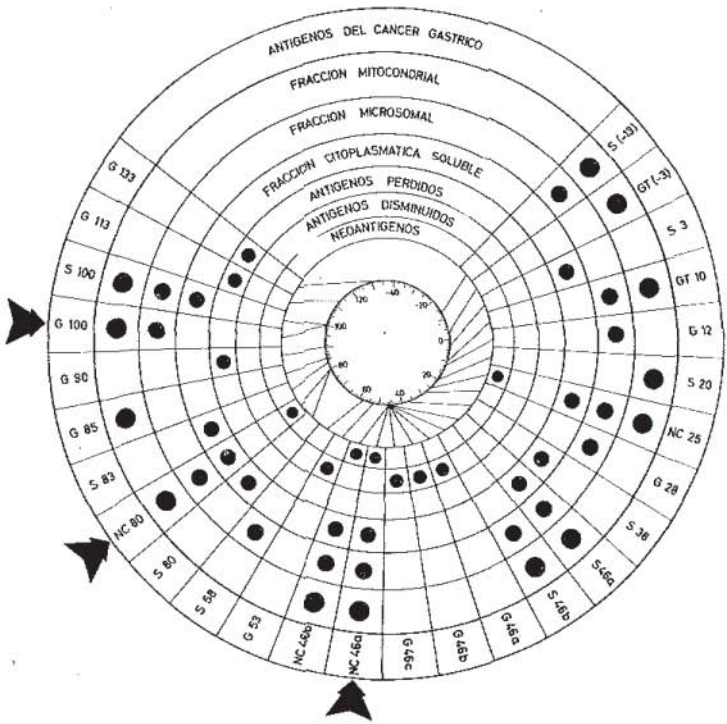

Fig. 7. Representación esquemática de los antígenos detectados en el cáncer gástrico humano, ordenados según su movilidad electroforética relativa a la abúmina humana. Los anillos concéntricos indican los antígenos presentes en cada una de las fracciones subcelulares, así como las modificaciones experimentadas en la cancerización. Las flechas externas indican los antígenos detectados en la superficie celular y accesibles a los sistemas homeostásicos. (Ortiz de Landázuri [21]).

E, son los antígenos propios de estómago; los antígenos N, son aquellos antígenos que no encontramos en el estómago normal, pero sí los tenía el estómago canceroso, y que se denominaban neoantígenos. Como se observa en los anillos concéntricos interiores, la composición de las fracciones subcelulares es un mosaico antigénico diferente. Los antígenos de la superficie también fueron determinados por un sistema exhaustivo de absorción y están señalados en el esquema con flechas en la periferia. Como puede verse, no eran muchos los antígenos que encontramos en la superficie de la célula cancerosa, pero sí eran de importancia. Pudimos ver, que uno de ellos era un neoantígeno que captaba incluso el anticuerpo monoespecífico dirigido contra él, incluso cuando este anticuerpo lo teníamos marcado con isótopos, lo cual tiene una enorme perspectiva desde el punto de vista diagnóstico e incluso con posibilidades de tipo terapéutico al estar estos neoantígenos localizados en la superficie y accesibles a los sistemas defensivos tanto humorales como celulares.

La célula como portadora de anticuerpos

Otra parte del problema de la inmunidad celular radica en la consideración de la célula como portadora de anticuerpos. Desde este punto de vista, la situación puede enfocarse desde varios ángulos: 1) Uno de ellos podría ser el de considerar una célula «no especializada» desde el punto de vista inmunológico, dotada de una cubierta de gammaglobulina o anticuerpos, los cuales podrían actuar a nivel celular de varias formas: a) fisiológicamente, protegiendo de alguna forma dicha célula en las distintas funciones que realiza, y b) patológicamente, produciendo a nivel celular desviaciones de

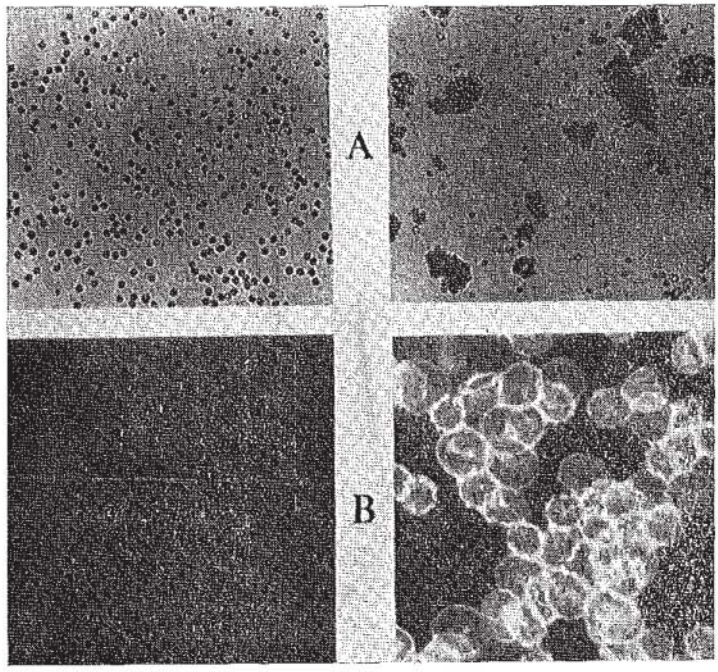

Fig. 8. Demostración gráfica de la presencia de gamma globulina en la membrana del hematíe. A: parte izquierda, muestra la ausencia de aglutinación de los hematíes en presencia de un suero antigamma globulina; parte derecha, muestra la aglutinación de los hematíes intactos en presencia del mismo antisuero. B: parte izquierda, muestra al ausencia de inmunofluorescencia de los hematíes sin gamma globulina; parte derecha, muestra la reacción como positiva al utilizar hematíes intactos.

la función específica encomendada a dichos elementos. Nosotros hemos estudiado el papel fisiológico a nivel de los elementos celulares circulantes, de extraordinaria importancia en fisiopatología humana: los hematíes y los granulocitos. Con respecto a los primeros, hemos podido aislar de la membrana del hematíe humano, fundamentalmente, dos fracciones cromatográficas de gammaglobulina, una de ellas definitiva para esta estirpe celular, que en condiciones normales recubren dicha membrana (fig. 8). Dicha fracción gammaglobulina está compuesta fundamentalmente de gammaglobulina G con una constante de sedimentación 7S y una composición de aminoácidos típica de las gammaglobulinas humanas (tabla III). En las condiciones de experimentación utilizadas, dicha fracción gammaglobulínica es indispensable para mantener la estructura normal de la membrana del hematíe en su apariencia bajo el microscopio electrónico

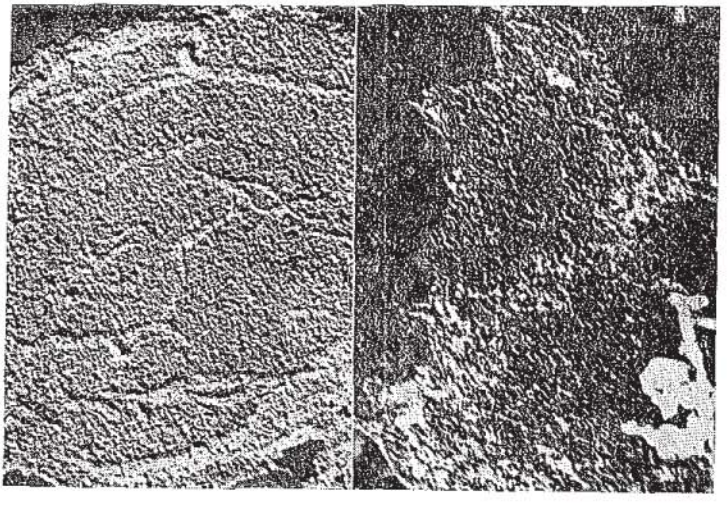

Fig. 9. Aspecto morfológico que ofrece la membrana del hematíe al microscopio electrónico, con su cubierta normal de gamma globulina (A) o en su ausencia (B) [21].

(fig. 9), así como de influir en la capacidad osmótica de la misma. Por otra parte, en condiciones experimentales «in vivo» la sustración de dicha fracción a los hematíes produce un acortamiento considerable de la vida media de éstos, juzgada por técnicas de marcaje de hematíes con isótopos (Cr^{51}). Estos experimentos ponen de relieve la importancia que, desde un punto de vista puramente fisiológico, tienen estas gammaglobulinas celulares.

Análogas conclusiones se han obtenido a través del estudio de los leucocitos polimorfonucleares. Mediante estudios similares se ha podido establecer que estas células poseen asimismo una cubierta de gammaglobulina fuertemente aislada y caracterizada, tanto desde el punto de vista físico-químico como inmunológico (fig. 10). En experimentos realizados «in vitro» se ha estudiado la capacidad fisiológica de fagocitar que poseen las células polimorfonucleares en presencia o

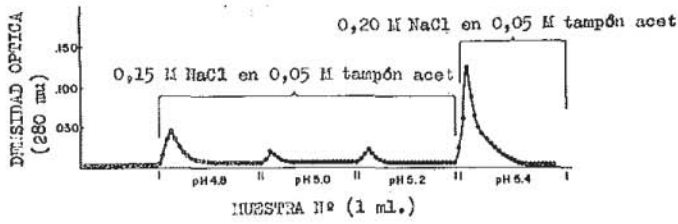

Fig. 10. Caracterización cromatográfica de la gammaglobulina obtenida de la membrana leucocitaria. Como puede apreciarse, su componente fundamental se eluye en la última fracción del cromatograma [25].

no de este componente de gammaglobulina (fig. 11). Sin la ayuda de este componente, el índice fagocitario, tanto de los leucocitos de perro como del hombre, no es nunca superior al 25 por 100, mientras que la adición de dicho componente eleva el índice fagocitario por encima del 50-60 por 100.

Si uno acepta como válidos estos resultados, es evidente que solamente a través de este camino hasta ahora conside-

TABLA III

COMPOSICION EN AMINO-ACIDOS DE LA GAMMAGLOBULINA DEL HEMATIE HUMANO EN COMPARACION CON LA COMPOSICION DE LA GAMMA GLOBULINA TOTAL

Gamma hematíes	Gammaglobulina total Crumpton y Wilkinson
(8,18) 71	(7,77)
(7,41) 72	(7,04)
(10,01) 109	(9,12)
(10,69) 83	(11,18)
(6,04) 62	(6,40)
(3,64) 64	(3,37)
(3,16) 45	(3,29)
(6,85) 70	(7,92)
(3,32) 16	(2,07)
(0,81) 7	(0,93)
(1,89) 17	(2,16)
(7,08) 64	(7,40)
(5,22) 32	(5,76)
(4,04) 28	(4,07)
(6,80) 54	(7,06)
(2,17) 16	(2,44)
(3,91) 25	(4,02)

La proteína (1,12 unidades ópticas a 280 mμ) fue sometida a hidrólisis en clorhídrico 6 normal a 100º durante veinte horas. El análisis de aminoácidos fue realizado en analizador automático. Los valores entre paréntesis representan gramos de aminoácido/100 gramos de proteína. Los números fuera del paréntesis se refieren al número de residuos por ml sobre la base de 150.000 gramos como peso molecular.

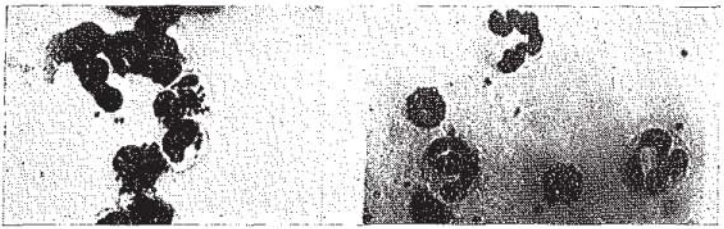

Fig. 11. Demostración gráfica del poder fagocitario de los leucocitos polimorfonucleares humanos en presencia de gammaglobulina (izquierda) y cuando dichas células han sido despojadas de este componene (derecha) [25].

rado, las implicaciones fisiopatológicas de estas gammaglobulinas o si prefiere anticuerpos celulares, es considerable. Permítasenos que apuntemos las posibilidades de trastornos anémicos de tipo hemolítico o —por el otro lado— de disminución de resistencia a la infección por diversos gérmenes. En este sentido, siempre se nos ha hecho patente el ejemplo paradójico de un leucémico, que con un número tan elevado de leucocitos sucumbe indefectiblemente y tan fácilmente a las infecciones.

Las consideraciones anteriores abren, a nuestro juicio, nuevas perspectivas en la consideración de la inmunidad celular, pero fácilmente se intuye que, aún siendo extenso, es una parte muy pequeña del problema.

Si pasamos ahora a considerar las eventualidades patológicas que pueden derivarse de la acción perjudicial de los anticuerpos sobre la propia célula que los soporta, el campo es prácticamente inabordable. Nosotros hemos estudiado algunos ejemplos de los que ahora vamos a citar únicamente como muestra las alteraciones a nivel de la célula renal en aquellas condiciones experimentales en las que se logra la inducción de anticuerpos contra determinados componentes del tejido renal. En estas condiciones, las células renales son víctimas de una injuria tan extraordinariamente activa, que en pocas horas ponen en marcha una nefropatía que cursa con albuminuria franca (fig. 12) y lesiones glomerulares irreversibles. No entramos por ahora en las alteraciones que sufre una célula de un órgano trasplantado y que constituyen el ejemplo más expresivo de la anulación definitiva de la función vital de un órgano celular. Basten los ejemplos anteriores para poner de relieve la importancia del capítulo mencionado.

2) El segundo enfoque de la inmunidad celular, y el que es más habitualmente tratado, incide sobre la célula «especializada» desde el punto de vista inmunológico o, si se quiere, de la célula inmunocompetente, en el aspecto no de célula receptora final de anticuerpos, como podrían ser las hasta ahora consideradas, sino como vehículo de los mismos, vía hacia otros territorios. Aquí, por tanto, el problema cambia de matiz y el interés del estudioso radica en buscar qué células son las responsables, cómo se originan y son controladas, qué tipo de anticuerpos vehiculan, en qué condiciones o situaciones actúan y cuáles son las consecuencias de su actuación.

Como se ha expuesto anteriormente, los conceptos en este campo no son definitivos, y los aspectos relacionados con este campo de la inmunidad celular son aún motivo de discrepancia, pero también de detenido estudio. Dejando a un lado la consideración de las células plasmáticas como órganos más directamente relacionados con la elaboración de anticuerpos humorales, son los linfocitos las células que en el exterior de la célula, mediante el estudio con anti-gammaglobulina. Al disponer de material celular abundante hemos podido, asimismo, caracterizar in-

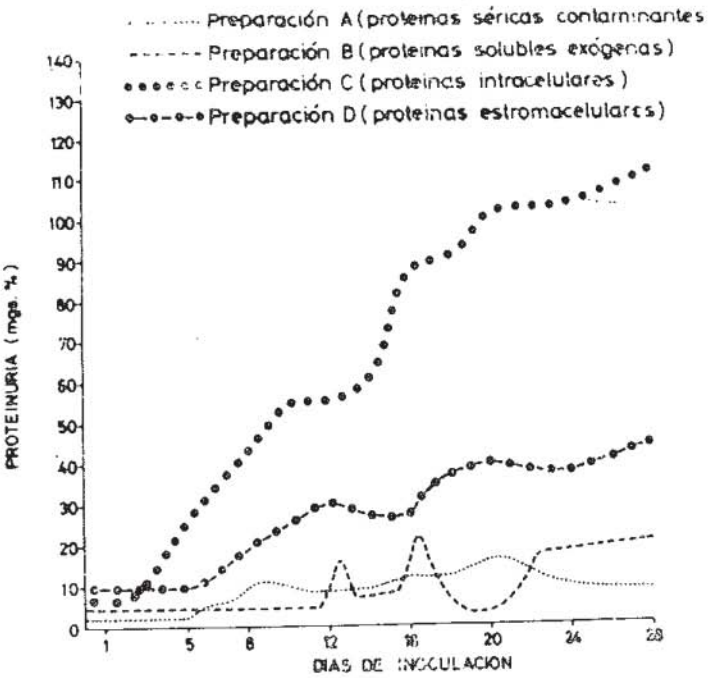

Fig. 12. Evolución y grado de albuminuria obtenido en ratas mediante inoculación parenteral de distintas preparaciones realizadas a partir de un extracto renal homólogo [14].

munológicamente dicha gammaglobulina, la cual pertenece a las clases G y M. Desconocemos por el momento si esta gammaglobulina posee caracteres de identidad con la de aquellas globulinas en situaciones presentes en las que la inmunidad celular puede implicarse como mecanismo patogénico.

Por el momento estamos estudiando la participación de la inmunidad celular en determinadas circunstancias experimentales, en las que puede o no estar implicada. Como ejemplos más caracterizados hemos tomado, por una parte, la sensibilización con agentes químicos tipo dinitroclorobenzeno (DNCB), y por otra parte hemos elegido dos situaciones antagónicas —y quizá, por paradoja, similares—: el rechazo de órganos heterólogos y la cancerización experimental.

La posibilidad de anticuerpos celulares a nivel de linfocitos ha sido examinada a través de los siguientes parámetros: índice blastogénico, incorporación de timidina tritiada, determinación de citotoxicidad y estudio de la movilidad celular en presencia o no del material antigénico. Como método más directo se ha utilizado la tinción con fluorescencia conjugada de un antígeno frente a la gammaglobulina humana.

A través de estos parámetros se ha podido comprobar que la sensibilización del DNCB despierta una respuesta inmunológica celular en la que se evidencia la existencia de anticuerpos celulares en los linfocitos esplénicos en todos los parámetros examinados en un orden superior al 70 por 100 en lo que se refiere al índice de incorporación de timidina tritiada (fig. 13). Resultados similares, aunque con índices más inferiores (del orden del 40 por 100), pudieron observarse en el caso de implantación heteróloga de cora-

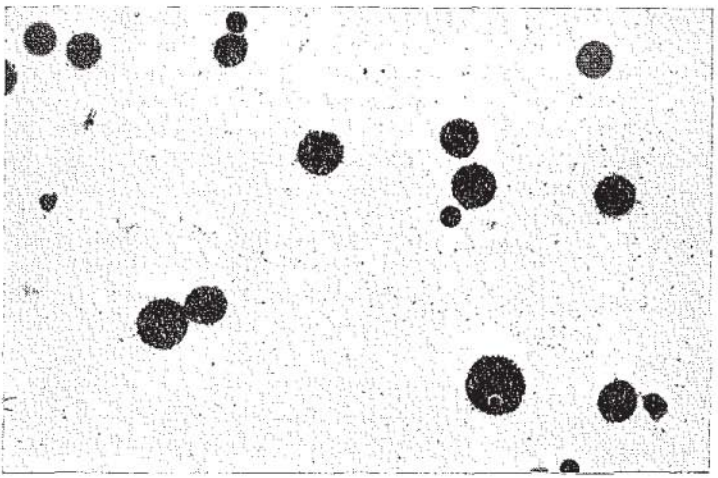

Fig. 13. Demostración de la síntesis de anticuerpos celulares a través de la incorporación de timidinatritiada por linfocitos "sensibilizados" con DNCB en presencia del antígeno sensibilizante.

zón de cerdo en perro, no detectándose respuesta celular inmune en el caso de la cancerización experimental, utilizando como antígeno un extracto protéico del propio tumor, en ratas a las que se inmunizó con dicho extracto antigénico. Los resultados anteriores parecen indicar que en el curso del rechazo de órganos trasplantados y en el plazo de tiempo por nosotros analizado, hay una respuesta inmunológica de tipo celular, que puede ser la base del fenómeno de rechazo, mientras que en el caso de la cancerización experimental la respuesta inmunitaria celular parece inhibida. El mecanismo por el cual esto sucede nos es desconocido, pero es posible que en este aspecto radique parte del problema del desarrollo del tumor canceroso.

Proyección clínica

La importancia de la inmunidad celular todavía radica primordialmente en su consideración como un fenómeno biológico fundamental que influye y guía el estado normal. El organismo recibe constantemente desde el medio que le rodea un gran número de estímulos antigénicos y en el que producen estados de reactividad alterada casi continuamente. El resultado final de esta constante interacción es un estado de equilibrio en el plano de compensación, por lo que la inmunidad celular juega un papel importante en su papel biológico de regulador en estado normal. Como tal fenómeno básico, la inmunidad celular se ramifica en el terreno clínico y biológico, como en el caso del trasplante de órganos, determinadas enfermedades dermatológicas, enfermedades hematológicas, neoplásicas, por autoinmunidad, del colágeno, ciertas enfermedades alérgicas y enfermedades por deficiencia inmunológica. Es, por añadidura, un fenómeno básico en la enfermedad infecciosa, y concretamente puede ser el factor responsable en la duración de la inmunidad definitiva frente a ciertos virus o en la resistencia a la infección por determinadas bacterias. La interpretación correcta de todas estas situaciones presupone, pues, el conocimiento de los problemas relacionados con la inmunidad celular; sin embargo, las lagunas aún existentes en el conocimiento de ésta hacen difícil por el momento una provechosa aplicación a las entidades clínicas anteriormente citadas. En algunos

casos es posible correlacionar los signos clínicos y morfológicos con determinados tipos de inmunidad. A pesar del polimorfismo característico de la reacción celular inmunitaria, se puede caracterizar un mecanismo común, consistente en la invasión del tejido que contiene el antígeno por células mononucleares procedentes del organismo hipersensitivo. Este es, sin duda, el acontecimiento más objetivo y singular. Estas células se organizan fundamentalmente en forma de complejos que podrían denominarse vasculares. Incluso, hasta cierto grado, penetran en las células del parénquima, ocasionando en este órgano alteraciones tisulares. En parte se realizan por obstrucción isquémica y en parte por destrucción directa de las células de dicho parénquima [10]. Los signos clínicos que en consecuencia aparezcan, dependerán de la naturaleza del antígeno, la intensidad de reacción inmunológica y del tejido u órgano afectado.

En ciertos cuadros clínicos se dispone ya de signos más o menos detallados de inmunidad celular activa en relación con el agente infeccioso, como ocurre con la tuberculosis, la parotiditis epidémica y los exantemas víricos. En otros casos la reacción celular inmunitaria se pone de manifiesto contra un agente químico en contacto con la piel, como ocurre en el eczema de contacto o en los problemas de la sensibilidad a las drogas, y, finalmente, en otras enfermedades, la reacción se evidencia con material específico del órgano u órganos afectados, como ocurre en la oftalmología simpática, en la encefalitis alérgica, en determinadas enteropatías de tipo espruiforme, en la leucemia linfática crónica y en determinados linfomas, como en el caso de Hodking y otras enfermedades neoplásicas. El mecanismo inmunopatogénico en estos casos se explica sobre la base de que bajo determinadas circunstancias, antígenos normalmente desconectados de la circulación y, por tanto, del sistema inmunológico competente, lleguen a pasar esta barrera, en cuyo caso, desencadenan la estimulación de clones de células linfocitarias de reactividad específica contra dicho antígeno. Estos linfocitos reaccionan con el antígeno desencadenante donde quiera que se encuentra, invadiendo y dañando el tejido que lo contenga.

La orientación clínica de nuestros estudios ha sido anteriormente apuntada a través de algunos estudios experimentales relacionados con el trasplante de órganos, la cancerización y otras enfermedades de órganos y sistemas. No entraremos en más discusión sobre el problema de los trasplantes, que será estudiado en otra parte de esta ponencia. En lo que se refiere al problema de la respuesta inmunitaria celular en el cáncer, la situación es aún lo suficientemente confusa como para establecer conclusiones definitivas. Parece claro que en determinadas enfermedades neoplásicas, y muy concretamente en la enfermedad de Hodking, el estado de la respuesta celular aparece alterado, y así lo hemos podido confirmar nosotros a través de algunos parámetros clínicos de la misma, como son la prueba de la reacción a la tuberculina o la sensibilización con dinitroclorobenzeno. Esta alteración inmunitaria celular ha sido muy recientemente documentada por Kuper y Bignal [18], Crower y col. [7] y Fairley [17], entre otros. Se ha podido demostrar en estos estudios que la población linfoide de la sangre periférica de estos enfermos, difiere de la normal en tres aspectos: el aumento de células linfoides en estado de síntesis activa de DNA; aumento de células linfoides de tamaño mediano, con citoplasma intensamente basófilo; y, finalmente, el hallazgo ocasional en los primeros de células plasmáticas. Aparte de estos hallazgos, en otros tumores han podido demostrarse la existencia de antígenos específicos contra los cuales el huésped es capaz de reaccionar, pero en general, los supuestos elementos que intervienen en esta reacción, solamente se detectan cuando

TABLA IV

CLASIFICACION DE LAS ENFERMEDADES CON AFECTACION (DEFICIENCIA) DEL SISTEMA INMUNOLOGICO CELULAR *

ENFERMEDAD	Lugar donde radica el defecto			Reacción inmunológica	
	Célula primitiva	Sistema timo dependiente	Sistema bursa dependiente	Celular	Humoral
Gamma globulinemia suiza	Anormal	Timo pequeño	Ausente	Ausente	Ausente
Gitlin	Relativamente anormal	Alinfoplasia tímica	Anormal	Disminuida	Ligeramente anormal
Di George	Normal	Timo ausente o rudimentario	Normal	Disminuida	Normal
Nezelof	Normal	Displasia	Normal	Disminuida	Normal
Breton-Gitlin	Normal	Anormal	Parcialmente defectuosa	Disminuida	Alteración selectiva
Matsonoides	Relativamente anormal	Ausente	Alterada específicamente	Disminuida	Ausente
Ataxia Telagiectasia	Anormal	Embrionario	Deficiente	Disminuida	Selectivamente alterada
Hodking	Normal	Alterada	Normal	Disminuida	Relativamente normal
Leucemia linfático crónica	Anormal	Anormal	Anormal	Disminuida	Anormal

* Good [11].

el tumor ha sido eliminado. Tales cambios son idénticos a aquellos encontrados en otros estados patológicos del hombre en los que se realiza un estímulo antigénico importante, como en el caso de la infección, por lo que se han interpretado como una reacción inmunológica por parte del paciente contra su propia enfermedad u órgano enfermo. Asimismo, se ha visto que tales hallazgos no están relacionados con el estado de la enfermedad, sino con el grado de actividad de la misma, de forma que los pacientes que responden al tratamiento muestran una población celular que retorna a la normalidad mientras que, cuando no responden, los cambios celulares antes descritos son más pronunciados. Esta situación ha sido parangonada, asimismo, con lo que ocurre con algunas de las llamadas enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide y el lupus eritematoso diseminado. Nosotros hemos estudiado hasta ahora con mayor detalle solamente la artritis reumatoide, y los únicos hallazgos obtenidos corresponden únicamente al terreno de la inmunidad humoral, por lo que no han de ser aquí comentados. Igualmente podemos decir en cuanto a otras enfermedades de órganos o sistemas de posible naturaleza autoinmune, tales como la cirrosis o hepatitis crónica, tiroiditis, etc. En ellas hemos podido poner de manifiesto anticuerpos dirigidos contra diferentes componentes celulares (mitocondrias, núcleo, fracción citoplasmática soluble), pero sólo a nivel humoral.

En cualquier caso, los ejemplos anteriormente mejor documentados como alterados en su respuesta inmunológica celular representarían, por así decir, deficiencias inmunológicas adquiridas y muy probablemente, secundarias a la enfermedad.

Al mismo tiempo, como decíamos en la introducción, existe otro grupo de enfermedades de naturaleza congénita en las que la respuesta celular se describe como primariamente afectada. Tal es el caso de la linfopenia suiza o síndrome de Gitlin, la aplasia tímica o síndrome de Di George, o la alinfocitosis pura o síndrome de Nezerof, en los que fundamentalmente la inmunidad celular se halla ausente o disminuida (véase tabla IV). Sin embargo, hay otro grupo de síndromes en los que la alteración del sistema celular se acompaña también de una alteración en el comportamiento humoral, como puede apreciarse en la misma tabla y que son atribuidos a una alteración en la célula tronco o célula primitiva, de la que luego se van a diferenciar los dos sistemas inmunitarios.

Esto ha permitido en la actualidad el considerar ambos sistemas, el humoral y el celular, como dos sistemas totalmente independientes. No obstante, esta idea de la independencia no encaja totalmente, en nuestro modo de ver, con algunos hechos de observación básica, como es el de la diferenciación de linfocitos hacia células plasmáticas u otros hechos de observación clínica como en el caso de Hodking, en el que también se han demostrado alteraciones a nivel humoral, como se expondrá posteriormente en otras aportaciones a la ponencia. Nosotros mismos tenemos algunas observaciones preliminares a nivel experimental, que hasta cierto punto contradicen este hecho: pero por ahora no queremos poner más énfasis en este punto. Lo que sí parece evidente en cualquier caso, es que, a través de la consideración de la enfermedad, a través de las nuevas facetas que le abre la inmunología, tanto en su aspecto básico como fenómeno biológico, así como su consideración clínica, ambas cada vez más entroncadas, pueden surgir en el futuro enfoques insospechados de muchas enfermedades que puedan ayudar a su mejor comprensión y posible solución. Será bueno que el médico internista, por su especial condición, esté atento a la observación y presto a la contribución de su desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

1. BRUNNER, R. T. y B. CHAPUIS. *Medicine et Hygiene*, 897: 1525, 1969.
2. BURTON, O. C. *Pediatrics*, 9: 722, 1952.
3. CROWTHER, D., H. G. FAIRLEY y R. L. SEWELL. *Brit. Med. J.* 2: 473, 1969.
4. CHAUVERGENE, M. M. J., C. MEUGE, B. HOERNI y G. SIMON. *Bordeaux Medical*, 11: 2411, 1969.
5. CHORDI, A., F. VALLEJO y R. MARTIN-RUEDA. *Diferenciación del hepatocido y dediferenciación en DENA hepatoma. Estudio antigénico comparativo.* (Comunicación personal).
6. DI GEORGE, J. *Pediatric.*, 67: 907, 1965.
7. DÍAZ, R., L. M. JONES y J. B. WILSON. *J. Bacteriol.*, 95: 618, 1968.
8. FIDALGO, B. y V. A. NAJJAR. *Biochemistry*, 57: 957, 1967.
9. FIDALGO, B., Y. KATAYAMA y V. A. NAJJAR. *Biochemistry*, 6. 3378, 1967.
10. GREEN, H. N. *Ann Immunological Approach to Cancer*. Butterworth. Londres, 1967.
11. GOOD, R. A. *Hospital Practice*, 2: 1, 1967.
12. GOOD, R. A., R. T. SMITH y P. A. MEISCHER. Ontogeny of Immunity. *University of Florida Press*. Gainesville, 1967.
13. HAMILTON FAIRLEY, G. *Brit. Med. J.*, 2: 467, 1969.
14. KUPER, S. W., y J. R. BIGNALL. *Lancet*, 1: 1412, 1964.
15. LLEDIAS, T. *Estudio inmunológico del corazón y heterotrasplantes valvulares*. Tesis doctoral. Universidad de Navarra. Pamplona, 1970.
16. MACKAY, I. *The Thymus Experimental and Clinical studies*. Ciba Foundation. Symposium. Londres, 1966.
17. MARTIN-RUEDA, R., P. CACERES, T. LLEDIAS, P. IGARTUA y A. CHORDI. *Reacción cruzada entre proteínas ribosomales de mamíferos, bacterias y hongos.* (Comunicación personal).
18. MÚGICA, J. M. y A. CHORDI. *Análisis antigénico de serotipos de E. coli.* (Comunicación personal).
19. NAJJAR, V. A., J. ROBINSON, A. LAWTON y B. FIDALGO. *John Hopkins Med. J.*, 120: 63, 1967.
20. NEZELOF, C., M. L. JAMMET, P. LORTHOLARY, B. LABRUNE y M. LAMY. *Arch. Franc. Pediat.*, 21: 897, 1964.
21. ORTIZ DE LANDÁZURI, M. y A. CHORDI. *Rev. Clin. Esp.*, 118: 441, 1970.
22. QUINN, L. Y. *The Immunological Response in Perspective. Inmunological Concepts*. Iowa University Press. Ames, 1968.
23. RIVERO, A. y B. FIDALGO. *Rev. Clin. Española*, 1970 (En prensa).
24. TURK, J. L. *Ann. Rev. Microbiol.*, 23, 1969.
25. WAKSMAN, B. H. *Tissue damage in the "delayed" (cellular) type of hipersensitivity in Mechanism of Cell and Tissue Damage Produced by Immune Reactions*. S. Karger Publishers. Basell, 1962.
26. WOLSTENHOLME, G. E. y PORTER. *R. Symposium on the Thymus and Atoimmune Diseases*. Ciba Foundation. London, 1966.