

Excmo. Señor Presidente,  
Excmos. Señores Académicos,  
Señoras y Señores:

Perdido en el laberinto sin salida de mis recuerdos llego a este lugar, que tan indisolublemente vinculado está con mi formación universitaria, y un cúmulo de emocionados sentimientos saltan de mi corazón a la mente. Siento un cálido afecto por los compañeros cuya magnánima propuesta de presentación hasta aquí me trajo, un profundo reconocimiento para quienes componen esta insigne Corporación que tan benevólamemente hoy me acoge y una especial gratitud hacia el Prof. Carrato, hombre de singular relevancia científica, maestro, compañero y amigo que está dispuesto a contestar este discurso con su afabilidad de siempre, que todos reconocemos, pero que yo he tenido la ventura de valorar durante nuestra larga convivencia en el mismo Centro de Investigación. Por otra parte, si algunos méritos pudieran traerme a este lugar, probablemente no son sólo míos sino un reflejo de cuantos me rodearon, familia, amigos, compañeros, los que en una fecunda interacción sinéctica me ayudaron a cumplir con mi obligación de cada día, para todos ellos vaya también mi recuerdo agradecido.

Imperativos del destino me llevan a suceder en esta Academia a una destacada figura de la industria farmacéutica española, a don Juan Abelló Pascual, de ejemplar ejecutoria durante sus sesenta años como Académico. Nace en Reus (Tarragona), en cuyo Instituto realiza estudios de bachillerato para después en Madrid, cursar simultáneamente las Licenciaturas de Farmacia y Ciencias y alcanzar seguidamente el grado de Doctor en Ciencias Químicas. Durante algún tiempo alternó la función docente como Profesor del Insti-

tuto de San Isidro y del Liceo Francés con su profesión de farmacéutico con farmacia abierta en el número 1 del Paseo de las Delicias y más tarde en la calle del Espíritu Santo, donde inició sus actividades industriales. De aquí surgió una industria independiente para fabricación de productos químicos básicos y obtención de alcaloides del opio. Progresivamente fue desarrollando la propia industria en la que iría creando laboratorios de investigación hasta alcanzar un primer plano dentro de la industria farmacéutica española con la obtención de un buen número de patentes.

Fue miembro de número de esta Real Academia de Farmacia, Académico de la Academia de Doctores de Madrid y de las Academias de Farmacia de Cuba y Brasil y Miembro del Instituto de España. Ha ostentado las presidencias de la Asociación Nacional de Químicos y del Consejo Superior del Colegio de Químicos, de la Cámara Oficial de Comercio de Madrid y del Centro de Instrucción Comercial de Madrid, así como la Vice-presidencia de la Asociación Española contra el Cáncer. También ha tenido distintos cargos directivos en varias corporaciones oficiales del Comercio y de la Industria y fue Consejero de otras Sociedades. Ha representado a España en distintas comisiones internacionales de expertos para el desenvolvimiento de intercambios comerciales.

En su dilatada e infatigable existencia fue condecorado en reconocimiento de sus méritos con la Gran Cruz de la Orden del Mérito Civil, la de la Orden Civil de Sanidad, la de Isabel La Católica y la de Alfonso X el Sabio, era Comendador de la Legión de Honor y Gran Oficial de la Orden al Mérito de la República Italiana. Sin embargo, a juicio de los que íntimamente le trataron, para don Juan su más preciado galardón era la Medalla al Mérito en el Trabajo en su calidad de Oro, que también le había sido concedida.

De su perfil humano y de su conducta moral, tan sólo elogios escuché de quienes le trataron más íntimamente... «su afición al trabajo, su continua ayuda a los necesitados, la preocupación por el personal de su industria, su amor al hogar y a la familia, que no se circunscribía a la suya propia, le hicieron ejercer moralmente una acción patriarcal continuada». De su trato conmigo, en esta Academia, siempre recordaré su cálida acogida para todo cuanto se refería al desarrollo de la investigación en el terreno industrial, siempre este tema fue su constante preocupación como lo prueban algunas de sus palabras en el acto académico de recepción del Prof. Santos Ruiz... «La investigación farmacéutica requiere un trabajo acelerado, un pensamiento rápido y rico de invención, un gran sentido de la responsabilidad y de la concreción, la presen-

cia de un riesgo»... en honor de este modelo de farmacéutico de empresa hemos elegido el tema que hoy nos ocupa, porque estamos convencidos de que en su desarrollo corresponde un primordial papel a la industria y que, como nueva disciplina en el campo farmacéutico, precisa del espaldarazo y aliento de esta Real Corporación. En el tratamiento del problema, junto con nuestra lógica tendencia profesional hacia lo que puede ser una contribución al conocimiento del moderno arte de curar no hemos podido evitar nuestra atracción por todo lo que suponga un fenómeno biológico; bajo este prisma hemos ido considerando el origen, fundamentos científicos, desarrollo y perspectivas del tema que nos ocupa:

*Inmunofarmacología. Nuevos horizontes en Biomedicina  
y Farmacoterapia*

## 1. ORIGEN

Incógnitas relativas a la regulación del Sistema Inmune y el propósito de modular a voluntad la respuesta defensiva del organismo, hicieron posible el nacimiento de una nueva disciplina científica: la *Inmunofarmacología*.

La necesidad instintiva que el hombre tiene de crear y de ensayar nuevas configuraciones frente al desafío que supone vivir cada día, conduce a buscar diversificaciones en la orientación científica que se aproximen a los muy distintos avatares que influyen en el pensamiento investigador. Así han ido apareciendo nuevas ciencias por hiperdesarrollos unidireccionales, o incluso, por «colisiones» entre distintos campos científicos en expansión: Del encuentro entre ciencias gigantes como la *Química*, la *Física* y la *Biología*, han nacido la *Bioquímica*, *Fisioquímica* y *Biofísica* que, profundizando hasta los más recónditos niveles, han contribuido a descubrir gran parte de lo ignorado entre los seres vivos dentro de una aparentemente ilimitada *Biología Molecular*. De una inquietud de los microbiólogos por comprender el mimético lenguaje del parasitismo, empezó a perfilarse una incipiente práctica de la *Inmunoterapia* que, manteniéndose dentro de los criterios cambiantes de una utilitaria *Serología*, fue haciendo sitio a otra ciencia con entidad propia... la *Inmunología*; y, asimismo, por una tendencia de promoción de la Ciencia Biomédica, o quizá, *por una degradación de conocimientos fundamentales* —según apunta el insigne farmacólogo sueco Borje Uvnäs (992)— hace medio siglo que, de la Fisiología, empezó también a liberarse la pujante *Farmacología* que hoy existe.

¿Cuál es la importancia relativa entre estas nuevas entidades científicas?... ¿es una limitación de objetivos?... ¿se trata de unos modelos de estudio más particulares?... No creo sea este el momento oportuno de entrar en el tema. Al final, tan sólo estaríamos seguros de que todo es Ciencia, que ésta representa los distintos puntos de vista de una inquietud de la mente que es consubstancial con el fenómeno humano y que, mediante ella, intentamos cumplir el primordial imperativo de dominar la Tierra, impreso en nuestro espíritu desde la aurora de la Existencia... «y dijoles Elohím procread y multiplicaos y henchid la Tierra; sojuzgadla y dominad

*en los peces del mar, y en las aves del cielo y en todo animal que bulle sobre la tierra».*

Para circunscribirnos al origen de esta nueva Disciplina de la que hoy tratamos... para ahondar en sus raíces científicas... hemos de volver la vista a la primera mitad de la pasada década. Así, desde una perspectiva múltiple, se puede ver que dos campos importantes de la Biomedicina empiezan a interactuar y que de su colisión sobresale la problemática de una nueva Disciplina, que emerge como si se produjera un «encuentro en tercera fase»: esto ha dado lugar a la aparición de la *Inmunofarmacología*, en la que nuevos conceptos sobre la actividad de fármacos resultan yuxtapuestos a interacciones de unos constituyentes humorales y celulares que integran el Sistema Inmune. Mediante esta Disciplina se intenta una aproximación al arte de curar (*Farmacología*) a través de unos métodos que estudian y comprenden uno de los sistemas más fundamentales para la supervivencia e identidad del organismo (*Inmunología*). La complejidad funcional de este Sistema Inmune es tan sólo comparable a la del Sistema Nervioso y como éste, aparece disperso a través de la mayoría de los tejidos orgánicos, siendo capaz de memorizar y responder adecuadamente a una enorme variedad de señales específicas. En ambos sistemas, sus células, del orden de  $10^{12}$  linfocitos en el inmune y cien veces menos en el nervioso, pueden recibir y transmitir señales estimuladoras o inhibitoras. Sin embargo, pese a su posible semejanza, ambas «existencias paralelas» (fija una y con libre movilidad la otra) procuran respetarse en sus zonas de influencia, manteniendo una barrera hematocefálica que evita que los linfocitos puedan entrar en colisión con las células nerviosas... ¿por qué?... ¿Cuál puede ser el significado biológico de esta falta de comunicación directa?... ¿existe alguna comunicación indirecta a través de factores humorales?... Intentando contestar estas preguntas Dafny y cols. (214), utilizando interferones (IFN) en aplicaciones locales microiontoforéticas sobre varias regiones de cerebro de rata, nos muestran que el IFN $\alpha$  tiene influencia directa sobre el Sistema Nervioso Central, tanto como sobre el Sistema Inmune..., pero, en nuestra opinión, estos resultados pueden valer tan sólo como hipótesis de trabajo para emprender una nueva y apasionante línea de investigación.

### **1.1. Se inicia un nuevo camino**

La Inmunología, ciencia fundamental que soporta las bases teóricas del conocimiento de la Inmunofarmacología, hacia la que pretendemos llamar su atención, es un claro exponente de cómo cam-

biantes teorías pueden ir configurando la estructura del progreso científico. Así, «paradigmas» o teorías comprensivas de un fenómeno recién descubierto —actuales en un determinado momento— no son más que simples aproximaciones al problema, aunque resultan útiles en tanto no son superadas por los otros nuevos conocimientos que se van sucediendo vertiginosamente: Durante la década de los años cuarenta, con la identificación de las células plasmáticas como secretoras de anticuerpos, se hicieron grandes esfuerzos por explicar cuál sería el mecanismo responsable de la respuesta inmune: En 1940 se elaboró la ya clásica teoría «instructiva», según la cual un antígeno actuaba como un moldeador directo de proteínas sintetizadas «de novo» (698), poco más tarde se pensaría que este antígeno era capaz de alcanzar el genoma celular y plasmar en él su propia imagen para inducir proteínas que le reconocerían a su encuentro (448); pero después, a finales de 1959, la teoría de selección clonal (138, 139) habría de postular que una progenie de células germinales pluripotentes alcanzaba una primera diferenciación y, sin intervención de antígeno, originaba de  $10^4$  a  $10^6$  clones celulares con una gran variedad de patrones complementarios en su superficie (paratopos); estas células, al entrar en colisión de un modo específico, con un determinado antígeno, interactuarían según sus determinantes antigénicos (epitopos) y se produciría la diferenciación antígeno-dependiente que daría lugar a la proliferación de células productoras de anticuerpos y a la síntesis de inmunoglobulinas específicas (137, 248, 449). Durante la década de los sesenta, al mismo tiempo que se ideaban métodos de estimulación linfocitaria «in vitro» —extraordinario punto de apoyo para manejar el mundo de las interacciones inmunológicas (429, 675)—, se alcanzaba el soporte experimental de la teoría de selección clonal y se lograban tan importantes avances, como la distinción entre linfocitos T y B, y la comprobación de que los pequeños linfocitos llegan a transformarse en células plasmáticas después del estímulo antigénico. Por otra parte, gran número de estudios químico-estructurales de los anticuerpos, que habían sido reconocidos como moléculas inmunoglobulínicas por Tiselius y Kabat (660, 975), desvelarían la personalidad química de la especificidad en los extremos amino terminales de las dos cadenas polipeptídicas variables (región V), mientras que las secuencias constantes (regiones C) eran las encargadas de determinar la clase de anticuerpos a la que cada molécula pertenece. Estos datos permitirían establecer dos tipos de heterogeneidad inmunoglobulínica, en función de la región C o de la región V y han proporcionado un enorme trabajo experimental durante los años setenta, al intentar

la localización de los genes estructurales que codifican esta diversidad de secuencias aminoacídicas: de los datos obtenidos surge la controversia de si éstos genes codificadores habrían aparecido en la evolución o durante la ontogenia.

Al final de esta época de los años sesenta, mientras nos acercamos al conocimiento de que los productos específicos de una respuesta inmune dependen manifiestamente de un complejo proceso de regulación, empieza a vislumbrarse lo que después daría contenido a una problemática inmunofarmacológica: ... que *toda «respuesta» genera una «anti-respuesta» y que las células inmunocompetentes están siendo constantemente «vigiladas» por otras células de acción antagonista, en un equilibrio, que será perturbado por la aparición del antígeno.* A partir de este momento empiezan a detectarse los primeros chispazos de colisión entre Inmunología y Farmacología al pretender encontrar agentes que modifiquen la respuesta inmune por una acción sobre el huésped más que frente al propio parásito. Con esta perspectiva y teniendo en cuenta la gran capacidad diversificadora del Sistema Inmune, recuperar el balance normal de inmunorrespuestas en un organismo enfermo, a través de una acción modulada farmacológicamente, empieza a aparecer ya como un *nuevo camino en la terapéutica anti-infecciosa.* Los primeros albores hacia este cambio de criterio inmunofarmacológico —aún sin precisar— pudieron ser los trabajos de Werner Braun (127, 128), al demostrar una modificación de la respuesta inmune mediante tratamientos con homopolímeros, y los de Georges Mathé (597) al señalar la posibilidad de manipular la respuesta inmune mediante la administración de micobacterias modificadas; el empleo del bacilo Calmette-Guérin (BCG) habría de iniciar el camino hacia la actual Inmunofarmacología Clínica mediante la administración de inmunomoduladores químicamente definidos.

Con el apoyo de una serie de investigaciones básicas en Inmunología para poner de manifiesto los procesos de regulación inmune, la Inmunofarmacología empieza a tomar cuerpo de doctrina y contenido científico. Entre tanto, ya se había empezado a comprobar que moléculas de anticuerpos de un individuo podían actuar como inmunógenos en otro de la misma especie, debido al polimorfismo existente entre los genes que codifican las regiones C (constantes) de estas moléculas que van a dar lugar a los anticuerpos anti-alotípicos; también se encuentran anticuerpos que van dirigidos precisamente contra los determinantes antigénicos (idiotipos), situados sobre los dominios V (variables) de las moléculas del anticuerpo inmunizante y con ello surge la teoría de la red in-

munitaria idiotipo/anti-idiotipo (141, 449). Investigaciones sobre alotipos e idiotipos (431, 447) han sido cuidadosamente realizadas por su importancia como marcadores para el análisis genético, por el papel fisiológico de los anticuerpos idiotípicos en la ontogenia y porque permitían perfilar la teoría de una red inmunitaria para la regulación de la respuesta inmune (119, 449). De acuerdo con el principio de que «un antígeno es reconocido por linfocitos cuyos receptores tienen una forma complementaria a la del determinante antigénico» nace una nueva teoría sobre regulación de la respuesta inmune en la que intervienen dos conjuntos linfocitarios; por una parte, el correspondiente a linfocitos con marcadores normales frente a los antígenos no propios o idiotípicos y, por otra, los linfocitos correspondientes a los marcadores anti-idiotípicos con receptores que son complementarios de los primeros. Sobre esta base se establece un lenguaje molecular de grandes posibilidades en el que son fundamentales los factores específicos T-dependientes, capaces de bloquear los receptores de las células T y B con especificidad complementaria. Este descubrimiento —básico en Inmunología— traería como consecuencia el deseo de desplazar a voluntad el equilibrio dinámico del Sistema Inmune y, por ende, una Farmacología de la inmuno-regulación empezaría a hacerse sitio en el ambiente biomédico, produciendo un cambio en los criterios terapéuticos. Se puede apreciar ya —incluso en la era de los antibióticos— una tendencia, que va desde la lucha directa contra el parásito (Quimioterapia) hacia una modificación de la respuesta inmune procurando estimular las defensas del huésped (Inmunofarmacología).

También, en el origen de la Inmunofarmacología, han sido cruciales los avances conseguidos en el cultivo de tejidos y células animales (517). Con ello los linfocitos pasaron a ser protagonistas en la investigación inmunofarmacológica; al igual que los *Escherichia coli* en Biología y Genética Molecular, el linfocito (con un volumen y un contenido en ADN 500 veces mayor) pasa a ser el más utilizado agente experimental de la Biología de Vertebrados; pese a que sus poblaciones se integran como un solo órgano, constituyen uno de los pocos tipos celulares de animales vertebrados que pueden multiplicarse como células simples, crecer en colonias y en suspensión e incluso responder «in vitro» a estímulos externos de un modo similar a su comportamiento «in vivo» (834). La enorme diversidad, en potencialidad de síntesis y funciones, de los linfocitos en cultivo, que han de surgir continuamente de células germinales en multiplicación, constituye un pequeño «sistema inmune experimental» en el que según las condiciones de trabajo se puede



estudiar: i) Los diversos estadios de diferenciación; ii) los receptores de membrana mediante los que estas células reconocen las señales moleculares externas, y iii) la síntesis y secreción de inmunoglobulinas específicas y otros factores. Asimismo, los cultivos linfocitarios permiten estudiar diversas interacciones en este complejo entramado de la respuesta inmune, que presenta algunas propiedades en común con el sistema nervioso. Efectivamente, como éste último, es capaz de responder a gran variedad de estímulos, aprender patrones de comportamiento de una experiencia anterior y memorizar convenientemente sensaciones o estímulos previos.

A medida que va progresando el conocimiento de los mecanismos inmunitarios de defensa, se va percibiendo la necesidad de una Farmacología que permita modular las funciones inmunológicas a distintos niveles: i) Controlando el desarrollo y función de los componentes del sistema inmune; ii) estimulando o suprimiendo la actividad de las distintas subpoblaciones inmunocompetentes; iii) modificando y reparando sistemas biológicos esenciales para amplificación de la respuesta, como pueden ser complemento y kinina-kalitreína, y iv) utilizando, mediante estimulación o inhibición, distintos factores mediadores. Esta Farmacología debe incluir también otros mecanismos fundamentales efectores relacionados con la inmunidad, sea directamente —como la inflamación y la fagocitosis— o indirectamente, como la reactividad vascular y coagulación sanguínea. Además, la Inmunofarmacología deberá dirigir y manipular asimismo la comunicación e interacción célula-célula que es vital para poder controlar el sistema. Todos los descubrimientos sobre bases moleculares de la regulación del Sistema Inmune han ido acompañados, en su vertiente inmunofarmacológica —es decir, en sus posibilidades de modificar el sistema— por otra serie de descubrimientos entre los que destacan la evidencia de que las hormonas del timo pueden regular las células germinales pluripotenciales a través de una serie de estadios diferenciadores, desde la acción selectiva del gen hasta las distintas clases y subclases de células T funcionales (332, 510, 929). Así se fue comprobando que células precursoras de ratón y humanas podían ser diferenciadas mediante la acción de un péptido, la timopoyetina (331, 844), por procesos que incluyen varios pasos; que en cada uno de estos estadios intervienen moléculas de ARN y hay síntesis de proteínas; y que, a su vez, estos estadios parecen estar separados por proliferaciones cuantificables (41). De este modo, hormonas capaces de ejercer una poderosa influencia sobre el desarrollo celular linfoide serían bien pronto definidas en sus caracteres moleculares: llevan nombres como timopoyetina, timosina  $\alpha_1$  (331)

y factor sérico del timo (41). La mayoría de estas moléculas son péptidos relativamente simples, que ya están perfectamente definidos en cuanto a los sitios activos de su lenguaje molecular; sus secuencias de aminoácidos presentan una extraordinaria actividad biológica y pueden estudiarse, junto con otros péptidos inmunofarmacológicamente activos, mediante otros sistemas de bioensayo (40).

La proliferación de este tipo de resultados y el aumento expansivo de la información fundamental consiguiente hizo germinar diversas publicaciones y reuniones de trabajo especializadas; con ellas quedarán definitivamente fijadas las raíces de la nueva disciplina. Es fácil comprobar cómo la revista *Inmunopharmacology*, que inició su andadura como publicación científica en 1979, reúne la información dentro de este campo específico y pronto, otras dos revistas, como *International Journal of Immunopharmacology* y *Journal of Immunopharmacology*, habrían de competir con la primera en informar sobre los avances científicos en este campo. Por otra parte, revistas clásicamente inmunológicas, como *Zeitschrift für Immunitätsforschung* (fundada por Erlich en 1909 y actualizada hacia las nuevas corrientes, como *Immunobiology*, desde octubre de 1979) y también el *Journal of Immunology*, editado desde 1916, incluyen desde hace unos años secciones especializadas en relación con temas inmunofarmacológicos. Asimismo, otras revistas científicas están dedicadas a temas aún más particulares dentro de la Inmunofarmacología, como son las modernas publicaciones de *Cancer Immunology and Immunotherapy* (editada en 1976) y las de *Vaccine* y *Journal of Biological Response Modifiers* (ambas aparecidas en 1983), junto con otras, en fin, relativas a Inmunología, Farmacología, Fisiología y Toxicología, que acogen también entre sus páginas artículos relacionados con la Inmunofarmacología.

En cuanto a reuniones científicas, va en 1973, la *Ciba Foundation for the Promotion of International Cooperation in Medical and Chemical Research*, dedicó uno de sus Simposia al tema de «Inmunopotenciación» (600); con ello parecía buscar un contrapunto a los esfuerzos realizados en reuniones científicas previas, en las que se daba información sobre «la Inmunosupresión» (907) como mecanismo de control de la respuesta inmune. Sin embargo, no aparece una visión inmunofarmacológica del problema hasta la Primera Mesa Redonda sobre «The Pharmacology of Immunoregulation», organizada en París por los Laboratorios Rhône-Poulenc (diciembre, 1977) (1041) allí se empezaron a aproximar de un modo definitivo las Bases Farmacológicas de la terapéutica a los criterios cientifi-

cos de la Inmunología. A esta reunión siguió otra, relacionada con la activación y regulación de la respuesta inmune, tema del que se trató en el Simposium organizado por el Institute Behring Mitteilungen, en Friburgo (abril 1980) (858) y al que, pocos meses después, seguiría la primera Conferencia Internacional de Inmunofarmacología, que tuvo lugar en Brighton (agosto 1980) y en la que ya, en una de las sesiones de apertura, empezó a buscarse una ubicación en el área de la Inmunofarmacología a distintos temas de biotransformación de medicamentos y de farmacocinética (366). A continuación serían varias las reuniones científicas de carácter inmunofarmacológico en las que temas como hormonas tínicas, inmunoterapia del cáncer, quimiotaxis, inflamación, alergia, agentes inmunopotenciadores microbianos, inmunotoxicología, etc., se irían sucediendo rápidamente (296, 861, 873). Pocos meses después se creaba la Sociedad Internacional de Inmunofarmacología, presidida por el Doctor Chedid del Instituto Pasteur de París, y en enero de 1981, con motivo de la reunión anual de la *American Association for the Advancement of Science*, tendría lugar en Toronto un Simposio titulado «Inmunofarmacology: A rapidly expanding new interdisciplinary field», presidido por Leslie Z. Beet, de San Francisco. Este encuentro habría de proporcionar una puesta al día de conocimientos sobre la historia del interferón, la preparación de una reunión en Ken Melmon (EE. UU.) para revisar los efectos inmunomoduladores de sustancias autacoides y también sería el comienzo de conversaciones para la posible utilización de anticuerpos monoclonales como transportadores de citostáticos e inmunofármacos hasta las poblaciones celulares neoplásicas de específica y recóndita localización. Pronto empezarían también a mencionarse principios farmacocinéticos que permitieran interpretar algunos datos de inmunotoxicología (366) y se resaltaría la necesidad de desarrollar técnicas de evaluación basadas en la interacción receptor-ligando, inherentes a toda investigación farmacológica significativa. En 1982 se celebró la segunda conferencia Internacional de Inmunofarmacología, en Washington, con varias reuniones sobre Inmunotoxicología y también, simultáneamente, varias sesiones científicas fueron dedicadas a la estrategia de regulación del Sistema Inmune. Este mismo año, en Stirling (Escocia) tuvo lugar el Segundo Simposio sobre «Infecciones en pacientes de alto riesgo» (247) y bastantes sesiones fueron dedicadas a inmunoprofilaxis e inmunomodulación en casos de quemaduras, de trasplantes, en pacientes geriátricos, etc. También, en el decimotercer Congreso Internacional de Quimioterapia celebrado en Viena, hubo varias sesiones dedicadas a inmunomodulación y otros problemas relacionados con la Inmunofarmacología (451, 911).

El pasado año, una reunión científica sobre temas inmunofarmacológicos, que tuvo lugar en Nápoles, facilitaría la organización en Florencia en mayo de 1985, de la tercera Conferencia Internacional sobre Inmunofarmacología (650); en ella se estudiarían muy diversos aspectos de la naturaleza, síntesis, propiedades y mecanismos de acción de bastantes moléculas con capacidad inmunomodificadora. También en España se han celebrado algunas reuniones en relación con esta temática; entre ellas mencionaremos las sesiones científicas de Madrid y Barcelona en 1983 con motivo de la primera Reunión Internacional sobre Inmunofarmacología y el Simposio Internacional sobre «Nuevos avances en Inmunología» celebrado en Madrid (noviembre 1985), en el que se dedicó una muy particular atención a tratamientos con modificadores de la respuesta biológica y a otros aspectos de la problemática inmunofarmacológica.

Como puede verse, los orígenes de la Inmunofarmacología, como una disciplina diferenciada, datan de poco más de una decena de años; las publicaciones, congresos y asociaciones a ella dedicados así lo atestiguan. Sin embargo, pese a su bisoñez científica, basta una mirada retrospectiva hacia algunos descubrimientos que han ido marcando hitos en la saga inmunológica (Tabla 1) para encontrar vestigios a los que hacer sitio en los problemas y objetivos con que esta nueva disciplina se enfrenta: son una serie de resultados que, como «micelas de conocimiento», se han ido ordenando en el tiempo y en el espacio científico para cristalizar —bajo el catalizador de la industria farmacéutica— en una nueva disciplina científica que parece desparecerse y progresar alentándose con las palabras del poeta... *se hace camino al andar*.

## 1.2. Génesis de la problemática inmunofarmacológica

¿Cómo establecer una *problemática inmunofarmacológica*?..., ¿qué objetivos pueden plantearse en este campo científico?..., ¿hasta dónde llegan sus posibilidades y limitaciones?... Cabría admitir con el Profesor Renoux, en sus recomendaciones para un buen uso de la Inmunofarmacología (770), que en ella se tiene *la ambición de estudiar la regulación farmacológica del sistema inmunitario y establecer el potencial terapéutico de los agentes activos*. Sus posibilidades, por tanto, dependerán de los conocimientos básicos sobre la regulación del sistema inmune en situaciones normales y patológicas y también de una oportuna selección de los elementos celulares o moleculares sobre los que aplicar una manipulación farmaco-

TABLA 1. Descubrimientos científicos en el área de la Inmunología que al cabo de varias décadas, han ido modificando los planteamientos terapéuticos hacia criterios de investigación inmunofarmacológica.

- 
- Vacunación antivariólica (Jenner, 1798).
  - Empleo de treponemas (Latour, 1851).
  - Empleo de vacunas atenuadas (Pasteur, 1880); respuesta fagocitaria (Metchnikoff, 1882); antisueños antitoxina diftérica (Yersin y Roux, 1888).
  - Empleo de antitoxinas bacterianas (Von Boehring y Kitasato, 1890) y de extractos bacterianos (Buchner, 1890); hipersensibilidad retardada a tuberculosis (Koch, 1891); empleo de toxinas de serratia (Coley, 1893); factor sérico termolábil o complemento (Buchner, 1893); primera vacunación masiva en la India (Pfeiffer e Isaef, 1893); diagnósticos serológicos (Widal, 1896).
  - Fenómeno anafiláctico (Richet y Portier, 1902); reacciones de opsonización (Wright y Douglas, 1903); lesiones necróticas innoespecíficas (Arthus, 1903); sensibilización alérgica (Von Pirquet, 1906).
  - Reacción anafiláctica en músculo liso (Schultz, 1910); reacción músculo liso a histamina (Dale y Laidlaw, 1910); empleo de preparaciones y lisados bacterianos (Adam, 1914; Much, 1919); haptenos, portadores e innoespecificidad (Landstainer, 1917).
  - Vacunación con BCG (Calmette y Guerin, 1921); empleo de anatoxina diftérica (Gaston, 1923); innoestimulación por proteínas específicas (Buzello, 1924); coadyuvantes para toxina diftérica (Ramon, 1925; Gleuny y cols., 1926).
  - Teoría sobre actividad de coadyuvantes (Glenny, Butle y Stevens, 1931); uso de liposomas como portadores y formas de depósito (Johnson, 1932); innoestimulación con lípidos (Galanakis, 1934); separación electroforética de innooglobulinas (Tiselius y Kabat, 1939).
  - Efecto innoocoadyuvante (Freund, 1942); transferencia de hipersensibilidad retardada (Chase, 1943); rechazo de injertos cutáneos (Medawar, 1944); coadyuvantes completo e incompleto (Freund y Bonanto, 1944); anticóbulinas anti-RH incompletas (Coombs, Race y Mourant, 1945); tolerancia en terneros gemelos (Owen, 1947).
  - Agammaglobulinemias humanas (Burton, 1952); histamina en células plasmáticas (Riley y West, 1952); inducción de tolerancia neonatal (Billingham, Brent y Medawar, 1953); inducción de autoinmunidad en animales (Witebsky y Rose, 1956); relación bursa-dependiente de los anticuerpos (Glick, 1956); autoanticuerpos en enfermedades tiroideas (Roitt y Doniach, 1956); coadyuvante de endotoxinas (Johnson, Gaimes y Landy, 1956); macroglobulinemias (Fudenberg y Kunkel, 1957); innoodeficiencias humanas (Jerney y Burnet, 1957); interferon (Isaacs, 1957); innoogenidad en dextranos (Kabat y Lezer, 1958); teoría de la selección clonal (Burnet, 1959).
  - Estimulación policlonal de linfocitos (Vowell, 1960); timo-dependencia de la respuesta innoe (Miller y Good, 1961); innoestimulación por ácidos poliadenilícos (Braun y Nakano, 1965); cooperación celular T-B (Claman, Davies y Mitchinson, 1966); síntesis de anticuerpos «in vitro» (Mishell y Dutton, 1967); coadyuvantes en innoetolerancia (Dresser, 1968); diferenciación de antígenos T-dependientes y T-independientes (Mitchell, 1968); empleo de BCG como innoopotenciador (Mathé, Claman, Davies y Mitchinson, 1969); genes de la respuesta innoe (McDevitt y Benacerraff, 1969); innooterapia en leucemia (Mathé y cols., 1969).
  - Células T supresoras (Gershon, 1971); utilización del levamisol como innoomodulador (Renoux y Renoux, 1973); estructura de innoógenos (Jollé y Parat, 1973; Kishimoto e Ishisaka, 1973); teoría de las redes idiotípicas (Jerne, 1974); doble reconocimiento en linfocitos T (Zinkernagel, Doherty y Bevan, 1975); híbridomas y anticuerpos monoclonales (Köhler y Milstein, 1975); estimulación de células sintetizadoras de Ig (Schlesinger, Goldstein y Niall, 1975); anticuerpos anti-fármacos y empleo de corynebacterium parvum (Halpern, 1979).
  - Preparación de agentes citotóxicos dirigidos por anticuerpos (Heath y cols., 1980).
-

lógica eficaz. Estamos en la mitad de una década en la que ya podemos vislumbrar que, al final de la misma, se habrán conseguido tan importantes avances en el conocimiento del Sistema Inmune que nos van a permitir, mediante una inmunomodulación terapéutica resolver problemas en geriatría, alergia, cáncer, artritis, aterosclerosis y un largo etcétera que tiene que ver con infecciones microbianas y con inmunodeficiencias primarias y secundarias.

Para el estudio farmacológico de los fenómenos de regulación inmunitaria se han de integrar los distintos elementos en un mismo sistema funcional: esto no es fácil, dada la complejidad de fenómenos que tiene lugar en la interacción celular. Por una parte, se requieren contactos intercelulares como en el sistema nervioso y, por otra, la respuesta ha de resultar mediatizada por moléculas de secreción, como sucede en el sistema endocrino; estas interacciones son, además, de muy diversa naturaleza y pueden producirse durante la circulación del linfocito a través de su migración por todo el organismo (298) y con muy distintos resultados dependiendo del microambiente tisular que los acoge (142). El código inter-linfocitario de señales moleculares es interpretado por componentes de la membrana, que son capaces de relacionarse con moléculas superficiales de otras células estimuladoras o con moléculas liberadas de otros linfocitos o de células plasmáticas. Así, según se actúe sobre mecanismos genéticos, autónomos o integradores, de acuerdo con el diagrama de la figura 1, se alcanzará a modificar la respuesta inmune en un distinto nivel de regulación.

Durante la pasada década, la mayoría de las investigaciones relativas a regulación de la respuesta inmune se ha basado en la distinción funcional de diversas subpoblaciones celulares y también en las posibilidades de reconocimiento, que son imprescindibles en toda cooperación celular. Así se comprobó que los linfocitos T eran definitorios no sólo para el desarrollo de la inmunidad celular, sino también para gobernar la respuesta de los linfocitos B frente a la mayoría de los antígenos. Entre las células T de regulación antígeno-específica y que controlan las respuestas de los linfocitos B, se pudieron diferenciar las células T cooperadoras de las T supresoras. Ambos tipos de células producen factores como el Taussing y el Tada, que pueden ser obtenidos en sobrenadantes de cultivos celulares mixtos ejerciendo efectos cooperadores o supresores, mediante una depresión de las células T cooperadoras (958). Estos dos tipos de células y las células T responsables de la hipersensibilidad retardada parecen reconocer a los antígenos extraños, asociados con células B o células presentadoras de antígeno, tan sólo si estas células diana comparten un antígeno Ia con las células T del huésped

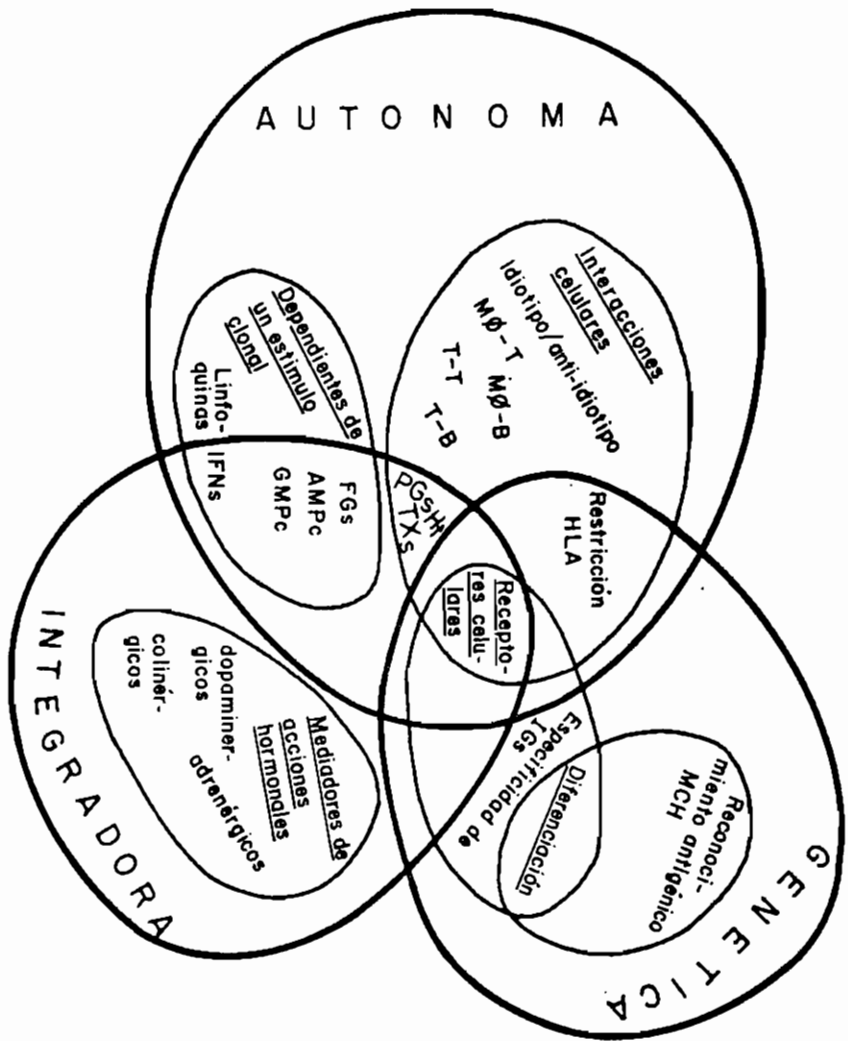


Fig. 1. Diagrama de Euler-Venn sobre vinculaciones e interrelaciones inmunomoduladoras, según distintos mecanismos y modelos de estudio.

o si ellas poseen un antígeno Ia al que las células T han adquirido tolerancia (1006, 492). Según se comprobó entonces, esto no agotaba todas las posibilidades de reconocimiento, ya que aparentemente intervenían otras células T supresoras que eran inespecíficas (237, 238). También, estudiando el comportamiento linfocitario frente a los antígenos T independientes, se vio que éstos podían generar respuestas de células B en ausencia de células T o de factores de células T (181, 750). De aquí que resultara un verdadero acertijo saber por qué, determinados antígenos de los pequeños linfocitos B, reconocían discriminadamente entre receptores de las clases IgM e IgD cuando éstos exhiben idénticos dominios variables, según se comprobó por el efecto de antisueros anti-IgD sobre la producción de anticuerpos en algunas especies de monos (707). Parecía obvio que en las respuestas específicas de células B para antígenos estuvieran involucrados estos receptores; pero, sin embargo, también es de común observación, tanto «in vitro» (603) como «in vivo» (735), que pueden aparecer respuestas inespecíficas de naturaleza semejante.

En la génesis de la problemática inmunofarmacológica también corresponde una importante alícuota al descubrimiento de los idiotipos, a la regulación de su expresión y a sus posibilidades de modulación (73). Ellos han permitido la integración conceptual de que todo el Sistema Inmune es capaz de funcionar en un entramado reticular, un difuso y gigantesco plexo, en el que los dominios variables de las moléculas de un anticuerpo (e incluso sus receptores en células B funcionales) reconocen no sólo sitios de combinación para reconocimiento de antígenos, sino también los propios determinantes antigénicos (idiotipos) que pueden resultar a su vez reconocibles en los sitios de combinación de otras moléculas de anticuerpos. Moléculas secretadas de inmunoglobulinas serán capaces de interactuar continuamente con los receptores de linfocitos que expresen determinantes idiotípicos acoplados a los sitios de combinación. Se conocen patentes efectos de este tipo de interacciones en ausencia del antígeno y se ha demostrado que la formación de anticuerpos, en respuesta a un antígeno extraño, va seguida de la producción de anticuerpos anti-idiotípicos para los idiotipos correspondientes a los primeros anticuerpos. Como se demostró hace diez años, los anticuerpos anti-idiotípicos resultan ser poderosos inhibidores para la producción de anticuerpos del idiotipo correspondiente (179). Durante bastante tiempo se ha estado intentando conseguir descripciones del sistema total basados en la complementariedad (414) y, también, se han hecho conjeturas de la naturaleza predominante de los antígenos de histocompatibilidad y de sus correspondientes anticuerpos (276), buscando elaborar teorías sobre la capacidad de regula-



ción y discriminación «propio-extraño» que tiene la red inmunitaria (414). Esta teoría, elegantemente elaborada por Jerne (449) y previamente sugerida por Lindeman (557), señala que cada organismo es capaz de sintetizar unos anticuerpos frente a epitopos exteriores (grupo I) y, también, otros anticuerpos de carácter idiotípico que actúan frente a los primeros (grupo II); los cuales, a su vez, pueden funcionar como antígenos. Parece claro que un sistema tan completo, capaz de reconocer cualquier tipo de antígeno, no se pueda evitar reconocer y distinguir entre sus propios elementos.

En esta disección, que, a lo largo del tiempo, se ha ido haciendo sobre la naturaleza y mecanismos de la respuesta inmune, encuentran motivo los inmunofarmacólogos para justificar su intervención. Esta ha de ir aplicándose a comprender la manipulación de complejas interacciones fisiológicas celulares y moleculares e incluso de las reacciones finales resultantes. Han sido de particular interés los intentos de manejar a voluntad la proliferación celular (330) y el empleo de mediadores que estimulen la intervención de macrófagos y de factores de crecimiento de las células T. (176, 177, 178, 548, 687) así como también, el control del desarrollo y selección de precursores de células B (686), la regulación y expresión de isotipos inmunoglobulínicos (182, 289), el funcionalismo de la especificidad del reconocimiento en células T cooperadoras (312) y la inducción timo-dependiente en presencia de antígenos particulados sobre células B en reposo (756).

Así, profundizando en los conocimientos de la respuesta inmune, los inmunofarmacólogos habrían de tener en cuenta que estos receptores de membrana eran como auténticos sentidos de cada célula individualizada; mediante ellos —y en asociación con receptores mitogénicos que inducen a la división celular (288)— las células eran capaces de reaccionar específicamente frente a muy diversos estímulos del medio ambiente y generar señales que transmitidas al interior darían lugar, en el caso de las células B, a su transformación en células plasmáticas secretoras de anticuerpos. En este sistema de señales, a nivel de receptores, se encontraron también mediadores secundarios del tipo de nucleótidos cíclicos que podían servir de auténticos centros de regulación para ejercer una modulación mediante distintas acciones farmacológicas (936): De este modo, todo aquello relacionado con la *regulación de la respuesta inmune, y cuya modificación a voluntad constituya un auténtico reto para la investigación biomédica, se consideró objetivo y razón de ser de la Inmunofarmacología.*

Han pasado diez años desde que se usara por primera vez una molécula peptídica (la ubiquitina) para estimular —vía adenilato

ciclaza— el desarrollo de células precursoras a otras con capacidad para sintetizar anticuerpos (845); y de aquella fecha datan también experimentos para conseguir una manipulación del desarrollo celular, durante la producción de anticuerpos, mediante la inducción de marcadores en células B por efecto del complemento (373). Progresos análogos, en términos celulares y moleculares, pueden encontrarse en estudios sobre células cooperadoras específicas e inespecíficas y otros relativos a moléculas supresoras (478, 854, 876, 878, 1014). Las posibilidades de usar coadyuvantes químicamente definidos, que pudieran generar selectivamente células T cooperadoras para producción de IgG, a la vez que inducción de células T supresoras para producción de IgE, dio lugar a un intenso «rastreo» inmunofarmacológico hacia la solución de casos de alergia y de otros con una inmunidad no deseada (496, 497). Así se empezó a pensar que incluso ciertas secuencias definidas de la porción Fc de moléculas de IgE podrían representar interesantes inmunofármacos (371).

De la misma manera, en el transcurso del tiempo, se ha ido apreciando una decidida aproximación entre la Inmunología Básica y la Farmacología Molecular, porque ambas empezaron a estudiar las diversas acciones epitopo/paratopo o fármaco/receptor específico (según los casos) a nivel de glicoproteínas de membrana. Asimismo se han empezado a aislar genes que codifican el receptor de unión de epitopos de linfocitos T citolíticos (487) para producir anticuerpos monoclonales idiotipo-específicos y receptor-específicos (183) que permitan identificar las proteínas clonotipo-específicas en los linfocitos T (481) y así poder seguir la expresión de los receptores de células T durante la ontogenia (900). Todos estos descubrimientos hacen que la Inmunofarmacología pretenda actuar sobre los mecanismos íntimos de regulación del Sistema Inmune como un medio de resolver muy distintos cuadros patológicos, ya que incluso existen datos y teorías en los que la aparición de neoplasias (583) y ciertos estados autoinmunes (362, 816) parecen estar inducidos por un desequilibrio en la regulación del comportamiento de los linfocitos. Asimismo, se está haciendo un gran esfuerzo investigador por conseguir el análisis molecular de poderosos agentes mediadores de la inmunidad (165, 379): cuando conozcamos exactamente su lenguaje molecular con macrófagos, granulocitos, plaquetas y otros elementos celulares se podrá resolver, a este nivel, la preocupante patología de las ateromatosis (1054) y otros cuadros vasculares (221, 998), de las enfermedades inflamatorias (710) y neoplasias degenerativas (861), así como aliviar la sintomatología de la senectud (132,

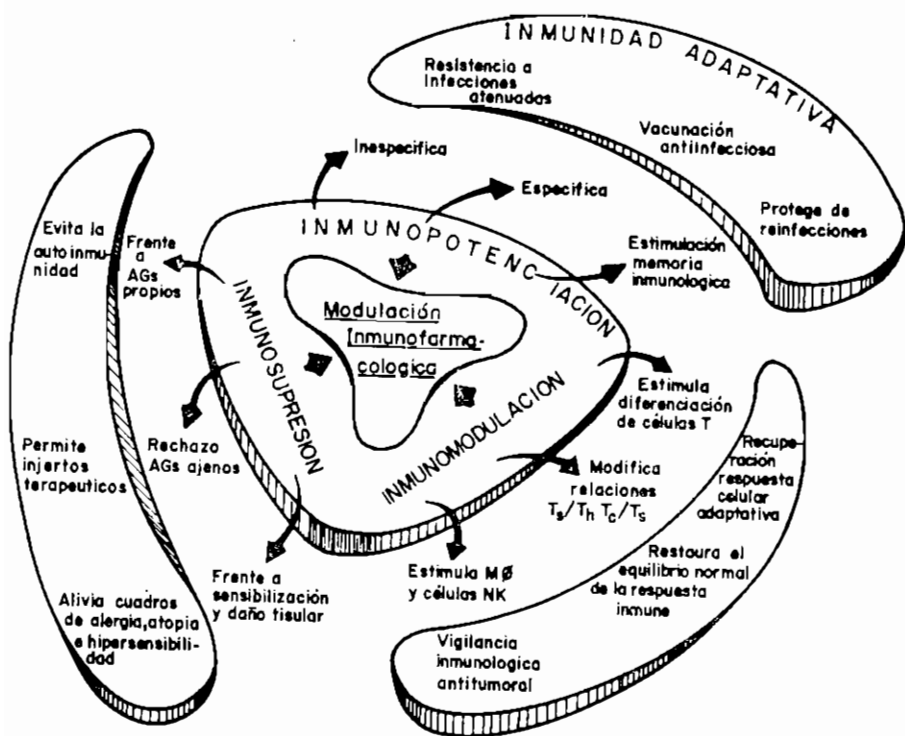


Fig. 2. Distintas posibilidades e interacciones en la modulación farmacológica del Sistema Inmune con intervención de linfocitos supresores (T<sub>s</sub>), cooperadores (T<sub>h</sub>) y citotóxicos (T<sub>c</sub>) y también de macrófagos (MΦ) y células NK frente a distintos antígenos (AGs).

836) y de otras enfermedades que se originan por inmunodeficiencia y autoagresión.

En un intento de resumir los argumentos y datos que preceden, buscando una imagen simplificada del enorme conjunto de problemas y objetivos que dan razón de ser a esta nueva disciplina científica, ideamos un esquema (fig. 2) en el que la Inmunofarmacología, incidiendo sobre la regulación del sistema inmune, produce modificaciones que, según los casos, pueden ser depresoras, estimuladoras o relativamente moduladoras; y estos efectos, aplicados a distintas situaciones patológicas, deberán producir acciones beneficiosas que se van a traducir en la restauración del equilibrio normal del sistema inmunitario de defensa o bien pueden evitar otras muy diversas reacciones de hipersensibilidad y rechazo o incluso potenciar reacciones anti-infecciosas.

## 2. FUNDAMENTOS CIENTIFICOS

Las bases del conocimiento inmunológico constituyen una ciencia «cambiante» en la que a veces es difícil la comunicación entre los que Niels Jerne calificaría de *cis-inmunólogos*, biólogos atraídos por la interacción antígeno-célula, y los *trans-inmunólogos*, químicos preocupados por las bases estructurales de la especificidad inmunológica.

Al amparo de ambas escuelas de pensamiento, surgen investigaciones encaminadas a una mejor aplicación del conocimiento inmunológico al arte de curar: su lenguaje, criterios y puntos de vista deberán compartir fundamentos que sean comunes a ambos, a *cis* y *trans-inmunólogos*.

Entre todos los mecanismos naturales de defensa, de que disponen los seres vivos para mantener su integridad, el Sistema Inmune es el más perfeccionado, se asemeja a un difuso Prometeo encadenado a los tejidos del organismo —cuya supervivencia está destinado a procurar— con el constante renacer de sus células inmunocompetentes. Su versatilidad operativa, le permite responder hasta lo imprevisible —con máxima efectividad y mínimo esfuerzo— a la agresión constante de microorganismos patógenos y de moléculas ajenas al huésped, e incluso frente a ciertos componentes del propio ser, si estos han sufrido alguna interacción molecular. Un conocimiento perfecto de la complejidad de las respuestas inmunitarias, así como sus posibilidades de modulación a voluntad, constituyen un gran reto para la investigación biomédica actual, que intenta cumplir con el objetivo de salud integral para el año 2000... *¿Cómo, cuánto y hasta dónde deberá intervenir la Inmunofarmacología en tan ambicioso proyecto?*

### 2.1. Reconocimiento y defensa del individualismo biológico

Al considerar qué datos pueden ser de interés básico en el estudio de las multifacéticas interacciones que mantienen la individualidad de las especies, protegiéndolas frente a la invasión de agentes nocivos, viene a nuestra mente lo que hace casi un siglo hiciera

escribir a Darwin... «*cuan infinitamente complejas e intrincadas son las relaciones mutuas de todos los seres orgánicos, de uno a otro, y frente sus condiciones físicas de vida*» (217). Parece conveniente, por tanto, que, antes de sumirnos en el estudio de interacciones moleculares —consecuencia última de toda respuesta inmunitaria de defensa—, volvamos la vista hacia el origen y consideremos algunos datos evolutivos que nos permitan asumir que el cambiante perfeccionamiento filogenético no se ha producido de una manera progresivamente continuada sino que, como señala Voisin (1005) en sus reflexiones sobre una Inmunología Comparada, es la resultante de múltiples tentativas de adaptación a unas condiciones ecológicas determinadas: En esta presión evolutiva, se deberá tener en cuenta desde los patógenos más sencillos del medio ambiente hasta la aparición de células transformadoras dentro del propio huésped. De esta forma, distintos mecanismos cada vez más perfeccionados, frente a condiciones ecológicas cada vez menos limitadas, han ido permitiendo a la especie humana alcanzar su individualismo y una completa independencia biológica, incluso en ambientes límites o extraterrestres: Hace unos veinticinco años que, participando con el Doctor Merayo en un programa de investigación realizado en el Centro de Investigaciones Médica Aeronáuticas (607), pudimos comprobar (en cámaras de baja presión) que en vuelos de alta cota a unos 30.000 metros de altitud no se producían modificaciones de resistencia a infecciones bacterianas experimentales en ratones sometidos a estas condiciones durante dos semanas. Hoy es posible encontrar estudios sobre inmunidad humoral y variaciones de respuesta linfoproliferativa en ambientes microgravitatorios: Así se ha comprobado, en cultivos de linfocitos humanos, que la razón de proliferación celular varía proporcionalmente a la presión gravitatoria y que estos efectos son particularmente intensos cuando coinciden con procesos de diferenciación celular (164).

En los primeros estudios relativos a vuelos en campos de gravedad 0 no se apreciaron modificaciones de los niveles inmunoglobulínicos en astronautas, incluso teniendo en cuenta las posibles fluctuaciones de ritmo circadiano; sin embargo, sucesivos procesos de activación de los linfocitos sí eran capaces de modificar las respuestas a nuevos estímulos antigénicos durante el vuelo (1007). Estudios en el Spacelab 1, en 1979, handdemostrado, además de una desmineralización ósea y disminución de la masa eritrocítica, diversas alteraciones inmunológicas (163). Así se ha comprobado: a) una depresión de la respuesta linfoproliferativa de los linfocitos T, que se superaba dos semanas después de su regreso a tierra; b) algunos incrementos o descensos en los niveles de lisozima, complemento

e interferón, variables según las tripulaciones examinadas; y c) aumentos de IgA, IgG e IgM en vuelos prolongados de 49 días como el del Salyut 4. Estas variaciones son debidas a la producción de auto-anticuerpos frente a productos de degradación originados durante una atrofia muscular que se detectaba durante el vuelo mientras que la disminución de respuestas blastogénicas en células T, activadas por fitohemaglutinina, van acompañadas de aumentos en el número de neutrófilos y disminución de los eosinófilos (961)): según parece, estos cambios son debidos, probablemente, más al «stress» producido durante el vuelo que a la propia hipogravedad. También, en situaciones hipergravitatorias (2x, 4x y 10xg respectivamente) se han observado incrementos de respuesta blastogénica que son proporcionales al aumento gravitatorio (164); lo cual parece lógico si se tiene en cuenta que el *organismo humano se ha adaptado durante millones de años de evolución a unas constantes gravitatorias determinadas y si estas cambian, fuera de ciertos límites, el Sistema Inmune intentará evolucionar y adaptarse a las nuevas condiciones de vida.*

### 2.1.1. Evolución biológica y sistema inmune

Aunque la frontera entre lo pre-biótico y los seres vivos corresponde a la aparición de moléculas auto-replicativas de DNA, acompañadas de una «particulación» condicionada a rudimentarias proto-membranas, la primera noción de vida instintiva y con capacidad para proteger una individualidad propia hubo de surgir como un rudimentario Sistema Inmune. Las primeras unidades moleculares proto-reproductivas de naturaleza protenoide, debieron estar influidas por muy distintos factores de hidrofobicidad, volumen molecular y la constante pK de los grupos reaccionantes (291), así como por los espectaculares efectos de polimerización posibles en superficies de montmorionita (685), donde podrían orientarse en monocapas o micelas más fácilmente polimerizables (125). Los biomómeros así originados, bajo condiciones pre-bióticas adecuadas y con auxilio de polinucleótidos ya preformados, dieron lugar a sistemas auto-replicativos; sin embargo, estos sistemas no habían alcanzado todavía esa «inteligencia química artificial» capaz de distinguir señales de identidad molecular. *Resulta muy difícil precisar exactamente cómo y en qué momento pudo haber surgido la posibilidad de una respuesta inmune más o menos rudimentaria.*

Cabe suponer que este Sistema Inmune rudimentario pudo haberse iniciado al final de un período crítico de aparición de bio-

TABLA 2. Modificaciones evolutivas referentes a la organización del Sistema Inmune.

<i>Fases críticas</i>	<i>Grados de complejidad</i>	<i>Tipo de organización y funcionamiento</i>	<i>Fenomenología</i>
1. Inicial	Tetranucleótidos ↓	Síntesis de pequeñas moléculas	Prebiótica
2. Crisis de organización	Dodecapéptidos ↓	Síntesis de heteropolímeros	Variabilidad
3. Crisis de complejidad	Polinucleótidos ↓	Nucleación autocatalítica	Autocatálisis en sistemas abiertos
4. Crisis de adecuación	Cuasi-especies ↓	Traslación de la organización funcional	Compartimentación
5. Crisis de información	Hiperciclos ↓	Primitiva división celular	Ordenamiento espacial en estructuras disipadoras
6. Crisis de la dicotomía genotipo-fenotipo	Compartimentos protocelulares ↓	Glicolisis, fotosíntesis	Oscilaciones, relojes biológicos, ritmos circadianos
7. Crisis de energía	Microorganismos ↓	Células hematogénicas primitivas	Fijación de fluctuaciones
8. Crisis de identificación e incompatibilidad.	Iniciación del árbol filogenético ↓	Agregaciones específicas	Evolución hacia la complejidad
9. Aparición de memoria inmunológica y células leucocitarias diferenciadas.	Esponjas y corales ↓	Células especializadas, opsoninas, lisinas, aglutininas	Reconocimiento de material ajeno
	Gusanos	Memoria que no rechaza injertos	Inmunidad mediada por células primordiales



↓	Aparición de complemento
↓	Fagocitosis, aglutininas, memoria con rechazo de injertos
↓	Células pluripotentes, linfocitos, MHC
↓	Focos linfocitarios, respuestas de anticuerpos
↓	Bazo, timo, células T y plasmáticas, IgM
↓	Cooperación células T-B, Igs y células T
↓	Nódulos linfáticos, células T, IgM, IgG, I <sub>H</sub> <sup>+</sup>
↓	Células T, IgM, IgG, IgA
↓	Bolsa de Fabricio, células T, células B, IgM, IgG, IgA
↓	Células T y B, GALT (*), IgM, IgG, IgA, IgE, IgD
↓	Regulación compleja de la respuesta
10. Integración de distintas respuestas.	
↓	Inmunidad con respuestas humoral y celular
11. Máxima complejidad del sistema.	
↓	Regulación compleja de la respuesta

(\*) Tejido linfoide asociado al intestino delgado.

oligómeros con capacidad informativa para irse plasmando en receptores superficiales capaces de distinguir entre lo propio y lo ajeno. A partir de aquí, es posible encontrar datos de que una capacidad inmunológica primitiva pudo existir en las primeras formas de vida, que parece haberse detectado entre algunas especies que poblaron la tierra durante la era precámbrica —hace 799 millones de años— y fue evolucionando desde los primitivos invertebrados hasta llegar a los vertebrados superiores (173). En este proceso evolutivo, desde las primitivas formas de vida hasta las más complejas reacciones de funcionamiento y regulación que es dado encontrar en el ser humano, cabe diferenciar entre muy diversos estadios que pueden ser incluidos en las dos etapas más características de evolución del Sistema Inmune: el reconocimiento entre propio y ajeno, y la reacción inmunitaria adaptativa.

En la tabla 2 apoyándonos en la clasificación sugerida por Schuster (851), que se basa en una compartimentación de seis períodos críticos durante la evolución y considerando otros datos de distintos autores, se intenta esquematizar la posible aparición de las primitivas respuestas inmunitarias. En ellas cabe distinguir una fase *inicial*, en la que a nivel de membrana surge la capacidad de reconocimiento y ésta va a constituir la base del individualismo bioológico a distintos niveles, tanto de células como de órganos y organismos. Según la hipótesis de Kolb (507) este fenómeno es una consecuencia de la necesidad que tienen las células de un organismo de reconocerse entre sí para asociarse y formar los tejidos; para conseguir esto, han de disponer en su membrana de especiales señas de identidad (*marcadores*) y de elementos capaces de distinguir e interpretar estas señas (*receptores*). Entre los espongiarios y celentéreos, se ignoran o se atacan las colonias y organismos próximos según su grado de semejanza; así se descubre la respuesta fagocitaria, estudiada en primer lugar por Metchnikoff (617), como un mecanismo de protección de especies de *Daphnia* frente a infecciones fúngicas. Seguidamente aparece una fase de mayor duración, que alcanza a seres más diferenciados, y en la que se produce un claro perfeccionamiento evolutivo; en ella, al reconocimiento inicial le acompaña un perfeccionamiento de los mecanismos y así, procesos de encapsulamiento, secreción de sustancias aglutinantes líticas o tóxicas, como las lectinas, lisozima, etc., son capaces de eliminar el agente extraño y producir su alteración o muerte. También en este período se detectan células más específicas, encargadas de conseguir el rechazo de las células ajenas (semejantes a macrófagos y células NK) y se llega a la existencia de células de memoria inmuno-

lógica que ya confieren a la respuesta las características mínimas de una reacción inmunitaria adaptativa.

En este estadio final, el *más evolucionado* de la respuesta frente a lo extraño, aparecen sistemas de amplificación, diferenciación y activación que están regidos por complejos modelos enzimáticos. La respuesta inmuno-celular acaba por completarse con una respuesta humoral en la que aparecen precursores inmunoglobulínicos y factores semejantes al complemento, como los descritos en equinodermos, anélidos (452, 994) e insectos, en los que se detecta una multipotencialidad de respuestas del sistema al ser activado por un estímulo tan simple como puede ser una bacteria encontrada al azar; Hoffman (416) encuentra en los insectos un sistema de defensa celular, fácilmente movilizable, que los proporciona una respuesta rápida y eficaz además de aparecer auxiliada por una serie de reacciones humorales que se encargan de eliminar el elemento extraño. Por último, en los vertebrados, el Sistema Inmune se origina —muy posiblemente— en los sistemas celulares hematogénicos más primitivos con la aparición de receptores en las estructuras más superficiales y que, como un rudimentario sistema de histocompatibilidad, van a permitir el reconocimiento y la comunicación entre las membranas de células somáticas del mismo organismo (405); también podrían considerarse como rudimentarias actividades inmuno-reguladoras, la aparición, en teleosteos, de factores interleuquínicos que intervienen como reguladores/amplificadores de las actividades leucocitarias (348). Estos acontecimientos de individualismo vital, semejantes a los ya señalados para organismos más primitivos, no sólo capacitan a las células para el entendimiento e interacciones durante la morfogénesis y funciones tisulares diferenciadas, sino que sus marcadores y receptores ya permiten la discriminación entre lo propio y lo ajeno (636). Filogenéticamente considerado, un gen capaz de codificar la síntesis de uno de estos receptores especializados, pudo dar origen a familias de genes capaces de codificar, otras partes variables de los receptores e, inclusive, anticuerpos (140). Esta relación filogenética entre variabilidad del reconocimiento propio-ajeno se comprueba también durante el desarrollo ontogénico del Sistema Inmune en vertebrados. Según parece la generación de la diversidad, al menos entre subpoblaciones de células T, pudo realizarse por una interacción entre precursores de células T reconocedoras de lo propio y algunos marcadores del sistema mayor de histocompatibilidad (91, 1066). Además, mientras va terminando de perfeccionarse específica y definitivamente la respuesta celular en los vertebrados, se puede ir produciendo una innovación en su sistema inmunitario y empezando a

aparecer diversas moléculas inmunoglobulínicas (33, 953) —ya sean las de secreción o las de reconocimiento localizadas en membrana— cuya síntesis se inicia cuando los vertebrados emergen del agua a la tierra y esto parece coincidir con una evolución progresiva de su sistema vascular en el que se modifican el flujo circulatorio y las presiones osmótica e hidrostática (580). Estas moléculas van especializándose según su medio de localización y con cierto determinismo de especialización y especificidad: así las IgM, que son primitivas en el orden filogenético, aparecen en medios extravasculares, mientras que las IgA (intratisulares) se encuentran menos frecuentemente en los anfibios que en los mamíferos y las IgA (de mucosas) existen tan sólo en aves y mamíferos pero no en poiquilotermos; en cuanto a su grado de especificidad, las IgE, imprescindibles para respuestas de hipersensibilización, se encuentran tan sólo en mamíferos superiores mientras que las IgD, menos estudiadas, se asocian en su intervención a ciertos reconocimientos más particulares.

De este modo, mediante múltiples intentos de adaptación, condicionados por la agresión de distintos ecosistemas y por los nuevos elementos moleculares que evolutivamente han ido apareciendo, se ha ido ampliando y diversificando el repertorio de los distintos elementos que intervienen en el Sistema Inmune de los vertebrados. Por otra parte, también fue evolucionando la organogénesis hacia centros germinativos diferenciados, que pudieran proporcionar un polimorfismo defensivo polivalente, y se fue haciendo más patente el papel diferencial de los complejos mayores de histocompatibilidad (MHC): en los corales, por ejemplo, existen unas características de memoria específica —altamente discriminatoria en cuanto a su capacidad de reconocimiento— que hace suponer la existencia de un extenso polimorfismo en sus marcadores de histocompatibilidad (406). Estas moléculas que, según Pla y Shalev (719), ya empezaron a manifestarse funcionalmente con más claridad en ciertas especies de invertebrados y vertebrados inferiores, son la expresión de una región genética MHC definida, como la que codifica el rechazo agudo de aloinjertos. El sistema de histocompatibilidad se manifiesta en algunos peces, en ciertos anfibios anuros y en todas las aves y mamíferos. Sin embargo, el hecho de que no exista en los reptiles y aparezca en otras especies menos evolucionadas (719) hace pensar que responde a un mecanismo evolutivo más funcional; según el cual, el gen se manifestó cuando ya era necesario para la supervivencia. La evolución de los genes que codifican este complejo mayor de histocompatibilidad, no se conoce aún perfectamente y tampoco su papel biológico primordial, ya que, según Ohno

(666), los antígenos HLA-I y  $\beta_2$ -microglobulina sirven primordialmente como sitios de anclaje para las moléculas que dirigen la organogénesis y por tanto su papel como elementos de reconocimiento en el Sistema Inmune es secundario, apareciendo posteriormente en la evolución. Sin embargo, Katz y Skidmore (480), entre otros, piensan que el sistema MHC constituye el mecanismo predominante del propio reconocimiento y es el que ha permitido mantener la defensa inmunitaria del individuo, aunque para Klein y cols. (500) el poliformismo evolutivo del sistema de histocompatibilidad de los vertebrados sea el verdadero responsable de la diversificación del Sistema Inmune entre estas especies, dirigiendo la eficacia de las células T citotóxicas y T cooperadoras. Todo esto lleva a decir a Snell (899) cuando trata del sistema de histocompatibilidad H-2 en el ratón, que se trata de «un párrafo del libro de la Naturaleza que ha sido leído fuera de su contexto»... Una idea resumida de los cambios filogenéticos detectados en el Sistema Inmune nos la da el esquema de la tabla 2, donde se ve que el nivel más evolucionado corresponde al Sistema Inmune humano, cuyo funcionamiento autónomo recuerda, en esta época de la cibernética, a un delicado ordenador de circuitos integrados en el que, semejante al sistema nervioso, según va entrando la información procedente de situaciones de competencia vital frente al ecosistema, se va procesando y seleccionando ésta, para responder en la forma más adecuada a la conservación del individuo.

Cuando a esta visión de Inmunología Comparada se yuxtapone una imagen de su aplicación en la vertiente farmacológica, como si de dos dibujos en papel vegetal se tratara, cobran un súbito y especial relieve cuatro aspectos del problema que tienen un marcado interés inmunofarmacológico: a) los escrutinios inmunofarmacológicos utilizando invertebrados; b) las relaciones entre sistemas de histocompatibilidad y enfermedad; c) la vigilancia inmunitaria antitumoral; y d) la diversidad de interacciones posibles en la viviparidad.

i) En cuanto a los escrutinios inmunofarmacológicos, cabe la posibilidad de aplicar y comparar muy distintos modelos de respuesta biológica utilizando invertebrados o vertebrados con un nivel de organización menos evolucionado que el humano, como pueden ser los peces (257, 789, 972), anfibios (245, 479, 826) o aves (647, 948). Esto abre nuevas posibilidades de estudiar, a niveles más sencillos, los mecanismos de regulación de la respuesta inmune e incluso de determinar así las dianas celulares de diferentes acciones inmunitarias.

ii) *En relación con los sistemas de histocompatibilidad*, hace pocos años se informó de la aparición de un gen ancestral común a moléculas fundamentales de la respuesta inmune y se incluyó dentro del sistema MHC (207). De estos agrupamientos genéticos, a los que Snell dio el nombre de «supergen» (898) se sabe que constituyen grupos de loci estrechamente ligados, pero todavía se investiga sobre su verdadera significación fisiológica (118) y el por qué de su asociación con ciertas enfermedades (945), muchas de las cuales responden a característicos cuadros de autoinmunidad o inmunodeficiencia. El conocimiento de estas relaciones y la modulación de sus respuestas mediante procedimientos inmunofarmacológicos nos conducirán a desentrañar y, posiblemente, a controlar la patogenia de dichas enfermedades.

iii) *En cuanto a la vigilancia antitumoral*, considerada en su vertiente evolutiva, dentro de los mecanismos de vigilancia inmunitaria frente a células extrañas o alteradas, parece surgir a nivel de ciclóstomos primitivos (como el «pez bruja») aunque también se encuentran casos de desarrollo neoplásico en invertebrados (46). Basándonos en datos sobre filogenia de neoplasias y en otros relativos a reacción inmunitaria en invertebrados, cabría intentar el diseño de modelos experimentales más sencillos; si en ellos se logran producir tumores con la suficiente reproducibilidad de desarrollo oncológico, se llegarían a conseguir datos sobre vigilancia inmunitaria en invertebrados, que resultarían modelos más simples que los estudiados en reptiles, aves y mamíferos (244).

iv) *En cuanto a la diversidad individual que hace posible la viviparidad*, es de excepcional importancia desvelar el mecanismo inmuno-regulador que ha hecho viable la coexistencia de dos seres genéticamente distintos y las circunstancias evolutivas que propiciaron entre la mayoría de especies de vertebrados —en todas, excepto en ciclóstomos y aves— el éxito biológico de la viviparidad. Dada la codominancia de los antígenos de histocompatibilidad individual, que aparecen codificados por los genes parentales que se transmiten durante el apareamiento es de gran importancia realizar estudios inmunofarmacológicos sobre tolerancia a aloantígenos y ello hace que examinemos el tema con más detalle en esta ocasión.

### **2.1.2. Inmunotolerancia y viviparidad**

La nidación, desde un punto de vista inmunológico, puede ser considerada como una modalidad de aloinjerto natural en el que —en condiciones normales— no se produce reacción de rechazo ni,

TABLA 3. Teorías sobre niveles y mecanismos de tolerancia materno-fetal.

En el feto (injerto)	En la madre (huésped)	En la interfase materno-fetal (interacción injerto-huésped)
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Carencia de antigenicidad en el embrión.</li> <li>2. Membranas fetales no inmunogénicas.</li> <li>3. Células trofoblásticas no inmunogénicas.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Inmunosupresión inespecífica por hormonas, por proteínas, o por células supresoras asociadas al estado de gestación.</li> <li>2. Inmunosupresión específica por células T-supresoras específicas e inespecíficas.</li> <li>3. Bloqueo de receptores de células T citotóxicas alorreactivas y de anticuerpos anti-idiotípicos.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Barrera inerte de sialomucina con cargas negativas que repele a los linfocitos maternos electrostáticamente.</li> <li>2. Anticuerpos bloqueantes o formación de complejos antígeno-anticuerpo.</li> <li>3. Inmuno-absorción de anticuerpos citotóxicos a nivel de placenta.</li> <li>4. Bloqueo de los linfáticos aferentes por la decidua.</li> <li>5. Enmascaramiento de antígenos trofoblásticos por transferrina, uteroglobulina u hormonas (HCG).</li> <li>6. Distribución de antígenos preferentes sobre la membrana celular «in situ».</li> <li>7. Configuración por epítomos de MHC reconocidos por linfocitos B pero no por células T.</li> <li>8. Inmuno-regulación local por células en la interfase (trofoblasto, decidua).</li> <li>9. Inmunoregulación de leucocitos endometriales por progesterona, prostaglandinas, inhibidores de prostaglandín-sintetasa y otras moléculas supresoras.</li> </ol>

inclusive, fenómenos de sensibilización que puedan afectar a sucesivas gestaciones. En la tabla 3 se resumen diferentes hipótesis que tratan de explicar la interacción inmunológica materno-fetal. En la revisión de Clark (159) se diferencian dos clases de mecanismos para evitar el rechazo de los antígenos fetales, según que se trate de deficiencias en el reconocimiento del repertorio antigénico o a un fenómeno de regulación supresora. De todas las hipótesis la más defendida, aunque no totalmente comprobada, es que la sobrevivencia del nuevo ser concebido se debe a unas condiciones específicas de inmuno-regulación que se ponen en juego cuando la «conciencia inmunobiológica» de la madre discrimina que los aloantígenos paternos que está reconociendo no pertenecen a un injerto convencional sino que forman parte de un ser en cuya concepción ella ha tomado parte. Una prueba de que existe un reconocimiento especial..., digamos «materno-afectivo» es que en el suero de mujeres gestantes se han podido detectar anticuerpos frente a los aloantígenos fetales paterno-heredados (999, 969) pero sin embargo no aparecen fenómenos de rechazo, al contrario de lo que sucede en respuestas inmunológicas de hembras vivíparas inmunizadas con aloantígenos paternos mediante células de bazo (64): *esto puede ser la consecuencia de un factor «señal» elaborado por el propio trofoblasto* (198). Cuando las hembras son pre-inmunizadas experimentalmente contra aloantígenos paternos, y por tanto poseen mediadores de rechazo del tejido durante su primera gestación, han de aparecer factores bloqueantes a distinto nivel y sin relación directa con la síntesis de aloanticuerpos. Para que la gestación sea viable en estos casos, algunos investigadores piensan en la intervención —como si de un epifenómeno se tratara— de moléculas supresoras del tipo progesterona y  $\beta_2$ -macroglobulina (97, 881) o de prostaglandinas (1047); otros, sin embargo, atribuyen un papel preponderante al sistema de regulación idiotípico materno (1046) y de hecho existen casos de abortos espontáneos recurrentes, en los que el fallo aparece relacionado con alteraciones de inmuno-regulación materna, durante el reconocimiento aloinmunitario, que pueden modificar la respuesta protectora para la implantación de blastocisto (458).

Esta paradoja de la Naturaleza... *«evolucionar hacia una más perfecta capacidad de reconocimiento y rechazo de todo lo que no es esencialmente uno mismo a la vez que se intenta proporcionar la más delicada acogida y protección a ese injerto feto-placenta que representa un nuevo ser concebido»...*, constituye una incógnita que ha interesado vivamente a los biólogos (57, 58, 273): El mimetismo de este comportamiento inmuno-regulador y de esa discriminadora protección que representa la barrera placentaria (60) —cuan-



do se conozca— permitirá prevenir inmunológicamente los abortos recurrentes espontáneos en madres de alto riesgo (963) y proporcionará la solución a muchos de los problemas que hoy se plantean en la práctica de transplantes.

Este fenómeno de aparición de la viviparidad en la escala animal y las relaciones inmuno biológicas materno-fetales nos conducen hacia el tema de la ontogenia del Sistema Inmune... *¿cómo se produce, en cada caso una maduración perfectamente ordenada de todos y cada uno de los elementos que van a constituir la clave de ese lenguaje que explica la identidad biológica de cada ser y que defiende su individualismo?*... Un sistema cuidadosamente diferenciado de tejidos linfoides e inmunoglobulinas existe ya en la primera mitad de la gestación de un ser humano, pero *¿cuál puede ser el orden jerárquico de su aparición?*... *¿en qué momento el recién concebido manifiesta su nueva personalidad biológica?*... su individualismo. Ensayos con anticuerpos monoclonales, efectuados por Lala y cols. en ratones (525) han revelado que entre los 9 y 12 días de gestación, una significativa proporción de células del trofoblasto, ya están expresando los antígenos de histocompatibilidad MHC-1 de ambos haplotipos parentales en codominancia y con igual intensidad; es decir, ya ha quedado afianzada su individualidad biológica como un nuevo ser que, entre los días 12 a 16 de gestación, va a representar una densidad de antígenos MHC-1 equivalente a la que existen en los timocitos de un adulto del mismo genotipo (201). También, Delovitch y cols. (227), estudian la aparición de antígenos Ia durante el desarrollo de embriones murinos a los 11 días de la post-concepción y su expresión, entre los 11 y 16 días de gestación, aparece confinada al hígado fetal. Posiblemente, *la madre distingue que se trata de un nuevo individuo al que ella está dando el ser y no de un injerto convencional porque en el trofoblasto aparecen tan sólo los antígenos MHC-1 pero no los de clases MHC-2* (202, 274, 943) y por que , durante la gestación, parecen existir moléculas inmunorreguladoras que mantienen disminuida la capacidad citotóxica potencial de poblaciones precursoras de células NK (976, 977).

La diferenciación de las células precursoras en el feto puede seguirse por los tipos de inmunoglobulinas que aparecen en los distintos órganos y así, pudo observarse hace veinte años cómo se iniciaba la síntesis de IgM e IgG en bazo fetal humano de 19 semanas de gestación, en tanto que las IgA no aparecían hasta después de 31 semanas (997); sin embargo, en pulmón e hígado fetales, las IgM aparecieron entre 10 y 11 semanas, precediendo a las IgG que empezaron a detectarse a las 12 semanas (323). Esta diversificación

de inmunoglobulinas parece producirse por una desviación de la síntesis en el sentido de  $IgM \rightarrow IgG \rightarrow IgA$ , que se origina a nivel de la expresión de los genes que codifican las regiones constantes de las cadenas pesadas (175, 1002). En cuanto a la síntesis de IgD, según algunos autores, puede iniciarse en el hígado fetal antes (824) o después (356) de que hagan su aparición las IgM; no se conoce bien su significación, aunque parecen indispensables para que los linfocitos B maduros puedan transformarse en células productoras de IgG, IgA o IgE con el concurso, además, de otras células T cooperadoras y de la correspondiente estimulación antigénica (817).

El desarrollo y diferenciación de los linfocitos T permanece bajo el control del timo, ya sea directamente ya sea mediante factores humorales producidos por esta glándula (timosina, timopoyetina, etc.). Se inicia en las células germinales hematopoyéticas y termina en la aparición de células efectoras diferenciadas; algunas de ellas también se originan, por sí mismas, a partir de células de memoria de larga vida. No se conoce exactamente cuáles son los mecanismos reguladores del proceso, pero la presencia de células T, con sus marcadores específicos, se empieza a detectar en humanos a las 8 a 10 semanas de gestación y después, sucesivamente, van apareciendo sus diversas actividades funcionales hasta completar el proceso diferenciador al cabo de unas 16 semanas (925). Mediante anticuerpos monoclonales, varios equipos de investigadores (445, 520, 764, 765, 767), han podido comprobar la diferenciación intratímica; entre ellos, Kamps y Cooper (472), han observado que los antígenos de células T no aparecen en la médula ósea e hígado fetal hasta varias semanas después de que se efectúe la timopoyesis. Los primeros en expresarse son los antígenos  $T_1$ ,  $T_3$ ,  $T_4$ ,  $T_5$  y  $T_8$ ; según parece, a las 12 a 16 semanas se detecta un acusado grado de diferenciación, existiendo ya en el hígado y médula fetales un predominio de células pre-B en relación con las células B sIgM<sup>+</sup>. Después del nacimiento, también se alcanza la expansión de poblaciones granulares que expresan el antígeno HNK-1 (1); las cuales, representan algo menos de un 0,1 por 100 en los órganos fetales y se relacionan con la ontogenia de las células NK (2, 736). Muy recientemente, Horwitz y Bakke (424) han estudiado una población de células monoclonales, que no llega al 15 por 100 de los linfocitos, y que expresan determinados receptores Fc para IgG; se conocen como una «tercera población» y no se sabe exactamente si se trata de una población única en su diferenciación o si son células inmaduras de otras poblaciones mononucleares; las denominan «células L» por la unión temperatura sensible de las moléculas IgG a sus receptores Fc y parecen tener una función citotóxica y reguladora.

Durante el proceso ontogénico, el embrión, a la vez que desarrolla su inmunocompetencia, va aprendiendo también a mantener un estado de *tolerancia funcional* frente a los propios antígenos autólogos; si durante este proceso se produjeran fallos, el sistema podría originar respuestas de autoagresión o autoinmunitarias, lo que Ehrlich calificara a principios de siglo de «horror autotoxicus». No se conoce con exactitud el verdadero mecanismo de esta tolerancia natural, aunque sí se sabe que durante el período embrionario o neonatal, el organismo carece de competencia inmunológica frente a un antígeno particular. De acuerdo con la teoría clonal de Burnet (138), parece ser que la glándula del timo «instruye» durante su maduración a aquellos clones que no van a reaccionar frente a los antígenos autólogos mientras que mantiene bloqueados a los clones auto-reactivos. También, de acuerdo con Cunningham, la tolerancia a los antígenos propios puede ser mantenida por mecanismos supresores activos, que se desarrollan en estados tempranos de la ontogenia y que actúan selectivamente sobre los clones auto-reactivos, impidiendo su multiplicación hacia variantes de alta afinidad. Metcalf y Klinman (615), mediante un sistema para definir «in vitro» subpoblaciones de células B, en focos esplénicos aislados, caracterizaron el estado de maduración de células de médula ósea y bazo, en ratones neonatos y adultos, comprobando que la susceptibilidad a una inducción de tolerancia decrece con la edad, que es mucho menor en bazo que en médula ósea y que en esta última existe un 25 por 100 de células B que permanece sensible a la inducción de inmunotolerancia incluso en animales adultos. Según revisa Strober (932), se empieza a conocer el comportamiento y características de un cierto tipo de células supresoras naturales, que parecen intervenir tan sólo durante las «fases oscuras» de la regulación inmune en los períodos neonatales. Estas células supresoras inespecíficas, según unos, aparecen durante el período de tolerancia (26, 27, 652, 744) y desaparecen a las pocas semanas del nacimiento, cuando se alcanza la plena maduración de los macrófagos y de los linfocitos T y B (360, 680, 718). Sin embargo, para otros investigadores esta actividad supresora puede estar mediada por otros linfocitos distintos de los T (680, 799), y también por promonocitos (701, 718, 903): El proceso puede ser revertido mediante tratamientos discontinuos con altas dosis de irradiación sobre el sistema linfoide (934). Aunque estas células presentan semejanzas en cuanto al fenotipo de superficie con las células NK (396, 488), difieren plenamente en cuanto a su función (680) y ello nos hace pensar que pudieran ser distintas fases de maduración dentro de un mismo tipo de células (360), llamando nuestra atención el modo peculiar de reacción frente a anti-

genos tan imperceptibles como son los tumorales y que no sea precisa una estimulación antigénica para manifestar su función efectora.

Pese a ser la tolerancia *un fenómeno que paradójicamente es inseparable de la inmunidad*, cabe distinguir entre el fenómeno natural que depende del «genio» de las especies en busca de su propia identidad e individualismo y una tolerancia adquirida, ya sea por cuadros autoinmunitarios subsiguientes a fallos en el sistema regulador de la respuesta inmune (166, 1031), ya sea por transferencia adoptiva (314), o incluso por manipulaciones experimentales en evitación del problema de rechazo en transplantantes heterólogos. Esta ausencia de respuestas que el organismo pone en juego, al enfrentarse con sus propios constituyentes, puede ser mimetizada siguiendo distintas circunstancias experimentales que afectan a tres tipos de parámetros. Según revisa Weigle (1032), el fenómeno puede depender: a) de la especie, la estirpe y su competencia inmunitaria; b) de la naturaleza y dosis del antígeno; y c) de la vía de administración del inmunógeno o tolerógeno. Con frecuencia pueden originarse situaciones de ausencia de una respuesta inmune por la combinación de varias de estas condiciones experimentales (381).

Para Evans y Engleman (264) la tolerancia a los tejidos propios depende de una red de linfocitos que, durante su maduración en el timo, «aprenden» a distinguir como propios los tejidos del medioambiente hospedario y en consecuencia son las únicas células T que prosperan en la diferenciación; en la que también, aunque en una fase tardía, aparecen otras células T supresoras que reconocen y controlan el comportamiento «inmunotolerante» de los linfocitos. El mecanismo discriminador depende de determinantes heterólogos de membrana cuya diversidad está genéticamente controlada a partir de loci genéticos pertenecientes al sistema MHC y de otros ligados a las cadenas pesadas de inmunoglobulina.

En cuanto a la tolerancia en modelos experimentales, ya hace cuarenta años, que Owen (682) hiciera su importante descubrimiento sobre gemelos dizigóticos de ternera en los que existía una circulación sanguínea común por anastomosis vascular; así se pudo comprobar que, ocasionalmente, algunas «células embrionarias ancestrales del eritrocito» se habían modificado y permitían la supervivencia de injertos en el adulto. Más tarde, Burnet y Fenner usaron este mismo modelo para estudios de reconocimiento de antígenos propios y, también Medawar y cols. (95), repitieron el experimento utilizando embriones de ratones CBA frente a distintos tejidos de otra estirpe murina; cuando esos embriones alcanzaron la madurez, se

sometieron a distintos injertos de piel y, según los casos pudieron llegar a ser tolerados como propios. La trascendencia del experimento hizo que Burnet y Medawar compartieran por este trabajo el Premio Nobel de Medicina en 1960.

Entre los estados de tolerancia natural y la adquirida cabe la distinción de que el primero obedece a patrones de regulación que reconocen los componentes propios para mantener la integridad del huésped, mientras que en el segundo caso tienen una intervención primordial los antígenos ajenos: *en el período perinatal, los antígenos más persistentes y con mayor resistencia frente a la degradación normal son particularmente propicios para producir estados de tolerancia de duración variable* (839). Se ha comprobado que los tolerógenos proliferativos inducen una tolerancia duradera, mientras que los no proliferativos requieren inyecciones repetidas del propio antígeno; asimismo, antígenos no agregados o concentraciones antigénicas extremas (altas o muy bajas) pueden inducir tolerancia. Esto hizo que Mitchinson (633) distinguiera dos zonas tolerogénicas que pueden ser delineadas perfectamente en sus contornos, según los tres parámetros fundamentales para controlar cualquier inmunización: dosis de antígeno, tiempo del tratamiento y título de protección alcanzada. Asimismo, cabe la posibilidad de conseguir tolerancia mediante el empleo de anticuerpos específicos; según los descubridores de este fenómeno (279) el efecto inmunotolerante se localizaba en la rama aferente de la respuesta y podría estar originado por un bloqueo o interacción previa con los receptores del antígeno. Para Aldo-Benson y Borel (10), durante la primera semana de inducción de la tolerancia, el número de linfocitos esplénicos con receptores libres para unirse al antígeno o al tolerógeno son los mismos en animales normales que en animales inmunotolerantes, pero este número decrece marcadamente en los animales tolerantes al cabo de cuatro semanas de tratamiento. Según parece, en ambas circunstancias puede originarse un fenómeno de divergencia funcional para un mismo receptor antigénico, que al ser bloqueado por la molécula tolerógena convierte a la célula en inmunotolerante; es decir, en una célula que tiene «paralizado» el receptor que reconoce y se une al antígeno. Con moléculas fuertemente tolerogénicas y no metabolizables, como un copolímero de poli D-ácido glutámico-D-lisina, conjugado a dinitrofenilo, el efecto del bloqueo es tan persistente que el linfocito queda incapacitado para reexpresar el receptor antigénico (34).

No existe un mecanismo único para la inducción de tolerancia inmunitaria (Tabla 4) y de aquí las dificultades para realizar investigaciones inmunofarmacológicas en este campo. De los diferentes mo-

dos posibles de inducir estados de tolerancia en células T y B, revisados por Scott (839), es posible distinguir básicamente entre dos tipos de mecanismos, según sea por inactivación o por un efecto de células supresoras. En principio se pensó en una inactivación irreversible o delección clonal por reacción entre antígeno y receptor linfocitario. Burnet (138) preconizaba esta hipótesis, específicamente para los estadios tempranos durante la diferenciación de las células linfoides, antes de que se alcanzara el estado adulto: según sus experimentos, durante la diferenciación temprana las células T resultaron ser las más fácilmente tolerizables al reaccionar con antígenos propios en el medio ambiente del huésped y esto quizá se originó mediante células unidas al antígeno en las que la membrana pudiera resultar inmovilizada o «congelada». Al no encontrar una disminución en el número de estas células, durante los estados de tolerancia, se supuso que los clones de células fijadas al antígeno tolerogénico seguirían estando presentes y conservando su viabilidad aunque padeciendo una delección o bloqueo funcional. Por otra parte, también se ha supuesto que podrían existir células T supresoras, muy particulares (932), con capacidad para intervenir en la regulación de los estados tempranos de diferenciación durante la ontogenia, pero su papel en la inducción de tolerancia todavía no es bien conocido (383, 839). De hecho, en la inmuno tolerancia pueden intervenir mecanismos de activación positiva tanto como respuestas pasivas sin que exista ninguna delección clonal (384), habiéndose demostrado hace tiempo que la inmunopotenciación puede también cooperar a un estado de tolerancia inmunológica (358, 382, 1003), e incluso existir factores bloqueadores en el suero de animales inmutolerantes (387). Se ha comprobado que la administración oral de proteínas solubles puede dar lugar a una inmunidad secretora coincidente con una tolerancia de carácter parenteral (978); esto puede ser debido a que en las placas de Peyer se producen simultáneamente, células T cooperadoras de IgA antígeno-específicas y células T<sub>s</sub> supresoras de IgG, que emigran al bazo y tejidos linfoides periféricos, al mismo tiempo que aparecen algunas deficiencias en las células accesorias. Sin embargo para Markovsky y Medawar (578), la tolerancia inmunológica puede estar determinada por un déficit de interleuquina 2 cuando ha de efectuarse el reconocimiento del antígeno por células T. Otro posible mecanismo activo es el descrito como «tolerancia infectiva» (314), en la que células supresoras de animales tolerantes transfieren su estado de ausencia de respuesta inmune a otros animales, según se ha demostrado en el caso de tolerancia neonatal a los trasplantes (824, 236).

Según recientes consideraciones presentadas por Klein (499), el

TABLA 4. Dianas celulares, factores y mecanismos que pueden hacer posible diversos estados de tolerancia (\*).

---

*Células T*

Deleción o muerte celular.

Interrupción de la diferenciación de células germinales pre-T a células T maduras.

Ausencia de función cooperadora.

Alteraciones en la expresión de receptores de IL-2.

Fallos en la producción de IL-2, BCGF, TRF y otros factores mediadores.

*Células B*

Deleción o muerte de la célula.

Bloqueo de receptores; fallos para resintetizar el receptor modulado; y pérdidas o interferencias con los receptores para BCGF, TRF o para factores mitogénicos.

Ausencia de la señal Ig D-ligada.

Anergia de señales intracelulares (receptor-complejo).

Interferencia en la liberación de la señal Ia.

*Macrófagos*

Defectos celulares en la presentación del antígeno.

Defecto en producir IL-1 o faltas en el proceso de la segunda señal.

---

(\*) Pueden coincidir más de una circunstancia tolerogénica porque no son excluyentes entre sí.

origen de la tolerancia puede aparecer por un fallo en cualquiera de las distintas fases de que consta una respuesta inmunitaria, en tanto que las diferencias encontradas pueden ser atribuibles a las distintas circunstancias experimentales dependientes del modelo utilizado. Circunscribiéndonos a la influencia de los genes MHC en el origen de la inmunotolerancia, parece haberse llegado a dos hipótesis, entre las cuales es difícil tomar posición: a) *hipótesis de selección del determinante*, en la cual se considera al antígeno como una entidad multideterminante y a los receptores MHC como una ruleta que selecciona al determinante ganador; con ello se postula que puede fracasar el antígeno para interactuar con el receptor MHC sobre la célula presentadora de antígenos y en consecuencia esta célula tendrá dificultades para presentar dicho antígeno a la célula T en una forma que pueda ser reconocida; b) *hipótesis del punto ciego*, este segundo caso es equivalente a la hipótesis de selección clonal de Schwartz (852), se considera que el repertorio de receptores de células T de cada individuo está incompleto y —al igual que la retina— presenta puntos ciegos incapaces de reconocer ciertas combinaciones del antígeno y de una molécula del MHC. Podría ser que los «puntos ciegos» fueran inducidos somáticamente para evitar la reactividad frente a componentes propios y que los genes MHC participaran de alguna manera en esta inducción; estos

puntos ciegos podrían estar generados por una selección positiva o negativa de los clones de células T durante la ontogenia.

En cualquier caso, si la inmunotolerancia natural de las células B se establece como un mecanismo fisiológico para evitar reacciones específicas frente a los propios determinantes del huésped, debería cumplir los siguientes requisitos señalados por Metcalf y cols. (616) en sus estudios sobre tolerancia murina: a) que las células responsables del fenómeno fueran sensibles de un modo discriminado al mecanismo de inducción de la tolerancia; b) que el efecto inmunotolerante alcanzase un espectro muy diverso de estructuras antigénicas; c) que fuera inducible para una amplia gama de concentraciones de antígeno presentes en diferentes ambientes tisulares; d) que esta tolerancia de las células B se produjera también en ausencia de células T antígeno-específicas; y e) que la discriminación entre lo propio y lo extraño fuera absoluta y con un exquisito rigor de especificidad.

Desde un punto de vista inmunofarmacológico, tiene gran interés conocer exactamente el desarrollo ontogénico de las células inmunocompetentes porque alteraciones en la diferenciación, durante la ontogenia de células B, pueden conducir a estados de inmunodeficiencia (103, 174, 742, 1014) y también, porque el empleo indiscriminado de fármacos durante la gestación puede producir desórdenes metabólicos (54) y lesiones por inmunodeficiencias en linfocitos T (536, 569, 810). Existen casos de malignidad de células T, por ejemplo, que se producen por alteraciones en sus marcadores de membrana (9, 859, 896) y también pueden aparecer defectos reguladores por aumento o disminución de marcadores en células T supresoras (130, 926, 927, 1014). También durante la embriogénesis, mediante la diferenciación ontogénica, se va elaborando un código de señales, conocido como «antígenos de diferenciación» (77), cuyo fallo durante la maduración de los muy distintos tipos de células inmunocompetentes puede condicionar un mal funcionamiento en la respuesta inmune. Para corregir estas deficiencias se intenta acudir al empleo de mediadores complejos que actúen sobre el crecimiento y la diferenciación celular (135). Aún más, la Inmunofarmacología ha de intentar resolver, mediante el empleo de inmunomoduladores el triste porvenir de los «niños burbuja» (234); su afección genética de inmunodeficiencia severa combinada les condena a vivir en un claustro de plástico —un ambiente esterilizado y al abrigo de cualquier germen— hasta que su sistema de defensa inmune sea reconstituido por un injerto de médula (768) o de tejidos fetales (979) que sean histocompatibles. Asimismo, resulta de gran interés conocer la



regulación de las células supresoras naturales durante las «fases oscuras» del período neonatal o intentar su posible aplicación a «tolerancias inducidas» que eviten reacciones injerto contra huésped, lo mismo que se han logrado quimeras alogeneicas de médula ósea durante el margen de tolerancia de ratones neonatos, y de otros adultos que por estar sometidos a irradiación total de su sistema linfoide, llegan a aceptar la inyección intravenosa de células alogeneicas (894, 933, 934)... ¿Qué consideraciones de Inmunofarmacología Clínica no se habrán tenido en cuenta antes de intentar realizar el trasplante de corazón de un exótico mandril de corta edad a una niña americana?... pensemos que, en este caso, no bastaba tan sólo con establecer una inmunosupresión más o menos prolongada en el receptor. En cualquier caso, el ideal consiste en evitar tan sólo aquellas células capaces de vetar a los antígenos injertados pero sin perder la capacidad de respuesta frente al resto de antígenos del medio ambiente. Con este propósito podría ser útil investigar en el modelo propuesto por Miller (626), en el que se supone que un mecanismo de delección anti-antígenos propios puede llegar a afectar a la generación del repertorio de especificidad idiotípica.

Una de las primeras aplicaciones inmunofarmacológicas relativas al campo de la inmunoterapia se basa en el hecho paradójico de que un incremento en el nivel de anticuerpos pueda conducir a estados de ausencia de la respuesta inmune y facilitar la supervivencia y crecimiento de un tejido extraño, según demostró por primera vez Kaliss (470). El fenómeno parece explicarse como un mecanismo de cobertura de los sitios antigénicos a nivel aferente, produciendo un bloqueo periférico; de esta «ceguera biológica», ocasionada a nivel de células citotóxicas, se ha conseguido una interesante aplicación en medicina perinatal: *si se inyecta una cantidad moderada de anticuerpo anti-Rh en una mujer Rh negativa, durante el nacimiento de su hijo, siendo este Rh positivo, se evita que la madre quede inmunizada frente al antígeno Rh que está presente en los eritrocitos del recién nacido y que por tanto podría penetrar en su circulación durante el parto.*

### 2.1.3. Memoria Inmunológica

Desde una consideración neurológica, la memoria representa una acumulación de experiencias almacenadas en el cerebro en el que, por desgaste natural de sus células, perdura más el recuerdo que el reflejo de las consiguientes respuestas; también el Sistema Inmune dispone de unas células de memoria en las que se graban las distintas agresiones antigénicas y, como en el caso anterior, con el trans-

curso del tiempo, al llegar la senectud, dejan de responder a los estímulos reconocidos, pero en este caso no se sabe si la falta de respuestas es por simple pérdida del reflejo molecular de sus receptores antígeno-específicos o porque se borró de su memoria celular la clave aprendida. Fueron Gowans y Uhr (342) quienes, hace unos veinte años, suministraron la primera evidencia de que los linfocitos presentaban una memoria de carácter inmunológico y se considera que son los pequeños linfocitos de vida prolongada los encargados de mantener dicha memoria: el hecho fue demostrado produciendo respuestas secundarias frente a toxoide tetánico, en ratas inmunodeprimidas por radiación intensa y en las que se habían transferido linfocitos de donantes alogeneicos sometidos a primo-inmunización.

Se supone que los centros germinales intervienen en la generación de las células de memoria, puesto que éstas pueden existir ligadas a algunos tejidos. Tal como se indica en la revisión de Miller (625), esta capacidad de memoria inmunológica existe para ambos tipos de células inmunocompetentes T y B, que recirculan como pequeños linfocitos con una vida media relativamente prolongada; ambos tipos son requeridos para cooperar en una respuesta secundaria frente a antígenos T-dependientes. La memoria de las células B entraña cambios cualitativos en las subpoblaciones de este tipo, produciéndose desequilibrios en la proporción de células capaces de originar anticuerpos de una clase diferente y con mayor afinidad, mientras que no se sabe si las células T de memoria están asociadas también a cambios de esta clase. En cuanto a sus relaciones con el antígeno, las células B de memoria requieren mayores dosis (relativamente altas) de éste y su número se incrementa a los dos meses después. Sin embargo las células T de memoria pueden ser inducidas en cuatro días y por dosis mucho más bajas de antígeno. Estas células T de memoria son capaces de estimular a otras células B no sensibilizadas sin el concurso de las células B de memoria, funcionando como un mecanismo amplificador cuando se encuentran frente a pequeñas dosis del antígeno específico. Cuando intervienen las células de memoria T-cooperadoras, es posible influir en los procesos reguladores de la síntesis de anticuerpos por las células B, ya que funcionan produciendo un efecto amplificador y causando desplazamientos de células sintetizadoras de la clase IgM a las de IgG, incluso con incrementos en la afinidad del anticuerpo (189). Todavía no se conoce exactamente el mecanismo que genera este desplazamiento en la síntesis de inmunoglobulinas, aunque se ha supuesto que el mediador de cooperación se ligaba al receptor  $C_3$  de las células B y condicionaba este desplazamiento (241).

Por otra parte, también se ha comprobado que células T citolíticas maduras pueden perder su actividad lítica potencial y dar origen a células de memoria que, al ser reestimuladas por un antígeno específico adecuado, o por lectinas (863), pueden producir una reacción citotóxica secundaria, que aparece en las primeras veinticuatro horas después de la estimulación y no requiere síntesis de ADN. Recientemente Moscovitch y cols. (644a) obtuvieron un hibridoma de células citolíticas que al ser estimulado por antígenos específicos de superficie (o por lectinas) expresaba niveles incrementados de actividad citolítica específica y secretaba interleuquina-2: *mediante este modelo lograron analizar las respuestas anamnésicas de linfocitos T citolíticos y comprobar que en un período tan corto como dos o tres horas se producía un efecto citolítico semejante al primario, aunque potenciado, y sin requerir replicación celular.* Según parece, en estas respuestas secundarias hay un acortamiento del período de latencia que involucra la activación de efectores potenciales. En cuanto a los otros tipos de células que intervienen en la respuesta inmune no encontramos datos de si existen o no respuestas anamnésicas.

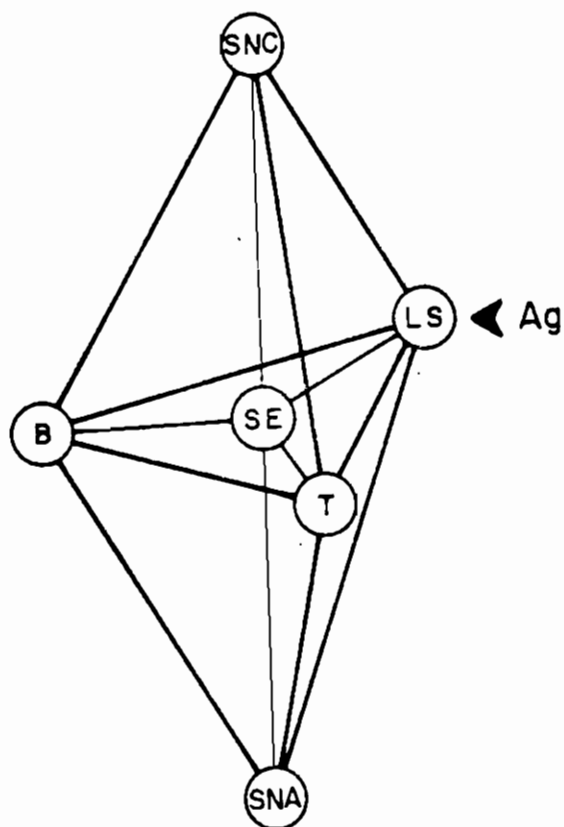
En relación con los mecanismos de memoria inmunológica y sus posibilidades de estimulación o prolongación por tratamientos inmunofarmacológicos puede encontrarse la solución o el alivio de inmunodepresión naturales por desnutrición, o en casos de senilidad.

## **2.2. La integración homeostática del sistema inmune**

Desde estadios tempranos de la gestación se va completando, con precisión biomatemática, cada sistema inmune individual hasta alcanzar la heterogeneidad de células y factores encargados de emitir e interpretar el lenguaje molecular que permite el reconocimiento y defensa del propio individuo. Operativamente, el Sistema Inmune ya desarrollado y dada su capacidad autorreguladora, es autosuficiente para realizar su propio programa de reconocimiento y defensa del ser pero el organismo no le permite funcionar a su libre albedrío sino que le obliga a participar en acciones reguladoras integradas con otros sistemas: *La resultante es un perfecto equilibrio homeostático en su funcionamiento.* La necesidad de este equilibrio está perfectamente justificada si se tiene en cuenta que las células inmunocompetentes han de estar, a su vez, sometidas a procesos de regulación metabólica, transporte de sustancias, cambios alostéricos a nivel de membrana, proliferación, etc.; en todas estas trans-

formaciones resultarán subsidiarias, como otras células del organismo, de la colaboración de hormonas y de neurotransmisores (87). Por otro lado, los receptores linfocitarios para neurotransmisores, hormonas y otros mediadores que influyen en las funciones celulares lo hacen, en gran parte, a través de alteraciones en el metabolismo de nucleótidos cíclicos (329).

En los estadios tempranos de la ontogenia empieza ya a manifestarse la integración neuroendocrina del Sistema Inmune bajo la forma de complejas interacciones bidireccionales que relacionan los sistemas nervioso y endocrino con el inmune: Es posible comprobar —durante el período perinatal— una cierta sincronía entre el grado de desarrollo del Sistema Inmune y el que corresponde al Sistema Endocrino. Especies murinas, que en sus primeros días de vida extrauterina presentan un bajo nivel de respuesta inmune (905), tienen también una escasa capacidad funcional de respuestas endocrinas dependientes de la hipófisis, tiroides, adrenales y glándulas sexuales (467, 468); mientras que especies con mayor desarrollo endocrino, como la bovina (240), ovina (11) o humana (467) tienen también una mayor madurez inmunológica en el momento de nacer. Estudios realizados por Besedowky y Sorkin (87) sobre razas de animales gnotobióticos, en ratones timectomizados y en embriones de pollo bursectomizados, han demostrado perfectamente que modificaciones a distinto nivel hormonal pueden producir, a su vez, alteraciones en la respuesta inmunitaria; y a la inversa, depresiones a nivel inmunitario en el período perinatal, pueden ocasionar fallos en la respuesta-hormonal del huésped. Esto les llevó a proponer un diagrama relacionando interacciones entre los sistemas inmune y endocrino que era aplicable durante la ontogenia y en la vida adulta. Desde nuestro punto de vista, estos resultados abren nuevas perspectivas inmunofarmacológicas en el tratamiento de enfermedades mentales y así lo señalamos hace unos años (726), al revisar datos relativos a las analogías básicas del funcionamiento entre los sistemas nervioso e inmunitario, por las relaciones entre síntesis de anticuerpos y enfermedad mental y también por las interacciones entre respuestas inmune y psicofármacos. Aplicando una representación tridimensional al fenómeno de integración homeostática, como el que proponemos en la Figura 3 se pueden distinguir claramente tres niveles de regulación integradora de la respuesta inmune: a) con el cerebro; b) a través de los reflejos simpático-parasimpáticos; y c) en relación con equilibrios de carácter hormonal. Desde el exterior, esta influencia se va integrando dentro de los mecanismos de auto-regulación de la respuesta inmune hasta que queda perfectamente acomodada dentro del estado general del organismo huésped.



*Fig. 3.* Representación de la interrelación neuro-inmuno-endocrina en el huésped en la que, con perspectiva tridimensional, se aprecian los distintos niveles de integración entre sistema nervioso central (SNC), sistema endocrino (E) y sistema nervioso autónomo (SE), frente al timo (T), órganos bursales (B) y tejido linfóide secundario (LS), sobre el que actúa un antígeno (Ag).

### 2.2.1. Relaciones entre cerebro y sistema inmune

Las relaciones neuro-inmunitarias se manifiestan a distintos niveles: en primer lugar, ya hace tiempo se describieron algunas interacciones mutuas entre el timo, la hipófisis y el hipotálamo (689, 919), pudiéndose llegar a mimetizar «in vitro» actividades neuronales noradrenérgicas utilizando mediadores solubles liberados por células inmunocompetentes activadas (85); por otra parte Renoux y cols. (777, 778) señalan que el neocortex cerebral es capaz de regular las respuestas inmunitarias timo-dependientes. También, en las membranas de los linfocitos y células accesorias del Sistema Inmune, cabe encontrar receptores para agentes dopaminérgicos (541, 865),  $\beta$ -adrenérgicos, acetil-colina (754), e incluso endorfinas (82), además de otros receptores con posibilidad de emitir señales moduladoras para la síntesis de nucleótidos cíclicos y que constituyen activos mensajeros de la proliferación linfocitaria (365). Recientemente, varios grupos de investigadores han identificado receptores de encefalina-endorfina sobre células inmunocompetentes y han relacionado los mecanismos de excitación emocional con la respuesta inmunitaria (723, 866) e incluso, también, en ciertas situaciones patológicas de cuadros de linfoma (629) o de infecciones virales (111), se ha observado liberaciones de endorfina y adrenocorticotropina inmunoreactivas.

Desde el *punto de vista anatómico*, hace ya tiempo que se descubrió la existencia de una apropiada organización neural asociada al Sistema Inmune y que incluye la inervación propia de médula ósea (522), timo (372), bazo (559) y nódulos linfáticos (322); por tanto, lesiones a este nivel, pueden originar alteraciones profundas en respuestas inmunes que tengan su origen en dichos órganos linfoides (186, 369). Las respuestas interactivas son de índole pluridireccional, puesto que la estimulación de nervios periféricos del cerebro o lesiones a nivel de neuronas hipotalámicas pueden originar cambios en el nivel de inmuno-respuestas (7, 781, 1030). También las estructuras neocorticales del cerebro tienen una manifiesta influencia sobre el Sistema Inmune, como supuso el Profesor Renoux, basándose en que la acción inmunopotenciadora y anabolizante inducida «in vivo» por el dietil-ditiocarbamato tenía que ser ejercida a nivel central. Efectivamente existe evidencia de una lateralización neocortical en el cerebro para las respuestas timo-dependientes: lesiones quirúrgicas del cortex cerebral izquierdo condicionan una reducción del 50 por 100 en el número de células Thy-1<sup>+</sup> del bazo y una marcada depresión de las respuestas mediadas por células T-dependientes cuando se comparan con las de animales control (778). Por

el contrario, la ablación parcial del cortex fronto-parietal-occipital derecho condiciona un aumento en el número de células T y de las funciones de ellas derivadas (99). Estos y algunos otros muchos resultados apoyan la teoría de Renoux y cols. de que existe una simetría equilibrada en el cerebro capaz de modular los acontecimientos mediados por los linfocitos T (780): *las modificaciones producidas por lateralización hemisférica en el cerebro subsisten durante varios años*, incluso en ratones nu/nu (782) llegan a producir factores específicos para la modulación de los timocitos (772, 779). El neocortex, sin embargo, parece no afectar —al menos directamente— ni a las células B ni a los macrófagos (774), aunque sí se ha comprobado que un neocortex intacto es esencial para la actividad normal de células citotóxicas NK (776, 53) y que este comportamiento resulta influido por el dietil-ditiocarbamato (471); quizá esto pueda explicar la actividad señalada, para esta molécula, en relación con la inmunoterapia anticancerosa (784).

Por otra parte, llegó a sospecharse la existencia de una *integración de los sistemas nervioso central e inmune a nivel funcional*, porque modificaciones de actividad eléctrica de neuronas localizadas en la zona basal media del hipotálamo (86, 88) pueden inducir tanto variaciones de una respuesta inmune como cambios a nivel de neurotransmisión (84). Incluso —según hemos observado recientemente (729, 814)— variaciones de respuestas linfoproliferativas producidas por dopaminérgicos y sus bloqueadores permiten demostrar una interrelación neuro-inmunitaria que cada día es más evidente. De aquí que, ambos, sean capaces de realizar reconocimientos específicos, memorizar los estímulos o sensaciones detectadas y aprender diversos tipos respuesta célula-célula (444,700) por intermedio de distintos receptores y mediadores químicos. Lógicamente esto requiere la existencia de canales de información intercomunicadores que relacionen ambos sistemas, con receptores celulares que traduzcan e interpreten la información transmitida por una red de mensajeros del cerebro distribuidos ubicuamente en los tejidos y fluidos del cuerpo. Una aproximación al análisis íntimo de estos circuitos de inmuno-regulación externos lleva a admitir que ciertos mensajeros del Sistema Inmune podrían llegar a alterar la actividad cerebral (81) y a considerar al Sistema Inmune como un órgano sensor (105). De este modo, cerebro y Sistema Inmune, al procesar informaciones llegadas de diferentes estímulos externos e internos y sirviéndose de mensajeros inmuno-neuro-hormonales —entre los cuales Dafny y cols. (214) destacan a los interferones— propician respuestas psicosomáticas que pueden imbricar una particular excitación por opiáceos con un desarrollo tumoral (867) o con un síndrome

me de inmunodeficiencia adquirida (154): así, *un tan variado repertorio de mensajeros y receptores puede en una sinfonía inacabada, llegar a modular armoniosamente el individualismo vitalista del propio ser.*

### 2.2.2. Relaciones entre Sistema Nervioso Autónomo e Inmune

Como es sabido el sistema nervioso autónomo representa uno de los principales mecanismos integradores de la regulación total del huésped: *mediadores de este sistema, tales como adrenalina, noradrenalina y acetilcolina, y también otras moléculas que puedan influir sobre ellos, potenciándolos o bloqueando su acción, van a tener una decisiva acción moduladora sobre el Sistema Inmune* (84, 228). Hoy parece claro que una estimulación antigénica pueda desencadenar complejas respuestas autonómicas hormonales e hipotalámicas; que existan fibras del simpático que lleguen hasta la pulpa blanca del bazo, donde se localizan linfocitos inmunocompetentes que habrán de reaccionar con el antígeno (762); y que hay a descensos de niveles noradrenalínicos, en el bazo, durante la respuesta inmune, que son inversamente proporcionales a la magnitud de la misma (80). No se conoce aún el verdadero significado de estas variaciones de noradrenalina aunque sí se ha comprobado que se produce a los pocos días de inyectar un antígeno. Más recientemente Payan y cols. (699) han encontrado un neuropéptido, calificado como «sustancia P», que se encuentra tanto en el intestino como en el sistema nervioso central y periférico, que es capaz de regular la actividad inmunológica a través de los linfocitos T actuando sobre nervios sensores periféricos.

Otros indicios funcionales de las interrelaciones inmuno-neuro-endocrinas pueden encontrarse en las distintas modificaciones de la actividad de hormonas peptídicas (534) y de linfoquinas, como el interferón (107, 108), que pueden ser transferidas a células desprovistas de sus receptores específicos, posiblemente a través de moléculas de mensajero secundario. También los interferones  $\alpha$  o  $\beta$ , o sus mezclas, pueden producir efectos semejantes a la noradrenalina en células de miocardio (112), pueden aumentar la captación de yodo en células del tiroides y también producir fenómenos corticotrópicos en células adrenales (110, 462, 676) o presentar una actividad opioidea en linfocitos análoga a las endorfinas (110). Asimismo la interleuquina-1, que incluso en ocasiones aparece estrechamente relacionada con una molécula de pirógeno endógeno (110, 352), puede mediar la inflamación asociada con lesiones cerebrales promo-



viendo una formación de escaras motivada por la proliferación de la astrogliá. En sentido opuesto, también es posible encontrar ejemplos de hormonas como la corticotropina,  $\beta$ -endorfina y encefalinas que son capaces de modificar la síntesis de anticuerpos sobre linfocitos, en los que se ha comprobado una alta afinidad para receptores opiáceos y de ACTH (461, 724, 1064): Mathews y cols. (598) han encontrado marcados incrementos de citotoxicidad natural producidos por  $\beta$ -endorfina que son inhibidos por naloxona.

Según venimos considerando, ambos sistemas —nervioso central e inmune— junto con el endocrino, resultan implicados en la adaptación biológica y relaciones con el medio exterior, así como en el mantenimiento de la integridad y homeostásis del individuo. Según Blalock y cols. (109) entre estos sistemas existe una amplia intercomunicación que se materializa en un circuito totalmente integrado.

### 2.2.3. Interacción entre Sistema Inmune y Endocrino

Parece lógico suponer que exista una influencia reguladora endocrina frente al Sistema Inmune: tengamos en cuenta que, en las membranas de los linfocitos, existen receptores capaces de interactuar a través de diferentes neurotransmisores y hormonas (124) dentro de una extensa red inmuno-neuroendocrina (87) y que, además de su normal actividad, pueden influir tanto en la proliferación y transformación blástica de linfocitos (367, 574) como en la síntesis de nucleótidos cíclicos intracelulares (124, 693, 936). También, recíprocamente, las respuestas inmunes pueden causar modificaciones en los niveles de distintas hormonas (89), siendo los nucleótidos cíclicos intracelulares los que aparecen más plenamente interrelacionados con las distintas hormonas (437) y con diferentes tipos de respuesta inmune (304, 391, 439, 937). Por otra parte en razas de ratones pituitario-deficientes, se han comprobado marcadas alteraciones en la respuesta inmune mediada por células (266), lo que puede estar relacionado con carencias de la hormona de crecimiento en tejidos linfáticos que, consecuentemente, sufren un cierto grado de atrofia (717); además, la administración de esta hormona del crecimiento puede restaurar la respuesta celulo-mediada y el nivel de desarrollo del timo, así como el de los tejidos linfoides secundarios (267). Asimismo, la insulina y la hormona de crecimiento, pueden estimular la generación de células citotóxicas en cultivos mixtos de linfocitos, procedentes de animales normales, en función de su momento de adición y las condiciones experimentales (901). Hallazgos recientes, demuestran la existencia de mecanismos reguladores por retroalimentación, entre los Sistemas Inmune y Neuroendo-

crino (106), que funcionan a dos niveles: uno periférico, promovido por la propia célula inmunocompetente al producir linfoquinas bajo la estimulación antigénica y otro central, que actuaría por medio de hormonas tímicas relacionando el timo y los circuitos neuroendocrinos. Se encuentran casos de regulación homeostática en el hecho de que algunas linfoquinas puedan estimular neuronas del hipotálamo y, también, que aparezcan modificaciones en niveles hormonales endocrinos consecuentes a una timectomía (265). El hecho de que agentes biológicos activos tales como hormonas, neurotransmisores y neuropéptidos puedan modificar el comportamiento de células inmunológicas alcanzándolas en sus propios microambientes, demuestra que las señales de inmuo-regulación externa se imponen a los mecanismos de regulación autónoma (83). No resulta extraño, por tanto, que exista interrelación entre excitaciones y depresiones psíquicas y la función inmune, desencadenando una compleja cadena de procesos biológicos y psicológicos como consecuencia de una extensa red que relaciona procesos de los Sistemas Endocrino y Nervioso con el Sistema Inmune (918), hecho que se comprueba por el efecto modulador de neurofármacos sobre la respuesta linfoproliferativa (729, 814). Blalock, llega a considerar el Sistema Inmune como un órgano sensor (105), no sólo por sus interrelaciones neuroendocrinas sino porque supone que existe una comunidad funcional entre linfoquinas y péptidos hormonales neuroendocrinos; por ello, investiga si ambos tipos de células —*inmunes y endocrinas*— tienen receptores comunes, capaces de atender señales de estos péptidos y piensa, además, que existen hormonas peptídicas que son comunes a estos dos sistemas. Esto podría, a su vez, relacionarse con los datos de Inglot (433) que establecen por primera vez un concepto hormonal del interferon y con los de Dafny y cols. (214) al suponer que distintas moléculas de interferones pueden servir de «comunicadores» entre Sistema Nervioso y Sistema Inmune.

En la vertiente inmunofarmacológica del problema, se encuentran datos que abren interesantes caminos en relación con la modulación neuroendocrina del Sistema Inmune según se resume en los siguientes apartados:

i) La prostaglandina  $E_2$ , con la que hemos comprobado activas modificaciones de diferentes respuestas inmunes «in vitro» e «in vivo» (51, 802, 809, 811), es también capaz de producir efectos anoréxicos inyectando 2  $\mu\text{g}$  en el ventrículo lateral del cerebro de rata y ocasionar un aumento de la motilidad intestinal semejante a la administración de 0,02 U de calcitonina; estos efectos son bloqueados por 0,25 mg de indometacina (268), de un modo semejante a

como este antiinflamatorio suprime la respuesta inmune por bloqueo de la ciclooxigenasa (880). Asimismo, según la revisión de Chiu y Richardson (211), existe alguna evidencia de que la actividad neuronal catecolaminérgica del hipotálamo anterior pueda ser modificada por la presencia de prostaglandinas a nivel cerebral, restaurando el control homeostático de la presión sanguínea con respuestas de taquifilaxis; la administración de clonidina, con su efecto hipotensor mediado por  $\alpha_2$ -adrenorreceptores del sistema nervioso central es capaz de disminuir esta taquifilaxis prostaglandínica dosis-dependiente mientras no se administren analgésicos antepiréticos que inhiban la síntesis de prostaglandinas (891); y a su vez, la clonidina, como otros agonistas adrenérgicos, es capaz también de modificar la respuesta inmune a nivel de células NK (820).

ii) Un «factor somnígeno», encontrado en cerebro y en orina de distintos animales (515, 692), es mimetizado en sus efectos de prolongar la onda de sueño, por una molécula sintética de muramil-dipéptido (MDP) (516), la cual, a su vez, puede actuar como un activo inmunopotenciador, aunque presentando una actividad pirogénica que se ha conseguido eliminar en algunos derivados (692). Asimismo se ha comprobado que la prostaglandina  $D_2$ , a dosis fentomolares, puede inducir sueño y quizá esto esté relacionado con la liberación de prostaglandinas que los muramil-dipéptidos producen en los macrófagos (1012).

iii) Las interacciones inmunofarmacológicas de los peptidoglicanos de origen bacteriano, en relación con pirogenicidad, somnogenicidad e inmunopotenciación, incluyen un nuevo elemento neuromodulador: la serotonina (821). Esta molécula presenta una comunidad de receptores con la molécula de muramil-dipéptido (componente principal de peptidoglicanos) (593) que, a su vez, pueden actuar como activadores serotoninérgicos parciales en varias regiones del cerebro. Quizá ello pueda explicar el variable grado de protección anti-serotoninica que encontramos en cuadros de anafilaxis pasiva por endotoxina, cuando diversos grupos de ratones son tratados con antiinflamatorios, inhibidores de prostaglandinas y compuestos antiaterogénicos que presentaban algún efecto inmunodepresor (913).

iv) El efecto regulador, posiblemente de carácter neuroendocrino, que llevan a cabo algunas encefalinas y endorfinas entre Sistema Nervioso Central y Sistema Inmune (866, 1064, 722): Se ha comprobado que peptapéptidos tales como metionil-encefalina y leucil-encefalina, y algunas endorfinas, que por ruta intracerebral tie-

nen acción analgésica por unirse a receptores opioides, son también capaces (cuando se administran por vía venosa, muscular o peritoneal) de estimular a subpoblaciones de linfocitos T sensibles a fitohemaglutinina e incrementar la supervivencia de ratones inoculados con células L1210 de leucemia murina. Dado que existe una potenciación de la dopamina por metionil-enkefalina, según comprobaron Plotnikoff y cols. (721), y teniendo en cuenta el efecto inmunomodificador que hemos observado en presencia de estimulantes y bloqueadores dopaminérgicos (814), cabe suponer que este efecto modulador de encefalinas y endorfinas se realice a nivel de receptores dopaminérgicos e incluso que puedan existir implicaciones con los mecanismos de «stress» o excitación nerviosa, en los que también intervienen las encefalinas (16) y en los que pueden encontrarse modificaciones de las poblaciones linfocitarias con incrementos en la actividad de células NK (251).

v) La somatostatina, un tetradecapéptido cíclico de los sistemas nervioso y endocrino, que inhibe la secreción de hormonas y mediadores como insulina, glucagon, hormona del crecimiento, etcétera, ha sido localizada en el timo y puede actuar también en la regulación de respuestas de hipersensibilidad inmediata al inhibir la liberación de histamina y de otros mediadores en células basófilas (328); esta molécula tiene, además, un marcado efecto anti-proliferativo sobre células T e incluso inhibe, a concentraciones  $10^{-8}$  M, la activación de las mismas por Con A (592).

Así, contemplando el panorama de la respuesta inmune, dentro de un tan difundido medio ambiente funcional y con tan complejas interrelaciones fisiológicas, en las que operan flujos de señales de comunicación intercelular totalmente ajenas a los mecanismos autorreguladores de naturaleza inmune, no es sorprendente que Ingnot (433) desarrollara su concepto de actividad hormonal del interferón y que Roth y cols. (823) aboguen por un origen evolutivo común para hormonas, neurotransmisores y otros mensajeros químicos extracelulares, entre los que consideran: factores inmuno estimuladores y de crecimiento celular, interferones, prostaglandinas, etc. Estos autores, en defensa de su teoría sobre un probable origen común de estas moléculas, a partir de organismos unicelulares, se fundan en la evidencia de que tanto los organismos unicelulares como algunas células normales, fuera de las glándulas endocrinas, pueden producir distintas moléculas u hormonas de naturaleza peptídica; y que tanto los organismos unicelulares como los animales inferiores y los vertebrados poseen elementos bioquímicos capaces de ser utilizados para la transmisión de señales hormonales. En cualquier

caso, sea cual fuere el origen y evolución de estas moléculas, sus efectos son altamente discriminadores y, por tanto, queda como corolario que en Inmunofarmacología —más que en ninguna otra disciplina— son *imprescindibles los ensayos inmunológicos «in vivo» para captar las distintas señales neuroendocrinas que puedan intervenir en la respuesta, en tanto que los ensayos «in vitro» permitirán definir algunos aspectos parciales del mecanismo de acción, que aparecerán simplificados sobre un determinado tipo de modelo.*

### **2.3. Bases celulares y moleculares de la respuesta inmune**

Una característica esencial de la vida, en un organismo animal superior, es la definición y defensa de su individualismo reaccionando específicamente frente a todo lo que le es ajeno, ya sea dañino o infeccioso, ya sea banal o saprofito. La respuesta inmune, tanto en su aspecto humoral, mediante la síntesis de anticuerpos, como en la que resulta mediada por células y reflejada en ciertas reacciones de los tejidos, es la resultante de acontecimientos simultáneos que se yuxtaponen en un todo continuado y así, los muy diversos tipos de células (Tabla 5) colaboran de un modo efectivo procurando eliminar lo antes posible el material reconocido como no propio. Esta respuesta, en cada caso particular, es consecuencia de señales generadas por una variedad de receptores y mediadores moleculares puestos en juego según las características del antígeno y las células que intervienen. En última instancia, los intercambios de información entre ciertas moléculas mensajeras y sus receptores particulares son la clave fisiopatológica de la Vida —sinónimo de organización— que, según postula Ariens (29), es inherente a regulación y, por tanto, requiere el funcionamiento integrado de comunicaciones intra- e inter-celulares para las que son fundamentales la distinción entre distintos marcadores de membrana.

La cantidad y naturaleza del antígeno, que desencadena esta respuesta de rechazo, no es el único determinante del grado de proliferación de los clones individuales que han de interactuar, puesto que el sistema quedaría sometido a una hiperproducción celular que llevaría a circunstancias similares a las producidas en una transformación maligna. En consecuencia, la reacción frente al antígeno va acompañada de una serie de controles que evitan o minimizan la hiperreactividad mediante una serie de circuitos y células reguladoras que mantienen la respuesta inmune en un equilibrio dinámico y siempre dentro de los niveles permisibles. Por tanto, la interacción inmunógeno-organismo puede tener dos resultantes posibles, una activa respuesta inmunitaria o un comportamiento inmunotolerante.

TABLA 5. Diversidad de células que intervienen en la respuesta inmune.

---

<i>I) Definidas por su función o por marcadores</i>	
Linfocitos T (TdHC; Tk)	Rosetas E <sup>+</sup> ; Thy-1 <sup>+</sup> ; Con A <sup>+</sup>
Linfocitos T reguladores (Th; Ts)	PHA <sup>+</sup> ; PWM <sup>+</sup> ; Lyt 1, 2, 3; HPA <sup>+</sup>
Linfocitos B con sub-tipos de Ig (A, G, M, E, D)	sIgM <sup>+</sup> ; sIgD <sup>+</sup> ; sIgG <sub>±</sub> ; LPS <sup>+</sup> ; DXS <sup>+</sup> ; Fc <sup>+</sup> ; C <sub>3</sub> <sup>+</sup> ; Lyt 1, 2, 2 <sup>-</sup>
Linfocitos B supresores	Ia <sup>+</sup>
Células K	sIgG <sup>+</sup> ; citotoxicidad dependiente de anticuerpos; Fc <sup>+</sup> ; Ig citofílicas.
Células NK	Destruye células tumorales, citotoxicidad independiente de anticuerpos D <sub>3</sub> <sub>±</sub> ; Ia <sup>-</sup> ; IgG <sup>-</sup> ; Fc <sub>±</sub> HPA <sup>+</sup>
Células K anómalas	Generadas en MLR
Células supresoras inespecíficas	No T, no B HNK-1 + células activadas por inmunocomplejos. Células accesorias Mit <sup>-</sup> , no adherentes, Fc <sup>-</sup> FcRE <sup>-</sup>
<i>II) Definidas por marcadores</i>	
Células L	Alta densidad. Receptores Fc-IgG; B73.1, Leu 11 <sup>+</sup> OKM1 dim <sup>+</sup>
Células O	sIgG; no T; no B; incluyen células L y precursores.
Células T	E-RFC, Fc-Ig G receptores.
<i>III) Definidas por morfología</i>	
Polimorfonucleares	Eosinófilos; Basófilos o Hist <sup>+</sup> ; Neutrófilos.
Mastocitos	Granulaciones basófilas Hist <sup>+</sup>
Grandes linfocitos granulares	Gránulos azurófilos.
Monocitos/macrófagos	Ia <sup>+</sup> ; Fc <sup>+</sup> ; C <sub>3</sub> <sup>+</sup> ; Ig citofílicas.
Células accesorias	Heterogéneas, dendríticas o interdigitadas Ia <sup>+</sup> ; Ia <sub>±</sub> , FcR <sub>±</sub> ; OKT6.

---

Entre los distintos elementos equilibradores de una respuesta inmune, corresponde un papel preponderante a los propios anticuerpos que, sintetizados en exceso, se unirán al antígeno para formar inmuno-complejos que puedan tener efectos positivos (potenciación) o negativos (supresión) sobre distintas funciones inmunológicas. Taylor (960) destaca sobre todo los mecanismos de regulación inmune basados en inmunógeno-anticuerpo y define estas actividades beneficiosas en cuanto que:

a) Se trata de inhibiciones por retroalimentación sin destruir las células productoras del anticuerpo, antes bien dan lugar a células de memoria; b) la respuesta se elabora rápidamente y se incrementa la razón de síntesis mediante estímulos en células presentadoras de antígeno; c) compite con el propio antígeno, frente a las células reguladoras, a través de los receptores Fc; d) limita la respuesta secundaria a las células de memoria evitando una dispendiosa utilización de células vírgenes que serán útiles para otros antígenos. Toda esta fenomenología que controla las interacciones antígeno-sistema inmune, es tan compleja y presenta tan diversas facetas, que su examen lo haremos considerando por separado las circunstancias que incluyen los reconocimientos propio-extraño, el código de señales que conduce a interacciones celulares definidas y sus posibilidades de regulación.

### 2.3.1. Comunicación molecular en los reconocimientos propio-extraño

En el extenso y variado repertorio de receptores, marcadores y antígeno, integrados en las membranas de células inmunocompetentes, se encuentran los verdaderos interlocutores del lenguaje inmunológico. También la acertada hipótesis de Singer y Nicolson (889) suponiendo que las estructuras de membrana eran... «una clase de solución bidimensional de proteínas globulares integradas, dispersas en una matriz lipídica fluida»... ha permitido comprender que ciertas proteínas de membrana, al cumplir su función fisiológica, se desplacen en su mismo plano estructural o giren en distinto sentido: esta movilidad proteínica, e incluso la de algunas moléculas lipídicas, es perfectamente medible. Según la revisión de Almers y Stirling (13) parece comprobado que el coeficiente de desplazamiento de estas moléculas oscila entre  $10^{-10}$  y  $10^{-11}$  cm<sup>2</sup>/segundo, pero quedan incógnitas sobre..., ¿cómo se conserva esta capacidad durante toda la vida de la célula? y ¿cómo cada célula dirige el desplazamiento de las proteínas que integran su membrana?..., se sugiere que, en muchos casos, esto último puede ser la resultante de

comunicaciones intercelulares con células vecinas y que esta comunicación podría llevarse a cabo por contacto físico directo mediante transmisiones sinápticas o por «factores tróficos» aún desconocidos. Se sabe que la comunicación directa entre macrófagos y linfocitos, para conseguir su activación, está restringida genéticamente y que durante las interacciones celulares para la producción de anticuerpos se origina un fenómeno de segregación de proteínas de membrana caracterizado por el reordenamiento uniforme de los receptores inmunoglobulínicos de los linfocitos B y el subsiguiente reagrupamiento de los antígenos de superficie en un polo de la célula (962).

Berger y cols. (75), trabajando con membranas de linfocitos humanos, han encontrado determinados antígenos con un peso molecular del orden de 200 kd que clasifican como de la serie H-T200; estos antígenos existen, tanto en linfocitos T y B como en granulocitos, monocitos y plaquetas, aunque no en eritrocitos ni en células no hematopoyéticas. Entre estos antígenos existen pequeñas diferencias de movilidad electroforética, que es mayor en los procedentes de células T que en los de las células B. Además de estos marcadores, existen receptores y marcadores con rango de primer orden que permiten la subdivisión en los dos grandes grupos linfocitarios T y B, y que pueden dar idea del grado de desarrollo celular, como sucede con las inmunoglobulinas de membrana en las células B (753) o con el receptor eritrocítico de células T (465) o incluso con antígenos de aloinmunización como los Lyt o los Lyb, que participan en la activación de linfocitos T y B de ratón, respectivamente (940, 1057). Aún pueden encontrarse una serie de marcadores adicionales, no restringidos a linfocitos T o B, que permiten una mejor discriminación de distintas subpoblaciones celulares. Entre ellos se encuentran receptores para eritrocitos autólogos (683) o para algunos virus (993), y también receptores de lectinas (863, 966), interferones (466), interleuquinas (155), histamina (837), antígenos Ia (1060), complemento (241) y hasta para fragmentos Fc de los isotipos inmunoglobulínicos (Fc $\gamma$ , Fc $\mu$ , Fc $\alpha$ , Fc $\epsilon$ ) (567, 1058), que están presentes tan sólo en las poblaciones T de linfocitos periféricos. Estas últimas subpoblaciones, que pueden intervenir en la regulación idiótípica, presentan comportamientos diferentes en cuanto a su resistencia a la radiación y a sus respuestas frente a fitohemaglutinina y aloantígenos. Kaplan y cols. (477) han comprobado una cierta labilidad de los marcadores de linfocitos T periféricos, en función del tiempo de almacenamiento; así, en ensayos de respuestas blastogénica a intervalos sucesivos desde la extracción sanguínea, comprueban una pérdida selectiva de la capacidad funcional frente a mitó-



genos, al contrario de lo observado con células desnudas de marcadores.

Actualmente, mediante la identificación inmunoquímica de los marcadores de membrana por anticuerpos monoclonales (631), han quedado experimentalmente accesibles los distintos estadios de diferenciación, maduración y recambio en las diferentes poblaciones celulares del sistema hematopoyético. Para aquellos particularmente interesados en temas de reconocimiento intercelular inmunitario remitimos a la obra de Loor y Roelants (564), a la revisión de Ahmed y Smith (8) y a los datos sobre marcadores fenotípicos en linfocitos T murinos resumidos por los australianos Scollay y Shortman (838). También Subbarao y Mosier (940), se ocupan de ciertos marcadores de membrana que aparecen en un discreto estado de diferenciación de los linfocitos B murinos, antígenos de la serie Lyb, que parecen estar involucrados en la activación de células B en reposo para que se transformen en células secretoras de anticuerpos o en la activación de cofactores derivados de otras células. Estos antígenos se conocen como Lyb 2, Lyb 3, Lyb 5, Lyb 7 y Lyb 8.

En *macrófagos*, Hirsch y Gordon (409), revisando datos sobre distintos marcadores antigénicos recientemente descubiertos, destacan la presencia de un antígeno común (L-C, T 200) de naturaleza glicoproteínica que existe en linfocitos, neutrófilos y macrófagos, otro antígeno menos común (Mac-1) que existe en macrófagos, neutrófilos y células NK y tres antígenos particulares de macrófagos cuya función es totalmente desconocida; la expresión de estos tres últimos se produce cuando las células son estimuladas por tioglicolato (Mac-2), cuando forman parte de ciertos tejidos alveolares o hepáticos (Mac-3) o bien cuando alcanzan algunas características especiales como en los mastocitos (Mac-4). En *neutrófilos*, además, tiene lugar la quimotaxis mediante el concurso de receptores específicos que responden a distintos hexapéptidos, en gradientes químicos originados por una activación en cuadros inflamatorios (1019). Al igual que los linfocitos, los macrófagos, neutrófilos y eosinófilos expresan un receptor (Fc RII) que reconoce dominios Fc de inmunoglobulinas IgG (223). También se han encontrado antígenos semejantes a los Ia de los linfocitos, que juegan un importante papel en los macrófagos alveolares humanos para la presentación del antígeno a los linfocitos T (160); su expresión aparece más elevada en los macrófagos de individuos no fumadores. Asimismo, Austyn y Gordon (35) han detectado un antígeno que parece ser macrófago-específico y que pudiera considerarse como un marcador del grado de madurez celular, en tanto que el Mac-1 descubierto por Kaplan y cols. (476) permite distinguir aquellos macrófagos que

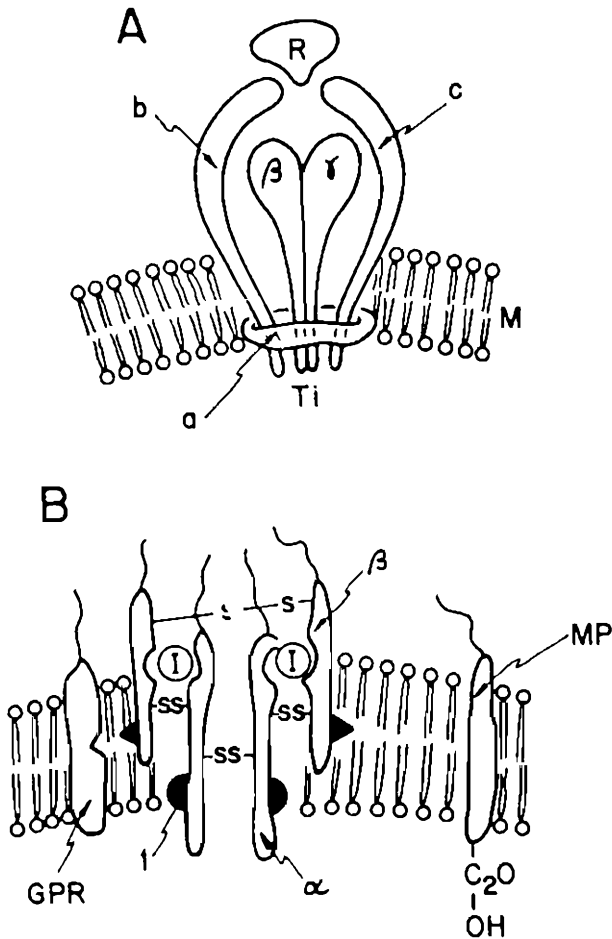
han sido activados por pirano o por *Corynebacterium parvum*. Por otra parte, en *eosinófilos*, que pueden funcionar como células citotóxicas activas en la destrucción de larvas de *Schistosoma*, entre otras, existen dos proteínas de unión al complejo de antígeno-IgG como son las 16 K y 18 K, que son resistentes a la temperatura y a inhibidores de proteasa (973). También, aunque en las células citotóxicas naturales (NK) parecía haberse establecido que carecían de marcadores determinantes característicos de los linfocitos T y B y de macrófagos (489, 324), se han encontrado datos —en células NK murinas— en los que se reconocen determinantes Lyt-4 (148) y el antígeno Thy-1 (397), lo que hace pensar en un cierto parentesco con las células T para estas células; además, Ortaldo y Herberman (677) encuentran en ellas una cierta heterogeneidad clonal que está condicionada por algunos marcadores y receptores fenotípicos.

En casi todas las células con función fagocitaria, es posible encontrar receptores de lectinas y marcadores de carbohidratos superficiales que integran las bases moleculares de un reconocimiento selectivo (864), dando lugar a un mecanismo de defensa frente a la infección, que es previo al establecimiento de la respuesta inmune y que, a su vez, intervienen eliminando los eritrocitos envejecidos del torrente circulatorio: estas interacciones lectina-carbohidrato son imprescindibles para la cooperación entre célula T-célula B y macrófago-linfocito. Asimismo, en las células fagocitarias y con plena participación en la respuesta inmune, existen receptores de atracción química; estos receptores de quimio-atracción pueden actuar sobre la disposición del citoesqueleto celular, modificar la forma de la célula y dirigir su motilidad e incluso estimular la secreción enzimática de lisosomas, al mismo tiempo que activan la combustión respiratoria. Según datos de Snyderman y Pike (904), las funciones relacionadas con la movilidad son reguladas independientemente de las que afectan a los procesos de secreción, existiendo *oligopéptidos* receptores de alta y baja afinidad que pueden ser interconvertidos recíprocamente en función de la dosis estimulante y de la intervención de guanil-nucleótidos.

Son variables los conocimientos que se tienen sobre la estructura de los receptores, dependiendo de su naturaleza; así, mientras se ha acumulado mucha información sobre las inmunoglobulinas de membrana de los linfocitos B, todavía no se conoce exactamente la naturaleza de las inmunoglobulinas del receptor de las células T (588). La forma monomérica de IgM ( $\mu_2L_2$ ) está universalmente presente sobre las células B de todas las especies hasta ahora examinadas; se sabe que esta molécula y los monómeros de otros isótopos de inmunoglobulinas como IgG, IgD e IgA, existentes en humanos

y primates (1026), permanecen ancladas en la membrana por una cola hidrofóbica que no existe en los tetra, penta o hexa-polímeros inmunoglobulínicos de secreción: ( $\mu$   $\alpha$ L<sub>2</sub>)n; y, también, que la porción transmembranal de la molécula inmunoglobulínica posiblemente está formando una  $\alpha$ -hélice. En relación con las células derivadas del timo, la mayor complejidad de los receptores ha hecho que todavía se esté especulando sobre la verdadera estructura de estos receptores más complejos que, según datos recientes, tan sólo alcanzan a cumplir sus funciones biológicas cuando se acoplan en la membrana las distintas subunidades biológicas que los integran. Por otra parte, se sabe que estos receptores han de actuar en estrecha asociación con antígenos MHC, hasta el punto de que Simonsen y Olsson (887) han llegado a atribuir al sistema mayor de histocompatibilidad una cierta intervención en la estructura de multitud de receptores de este tipo, aunque tengan distintas funciones biológicas.

Actualmente, la atención de los inmunólogos se siente atraída por dos tipos particulares de receptores T, dado su reciente descubrimiento y por su interés como posibles modelos para estudios básicos de inmunomodulación, tanto a nivel de reconocimiento por células T cooperadoras como en la programación para la lisis en respuestas citotóxicas. En el primer caso, los impresionantes hallazgos sobre la estructura molecular de estos receptores de células T (619) constituyen un inesperado «rompecabezas» con extraordinario protagonismo (en la actualidad) por su significado como generador de diversificación biológica y por sus posibles aplicaciones, mediante la Biotecnología, en la modulación de la respuesta inmune. Así, en relación con el modelo estructural del complejo Ti-T<sub>3</sub>, según datos de Borst y cols. (122) y de Kanellopoulos y cols. (473), más tarde esquematizados por Simonsen (886), se nos antoja como un caprichoso fruto de granada cuya dehiscencia, por el reconocimiento de un antígeno extraño, pone al descubierto el heterodímero marcador clonotípico (Ti), que al reaccionar da comienzo al complicado mecanismo de respuesta celulo-mediada (Fig. 4). En este complejo antigénico T<sub>3</sub> se distinguen tres especies moleculares: a) Una proteína no glicosilada de 20 Kd, embutida en la membrana, aunque presenta un dominio citoplásmico de 5 kd y que se destaca intensamente con un reactivo hidrofóbico (la 5-iodonaftil-1-azida); b) dos glicoproteínas N-glicosiladas de 20 Kd y 25-28 Kd, respectivamente, que permanecen ancladas sobre la molécula anterior y ejercen un hipotético bloqueo discriminatorio sobre las otras dos moléculas restantes; c) un heterodímero que actúa de portador de la especificidad clonotípica en el que se distinguen ambas subuni-



**Fig. 4.** Modelos hipotéticos del receptor T<sub>3</sub> de linfocitos (A) (886) y del receptor para insulina (B) (420). En el primer caso, el modelo incluye las cadenas clonotípicas  $\alpha$  y  $\beta$  del Ti y las tres moléculas (a, b, c) del complejo T<sub>3</sub> bloqueado por un antígeno propio (R). En el otro caso se aprecian las regiones que intervienen, en la internalización del receptor (I), en la interacción con la glicoproteína reguladora de afinidad (GPR) y en la actividad proteolítica insulino-mediada (MP) además de las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  del receptor insulínico.

dades  $\alpha$  y  $\beta$ . Las dos moléculas glicoproteicas, mediante sus porciones oligosacáridas más externas, mantienen bloqueado el sitio activo de las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  del  $T_i$  hasta que la presencia de un epitopo ajeno —asociada con el correspondiente marcador MHC de la célula presentadora del antígeno— atraviesa el umbral de afinidad que mantenía el bloqueo, desplaza las moléculas de cierre y se produce la interacción con la región de unión del  $T_i$ , desde donde se envía una señal a otra parte del complejo  $T_3$  que, posiblemente, mediatiza un estadio imprescindible para el disparo de la activación del linfocito T.

Otro sugestivo modelo de relaciones estructura-función en receptores de células T, corresponde a la programación para la lisis en las respuestas líticas celulo-mediadas: según se ha comprobado con anticuerpos monoclonales son varias las proteínas que intervienen y están localizadas tanto en la célula citotóxica como en la célula diana (590). Así se han identificado una serie de antígenos de membrana (algunos de los cuales ya se habían detectado en células T cooperadoras o T supresoras, en macrófagos o incluso en células B) que intervienen de una manera coordinada en el reconocimiento y adhesión de las células citotóxicas/diana y también en las interacciones post-contacto celular que conducen a la respuesta citolítica final, aunque todavía no se haya encontrado ninguna molécula responsable «per se» del llamado golpe letal; éste es el que constituye el verdadero estadio diferenciador de la lesión celular en cualquier reacción citotóxica celulo-mediada cuando se compara con otras respuestas celulo-líticas (120, 831).

Por último, y con amplias perspectivas en Inmunofarmacología, cabe mencionar a receptores de membrana capaces de modular la función celular (420). Estos receptores hormonales que a su vez pueden resultar ligados a moléculas de anticuerpos (marcadores de membrana) son responsables tanto de las funciones de reconocimiento como de los subsiguientes procesos de activación celular. Recientes observaciones de la movilidad lateral de receptores hormonales y la aparente necesidad de su agrupamiento para alcanzar la activación celular, acentúan el paralelismo funcional que puede establecerse entre receptores y anticuerpos. Es muy posible que los mecanismos responsables del reordenamiento («patching»), capelamiento («capping») e internalización de moléculas a través de receptores superficiales en linfocitos integren procesos muy similares en respuestas hormonales e inmunitarias; incluso llega a pensarse que los receptores hormonales e inmunoglobulinas de membrana pueden tener en común algunos elementos estructurales. A este respecto re-

sulta interesante la sugerencia de Hodd y Prahl (521), de que las regiones C de las moléculas inmunoglobulínicas podían servir como «un asidero» de membrana donde se localizaran moléculas con distintas especificidades: en esta clase de moléculas podrían incluirse todos aquellos receptores que modulan el sistema adenil-ciclasa, que tan importantes son para la regulación farmacológica de la respuesta inmune (420). En ellas pueden existir regiones moleculares en común, sobre las que inducir una señal que motive a los nucleótidos cíclicos para que actúen como mediadores intracelulares de la expresión de células antígeno-sensibles (1028). Llama la atención el hecho de que el receptor de insulina tenga una estructura tetra-oligomérica del tipo  $(\alpha, \beta)_2$ , ligada por puentes disulfuro como las inmunoglobulinas (Fig. 4), y que existan interrelaciones de parentesco estructural (iso-receptores) entre distintos receptores Fc con diferentes especificidades inmunoglobulínicas (605): es bastante probable que existan estructuras y mecanismos activadores del Sistema Inmune que puedan tener una contrapartida común con procesos de activación hormonal de las células (420), lo que hace más estrechas e interesantes las interacciones entre respuesta inmune y farmacología de receptores.

Si es cierto que la distribución y naturaleza química de estos receptores puede ser muy diversa, también lo es su funcionamiento, pudiéndose comprobar la existencia de receptores de células T que son responsables de un reconocimiento antigénico restringido por el sistema MHC: estos receptores forman un complejo trimolecular en el que se unen la parte heterodimérica del receptor, el antígeno o fragmento antigénico y un producto del MHC localizado sobre la molécula presentadora del antígeno (377). Kaye y cols., estudiando la estructura y función de los receptores complejos de células T (482), encuentran que para la activación de células T cooperadoras se requiere una interconexión entre las cadenas básicas y acídicas del heterodímero y que este mismo complejo molecular da muestras de una gran capacidad de diversificación, ya que puede reconocer tanto los complejos antígeno/Ia-propio como las moléculas del Ia-extraño; en este caso, el reconocimiento del receptor entraña una interacción de baja afinidad con un antígeno que se exprese a una alta multiplicidad sobre la superficie de la célula presentadora de dicho antígeno. En la actualidad se empiezan a obtener anticuerpos monoclonales anti-receptor y su empleo constituye una herramienta de excepcional utilidad para demostrar, tanto la estructura del receptor como su función y, consecuentemente, las posibles interrelaciones estructura-actividad.

La comunicación celular vía receptores superficiales afecta también a los *canales iónicos* que atraviesan las membranas y eso sucede esencialmente en células activables, como las inmunocompetentes, lo mismo que en nervios o músculos: *una vez más se comprueba que el Sistema Inmune y el Sistema Neuroendocrino responden en forma análoga a estímulos diversos y conservan memoria de la interacción.* Estudios con trazadores de flujo iónico sobre estructuras periféricas celulares, completados con investigaciones sobre resistencia eléctrica en la membrana de linfocitos, han atraído la atención de los investigadores hacia el papel biológico de los canales iónicos linfocitarios (31), comprobando la intervención de los canales de potasio en la respuesta linfoproliferativa frente a mitógenos (599) y su inhibición por quinina-4-aminopiridina e iones de trimetil-amonio. No se conocen los mecanismos de activación de los canales del potasio, pero el fenómeno puede estar supeditado a la mediación del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular que, por aumentar durante la estimulación de timocitos, puede servir de transmisor (984). La combinación de técnicas inmunológicas y bioquímicas con la de registro por micro electrodos (gigaohm-seal) y técnicas de voltaje ha permitido conocer que el potencial eléctrico de la membrana depende de la distribución de carga eléctrica transportada a través de los canales iónicos de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$   $\text{Cl}^-$  y  $\text{Ca}^{2+}$  y que éstos juegan un papel decisivo en el Sistema Inmune; así, los canales de K intervienen en la activación de citólisis de células T y también en la citotoxicidad por células NK, mientras que los canales de Ca parecen influir en la síntesis de inmunoglobulinas por células B (194). Recientemente, Chandy y cols. (195), estudiando el papel fisiológico de los canales iónicos en el Sistema Inmune, encuentran seis tipos distintos de canales iónicos que recuerdan a la mayoría de los encontrados en nervios y músculos; asimismo resumen los últimos datos relativos a su papel en linfocitos y macrófagos en los que intervienen en la iniciación, regulación y soporte de muchas funciones celulares, así como en la comunicación inter- e intra-celular.

Los datos de que se dispone en Patología Molecular, relativos a las interacciones receptor-ligando han culminado en la materialización de conceptos, revisados por Ariens (29, 28), que se traducen en que salud o enfermedad puede ser una resultante del funcionamiento de mecanismos de regulación interpretados según claves establecidas de reconocimiento y comunicación celular dentro de cada organismo. De todas las posibles intervenciones fisiopatológicas, que cabe dar al funcionamiento de los receptores, atrae particularmente la atención de los inmunofarmacólogos todo aquello que apa-

rece relacionado con la dinámica del receptor, involucrado en la comunicación intercelular y en lo concerniente a patología de receptores entre las que se incluyen las enfermedades alérgicas, las auto-inmunes y los desarrollos tumorales. Primero, en los *casos de alergia*, se incluyen los estudios relativos a receptores para IgE, que en un principio se suponía estaban formados por una proteína monomérica de ubicación transmembranal (618), pero que más tarde se comprobó que estaban formados por dos componentes, que difieren en su contenido de carbohidratos y en su sensibilidad a la rotura por enzimas proteolíticas (327); en estos receptores —que son capaces de funcionar entrecruzándose con otros determinantes no específicos— las cadenas  $\alpha$  están conectadas con dos cadenas  $\beta$  que se localizan dentro de la membrana y su detección y relativa heterogeneidad dependen del proceso que se haya seguido en su aislamiento (169). En el segundo caso, en relaciones con las *enfermedades auto-inmunes*, es de interés conocer los mecanismos íntimos de la proliferación de las células T que, aunque iniciada por antígenos o lectinas, está mediada por un factor linfocitotrófico conocido como interleuquina 2 (IL-2). Cantrell y Smith (152) han comprobado que los receptores de IL-2 tienen una expresión transitoria, acumulándose lenta y asincrónicamente entre las células T estimuladas por lectinas y esta acumulación precede a una iniciación de la síntesis de ADN; además, se requiere alcanzar un umbral crítico en la densidad de los receptores de IL-2 antes de que sea programada la célula para su progresión cíclica y, una vez alcanzada la expresión máxima de estos receptores, la proliferación celular ya es dependiente de la concentración de IL-2 en el medio. Cuando se elimina esta interleuquina, decae el nivel de receptores, aunque una repetitiva exposición al factor estimulante condicione una rápida reexpresión de los niveles máximos del receptor específico. Receptores de IL-2 han sido purificados y caracterizados químicamente por Urdal y cols. (991) en células T estimuladas por fitohemaglutinina y en linfomas de células T humanas (línea HuT-102), comprobando que aunque tenían alguna diferencia en cuanto a tamaño molecular (60.000 el de PHA y 55.000 el de TuT-102), ambos tenían la misma secuencia de proteína NH<sub>2</sub> terminal; la capacidad de reacción específica en el caso de células NuT-102 era de 18.182 fmol de receptor/ $\mu$ g de proteína. También en las células B activadas aparece expresión de receptores para IL-2, pero existe alguna controversia en cuanto a las señales de activación requeridas por estas células B para responder a los factores de crecimiento que, por otra parte, pueden ser dependientes del contacto entre linfocitos T y B (1015, 1070). El tercer caso, relacionado con la *defensa anti-viral* y el control de desarro-



llos neoplásicos, es el de los interferones, cuya acción sobre las células empieza por una interacción con unos receptores macromoleculares específicos de alta afinidad (466). Existe duda sobre la naturaleza de estos receptores, que se suponía eran moléculas gangliosídicas, pero mediante ensayos con radioligandos se ha demostrado que si bien los gangliosidos pueden unirse y bloquear moléculas de Hu-IFN $\alpha$ , sin embargo, dicha unión no se efectúa por el sitio activo de la molécula de interferón que va a reaccionar, precisamente, con el receptor de membrana celular (357). Modificaciones en los antígenos de membrana por infección viral, transformación o tumorigénesis por virus de polioma, conducen a procesos de adaptación selectiva relacionados con el éxito o fracaso de la vigilancia inmunológica (1051). También se ha encontrado un receptor específico del factor de crecimiento epidérmico (EGF-quinasa), en células A431 de carcinoma epidérmico, que puede participar en fenómenos de transfección y transformación celular por intervenir en la inclusión de porciones monocatenarias de ácidos nucleicos en moléculas de DNA superenrollado; de aquí que Nashville definiera a esta molécula como una topoisomerasa (135).

Otras investigaciones básicas, que tienen un potencial interés inmunofarmacológico, son aquéllas que se refieren a receptores específicos de moléculas biológicamente activas por sus efectos quimiotácticos o por desencadenar cuadros de anafilaxis, broncoconstricción, secreción de mucus, etc., como sucede con los leucotrienos (283) e histamina (884). El problema no es fácil si se tiene en cuenta: *a*) La diversidad de células en que se pueden encontrar receptores de este tipo; *b*) la dinámica de su aparición o diferenciación en función de determinados estímulos (550), y *c*) la posibilidad de que en el mecanismo de acción intervengan dos tipos de receptores (388).

### **2.3.2. Inmunoglobulinas, mensajeros químicos y señales moleculares**

Muchas de las interacciones celulares de la respuesta inmune están mediadas por factores solubles que transportan señales a distintos elementos de la red inmunitaria y que, a su vez, pueden hacer surgir otros mediadores químicos. En los circuitos de supresión por retroalimentación, por ejemplo, existen mediadores moleculares que promueven la generación de distintas células diana y que pueden diferenciar actividades celulares entre los tipos Ly-1 y Ly-2; igualmente, en las reacciones de hipersensibilidad inmediata puede iniciarse un conjunto de respuestas tisulares, en cascada, en las que intervienen la IgE en primer lugar y a continuación una serie de

mediadores de la anafilaxis que aparecen como resultado de la degranulación de basófilos y mastocitos. Por el contrario, en otros casos, la comunicación se produce por un contacto físico directo entre dos células, como sucede en las reacciones de citotoxicidad, en las interacciones macrófago-linfocito T o en la fase efectora de fagocitosis para eliminación de antígenos celulo-asociados: en todos estos casos, la adherencia célula-célula, es decir, su comunicación, está restringida genéticamente a través del sistema de histocompatibilidad (MHC). Llama particularmente nuestra atención la serie de antígenos, marcadores y receptores de membrana que intervienen coordinadamente en una reacción citotóxica para conseguir programar el estado de lisis en una célula diana (590) y de cómo éstos pueden ser modificados por la presencia de carbohidratos, por la de algunos inhibidores enzimáticos o incluso por agentes que actúan a nivel del citoesqueleto (727). La eficiencia de todas estas interacciones celulares y moleculares viene dictada por la perfección del «ajuste» molecular; es decir, por la mayor afinidad de una molécula hacia la otra que se le enfrenta, ya sea de mensajero a receptor, ya sea de receptor a antígeno, dependiendo del tipo de comunicación de que se trate.

Entre los primeros mensajeros químicos descubiertos están las *inmunoglobulinas, glicoproteínas séricas con una organización multimérica de subunidades globulares ordenadas por parejas*. Son las moléculas mejor conocidas y su estructura —con la que ya estamos muy familiarizados (Fig. 5)— fue comprobada por análisis de difracción de rayos X y mereció de Putnan (746) el lírico calificativo de estructura en forma de «pájaro en vuelo». En ella cabe diferenciar regiones hipervariables que se enfrentan, sobre ambas cadenas ligera y pesada, para formar una concavidad o superficie activa de combinación con el antígeno. Es mucha la información existente sobre este tipo de moléculas, según revisan Putnan (746) y Nezlin (660), se conocen perfectamente sus propiedades físico-químicas desde hace medio siglo y también su clasificación serológica, así como su biosíntesis, los detalles estructurales de sus cadenas polipeptídicas y el análisis secuencial de aminoácidos para las distintas regiones diferenciables, habiéndose llegado a determinar exactamente su estructura tridimensional (17). Más recientemente se ha comenzado a desentrañar la correlación entre estas estructuras proteicas y las de sus genes codificadores (985). Esto hace posible reconocer o predecir, de acuerdo con la secuencia de aminoácidos, cómo son los segmentos que codifican por separado los dominios de las regiones constantes (C) y variables (V) de las cadenas ligeras (L) y de las pesadas (H) de cualquier molécula inmunoglobulínica. Hoy se sabe

que la molécula final de inmunoglobulina se origina a partir de una especie de negativo, compuesto por una serie de exones de DNA que se van seleccionando y acoplado durante el proceso de diversificación. Cada exón, e incluso cada miniexón (que puede ser obtenido sintéticamente), codifica las piezas estructurales separadas, llevando cada una su función biológica, de tal forma que resultan estrechamente relacionadas la estructura del anticuerpo y su control genético. Estas funciones biológicas de las inmunoglobulinas han sido homologadas por Strosberg (73) —al menos conceptualmente— con las hormonas adrenalínicas, las cuales interactúan a través de sus receptores  $\beta$ -adrenérgicos (situados en la membrana) con el complejo sistema enzimático de la adenilato ciclasa; exactamente igual que sucede en las señales para iniciar los fenómenos de hipersensibilización de las células basófilas o con algunas moléculas de inmunoglobulinas superficiales de membrana, que funcionan como receptores de antígeno. Para Strosberg y su grupo, esta similaridad que nos aporta una visión farmacológica del problema comienza por distinguir, tanto en el complejo hormonal como en el anticuerpo, tres zonas funcionales (Fig. 5): *a*) Una *región variable*, que permite tanto el reconocimiento del antígeno (en la inmunoglobulina) como el del receptor (en la hormona), para mantenerse unido a él en cada caso; *b*) un componente responsable de la *transmisión de la señal* que serían, la región constante (CL/CH<sub>1</sub>) en la inmunoglobulina y la proteína reguladora de unión al sistema guanosil-trifosfato (G) en la hormona, y *c*) una *parte efectora*, responsable de la respuesta biológica, que estaría representada por los dominios constantes de la cadena pesada en la inmunoglobulina (CH<sub>2</sub>; CH<sub>3</sub>) y por el efecto del sistema adenilato-ciclasa (E) en el complejo hormonal. Estas respuestas, inducidas por la unión al antígeno o a la hormona serán traducidas, respectivamente, por una fijación al complemento o una interacción con los receptores Fc (en el primer caso); o bien por la activación del sistema adenilato-ciclasa y la consiguiente apertura de los canales iónicos seguida de la fosforilación (en el segundo caso). Consecuentemente, esto nos lleva a otro tipo de aproximación científica al problema de regulación inmunofarmacológica, en el que se busca el diseño de activadores (agonistas) o inhibidores (antagonistas) a nivel del receptor, ya sea por anticuerpos anti-idiotipo, ya sea por anticuerpos anti-hormona. Una característica común de todas estas hormonas adrenérgicas y de algunos de sus bloqueadores, que pueden ser reconocidos por anticuerpos, es que poseen una cadena lateral de etanolamina que a su vez es altamente significativa en las interacciones idiotipo/anti-idiotipo. Por otra parte, según recientes experimentos de Sege y Peterson, anticuerpos anti-idiotipo dirigidos contra anticuerpos anti-insulina, cuando se unen

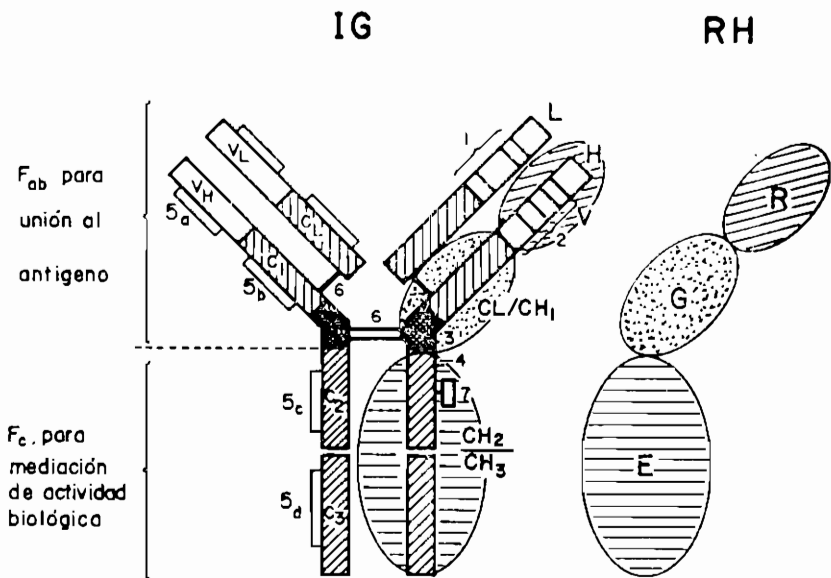


Fig. 5. Representación esquemática de una molécula de inmunoglobulina (IG) y de un receptor hormonal (RH) de acuerdo con la homología conceptual entre ambos, señalada por Strosberg (73). En ellas se distinguen las partes funcionales responsables del reconocimiento (V; R), de la transmisión de señales (CL/CH<sub>1</sub>; G) y las efectoras (CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>; E) encargadas de iniciar la respuesta biológica. Por parte de la IG se distinguen además, las cadenas ligeras (L) y pesadas (H) con sus respectivas regiones constantes (CL, CH<sub>1</sub>, variables (VL, VH) e hipervariables (1, 2); además de la zona de bisagra (3), la unión al sistema complemento (4), los enlaces disulfuro intracatenarios (5) e intercatenarios (6) y los residuos de carbohidratos (7).

a receptores de insulina en adipocitos, son capaces de mimetizar algunos de los efectos fisiológicos de la insulina (73): este hecho cierra un círculo en el que, una vez más, aparecen similitudes entre los sistemas endocrino e inmunitario.

Las inmunoglobulinas están codificadas por grandes familias de genes estrechamente relacionados, y con potencialidad suficiente, para expresar un grado de diversificación somática en los anticuerpos séricos, que parece teóricamente ilimitado. Cabe distinguir varias causas responsables de la aparición de esta diversificación somática en las inmunoglobulinas entre las que se cuenta:

i) El gran número de genes existentes en la región variable de las líneas germinales de ambas cadenas ligera (L) y pesada (H).

ii) La multiplicidad de elementos genéticos codificados de ambas cadenas, que al disponer de distintas regiones del gen (exones), que se reorganizan de forma consecutiva partiendo de la región variable (V<sub>L</sub>) y de la conjunción con la región constante (J), puede originar cadenas ligeras con distintas regiones variables (V<sub>k<sub>n</sub></sub>, J<sub>k<sub>n</sub></sub>, V<sub>λ<sub>n</sub></sub>, J<sub>λ<sub>n</sub></sub>); por otra parte, los correspondientes exones V<sub>H</sub> y J<sub>H</sub> de las cadenas pesadas, para los que existe además un exon codificador de la diversidad (D), dan origen también a otras distintas estructuras en estas cadenas pesadas (V<sub>H1</sub>—V<sub>Hn</sub>, D1—D<sub>n</sub>, J1—J<sub>n</sub>).

(iii) Una imprecisión en la unión de los segmentos génicos por variaciones secuenciales, precisamente, en los puntos de recombinación.

iv) La posible interacción entre genes relacionados, por pertenecer a miembros de una misma familia de inmunoglobulinas, puede también originar conversiones génicas.

v) La aparición de mutaciones somáticas puntuales que pueden ir acompañadas de alteraciones en la estructura molecular de las inmunoglobulinas.

Marchalonis y cols. (584), al determinar mediante estudios de estructura molecular los extensos límites de reconocimiento de estas familias inmunoglobulínicas, han ido agrupando las distintas moléculas según sus funciones y las han relacionado en grandes grupos con un posible antepasado molecular común. En una de estas familias inmunoglobulínicas aparecen relacionadas las moléculas del receptor Thy-1, la proteína C-reactiva, la β<sub>2</sub>-microglobulina y los receptores I y II del sistema MHC: todas ellas presentan dominios compartidos aunque no producen reacciones serológicas cruzadas. Esto parece explicarse porque aunque mantengan «minigenes» compar-

tidos en común, éstos mantienen todavía la capacidad de translocación y recombinación; así, durante el largo proceso evolutivo, los sucesivos re-empaquetamientos genéticos podrían haber generado proteínas que son similares, aunque no lleguen a dar lugar a un mismo reconocimiento, pese a su vecindad de origen molecular.

La síntesis de moléculas inmunoglobulínicas, al igual que la de otros factores humorales, puede ser inducida «in vitro» por distintos mitógenos. Scott y Nahm (840), estudiando las respuestas de distintos tejidos linfoides de ratón frente a nueve mitógenos diferentes, encuentran una cierta variabilidad en los isotipos expresados; así, moléculas de LPS actuando sobre células B de bazo producen IgG<sub>1</sub>, mientras que si se trata de linfocitos de sangre periférica, este mismo mitógeno y en idénticas condiciones experimentales, induce la síntesis de IgG<sub>2</sub>. Según parece, las expresiones de las respuestas IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> están coordinadas en el bazo y su naturaleza depende del tipo de mitógeno; asimismo, la magnitud de respuestas a estos mitógenos varía en función del lugar de producción, siendo máxima en bazo, intermedia en amígdalas y más baja en linfocitos de sangre periférica.

Desde el descubrimiento diferenciador de los linfocitos T y B, gran parte de la problemática inmunológica se ha centrado en la búsqueda del conocimiento molecular de los distintos isotipos de inmunoglobulinas y en la investigación de los diversos factores humorales que pueden influir en la regulación de la respuesta inmune, sobre cualquiera de sus tres estadios perfectamente diferenciables. En la actualidad, mediante la tecnología de DNA recombinante y la producción de anticuerpos monoclonales por hibridomas, se está perfeccionando de una forma acelerada el conocimiento de distintos mensajeros moleculares y de las señales de control que regulan, tanto respuestas celulares normales como defectos moleculares asociados con el crecimiento de células tumorales. Son tantos los factores que se empiezan a distinguir en los procesos de activación, crecimiento y diferenciación de distintos sistemas celulares que —en los linfocitos B por ejemplo— es necesario establecer fórmulas con un nomenclator normalizado de designaciones específicas que nos permitan identificar rápidamente el factor de que se trate. De aquí que William E. Paul, del Public Health Service de Estados Unidos, haya difundido en varias revistas (697) el acuerdo de un Comité Internacional de Expertos en el que se recomienda utilizar una designación normalizada en la que se exprese resumidamente: a) las células originarias del factor; b) su actividad; y c) una referencia abreviada al autor de su descripción original. Con ello, el factor estimulador del crecimiento de células B, conocido en un principio como

BCGF (B cell grow factor), que es producido por la línea de timoma EL-4 y que fue descrito originalmente por Howard, pasa a denominarse factor EL-BCGF-how.

Además del sistema del complemento, que es uno de los principales sistemas mediadores humorales de las reacciones inmunitarias (535) e incluso de mecanismos de defensa no inmunes (710), existen otros mediadores inmunitarios. Si se revisa este repertorio de factores no inmunoglobulínicos (Tabla 6), producidos por linfocitos sensibilizados en presencia de antígenos, y que ejercen funciones de mensajeros de la inmunidad mediada por células, nos encontramos distintas interrelaciones entre interferones y linfoquinas tanto por su multifuncionalidad inmunomoduladora como por su comunidad de producción a partir de linfocitos T.

Estudiando analogías y diferencias entre  $\text{IFN}\gamma$  y distintas linfoquinas, como linfotoxina (LT), los factores activador e inhibidor de macrófagos (MAF, MIF) o varias interleuquinas (IL-1, IL-2) surgen dudas de si la actividad resultante puede simular una analogía en algunos casos, por encubrir interacciones entre ambos tipos de factores, mientras que otras veces pueden aparecer diferencias que están determinadas por una especie-especificidad celular puesta en juego por los distintos marcadores o por la intervención previa de otros factores supresores que producen alteraciones en la fase de diferenciación celular (659a). También se ha visto que la síntesis de  $\text{IFN}\gamma$  está regulada por la IL-2 que, a su vez, modula la expresión de sus propios receptores en los linfocitos T activados (968). Hasta ahora ha sido bastante difícil estudiar «in vivo» el efecto de los interferones sobre el Sistema Inmune por las dificultades de conseguir cantidades suficientes (297); la mayoría de los datos existentes se refieren a la defensa antiviral y a los efectos anti-tumorales del IFN, pero también existen algunos resultados sobre su papel inmunomodulador cuando se ensaya este efecto del IFN sobre el Sistema Inmune empleando un inductor sintético como la tilorona; se comprueba así que —tanto en ratones como en aves— hay una aparente depresión de las respuestas de células T frente a Con A junto con una estimulación en el número de células sintetizadoras de anticuerpos 19S (818), quizá esto se produzca por una coestimulación del IFN y de otra linfoquina liberada después de la interacción célula T-macrófago y antígeno: posiblemente sea un factor de maduración (BMF) (877). Interacciones entre IFN y infoquinas u otros diversos factores de crecimiento han llevado a Inglot (433) a considerar a los interferones como hormonas «no clásicas» en cuanto a su carácter de factores negativos de crecimiento. También Bocci (116) mantiene que, el huésped en su estado normal, está produciendo

do constantemente IFN en su organismo aunque en cantidades «fisiológicamente» bajas para que se mantengan correctamente las funciones inmunes; sin embargo, cuando se produce una infección viral, entonces se induce una intensificación de la respuesta. Fundamenta su teoría en distintas premisas como son: a) la existencia de trazas de inductores exógenos y endógenos asociados a distintos tejidos linfoides; b) la activación ocasional de algunas células, en estas áreas particulares, para producir distintas especies de interferones ( $\alpha$  ó  $\gamma$ ) que, junto con otras linfoquinas o monoquinas, darán origen a microambientes con diversos gradientes de capacidad inmuno-reguladora. El estudio de todos estos factores está progresando rápidamente desde que, mediante tecnología de DNA recombinante, se han empezado a obtener, tanto IFN  $\alpha$  (326) como las IL-1 (562), IL-2 (954) e IL-3 (301). Asimismo, su aplicación inmunofarmacológica se está empezando a beneficiar de las posibilidades de emplear péptidos reguladores obtenidos de clones homogéneos de células T (144).

Todo este conjunto de mensajeros químicos actúa dentro de un sistema biológico de comunicación que, en principio, pudiera parecer de tipo *paracrino* para diferenciarlo del *neurocrino* y del *endocrino*, puesto que ni se sintetizan en células neuronales ni se originan en un tejido particular para después ir a actuar sobre una célula diana diferente: *En esta comunicación, el mediador se ha de producir en distintos microambientes para actuar sobre células vecinas con el fin de regular su actividad.* Sin embargo, con los últimos descubrimientos, no resultan tan claras las distinciones teóricas entre estos tres sistemas de comunicación (neurocrino, endocrino y paracrino), siendo posible encontrar péptidos sintéticos —análogos de moléculas neurocrinas y endocrinas— que pueden suplantar funcionalmente «in vitro» a factores mediadores de la inmunidad celular (302, 841); y también pueden encontrarse otros agentes paracrinos, como el factor de crecimiento insulinoide (IGFs) y los factores de crecimiento epidérmico y del nervio, que son similares a hormonas en cuanto a su estructura y mecanismo sobre la célula diana. Todos estos descubrimientos de similitud van desdibujando los linderos de separación entre los distintos sistemas de comunicación biológica hasta llegar a pensar que entre los sistemas neurocrino y endocrino existe un precursor temprano que parece ser común en la filogenia de ambos sistemas (419, 550, 823).

Según se han ido descubriendo nuevos mediadores, se ha ido ampliando el concepto paracrino hasta aparecer el término *autocrino*, en el que se incluyen factores tisú-específicos y de crecimiento que, en ocasiones, pueden ser responsables incluso de transformaciones neoplásicas (912). En nuestra opinión, deben revisarse los



conceptos y términos de los distintos tipos de comunicación con el fin de encontrar la correspondencia adecuada para otros tipos de mensajes existentes en la respuesta inmune y que están a cargo de moléculas como las prostaglandinas y otros derivados del ácido araquidónico; también la versatilidad de mensajes transmitidos por distintos tipos de interferones, linfoquinas, somatomedina, factor plaquetario (PDGF), etc., tienen dificultades para un exacto encuadramiento. Por ello Le Roith y su grupo (549), estudiando los orígenes evolutivos de distintos tipos de mensajeros químicos, sugieren que todos estos elementos de comunicación intercelular se han originado evolutivamente en microorganismos unicelulares y se han conservado cuidadosamente durante todo el proceso evolutivo, aunque éste haya ido modificando tanto la naturaleza de las células secretoras y dianas como el compartamento fluido por el que el mensajero molecular ha de discurrir de unas a otras.

Sea cual fuere el tipo de comunicación intercelular, tanto la naturaleza del mensajero como la del receptor de membrana —destinatario encargado de interpretar la clave— están programados en el genoma, desde el origen de la especie, para dar ocasión a las muy diversas reacciones inmunitarias: *en ningún modelo biológico es tan patente la influencia de las relaciones estructura-función para conseguir tanta versatilidad en señales moleculares.* Cuando un mensajero molecular, bien sea inmunoglobulina, factor humoral, mitógeno, antígeno, auto-anticuerpo, etc., entra en contacto con su correspondiente receptor de membrana pueden producirse diversos estados de bloqueo, inhibición o estimulación y, aunque la intimidad del mecanismo pueda llegar a tener bastante similitud en los distintos casos, cabe detectar algunas modificaciones en la respuesta dependiendo de las condiciones en que se produce la señal. Así, en reacciones de celulolisis mediadas por el complemento, influyen tanto la densidad del antígeno como la orientación espacial de los determinantes antigénicos o la capacidad individual de la inmunoglobulina que transporta y fija el complemento, observándose un mayor efecto citotóxico en presencia de IgM que de IgG (539). También puede haber señales inespecíficas, dependientes de interacciones a nivel del fragmento Fc, en las que la respuesta final queda condicionada al tipo de células reaccionantes, resultando: una fagocitosis si son macrófagos, una celulolisis si son células K o una alteración de la migración durante la captura de células circulantes si la respuesta tiene lugar en el hígado (325, 519).

Cabe afirmar que todavía no se conocen los mecanismos de acción biológica de la mayoría de las proteínas que existen en la superficie de células inmunocompetentes. Sin embargo, el empleo de

anticuerpos monoclonales frente a estas moléculas y el control de sus efectos biológicos permiten acercarnos a la potencial complejidad de la comunicación intercelular. En relación con el tema, Goding (325) ha revisado una serie de modelos experimentales con los que es posible simular diferentes cuadros patológicos autoinmunitarios en los que cabe ensayar su regulación y control por Inmunofarmacología; en su examen incluye, además de los efectos de varias moléculas y lectinas sobre la célula, como un todo, algunos casos particulares de interacción con inmunoglobulinas de membrana de linfocitos B, ciertos antígenos de células T, glicolípidos de linfomas, transferrina, etc. Mediante uno de estos modelos «in vitro», se ha comprobado la variabilidad del efecto de unión del auto-anticuerpo a las inmunoglobulinas de membrana de los linfocitos B, según estén o no sometidos a la influencia de células T y siempre dependiendo del grado de madurez de dichas células B (325). Todavía constituye una incógnita el papel representado por las inmunoglobulinas de membrana en la activación y diferenciación de las células B, frente a un antígeno; tanto, que Stell y sus colaboradores (920), al revisar los resultados obtenidos para este problema, en distintos estudios «in vitro» e «in vivo», los resumieron en 13 hipótesis diferentes más sus correspondientes alternativas, para terminar diciendo... *«posiblemente la única conclusión cierta que puede derivarse de la totalidad de efectos anti-Ig sobre las células B es que no puede proponerse ninguna conclusión cierta»*. Muraguchi y cols. (651), ocupándose del tema en relación con la cascada de reacciones que tienen lugar durante la activación, proliferación y diferenciación de las células B, supone —como bastante probable— que la expansión clonal de estas células B está mediada por un «factor de diferenciación» (BCDF), de la misma manera que lo hace la IL-2 durante la expansión clonal de las células T, aunque en este caso la señal estimuladora resultaría algo más complicada por la posible intervención de dos factores diferenciadores distintos (654).

Dependiendo del cometido que ha de desempeñar en cada momento la célula inmunocompetente, ésta recibirá diferentes *señales moleculares* que van a determinar una serie de mecanismos de respuesta variables: desde la más simple para suministro de energía, a través de una sucesión de reacciones enzimáticas, hasta la artificiosa complejidad molecular que supone el fenómeno conocido como «golpe letal» en una reacción citotóxica; o también, la señal que inicia el desencadenamiento de un shock anafiláctico.

i) Las actividades de carácter general pueden iniciarse con la participación de receptores que funcionan a nivel de *regulación*

*homeostática*, tienen su origen en receptores que se localizan, además de en la membrana, en organelas particulares dentro del citoplasma (hormonas esteroideas) o en otros puntos muy específicos de acción molecular (enzimas alostéricas) (550); incluso pueden estar integrados dentro de un canal de iones como sucede con el receptor colinérgico (590).

En todos estos casos, la señal se inicia con la activación del receptor por su agente específico, con lo que dicho receptor se agrega a la proteína reguladora dependiente del nucleótido de membrana para que, a su vez, se promueva la activación de una adenilato-ciclasa que va a convertir a las moléculas de ATP en las del segundo mensajero (cAMP), que se liberará al citoplasma. Estas moléculas de cAMP activan una fosfoquinasa capaz de iniciar fenómenos de glicólisis y lipólisis que, entre otras cosas, pueden suministrar energía a la célula en distintos estadios de la respuesta inmune.

Existen otras señales de carácter general como son aquellas que propician la regulación del ciclo celular a través de sus diversos estadios (399). Así se sabe que una señal sobre una molécula reguladora tipo 1 hace que se complete la transición desde  $G_0$  a  $G_1$ , mientras que otras moléculas reguladoras tipos 2 y 3 actúan en las fases final y temprana, respectivamente, del estadio  $G_1$  del ciclo celular para llegar a alcanzar la fase S de síntesis proteica.

ii) Las actividades para una respuesta de anticuerpos pueden generarse en una señal de los macrófagos para la *presentación inmunogénica del antígeno a los linfocitos T*, puesto que la interacción directa entre un antígeno soluble y una célula T no basta para desencadenar una respuesta inmune. Aunque se tienen datos de la participación en el fenómeno de moléculas Ia de la superficie del macrófago y de la función expresada por los genes Ir, se sabe poco de la regulación fisiológica «in vivo» de las propiedades inmunogénicas de los macrófagos. Experimentos de Segal y cols. (857) suponen que las inmuno globulinas que se ligan a macrófagos y polimorfonucleares, vía receptor Fc de la célula, dan la señal para que se produzca la actividad fagocitaria por medio de un tetrapéptido existente en la molécula inmunoglobulínica. «In vitro», la presencia de este tetrapéptido (tuftsina), hace que los macrófagos liberen su señal inmunogénica en presencia de linfocitos T y los active convirtiéndolos en células iniciadoras T antígeno-específicas que van a transformarse en linfocitos T reclutadores del antígeno, entrando rápidamente en proliferación. Aunque la secuencia intacta de la tuftsina (ALA-CYS-PRO-ARG) (341, 656) parece involucrada en el reconocimiento por

los receptores específicos de membrana, la señal para programar el efecto inmunogénico de los macrófagos sobre la célula T está dada por la secuencia PRO-ARG. Este efecto inmunogénico obedece a un programa que se resume en que el tetrapéptido dispara la síntesis de moléculas Ia sobre el macrófago y hace que se una el antígeno a esta molécula de Ia; después, este complejo Ia-antígeno, constituirá la entidad inmunogénica reconocida por la célula T y que la transforma en un linfocito iniciador activo antígeno-específico (ITL).

En la activación de células B, para pasar a células sintetizadoras de anticuerpos, se requieren distintas señales a cargo de factores no antígeno-específicos, derivados de células T y que no están restringidos genéticamente (495). No se sabe cuantos factores intervienen, aunque sí se distingue entre los procesos de crecimiento de las células B activadas y su diferenciación al final del proceso.

iii) La interacción del IFN con un receptor específico, constituye la *señal de iniciación de la defensa antiviral* y de una serie de efectos asociados a la acción reguladora del IFN en la que destacan varios acontecimientos principales (303, 537, 544): a) la aparición de una proteína-quinasa, que junto con dsRNA de bajo peso molecular van a inhibir el factor eIF<sub>2</sub> de iniciación de proteínas (en especial las víricas); b) una activación y proliferación de moléculas de oligonucleótido-sintetasa que van a dar lugar a una síntesis de oligonucleótidos que, junto con dsRNA de alto peso molecular, impedirán la elongación de moléculas de proteínas; c) estos oligonucleótidos activan una RNAsa que estaba en estado latente y que va a degradar polisomas y moléculas monocatenarias de mRNA, tRNA y rRNA; d) hay alteraciones de membrana que afectan al intercambio de metabolitos celulares y al recubrimiento de los viriones; y e) liberación de AMPc al medio y aumentos intracelulares de GMPc. Todo ello dará lugar a gran número de efectos biológicos que alcanzan a la división celular, tumorigenicidad, síntesis de anticuerpos y otras muchas modificaciones que afectan al crecimiento y función de la célula (965).

iv) Una señal de *programación para la lisis* es la que hace que la célula citotóxica (CTC), en pocos minutos, pueda programar la destrucción de una célula diana, de tal modo que después de descargar «su golpe letal» se produzca irremisiblemente un efecto lítico aunque se separe la célula efectora; esta célula CTC todavía será capaz de destruir, secuencialmente en el tiempo, otras cinco o más células diana en las que se exprese el mismo antígeno específico. En este proceso, en el que no se aprecia influencia de fenómenos osmóticos,

se distinguen distintas fases perfectamente señalizadas (389), incluyendo una despolarización del potencial de membrana, que se corresponde con una afluencia de calcio (831) y que después de una serie de movimientos violentos de... digamos... «desagrado» de su protoplasma, se llega a la desintegración del núcleo, solubilizando su DNA: aquí podría residir la clave de la actividad anti-viral de la CTC al evitar que los virus infecciosos puedan liberarse de células diana infectadas. Mediante anticuerpos monoclonales se va comprendiendo el código de señales entre ambas células para su reconocimiento, adherencia y reforzamiento de ésta, pese a no haberse identificado todavía ninguna molécula que sea responsable de la lesión primaria, ni tampoco conocer su sitio de acción, ni su mecanismo bioquímico (654, 831), aunque sí se sepa que existen fases de adhesión y programación para la lisis que son semejantes a las de citotoxicidad por células NK (411). Se ha demostrado que la señal de disparo está localizada en una pequeña región de la membrana, en la célula citotóxica, en lugar de aparecer dispersa por toda su superficie celular y existe evidencia de que el mecanismo, aún desconocido, es diferente al de la acción lítica del complemento (654). En cuanto al patrón farmacológico de estudio de estas reacciones citotóxicas puede resultar similar al de los procesos secretores en los que exista exocitosis de gránulos (390), por lo que en ocasiones, se utilizan modelos con células basófilas o mastocitos para estudiar algunas reacciones (435), aunque no parecen existir vesículas secretoras ni liberación de secreciones con capacidad lítica, excepto en el caso particular de las linfotoxinas, que requieren un mínimo de 5 h. para producir el efecto citolítico en lugar de los escasos minutos en que se produce la reacción citotóxica (390, 413). Es difícil controlar inmunofarmacológicamente las señales de los distintos pasos de la reacción; sin embargo, existen distintos anticuerpos monoclonales que, actuando sobre ciertos antígenos de membrana, pueden bloquear la reacción y también se dispone de fármacos capaces de inhibir esta muerte, mediada por células citotóxicas (200, 747), incluso a nivel del citoesqueleto (727), según se resume en la Tabla 7.

v) Una señal *para liberación de mediadores*, que puede dar lugar incluso a shocks anafilácticos, es aquella que se inicia por reacciones de transmetilación y termina por una exocitosis de gránulos basófilos con liberación de aminas vasoactivas y una novo-síntesis de prostaglandinas. Los mecanismos que regulan estas interacciones moleculares son conocidos tanto a nivel de membrana como a nivel del citosol celular; de aquí que sea más factible una aproximación inmunofarmacológica al fenómeno y se estén empezando a diseñar distintos antialérgicos de acción específica. Este fenómeno de hiper-

sensibilización, de conocida predisposición genética, se inicia con el acceso a la membrana de un antígeno sensibilizante que está ligado a moléculas de IgE; su contacto con dos receptores IgE-Fc adyacentes desencadena una dimerización por entrecruzamiento de los mismos y con ello activa (en 5 a 15 segundos) dos tipos de enzimas; una adenilatociclasa y las metil-transferasas I y II. Estas últimas, mediante la conversión de fosfatidil-etanolamina en fosfatidil-colina (utilizando S-adenosil-metionina como donador de metilos) abren los canales de calcio en la membrana para el acceso de iones  $\text{Ca}^{2+}$  al citosol celular. Por otra parte, el acoplamiento del factor correspondiente a la adenilatociclasa (que activa la ligadura transmembranal de los receptores de IgE a la subpoblación de adenilatociclasas) propicia la transformación de ATP en AMPc y la posible activación adicional de ciertas adenosin-trifosfatasa- $\text{Ca}^{2+}$  orientadas externamente; coincidiendo con la apertura de los canales de calcio, aparecen unos movimientos ondulatorios en la membrana (conocidos como movimientos «flip-flop») y una reducción de viscosidad; con ello tiene lugar el acoplamiento de receptores y un consiguiente reordenamiento de sus proteínas de una forma que está más de acuerdo con el nuevo estado de activación de la célula en el que, sucesivamente, por intervención de fosfolipasas mediadas por la lipomodulina irán apareciendo moléculas de ácido araquidónico.

El aporte sincronizado, al citosol celular, de AMPc,  $\text{Ca}^{2+}$  y ácido araquidónico origina la activación de una proteína-quinasa que, en la reacción inmunológica, realiza un papel de enzima reguladora (por retroalimentación) de la metilación de fosfolípidos. Estos intercambios de fosforilación, aplicados a proteínas contráctiles y no contráctiles del citoesqueleto, condiciona unas modificaciones calcio-dependientes en la organización espacial, con engrosamiento de los gránulos basófilos y su lenta aproximación hacia la membrana celular. Las variaciones en el tamaño de los gránulos se acompañan también de un aparente incremento de la permeabilidad en la membrana perigranular y una solubilización de alguno de los mediadores preformados. En esta situación, las moléculas de ácido araquidónico darán lugar mediante la acción de lipoxigenasas y ciclo-oxigenasas a la cascada de prostaglandinas  $\text{D}_2$  e  $\text{I}_2$  (que son liberadas al medio ambiente exterior) y a lisofosfatidilcolina, que actúa como agente fusionante entre las membranas celular y perigranulares. La extrusión final de los gránulos lleva consigo una necesidad de energía que es facilitada por la transformación de GTP en GTPc.

**TABLA 6.** Diversidad de factores humorales y mensajeros químicos que intervienen en distintos estadios de la respuesta inmune (\*).

**1. Factores que afectan al crecimiento hematopoyético**

---

TCGF (IL-2)	
Tac-TCGF	Cofactor para expresión de receptores del TCGF que se inhibe por dexametasona.
Eritropoyetina CsFs (IL-3)	Es capaz de inducir la 20 $\alpha$ hidroxisteroldehidrogenasa (10-SDH) y sigue un patrón semejante a la deoxinucleotidil-transferasa terminal (TdT).
CSF	Estimulador de la multicolonización.
GM-CSF	Estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos.

---

**2. Factores que estimulan el crecimiento de células de tejido conjuntivo y de células mesenquimatosas normales y neoplásicas de distintos tejidos.**

UDGF (a); KDGF (b) y FGF (c)	Aislados de útero (a) y riñón (b) bovinos, se conocen sus secuencias de aminoácidos y complementan el repertorio de factores de crecimiento fibroblástico (c), aislados de cerebro y pituitaria.
PDGF y sustancias P y K	Factores de crecimiento derivados de plaquetas que estimulan células del tejido conjuntivo, pertenecen a la familia de la taquiquinina; estimulan la síntesis de DNA en células de músculo liso arterial.

---

**3. Factores de crecimiento derivados de tumores**

EGF	Estimula el crecimiento epidérmico, su actividad fosforilante está asociada a un tirosina-quinasa e interviene en la actividad de oncogenes retrovíricos.
TGF-1	Es homólogo al anterior y estimula permanentemente la proliferación de fibroblastos.
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas.
TGFs	Factores de crecimiento transformante ( $\alpha$ TGF; $\beta$ TGF).

---

(\*) El número de estos factores humorales aumenta constantemente y su investigación continua hace posible que algunas de las moléculas citadas sean idénticas entre sí, aunque citadas con nombre diverso por distintos autores. La situación quedará definida cuando se conozcan los genes codificadores de cada molécula y por tanto se pueda lograr una perfecta definición bioquímica.

TABLA 6 (continuación)

4. *Mediadores de crecimiento y diferenciación linfopoyéticos*

LAF (IL-1)	Es liberado por los macrófagos, influye sobre la proliferación y diferenciación de células B.
TCGF (IL-2)	Es esencial para iniciar la proliferación de las células T activadas; se utiliza para la producción de clones de linfocitos T; actúa directamente sobre células B y mantiene un sistema de dilución limitante antígeno-específico.
BCGF	Se utiliza para crecimiento de clones de linfocitos B, influye en las respuestas a IL-2.
IL-3	Promueve proliferación de largo término de células pre-B.
IFN $\gamma$	Poderoso regulador de la respuesta inmune.
MAF	Producido por linfocitos T activados.
BCDF $\mu$	Diferenciador de células B para excreción de IgM.
BCDG $\gamma$	Diferenciador que induce las IgG y varía desde IgG <sub>1</sub> a IgG <sub>3</sub> .
Factores inespecíficos solubles	Potenciadores de respuesta IgG e IgE que no requieren proliferación celular.
BF, NSF	Factor blastogénico, inductor directo de mitogénesis en células T y B no estimuladas, es distinto de BCGF y de las IL-1 e IL-2.
MF	Factor mitogénico antígeno independiente.
LMF	Mitogénico para linfocitos B e independiente del antígeno.
LTF	Factor transformante de linfocitos, es similar al MF posiblemente.
TRF	Factor alogénico, reemplazante de células T.
PSF	Se produce «in vivo» por inyección de hemocianina y estimula a células persistentes (P), que equivalen a mastocitos T-dependientes.
PSI	Producido por el linfocito T, estimula la producción de IFNs, es un inhibidor de síntesis de proteínas y no interfiere con mediadores de la inflamación.
CSF	Factor estimulador de colonias.
Mediadores de inflamación	Proceden de macrófagos.
Liberador de peróxidos	Activador de macrófagos distintos del MAF, producido por linfocitos T estimulados por antígeno o mitógeno y que induce a los macrófagos a liberar peróxidos microbicidas.



TABLA 6 (continuación)

(DL) TRF	Promotor de crecimiento en células B, funciona como coestimulador en el crecimiento de linfoblastos activados, es producido por la línea C:C.3.11.75 de células T (Dennert).
LAF	Activador de linfocitos producido por macrófagos (**).
FAF-M	Activador de fibroblastos, producido por monocitos estimulados por zimosan, PHA o LPS. Es distinto de IL-1 y presenta dos fracciones.
Reg-1, Reg-2, Reg-3	Linfoquinas reguladoras del ciclo celular que actúan, respectivamente, en las fases G <sub>0</sub> , G <sub>1</sub> , durante toda la G <sub>1</sub> y sólo en la temprana de G <sub>1</sub> .

5. Factores que influyen en la fagocitosis; factores citostáticos y efectores

CP	Péptidos quimiotácticos formados por moléculas metionil-N-formiladas.
CM	Monoquinas quimiotácticas producidas por macrófagos, linfocitos y PMN bajo estimulación inespecífica durante la fagocitosis.
NCF	Quimiotácticos de neutrófilos que actúan de mediadores de la hipersensibilidad.
PIF	Inductor de fagocitosis producido por macrófagos en contacto con líneas celulares T que expresen antígenos leucémicos (ATLA). Se produce en ausencia de suero, es termostable a 56°/30 min.
LPF	Promotor de linfocitos, a veces llamado factor histamin-sensibilizante (HSF), que inhibe la migración de los macrófagos produciendo linfocitosis e influyendo sobre la reacción inflamatoria.
MIF	Inhibe la migración de macrófagos y es independiente del antígeno.
SMIF	Es un inhibidor antígeno-específico de la migración de macrófagos.
MAF	Factor activador de macrófagos.
CFM	Factor quimiotáctico para macrófagos.
CFL	Factor quimiotáctico para leucocitos.
CFP	Factor quimiotáctico para polimorfonucleares.
NKCF	Factor citotóxico de células NK, tiene actividad antiviral y se relaciona con $\alpha$ IFN-Hu.
FTS	Factor tímico del suero; péptido circulante secretado por el epitelio del timo que interviene en la regulación de células NK.

(\*\*) Este factor puede aparecer en suero de ratones infectados con endotoxinas cuando se inyectan con *Propionibacterium acnes*.

TABLA 6 (continuación)

6. *Mediadores que influyen en reacciones de hipersensibilidad (\*\*\*)*

BAF-L	Activador de basófilos que libera histamina no citotóxica. Se produce por linfocitos T estimulados con PHA o con estreptoquinasa-estreptodornasa (SK-SD).
ECF-A	Quimiotáctico procedente de eosinófilos, que interviene en la anafilaxis junto con moléculas intermediarias (ECF-A).
SRS-A, HETE y HPETE	Mediadores secundarios de hipersensibilidad.
PAF	Factor activador de plaquetas.
IFA	Factores inflamatorios de la anafilaxis asociados a los gránulos basófilos.
TF	Factor de transferencia, dializable y resistente a RNasa, que existe en la membrana de linfocitos T de hipersensibilidad retardada (T <sub>DR</sub> ). Es capaz de transmitir la sensibilidad específica de donantes a receptores normales. Tiene dos fracciones activas.

7. *Factores supresores*

SIF	Inductor de inmunosupresión, modifica los circuitos Ly-1, 2 y 3; activa los ly-2 supresores en interacciones T-T.
LIF	Es inhibidor de la migración de leucocitos.
LT	Linfotoxinas citostáticas.
CIF1	Factor inhibidor de la proliferación; posiblemente una quelona.
CIF2	Factor inhibidor de la colonización; podría ser un polímero del PIF.
TSF-1, 2 y 3	Factores supresores específicos generados en reacciones alogeénicas.

8. *Inmunosupresores inespecíficos del suero*

IRA	$\beta$ globulina inmuno-reguladora.
NIF	Proteína inmunosupresora.
$\alpha_1$ AT	$\alpha_1$ anti-tripsina.
$\beta$ 2	$\beta_2$ -macroglobulina.

(\*\*\*) Además de las aminas vasoactivas, enzimas particulares, ciertos derivados del ácido araquidónico y aniones preformados en el interior de los gránulos de mastocitos y basófilos, existen una serie de mediadores primarios o secundarios de actividad definida.

TABLA 6 (continuación)

RIF o LDL	Factor inhibidor de rosetas o lipoproteínas de baja densidad.
CRP	Proteínas de fase aguda como la fracción mieloide A del suero, ceruloplasmina, $\alpha_1$ glicoproteína ácida o proteína C reactiva.
FDP	Péptidos derivados del fibrinógeno y de factores del complemento.
SIRF	Factor supresor soluble de la respuesta inmune que actúa sobre macrófagos e inhibe respuestas de IgM e IgG, pero no la proliferación de células T ni la generación de células T citotóxicas.
SSF; IRSF	Factores supresor soluble y supresor de inmuno-respuestas que inhiben a las células NK y la citotoxicidad mediada por anticuerpos. Son similares entre sí, son independientes de otras linfoquinas liberadas de células T estimuladas y no son influidos por prostaglandinas ni indometacina.
Quelonas	Inhibidores endógenos no especie-específicos, procedentes de linfocitos.
TSF 1, 2, 3	Factores supresores específicos generados en reacciones alogeneicas; o bien, son una clase de inmunoglobulinas restringidas por MHC con influencia del anticuerpo o células de hipersensibilidad retardada.

### 2.3.3. Interacciones celulares y su regulación

En el estudio de la respuesta inmune, como en el de cualquier fenómeno biológico, además de conocer los distintos elementos moleculares y celulares que intervienen (Tablas 5 y 6), es imprescindible averiguar sus interacciones y, sobre todo, sus posibilidades de regulación; en ella, obedeciendo imperativos de la Naturaleza, ha de primar el principio de ahorro de energía. Herzenberg y colaboradores (401) sugieren que las distintas interacciones operan mediante cuatro series de circuitos integrados: un *circuito regulador principal* que determina si un anticuerpo sérico determinado (idiotipo) debe ser o no producido y tres *circuitos reguladores auxiliares*, que responden a distintos niveles de antígeno y de anticuerpo, accionando sobre el circuito regulador principal en la modalidad supresora o estimuladora, según los casos. Estos circuitos incorporan el sistema de reconocimiento idiotipo/anti-idiotipo de Jerne (449) y, además, están provistos de otros mecanismos de reconocimiento que hacen posible diversas interacciones específicas entre los distintos ele-

mentos individuales del circuito (células B, anticuerpos, células T<sub>H</sub> y T<sub>S</sub>, macrófagos y factores solubles con función reguladora). El establecimiento del sistema está concebido a partir de unidades reguladoras individuales en las que interactúan las células T supresoras (T<sub>S</sub>) con las células T cooperadoras (T<sub>H</sub>); su reconocimiento está mediatizado por receptores de la región VII complementaria de moléculas de inmunoglobulina y actúan en series de respuesta fija, en las que cada célula regula a su oponente y es regulada a su vez por otra. El problema es aún más complejo, puesto que al proceso habrán de sumarse los mecanismos que regulan la maduración de las distintas poblaciones celulares a partir del estado neonatal y la influencia (o particular sensibilidad) frente a otros inductores exógenos, distintos de la producción de anticuerpo, y que dependen de la variable naturaleza del antígeno.

Cuando el Sistema Inmune reconoce un antígeno extraño, pone en juego tres tipos de células fundamentales (linfocitos T, linfocitos B y macrófagos) para propiciar una inducción de la síntesis de anticuerpos que es realizada, precisamente, por las células B en una serie compleja de interacciones, entre las que cabe distinguir cuatro estadios o fases perfectamente diferenciables. En la primera, conocida como *inducción de la respuesta*, el antígeno penetra en el huésped y es rápidamente internalizado por los macrófagos (990), células dendríticas (751) u otras células accesorias de naturaleza endotelial (1011) —conteniendo moléculas Ia en su membrana— para reaparecer, después de su procesado molecular, en la membrana de estas células presentadoras de antígenos (CPA) y ser «presentado» a células T y B que contengan receptores específicos para dicho antígeno.

El funcionamiento de las CPA y sus mecanismos de presentación del antígeno constituyen una de las piezas clave en la inducción de respuestas: en ella intervienen, tanto la estructura del propio antígeno, con sus determinantes conformacionales y secuenciales que personalizan su antigenicidad (68), como el perfil de influencias determinantes de la inmunogenicidad que aparecerá reflejado —según atributos genéticos del huésped— en el repertorio de las células B utilizables, en la actividad de las células T<sub>H</sub> y T<sub>S</sub>, en la red idiotípica y en su sistema principal de histocompatibilidad (MHC). De aquí, que buscando futuras acciones inmunofarmacológicas que modifiquen la respuesta a voluntad del investigador, sea necesario precisar la mecánica de interacciones antígeno-célula accesoria. Un ejemplo definitivo de esta problemática la encontramos en la patogenia de la «enfermedad de los legionarios», donde requerimientos nutritivos de la *Legionella pneumophila* convierten a este germen en

intracelular facultativo, que se desarrolla específicamente en vacuolas citoplasmáticas de monocitos y macrófagos (882), por lo que su tratamiento requiere el empleo de inmunomoduladores que estimulen los mecanismos de fagocitosis y actúen particularmente sobre los macrófagos.

Se sabe que, en los macrófagos, antígenos complejos tales como bacterias, protozoos, etc., requieren una fragmentación y procesamiento previos; sin embargo, los péptidos de pequeño tamaño pueden ser presentados directamente sobre la superficie de las CPA. Las células dendríticas —localizadas dentro de los folículos linfoides— retienen los antígenos en forma de inmunocomplejos (por medio de sus receptores Fc) y determinan un microambiente en los tejidos linfocitarios que participan en la regulación de la síntesis de anticuerpos, así como en la formación de células B de memoria y en el albergado de los linfocitos sensibilizados. Estas células retienen, además de los inmunocomplejos, agregados de inmunoglobulinas, antígenos T-independientes, carbón coloidal y otras sustancias que a su vez pueden estimular la vía alterna del complemento; en el fenómeno intervienen el factor C3b y, en algunos casos, los receptores Fc. También las células endoteliales del sistema vascular pueden intervenir en la presentación del antígeno activando a ciertas células T específicas y el fenómeno aparece restringido genéticamente en un locus de la región HLA-DR (1011). Estas células, por estimulación externa, producen IL-1 y presentan el antígeno a las células T, eliminando la participación de otras células adicionales en estos acontecimientos de activación; además, se ha comprobado comparativamente con macrófagos y células endoteliales (1011), que existen subpoblaciones de células T que manifiestan una cierta preferencia porque la presentación antigénica la efectúe un determinado tipo de células.

En ocasiones, existen dudas sobre si es o no imprescindible que las CPA tengan constitutivamente los marcadores Ia en su membrana o que éstos deban aparecer en determinadas circunstancias. En cualquier caso, parece claro que los macrófagos actúen cuando el antígeno requiera un procesamiento y que, terminado éste, queden metabólicamente inertes al presentar el antígeno modificado a células T que contengan receptores para interleuquina 2 (IL-2); las células dendríticas, sin embargo, como si de cultivos mixtos de linfocitos se tratara, han de intervenir cuando no se requiera este procesamiento particular del antígeno y la incógnita, sobre la existencia imprescindible del marcador Ia, parece despejarse admitiendo que el IFN  $\gamma$  (u otras linfoquinas) inducen a estas CPA a expresar en su superficie las moléculas Ia (185, 271). Asimismo se admite que el an-

tígeno procesado reaparece sobre las CPA, junto con proteínas de membrana definidas como antígenos de histocompatibilidad de la clase II (antígenos Ia) y codificados por la región I del complejo mayor de histocompatibilidad (855). Erb y cols. (261), estudiando «in vitro» y con antígenos solubles, el papel de las células dendríticas y macrófagos en la respuesta inmune, comprueban que ambos tipos de células accesorias son capaces de activar a las células T para secreción de IL-2 e intervenir en la cooperación T-B, pero únicamente los macrófagos son capaces de inducir células T que cooperen con las células B para una interacción que reconozca la unión con el antígeno soluble.

Una vez presentado el antígeno a la célula T cooperadora antígeno-específica, ésta interactúa con una célula B, que tiene clonalmente distribuidas sus líneas antígeno específicas y mediante ellas mantiene una elevada eficiencia durante la presentación antigénica. Las uniones intercelulares se establecen a través de «puentes de antígeno», de forma que la célula B se une por el determinante hap-ténico mientras que la célula T reconoce al determinante portador: toda la interacción entre la célula presentadora del antígeno, linfocito T y linfocito B, está gobernada por el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). No termina de entenderse la intimidad del fenómeno completo, pero, según últimos resultados de Lanzavecchia con virus Epstein-Barr (531), el antígeno también ha de ser internalizado y procesado por las células B específicas para presentarlo a las células T mediante un proceso MHC-restringido que sea indistinguible del que caracteriza a las CPA convencionales. Por otra parte, en la activación de las células T por los macrófagos, también se ha comprobado (930) que la conformación del antígeno determina algunas circunstancias para su procesado, pudiendo requerir o no una proteólisis lisosómica inicial según se trate de fragmentos peptídicos, proteína nativa o proteína desnaturalizada: un parámetro crítico en la determinación de la modalidad del procesado antigénico es, más que un tamaño reducido, una conformación desplegada de la molécula que facilite la interacción de los residuos hidrofóbicos del antígeno con la membrana y los sitios Ia de la célula presentadora de antígeno.

Finalizada la fase inductiva, en la que se seleccionan las diferentes células que han de participar, y una vez que éstas reciben la señal de activación, se inicia la segunda fase de la respuesta o *de regulación*. En ella, linfocitos T cooperadores (T<sub>H</sub>), portando la proteína T<sub>i</sub>, —según se ha caracterizado en humanos— emitirán señales positivas capaces de activar y hacer proliferar a aquellas célu-

las que van a intervenir directamente en la eliminación del antígeno extraño, mientras que células T supresoras (Ts) —portando la proteína T<sub>s</sub>— se encargarán de ejercer la supresión de la respuesta una vez eliminado el antígeno; estas células Ts están siendo también controladas por las células T<sub>H</sub> al mismo tiempo que, estas últimas, envían señales de activación positiva a las células B encargadas de producir anticuerpos. Las interacciones entre células T<sub>H</sub> y B son de enorme complejidad (888) y propician investigaciones en las que han de colaborar biólogos celulares y especialistas en Inmunogenética.

Cuando se ha establecido el equilibrio dinámico entre las poblaciones celulares que van a interactuar en la respuesta, da comienzo la *fase de proliferación*, que está intervenida fundamentalmente por la IL-2 y otras linfoquinas que activarán a las distintas células hasta el estadio final o *fase efectora*. En ella, los linfocitos cooperadores T<sub>i</sub>, mediante otros mediadores, activarán macrófagos y linfocitos T citotóxicos (en su mayoría del tipo T<sub>s</sub>) para que destruyan un antígeno extraño y a los linfocitos B para que sinteticen inmunoglobulinas específicas con una estructura particular, en las regiones variables de sus cadenas pesadas y ligeras, de acuerdo con la codificación establecida por los segmentos genéticos V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> (427, 833).

La *activación de los macrófagos* comporta numerosas propiedades fisiológicas que pueden ser moduladas a nivel de sus constituyentes celulares, de los componentes de la membrana plasmática e incluso de la secreción y la expresión de sus distintas funciones; está regulada por diversas clases de señales moleculares que, dependiendo del tejido en que se encuentre, pueden activar o disminuir alguna competencia funcional. Así, Adams y Hamilton (6) sugieren una situación compleja en la que el monocito circulante representa el punto de partida de la mayoría de los macrófagos en vías de desarrollo fuera de la médula ósea que, extravasado a los espacios tisulares y en ausencia de señales activadoras, permanece suprimido en estado quiescente por factores reguladores locales hasta que se produce una alteración de la homeostasis, que le hace receptivo para obedecer distintas señales inductivas y que le activarán para cumplir una determinada función. Todavía es posible encontrar una tercera población de células mononucleares humanas que tienen, además de su actividad citotóxica, una función reguladora (424); Horwitz y Bakke las han denominado «células L» y presentan una termosensibilidad en la unión de las IgG a sus receptores Fc para formar rosetas E. Estas células tienen características morfológicas que las distinguen de otras mononucleares, aunque

tengan algunos antígenos comunes con ellas y puedan funcionar con células T, monocitos e incluso granulocitos. Existen varias subpoblaciones de células L que pueden actuar como efectoras naturales y efectoras dependientes de anticuerpos, como reguladoras en la proliferación de células T y como supresoras de la síntesis de inmunoglobulinas (424). Otras células relacionadas con los monocitos y macrófagos, en cuanto a su origen medular común, a partir de células pluripotentes mielomonocíticas, son los leucocitos polimorfonucleares (PMN). Todas ellas son células efectoras que comportan algunos antígenos comunes y son rápidamente activables por bacterias, factores inespecíficos, linfoquinas, esteroides de forbol, etc., para producir fagocitosis (43, 298, 608).

En cuanto a la *activación de las células B* cabe distinguir tres pasos, entre los que —según revisan Merchers y Andersson (602)— se puede encontrar, además, algunas variaciones:

a) En un primer paso, durante la interacción de las células B con las  $T_H$  y las CPA, se producen diversos factores mediadores; unos de crecimiento y maduración, entre los que se encuentra IL-2 e IFN  $\gamma$ , que actúan sobre las células B, otros que actúan sobre distintas líneas celulares hemáticas y otros (conocidos genéricamente como factores  $\alpha$  y que incluyen a la IL-1) que son producidos por las células presentadoras de antígeno (Tabla 6). El estudio de estos factores resulta bastante difícil por la complejidad de ensayos que permitan medir, en secuencias separadas, las reacciones en cascada que conducen a la replicación y maduración. Wetzel y Kettman (1043) proponen un sistema experimental en el que una célula B puede ser estudiada en su respuesta frente a linfoquinas individuales dentro de un medioambiente de factores controlados.

b) En un segundo paso, tiene lugar la transición desde el estado de reposo celular ( $G_0$ ) al activado ( $G_1$ ) y el proceso obedece a diferentes modalidades de excitación en función del antígeno que actúa. Así, mediante *antígenos particulados* específicos y con determinantes repetitivos (eritrocitos, virus) se consigue la intervención de células T cooperadoras de estructuras Ia-compatibles, produciéndose dicha excitación únicamente cuando las células B expresan el antígeno MHC II (Ia) para el que las células  $T_H$  están restringidas. Con antígenos de transplante, frente a células T alorreactivas y utilizando el mismo repertorio de receptores antigénicos que las células T autorrestringidas, se alcanza una activación monoclonal por el antígeno MHC II apropiado (Ia) o también, policlonalmente, vía antígenos de la clase MHC I. Los *antígenos T-independientes* del



tipo II (polisacáridos, ficoll) producen la activación presentando sus determinantes antigénicos a la célula B de un modo repetitivo y originando entrecruzamientos de las inmunoglobulinas de superficie; esto sucede para diferentes haplotipos de MHC y está influido por la posible mitogenicidad del antígeno. Por último, *activadores policlonales* como los lipopolisacáridos o lipoproteínas, son capaces de excitar a una gran parte de las células B en reposo, independientemente del haplotipo MHC que tenga.

c) En el tercero y último paso, se llega al control de replicación del ciclo celular y se alcanza la maduración, en la que además de los factores  $\alpha$  y  $\beta$  intervienen factores  $\gamma$ , que inducen una maduración policlonal que va a propiciar la secreción de inmunoglobulinas a partir de las células B en reposo. Este proceso de maduración dura varios días, al cabo de los cuales las células secretan inmunoglobulinas a una elevada razón de producción. Los factores  $\gamma$ , al contrario de los  $\alpha$  y  $\beta$ , no distinguen si las células están en su estado de reposo (Go) o excitadas (G1), pero requieren la coexistencia de IL-1 para poder estimular la replicación de las células B.

Según Kung y Paul (521), las poblaciones de linfocitos B son excepcionalmente diversas; por disponer de receptores de membrana para especificidades antigénicas muy distintas, por su serie de estados de diferenciación y por la naturaleza heterogénea de sus inmunoglobulinas de membrana en las que pueden aparecer defectos que se traducen en disfunciones inmunológicas.

La *activación de los linfocitos T citotóxicos* requiere mecanismos altamente específicos y de una enorme complejidad funcional, según hemos visto precedentemente, al tratar de los distintos tipos de señales que pueden poner en marcha una respuesta efectora (Tabla 7). En este caso, estructuras moleculares de la superficie celular que intervienen en la activación de células T de ratón, como son los complejos moleculares Lyt-2, 3 y LFA-1, junto con la molécula L3T4, participan en una forma de «reconocimiento asociativo» y contribuyen a que las células T se unan a la célula estimuladora (526). Sin embargo, tal reconocimiento asociativo no parece ser igualmente importante para todos los clones de células T, ya que cuando se utilizaron anticuerpos frente a distintos complejos moleculares y a diversos antígenos de diferenciación (655) no se inhibía la función citotóxica en todos los clones de células T ensayados; quizá ello es una prueba más de la complejidad de esta respuesta citotóxica mediada por células en la que habrán de considerarse por separado las fases de migración hacia una célula diana, la de unión con la célula T, el reconocimiento específico, la señal de disparo y, por

último, la lisis de la célula diana (655). Andrighette y Zoller (23) analizan, en función del tiempo, la regulación de células T citotóxicas (Tk) «in vitro» e «in vivo» y determinan que la frecuencia de aparición de precursores es de  $1/4500 \pm 1097$  en ratones normales, aumentando el triple en animales inmunizados, en los que también resultaron activadas las T cooperadoras.

Entre los linfocitos T citotóxicos (CTL), desde el punto de vista de su regulación, cabe distinguir tres tipos: a) Los que en el contexto de productos génicos MHC propios reconocen antígenos extraños no-MHC; b) los reactivos frente a antígenos MHC alogénicos; y c) los que reconocen antígenos del MHC propio como tales. Estas últimas reaccionan frente a células diana normales singéicas que expresen el antígeno MHC; por lo que se las conoce como «auto-reactivas» para distinguirlas de las otras (868); su autorreactividad se manifiesta como una capacidad para unirse, *sin lissarlas*, a células singéicas y exhibiendo un alto grado de reconocimiento cruzado entre variantes, por mutación, de los propios antígenos MHC.

En la fase efectora de la respuesta inmune existe una citotoxicidad de distinta significación, que no precisa de sensibilización previa por un antígeno y que funciona como una primera línea de defensa, es la derivada de células citotóxicas naturales (células NK) (677) con marcada actividad citolítica espontánea frente a ciertas células tumorales. Estos grandes linfocitos granulares (490) no requieren interacciones celulares activadoras condicionadas por el antígeno, pero, sin embargo, encuentran estimulada su actividad en presencia de IFN (1039), hasta tal punto que diversos inductores de IFN pueden también potenciar la actividad NK que, a su vez, disminuye o desaparece cuando se administran anticuerpos homólogos anti-IFN «in vivo» (320). Existe creciente evidencia de su papel en la resistencia frente a tumores, virus y otras enfermedades microbianas (398). Poco se conoce acerca de su regulación, aunque se sabe que está influida por una variedad de señales positivas y negativas que modifican la expresión de su actividad y que pueden funcionar por sí mismas como células inmunorreguladoras (395). Asimismo se sabe que un microambiente intacto de médula ósea es esencial para que alcancen una diferenciación funcional plena, aunque su actividad varía con la edad y ciertos determinismos genéticos (502). Existen factores inhibidores que actúan, bien directamente sobre la función característica de las células NK o inhibiendo la funcionalidad de células accesorias mediante la intervención de ciertas células supresoras. Se duda de si su acción inmunorreguladora puede estar condicionada a su capacidad para producir IFN y que éste, a su vez, influya sobre estas mismas células o sobre otras

TABLA 7. Esquema del mecanismo de una respuesta citotóxica.

TIEMPO	CATIONES	FASES	ANTICUERPOS BLOQUEANTES	FARMACOS INHIBIDORES
1-5 min.	Mg <sup>2+</sup>	<p>Célula efectora →</p> <p>Célula Diana ↙</p> <p>Reconocimiento y adhesión celular</p>	<p>α Lyt-2, 3;</p> <p>α LFA-1</p> <p>α RAT</p>	<p>Azúcares; glucósidos; glicolípidos; citocalasina B; linfoquinas; EDTA; inhib. quimiotripsina.</p> <p>Quinacroina.</p> <p>Diazo SIBA.</p>
3-20 min.	Ca <sup>2+</sup>	Formación del conjugado	<p>α T3</p> <p>α RAT</p>	<p>Prostaglandinas; dopaminérgicos; metilamina; estelazina; SR<sup>+</sup>; clorpromazina; cistamina; cloroquina; EGTA.</p>
10-90 min.		<p>Programación para la lisis; «Golpe letal»</p> <p>↓</p> <p>LISIS</p> <p>Regeneración CTL independiente</p> <p>Restos célula diana</p>	<p>α RAT</p>	<p>cAMP; citocalasina; fluidificantes; ionóforos, colchicina y ligandos de tubulina.</p>

α Lyt-2, 3: suero anti-proteína de bloqueo, reconocida como marcador para células T citotóxicas/supresoras.

α LFA-1: suero anti-antígeno funcional de linfocitos de ratón.

α RAT: suero de rata inmunizada con linfocitos T de ratón que habían sido doblemente activados por aboantígeno y PHA.

α T3: suero anti-receptor T3.

poblaciones celulares inmunocompetentes modulando la respuesta (395).

Lohmann-Matthes y cols. (561) presentan datos sobre otras poblaciones citotóxicas  $Fc^+$  que actúan frente a antígenos tumorales de un modo parecido a las células K y NK, incluso activándose por IFN, pero que son promonocitos; es decir, células precursoras de macrófagos que todavía no han adquirido las características de adherencia ni de células fagocitarias y que son esterasa negativas.

Todo este complejo mecanismo de formación de anticuerpos y de respuestas citotóxicas y fagocitarias se mantiene en un equilibrio dinámico, controlado de un modo altamente preciso por señales que se generan continuamente a partir de las células del propio sistema cuando éste resulta perturbado por un antígeno. Según Bretscher (129), el antígeno, en función de la dosis y naturaleza de sus epitopos, puede determinar el tipo de respuestas a inducir, ya sea de hipersensibilidad retardada (DTH), de células supresoras o de inmunoglobulinas G o M, de acuerdo con el tipo de célula reguladora cuya activación favorezca; así, condicionantes que propicien una respuesta humoral pueden inducir a su vez células supresoras que inhiban reacciones DTH, mientras que condiciones favorecedoras de una reacción DTH pueden estimular la existencia de represores que inhiban a la respuesta humoral. Antígenos de escasos epitopos únicamente inducen DTH y células represoras, en tanto que si el antígeno tiene muchos epitopos, es la dosis inmunogénica la que puede determinar una respuesta humoral (dosis intermedias) o de DTH y células represoras (dosis muy bajas o muy altas); además, la síntesis de IgG depende más de las T cooperadoras que la respuestas de IgM. Esta *regulación por el antígeno* resulta también mediatizada, e incluso ampliada, por las estructuras epiteliales que lo atrapan y que existen en forma de nódulos linfoides mucosos, aislados o agregados, que se conectan a través de los sistemas circulatorio y linfático (1013). Estos tejidos en las mucosas faríngea, bronqueal o asociada a intestino, influyen de tal modo en la reacción defensiva que el equilibrio entre la reacción humoral y celular, o el que determina que una respuesta sea generalizada o de mucosas, depende fundamentalmente de la ruta por la que el antígeno sea *captado* inicialmente por células membranosas (células M) en los sitios específicos de «muestreo antigénico» y *transportado* a los folículos linfoides para ser *procesado* por los macrófagos (684). Así, antígenos presentados a través de superficies foliculares de las mucosas linfoides, proporcionan respuestas de secreción que están moduladas por células  $T_H$  y  $T_S$ ; sin embargo, si el antígeno fluye a través de epitelios inflamados, con la mucosa alterada, se inducen res-

puestas generalizadas del tipo parenteral. El tema tiene interés inmunofarmacológico por cuanto influye en las estrategias de inmunización, aconsejando frente a la parenteral las vías nasal u oral, para mejorar las defensas frente a patógenos de vías respiratorias o intestinales con el fin de estimular la síntesis de inmunoglobulina A secretora (sIgA) (1017).

Como contrapartida a la influencia del antígeno, en la respuesta, también existe una *regulación por anticuerpos* que es de tipo cuantitativo (1004) e independiente del mecanismo regulador idiótipo del que más adelante hablaremos. Esta regulación se efectúa previa formación de inmunocomplejos y puede realizarse con o sin el concurso de segmento Fc de las inmunoglobulinas (960): En el primer caso, los agregados moleculares fijan el antígeno a las células que portan receptores Fc (FcR) mediante los Fc inmunoglobulínicos; o bien, anticuerpos y antígeno, establecen un puente entre los receptores antigénicos (AgR) y el FcR, llegando a producir una inhibición por retroalimentación o a actuar como señal estimuladora de algunos linfocitos o macrófagos, respectivamente. En el segundo caso, el simple bloqueo del AgR sin el concurso del segmento Fc puede inhibir la estimulación de la respuesta o incrementar la avidéz del antígeno por su receptor específico (AgR). Esta discriminación de respuestas, mediatizadas por anticuerpos, tiene su origen en las cantidades relativas entre anticuerpo y antígeno (razón Ab/Ag) y las características moleculares del isotipo inmunoglobulínico que interviene. Así, existen moléculas de IgG que, agregadas al antígeno y unidas a una proteína de membrana (IBF o Fc  $\gamma$  R), son capaces de producir supresiones inespecíficas de la respuesta activando células T inmunosupresoras; y por el contrario, moléculas de IgM pueden aumentar el nivel de respuesta primaria, influyendo en la captación del antígeno en el bazo o por medio de células cooperadoras (T<sub>H</sub>) que llevan receptores específicos para IgM (20). En cuanto a la influencia de la concentración de anticuerpos, ésta se relaciona con la cooperación entre células T<sub>H</sub> y B: concentraciones elevadas de anticuerpo pueden enmascarar los determinantes del antígeno haciéndolos inaccesibles para los linfocitos antígeno-específicos, mientras que las bajas concentraciones de anticuerpo no afectan al reconocimiento, pero mediatizan la cooperación entre precursores de células B y células T cooperadoras (415). Todo lo cual parece suceder a través de uniones del antígeno, vía segmento Fc, con el complejo FcR-célula.

Como se ve, una serie de moléculas activas se han de generar en células que las sintetizan y que después las excretan (inmunoglobu-

linas, linfoquinas); o bien las incluyen en la estructura de sus membranas (receptores, antígenos) después de un tráfico intracelular poco estudiado todavía (131). Las células precisan también de moléculas (particularmente anticuerpos) para ser accionadas directa o indirectamente, en su funcionamiento y en su expresión, que puede ser reprimida o desreprimida. *Todo ello ha de transcurrir de acuerdo a una programación genética pre-establecida para cada individuo, y las señales que continuamente se generan para mantener o restaurar el equilibrio dinámico han de ser controladas por circuitos inmunológicos principales que dependen de sistemas genéticos polimorfos.* Además, el equilibrio homeostático de esta respuesta inmune permanece sometido, a su vez, a otros dos niveles de regulación: uno altamente delicado, dependiente de las interacciones idiotipo/anti-idiotipo, que pueden suprimir o aumentar la respuesta de acuerdo con su mecanismo, y otro más tosco, que mantiene el equilibrio de la reacción bajo la influencia directa de células T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> con efectos contrapuestos. Así planteado el tema y prescindiendo de la regulación farmacológica, que trataremos en el siguiente capítulo, el Sistema Inmune tiene —según apuntamos precedentemente (Fig. 1)— diversas posibilidades de regulación, desde un control genético hasta la influencia de diversos mediadores solubles y factores hormonales. Por ejemplo, se sabe que los estados de diferenciación temprana de los linfocitos T, y particularmente las subpoblaciones de células reguladoras, están controlados por el epitelio del timo y sus secreciones endocrinas; tanto, que los últimos estadios de la maduración, sobre todo después del contacto con el antígeno, están sometidos a la influencia de varios factores humorales antígeno-específicos e inespecíficos de las células T.

En cuanto al *control genético de la respuesta inmune*, puede ser específico e inespecífico, obedeciendo el primero de ellos a un patrón mendeliano simple por cuanto depende de los genes Ir responsables del fenómeno. El *control genético inespecífico* alcanza a aquellas reacciones que no se relacionan con el antígeno directa o indirectamente, sino que dependen del polimorfismo genético individual y que, en casos particulares, pueden condicionar una variabilidad de respuesta como sucede en el *gen nu* (homocigótico) que determina la ausencia de todas las respuestas timo-dependientes en rata (280) y ratón (690); también pueden existir defectos en linfocitos T y B, por alteraciones en el gen que codifica la síntesis de adenosin-deaminasa (enzima del metabolismo de purinas), originándose una inmunodeficiencia (410); o incluso aparecer alterados los genes que controlan la proliferación linfocitaria, ocasionando deficiencias cuantitativas de respuesta en función del intervalo de in-

munización y de la posibilidad de que la división celular se realice cada nueve o dieciséis horas (98). Sin embargo, la regulación antígeno-específica obedece al *control genético específico*, que diseña la respuesta para cada antígeno particular y es distinta en cada caso, aunque se trate de antígenos químicamente relacionados. Esta regulación corresponde a los genes Ir (o de inmuno-respuesta), que se identificaron en la región I del sistema MHC. Por su localización —según revisan Gunther (353) y después Gasser y Silvers (307)— se distinguen cuatro tipos de genes Ir: *a)* Los que mapean en el sistema MHC; *b)* los que mapean en regiones génicas de inmunoglobulinas y que en alguna parte son idénticos a genes estructurales de inmunoglobulinas; *c)* los que se localizan en el cromosoma X; y *d)* otros genes distintos de los anteriores. Por el momento, los dos primeros son los mejor estudiados y en opinión de Gunther (355) controlan la respuesta inmune al igual que dos focos son capaces de determinar una forma elipsoidal.

Los sistemas MHC individuales, constituidos por agrupamientos génicos estrechamente relacionados, son capaces de expresar moléculas marcadoras o antígenos particulares en la superficie celular, que pueden ser reconocidos por análisis de recombinación genética. Entre estos antígenos cabe distinguir: los clásicos de transplante, ubicuamente expresados, asociados a  $\beta_2$ -microglobulina y que son considerados de la clase I; los antígenos de superficie, selectivamente expresados y compuestos de dos cadenas (Ia), que controlan las interacciones celulares entre macrófagos y linfocitos T y B; y otros antígenos de diferenciación con expresión celular selectiva, que no controlan interacciones entre los distintos tipos funcionales de células T aunque puedan intervenir en las reacciones mixtas de linfocitos (MLR).

Las células T cooperadoras (T<sub>H</sub>) y las células de hipersensibilidad retardada (T<sub>H</sub>2) originan respuestas que están restringidas por antígenos dependientes de la región I, mientras que células T citolíticas (CTL) responden a antígenos de superficie codificados por las regiones K y D del complejo mayor de histocompatibilidad. Dorf y Benacerraf (235) describen un modelo de regulación inmune en el que productos de expresión génica (Igh), asociados con el sistema MHC y los complejos genéticos codificadores de cadenas inmunoglobulínicas, regulan una serie de interacciones celulares que representan imágenes internas de antígeno e idiotipo como receptores de células T supresoras. La intervención de productos MHC en la inducción de células supresoras tiene varias analogías con los mecanismos de inducción de células cooperadoras. Así, lo mismo que las

células T<sub>H</sub> requieren productos génicos I-A e I-E para reconocimiento del antígeno, también varias poblaciones T supresoras reconocen al antígeno o al factor supresor cuando se presentan en el contexto de antígenos codificados por la sub-región I-J. En la región I se controlan determinantes de los factores aumentador y supresor de respuesta (TaF, TsF) que intervienen en la regulación de un circuito contrasupresor en el que se distinguen dos tipos de células T supresoras (949). Según parece, los determinantes I-A e I-J presentan además un cierto grado de reacción cruzada sobre los factores TaF y TsF. De aquí que la intensidad de duración de la respuesta inmune, tanto «in vivo» como experimentalmente «in vitro», esté determinada por una serie de interacciones entre diferentes conjuntos de células T. El estudio de estos circuitos reguladores (413) ha demostrado que células Qa1<sup>+</sup>: Ly1, estimuladas por el antígeno, inducen a las células B a la secreción de anticuerpos y a su vez llevan, a un conjunto no inmune de células T aceptoras (fenotipo Ly 123<sup>+</sup> Qa1<sup>+</sup>), a participar en la generación de actividades supresoras específicas. Estas interacciones T-inductora: T-acceptora, de regulación por retroalimentación, están gobernadas por genes Ig-ligados que pueden controlar la expresión de estructuras semejantes a V<sub>H</sub> sobre células T.

Los antígenos I<sub>a</sub> son también interesantes por su imprescindible intervención en reestimulaciones anamnésicas de los linfocitos T; células I<sub>a</sub><sup>+</sup>, necesarias para respuestas de memoria, intervienen en las interacciones linfocito T-macrófago frente a antígenos solubles. En algunos modelos experimentales se encuentran estrechas asociaciones I<sub>a</sub>/I<sub>r</sub> de significación no bien conocida (65, 354), aunque cabe suponer que el control I<sub>r</sub> coopera al poder discriminador del extenso repertorio de antígenos de superficie (I<sub>a</sub>). Recientemente, en un modelo experimental diseñado por nosotros (732), hemos encontrado variaciones de respuestas en cuadros de anafilaxia pasiva por inmunocomplejos anti-endotoxina, que parecen estar controlados por regiones particulares del sistema H-2 en ratón, afectando al sistema completo y a la liberación de un factor plaquetario (733).

Por otra parte, la regulación de la respuesta inmune mediante *interacciones idiotipo-anti-idiotipo*, de acuerdo con la teoría que Jerne elaborara hace poco más de una década (449), interviene directamente en la regulación autónoma del sistema y se basa en la capacidad del organismo para reconocer sus propios idiotipos, o como señalarían unos años antes Milgram y Dubiski... (*que las inmunoglobulinas del propio individuo podrían llegar a ser antigénicas para él*) (624); es decir, que durante una respuesta humoral pueden también originarse espontáneamente anticuerpos auto-anti-idiotípicos, tanto en ratón como en aves frente a distintos antígenos (100, 798).



La clave de tan complejo mecanismo responsable de la regulación idiotípica se basa en la propuesta de Conzeza y Köhler... «anticuerpos anti-receptor, presentes en muy pequeñas cantidades, podrían regular la respuesta inmune por un mecanismo de retroalimentación puesto que serían capaces de bloquear sucesivas interacciones de las células receptor-portadoras con el antígeno apropiado» (180).

Los anticuerpos autóctonos anti-idiotipo aparecen como una respuesta complementaria a la proliferación de células portadoras del idiotipo (idt<sup>+</sup>), que han sido estimuladas por el antígeno, e incluso esta respuesta autóctona anti-idt precede a la expansión clonal idt<sup>+</sup> promovida por el antígeno (156); son capaces de reaccionar con sus epitopos diana, en particular, cuando los anticuerpos anti-idiotipo tienen reacciones cruzadas con receptores o cuando actúan como imágenes internas de ligandos, mimetizando a los componentes reconocidos por estos últimos (262): este comportamiento los convierte en reactivos biológicos extremadamente útiles.

El tema, varias veces revisado (1025), está abierto a investigaciones en el área de la Biotecnología, ya que mediante experimentos de clonación de genes específicos, y empleando anticuerpos monoclonales, se pueden diseñar modelos «in vitro» capaces de aportar más información al conocimiento de la intimidad molecular de este fenómeno; en él, los receptores de Fc (FcR) pueden intervenir en la transmisión de señales de diferenciación (509) y también actuar como moléculas reguladoras (213) por su capacidad de interactuar con las inmunoglobulinas, reconociendo una porción de ellas limitada a los dominios C-terminales de las cadenas pesadas (especificidad); con ellas se unen, los receptores, en una interacción reversible Fc/FcR según su grado de afinidad (*capacidad de unión*) y produciendo efectos biológicos detectables (*señalamiento*).

Dentro de la regulación autónoma de la respuesta inmune, además de los mecanismos reguladores antígeno-específicos y las interacciones idiotípicas, existe una *red inmuno-reguladora dependiente de la «cascada de linfoquinas»*. Todo este conjunto de factores tan diversos (Tabla 6) es capaz de intervenir en la expresión y aplicación de respuestas antígeno-específicas a través de actividades cooperadoras, que son dictadas por factores bioquímicamente diferentes y que incluso pueden actuar sinérgicamente, como sucede con el factor reemplazante de células T (TRF) y las interleuquinas IL-1 (272, 418) e IL-2 (543, 946) o con la IL-2 y los factores TRF y BCGF (426).

Estas linfoquinas, actuando en una serie de reacciones secuenciales, logran transformar a células B antígeno-reativas en pobla-

ciones celulares expandidas capaces de sintetizar anticuerpos; este fenómeno de transformación celular requiere múltiples acontecimientos de diferenciación y proliferación que, a su vez, están regulados por distintas linfoquinas en una secuencia que se inicia con la actuación de la IL-2 como factor cooperador temprano, actuando directamente sobre las células TH; sigue con el factor BCGF que mantiene y amplifica la respuesta linfoproliferativa de células B que, a su vez, al desarrollar receptores para TRF pueden ser estimuladas por el propio TRF y así llegar a diferenciarse en células plasmáticas productoras de anticuerpos. También las respuestas aloantígeno-específicas de células T citotóxicas (CTL) pueden resultar estimuladas por «cascadas de linfoquinas» a expensas de la IL-2 endógena y un IFN  $\gamma$  (556, 883) sin que se conozca, por el momento, si ambos factores actúan con independencia o si funcionan por medio de una secuencia de señales que transcurren por una ruta común

Como se puede ver en esta revisión de datos relativos al complejo funcionamiento del Sistema Inmune y que sirven de información fundamental para un desarrollo de la problemática inmunofarmacológica, quedan aún bastantes incógnitas por resolver, sobre todo en lo referente a los modos de regulación de la respuesta inmune tanto en situaciones normales como en cuadros patológicos. Con ello se plantea un doble reto: a los inmunólogos, porque han de dilucidar los posibles mecanismos involucrados en la coordinación de los diferentes niveles de regulación inmunitaria y a los inmunofarmacólogos, al pretender controlar a voluntad esta respuesta inmunitaria, modificando aquellas interacciones moleculares que alcancen a los mecanismos inmuno-reguladores.

### 3. DESARROLLO

La Genética es a la Biología lo que la Matemática es a la Ciencia Física: *ambas definen los sistemas experimentales de un modo más riguroso por medio de un lenguaje universal* (Gunther). Del mismo modo la Inmunofarmacología se define y desarrolla por la Inmunología —Ciencia discriminadora entre propio y extraño, según Klein— por lo que todos sus esfuerzos van encaminados a mantener un equilibrio vital que sea favorable al propio huésped.

En el desarrollo de la Inmunofarmacología, como en todo progreso de investigación, aparecen avances cíclicos en los que se detectan diferentes fases que permiten catalogar, al final, la importancia de un descubrimiento científico: Primero, se observa un hecho paradójico, difícilmente explicable, que estimula a progresar en su conocimiento; le sigue una diversificación metodológica para aproximarse al problema y obtener resultados, que permitan interactuar mediante discusión y crítica a distintos investigadores; después, aclarado cualquier punto de conflicto posible, tiene lugar un nuevo ciclo de avance; y así, sucesivamente, se llega a una resolución definitiva de la aparente paradoja inicialmente observada, lo que conduce a un salto cuantitativo en el conocimiento y utilización racional de un inmunofármaco. Cada ciclo de avance en Ciencia Fundamental resulta, a su vez, jalonado por los necesarios progresos tecnológicos y adecuada interpretación hasta permitir su aplicación en la Clínica Médica; ello ocurre a partir de una llamada de atención dada por los investigadores a la Industria, que buscará su aplicación y desarrollo incluso con olvido, a veces, de quién, cómo y dónde se produjo el descubrimiento original.

En el tema que hoy nos ocupa, por ejemplo, el hallazgo de tan activos agentes biológicos como son las linfoquinas y el entendimiento de su lenguaje molecular con macrófagos, linfocitos y granulocitos, así como la evolución de criterio en términos de infección y enfermedad, han dado paso al planteamiento de tres clases de objetivos en el desarrollo de una Inmunofarmacología efectiva

y que fueron señalados por Hadden (364) hace cinco años en la reunión internacional de Brighton (Inglaterra): i) modificar la inmunorrespuesta primaria del huésped de una manera consistente y predecible; ii) restaurar o estimular el Sistema Inmune para conseguir que el huésped pueda oponerse al desarrollo de tumores; y iii) disponer de una inmunoterapia eficaz y segura que supere la resistencia y mecanismos supresores derivados del agente patógeno y tumores.

También, como en todo campo científico en desarrollo, uno de los primeros objetivos ha sido disponer de métodos y modelos experimentales adecuados a la nueva problemática de estudio en relación con las posibilidades terapéuticas de los inmunofármacos en infecciones crónicas, cáncer, senectud, inmunodeficiencias y alteraciones autoinmunitarias.

### **3.1. Aportación de modelos experimentales al desarrollo de la Inmunofarmacología**

El estudio y diseño de sistemas experimentales como modelo de aplicación a nuestro tema particular, constituye otra faceta del desafío científico que supone conseguir una inmunomodulación con fines terapéuticos; máxime cuando los conceptos han ido modificándose y las técnicas han tenido que irse acompañando a la marcha rápida de otras nuevas aportaciones al conocimiento de la regulación del Sistema Inmune. Desde un principio se ha tratado de aplicar métodos con los que poder determinar, tanto la resultante de un proceso global de inmuoestimulación, inmunodepresión o inmunomodulación, como los finos detalles del fenómeno a nivel molecular (Tabla 8), propósito harto difícil, si se tiene en cuenta el variado número de componentes que intervienen en el Sistema.

#### **3.1.1. Aplicación de técnicas inmunobiológicas**

Dos tipos de técnicas, de uso habitual en los laboratorios de Inmunología, fueron rápidamente incorporadas a estos fines: inicialmente, y para un escrutinio inmunofarmacológico, que diera idea de la respuesta global efectora «in vivo», se acudió a la determinación del número de células sintetizadoras de anticuerpos (450, 957). También, entre este tipo de determinaciones, pueden incluirse la cuantificación de la actividad inmuo-hemolítica dependiente del complemento (662), y otros ensayos que den idea de la activación de los monocitos por linfoquinas (423), o del efecto de los diversos

interferones ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) en las respuestas sintetizadoras de anticuerpos (542, 819), o inclusive que sirvan para detectar células capaces de secretar sustancias inmunológicamente reactivas (191). En relación con el otro tipo de técnicas, que son de amplia utilización «in vitro», se incluye el estudio de la capacidad proliferativa de los linfocitos cuando sufren su expansión por encontrarse frente a antígenos específicos e incluso frente a células alogeneicas (791). Sin embargo, el hecho de que esta respuesta fuera muy débil, debido al escaso número de células que responden a un antígeno específico (885), no permitió su empleo hasta que no se descubriera la aplicación de las lectinas, como ligandos policlonales capaces de producir una *blastogénesis linfocitaria*; estas moléculas, independientemente de su inherente capacidad antigénica, pueden llegar a estimular la proliferación del 70-80 por 100 de una determinada población de linfocitos (19, 555). Esta activación por mitógenos proporciona un método relativamente rápido y reproducible no sólo para darnos alguna idea sobre una posible disfunción del Sistema Inmune en ciertos estados patológicos —desde leucemia (959) a infecciones fúngicas (927) o hepatitis (1022), pasando por estados de «stress» (263) o de esclerosis múltiple (338)—, sino también para saber rápidamente si una molécula de origen natural o sintético tiene una acción modificadora sobre el Sistema Inmune, según hemos comprobado en repetidas ocasiones (334, 604, 728, 729, 808). Este tipo de ensayos permite estudiar «in vitro», además de las variaciones en la síntesis de ADN, ARN y proteínas durante la blastogénesis (429), la respuesta de células formadoras de anticuerpos (892) y las relaciones entre la transformación linfocitaria y la hipersensibilidad retardada (675).

Además de estos dos tipos de modelos ya clásicos, aplicables en un primer escrutinio inmunofarmacológico para estudios «in vitro» e «in vivo» de agentes modificadores de respuestas biológicas del huésped, existen otros muy ingeniosos sistemas experimentales en los que se trata de obtener información sobre el tipo de células que intervienen en una respuesta inmunitaria determinada y sobre su hipotético mecanismo; o bien se pretende medir el efecto final en un determinado tipo de respuestas en los que la componente clínico-patológica, pese a ser más compleja, puede ser controlada a simple vista. Así, podríamos establecer cuatro grandes grupos:

— En el *grupo primero*, considerado a un nivel celular, se incluye toda una gama de técnicas para una aproximación al fenómeno inmunológico, siendo posible distinguir entre observaciones morfológicas y ensayos de funcionalidad, tanto durante la proliferación como en la cooperación celular. Distinguimos tres apartados:

TABLA 8. Metodología aplicable al control y modulación farmacológica de la respuesta inmune (\*)

1. *Técnicas de carácter general:*  
Producción de células en citostato automatizado (275) y mediante lotes de cultivos convencionales (277, 438, 893, 915, 1037); su problemática metodológica (572) de medios y reactivos (136). Selección de linfocitos antígeno-específicos (361) y separación funcional de células B (192). Obtención de hibridomas (485) y determinación de afinidad de los anticuerpos en inmunoensayos (347, 923); marcado de inmunoglobulinas (681) y de lectinas (76); marcado (1068) y separación de células a través de columnas antígeno-adsorbidas (1045).  
Técnicas especiales de análisis por microfluorometría de flujo (527, 1050) y de espectroscopia de RMN (585).
2. *Estudios a nivel de respuesta celular:*  
Precusores de células formadoras de anticuerpos (741), con discriminación de subpoblaciones linfocitarias T y B (554, 801) y de los tipos de cooperación celular (361, 630).  
Estudio de respuestas linfoproliferativas y de sus actividades metabólicas (93, 484, 560, 843, 846).  
Selección de células en distintas fases mitóticas (788) y análisis morfométricos en cancerogénesis (942).  
Análisis clonal por diluciones límite (540, 1016).
3. *Estudios a nivel de interacciones receptor-ligando:*  
Ensayo con receptores marcados (708) y métodos no isotópicos para receptores y ligandos (688).  
Detección de señales a nivel de membrana (893) e inmunoquímica de receptores  $\beta$ -adrenérgicos (939).
4. *Técnicas útiles en escrutinios inmunofarmacológicos:*  
Identificación y selección de modificadores de respuesta biológica (951, 952); caracterización de antialérgicos (988); modelos «in vitro» para diagnóstico oncogénica por inmunidad celulo-mediada (37).  
Identificación serológica de antígenos y anticuerpos (586) y ensayos de inmunidad celular «in vitro» (393); detección de factores linfoproliferativos (532) y de inmunosupresores inespecíficos (21); actividad bactericida en suero y en neutrófilos (503).  
Alergenicidad por contacto (123) y pruebas inmunotoxicológicas (1052).  
Ensayos de quimiotaxis (632, 794, 795) y fagocitosis por monocitos (1062).  
Tolerancia inmunológica «in vitro» (1038).
5. *Modelos animales:*  
Actividades citotóxicas «in vivo» (286).  
Medidas de quimiotaxis y quimiocinesis (308).  
Modelo murino para estudios sobre factor de transferencia (1049).  
Selección de ratones homogéneos (895) y modelos murinos para inducción de tolerancia (616).  
Cuadros de inflamación alérgica experimental (661) y del nivel de vigilancia inmunitaria (486).  
Modelos de aterosclerosis experimental (463).  
Modelos de alteraciones autoinmunitarias (1061).  
Modelos de inmunodeficiencias por defectos de regulación (822).  
Empleo de animales con distinto nivel de organización inmunológica como peces (972), anfibios (245, 479) y aves (647, 948).  
Animales quiméricos (222, 563).

(\*) En esta Tabla se resumen diversos métodos de aplicación en Inmunofarmacología que no han sido reseñados en el texto.

i) *Estudios morfológicos convencionales* (78, 842) para conocer el número de linfocitos, monocitos y polimorfonucleares que intervienen en la respuesta, así como las poblaciones linfocitarias responsables de la formación de anticuerpos; para ello, en ratón, se han realizado pretratamientos de las células inmunocompetentes con sueros específicos (anti-thy 1, anti-Ly 1, anti-Ly 2, etc.), o bien se ha determinado el papel de las células adherentes, tanto para la formación de anticuerpos (206, 974) como para la generación de células efectoras de actividad citotóxica (1009) e incluso qué tipo de cooperación celular se ha producido (145). Recientemente, con el empleo de anticuerpos monoclonales, se han podido definir seis subpoblaciones de timocitos humanos fenotípicamente heterogéneas; según este estudio, la capacidad funcional y localización anatómica (cortical o medular) de los timocitos no se puede contemplar desde el punto de vista clásico, sino como un resultado de complicadas interacciones entre las seis subpoblaciones funcionalmente diferenciables con los anticuerpos CD1, CD2, CD3, CD4, CD5 y CD8 (310) en procesos antígeno-independientes (145). Este tipo de técnicas para diagnósticos inmunopatológicos, y también para control de tratamientos inmunomoduladores, ha recibido una eficacísima ayuda con la aplicación de la moderna tecnología de citofluorometría de flujo (231, 565).

ii) *Evaluación de respuestas linfoproliferativas*, dependientes de poblaciones aisladas y en función de la síntesis de ADN (79), de ARN (712, 1042), de proteínas (460) o de otros acontecimientos citoplásmicos que tienen lugar durante la blastogénesis (429, 1023); este tipo de respuesta «in vitro» se analiza también en la reacción mixta de linfocitos y en respuestas citotóxicas (38, 145, 1010), incluso cuando se hacen intervenir en el sistema algunas moléculas inmunomoduladoras (805).

iii) *Determinación de la actividad específica de subpoblaciones linfocitarias*, tanto de las T cooperadoras (260) como de las T supresoras (786, 950), pudiéndose conocer, además, si está afectado el mecanismo de las dos señales, para el antígeno y para la célula T cooperadora (246).

— En el *grupo segundo* se incluyen ensayos a nivel de receptores y se puede ver que no sólo existe la posibilidad de estudiar por inmunoquímica los receptores específicos de células T citotóxicas (333) o el perfil de marcadores tipo Ly en ratón (145), sino que, además, se ha podido determinar el potencial de restricción MHC (1066, 1067) o ensayar el tipo de reconocimiento (1065). Este estudio *de los*

*marcadores y receptores*, por su potencial aplicación en la modulación de la respuesta inmune, alcanza un nivel particularmente interesante cuando se refiere a los determinantes del reconocimiento en fagocitosis (864), al funcionamiento de las células T (737) y también en aquellos casos en que estos receptores puedan sufrir un enmascaramiento por esteres de forbol y como consecuencia actuar como promotores de tumoración (595). Investigaciones a nivel molecular, con propósitos de precisar interacciones receptor-ligando, entran dentro de la vertiente farmacológica del problema; un estudio farmacocinético de las propiedades de estos receptores en los linfocitos permitirá conocer su función; es decir, cómo reciben la señal de la molécula informativa y cómo la transmiten dentro de la célula transformándola en un inmunocito activo (386). La importancia del papel de los receptores celulares se puso de manifiesto a partir del trabajo de Cuatrecasas (187) y otros autores (48) en los que se hablaba de una «substancia receptora» capaz de regular el metabolismo celular, alcanzando una especial terminología interpretativa de fenómenos aplicables a Biomedicina con el trabajo de Pollert y Levey (725). En definitiva, un mejor conocimiento de los marcadores y receptores de las células T, se hace particularmente interesante como herramienta en inmunomodulación (737), ya que estos receptores y antígenos de membrana de los linfocitos timo dependientes son, en la mayoría de los casos, los que interpretan, transmiten y modulan las distintas señales que integran las respuestas inmunitarias celulo-mediadas.

Las técnicas para el estudio de receptores linfocitarios dedicados a la captación de un antígeno, que en definitiva es la primera señal de alerta que recibe el Sistema Inmune, presentan ciertas dificultades dada la muy pequeña proporción de subpoblaciones linfoides del bazo que van a reconocer y unirse a un antígeno particular; su frecuencia es tan baja como  $10^{-4}$  (374, 404), lo que hace prácticamente imposible obtener moléculas marcadas. Sin embargo, Choi y cols. (212) —basándose en la obtención de conjugados de anticuerpo-lactoperoxidasa, que después caracterizan en geles de poliacrilamida— logran marcar radiactivamente los receptores para un antígeno dado y comprobar que se trata de moléculas estrechamente relacionadas con las inmunoglobulinas de membrana de células B. Ultimamente parece haberse encontrado un camino, aparentemente más complicado, pero en definitiva realizable con una mayor eficacia: la mecánica consiste en obtener hibridomas para un determinado antígeno mediante la clásica técnica de Kohler y Milstein (506), con lo que disponiendo de una población celular uniforme resulta más fácil localizar los genes que codifican la expresión de los recep-



tores y después clonarlos mediante ingeniería genética (1059). Este tipo de estudios, sobre receptores de membrana, empieza a atraer la atención de los investigadores hacia formas de autoinmunidad (325, 745) buscando su posible control.

— El grupo *tercero* de técnicas nos lleva a aplicar unos *criterios inmunofarmacológicos* a los fenómenos vitales de respuesta; de este modo se amplía aún más el concepto de medicamento, desde cualquier agente químico que afecte a procesos vitales a través de respuestas inmunitarias (586, 711) hasta una molécula biológica del tipo de anticuerpo monoclonal que pueda actuar como portador de un citostático hacia una determinada población de células tumorales (446). Para que un inmunomodulador sea aceptado como tal no basta con demostrar su efecto y mecanismo de acción sobre cultivos celulares, sino que su actividad tiene que superar los sistemas hepáticos microsomales, metabolizadores de fármacos, y las propias interacciones de naturaleza inmune que pudieran originar intolerancia o hipersensibilización, o bien, procesos neoplásicos. Por tanto, habrán de prepararse inmunofármacos marcados para poder estudiar su farmacocinética y distribución en tejidos, técnicas que ya han empezado a practicarse con moléculas pequeñas del tipo de los muramil-dipéptidos (14). Un tipo de técnicas muy próximas a la mecánica de un laboratorio de farmacología clásica, son los ensayos de inmunomoduladores en respuestas anti-inflamatorias (269, 518) incluso las que utilizan órganos aislados para ensayo de mediadores anafilácticos (215, 514, 790, 850). En estos casos, son de particular interés aquellos bioensayos que se refieran a antiagregantes plaquetarios, hipolipemiantes, anti-aterogénicos, etc., en los que se controla la respuesta, ya sea por un cuadro de anafilaxia pasiva (732, 733), ya por relajación de la arteria celíaca experimentalmente contraída (287). Asimismo, existen métodos sobre intestino aislado, y otros órganos de respuesta, para estudios sobre mediadores y otras moléculas que sean muy lábiles y que actúen en muy bajos niveles de concentración, como sucede con las prostaglandinas (538, 621).

Dentro de este grupo de ensayos deberán incluirse también algunas pruebas de selección inmunofarmacológica que nos den idea de los posibles *efectos secundarios o tóxicos sobre el Sistema Inmune*, producidos por medicamentos relativos a tratamientos de larga duración, como pueden ser los anti-inflamatorios, citostáticos, hipolipemiantes, cardiotónicos, relajantes musculares, etc. Dado que el Sistema Inmune es muy heterogéneo en cuanto a sus componentes y que su regulación alcanza una gran complejidad, estos estudios de

control habrán de basarse tanto en pruebas «in vivo», que nos informen del efecto en casos de aplicación prolongada, como mediante ensayos «in vitro» que nos permitan un análisis de los distintos pasos para medir las diferentes funciones efectoras, localizar el comportamiento de los posibles conjuntos celulares afectados e incluso detectar su reactividad a diferentes antígenos (143, 1034).

— En el *cuarto grupo* de técnicas con aplicación en Inmunofarmacología, incluimos el *diseño de modelos animales*. Su excepcional interés radica en que pese a los extraordinarios avances científicos de los últimos veinte años, todavía sigue sin desvelarse la verdadera etio-patogenia de algunas enfermedades crónicas humanas; sin embargo, lo que sí parece seguro es que, prácticamente, todos estos casos van acompañados de anomalías del Sistema Inmune. Por tanto, para introducirse en la misteriosa implantación de la enfermedad y buscar una terapéutica efectiva, hay que empezar por idear modelos de Inmunofarmacología experimental. El problema no tiene una solución fácil: por una parte, hay que conjugar armoniosamente lo que se conoce de la enfermedad en el ser humano, con lo que se puede deducir de un modelo animal, y por otra, hay que tener en cuenta las dificultades propias de todos los escrutinios farmacológicos, que incluyen ensayar el máximo de compuestos con el mínimo de gasto del propio compuesto y mínimo consumo de animales de experimentación y de asistencia técnica. Uno de los más típicos ejemplos lo constituye el esfuerzo por conseguir fármacos anti-artríticos, cuando todavía no se ha logrado encontrar un modelo que refleje exactamente la patología y desarrollo de la artritis reumatoide humana. Hasta hace muy poco, el examen radiológico y algunos marcadores bioquímicos como la eritrosedimentación y el control de ciertas proteínas de fase aguda, eran los únicos indicadores claros de la actividad de este proceso patológico; en tanto que hoy, mediante el empleo de anticuerpos monoclonales, que definen las subpoblaciones linfocitarias, se puede controlar el índice de linfocitos T supresores y T cooperadores ( $T_1^+/T_8^+$ ) (52, 931) y tener una idea de si lo íntimo de la lesión progresa o disminuye. Hasta hace poco tiempo, los modelos experimentales utilizados reflejaban, más que un cuadro de artritis, los distintos aspectos de la respuesta inflamatoria aguda y con ello la terapéutica aplicada era anti-sintomática más que efectiva frente al origen de la enfermedad. Por tanto, desde nuestro punto de vista, para una selección del tratamiento inmunofarmacológico y atendiendo a un análisis funcional del Sistema Inmune, hemos de distinguir, entre los modelos experimentales, varios apartados:

i) *Relativos a infecciones agudas o crónicas.* Los modelos para estudios de *inmunosupresión*, condicionada por cuadros infecciosos —sobre todo por gérmenes gram-negativos—, carecen de complicación y basta ensayar «in vitro» la respuesta proliferativa e «in vivo» la formación de células sintetizadoras de anticuerpos (50) para tener una idea clara de la situación. En algún caso, nosotros recurrimos a un procedimiento más elaborado, determinando el efecto inmunosupresor de la endotoxina de *Pseudomonas* sobre un sistema en el que al final se cuantifica una actividad enzimática, fácilmente controlable, en presencia del correspondiente suero anti-enzima (829). También pueden utilizarse otros tipos de ensayo, dependiendo del nivel o clase de respuesta que resulta deprimida, como en el caso de la inmunosupresión producida «in vitro» por metabolitos fúngicos sobre reacciones inmuno-citotóxicas (648) o en infecciones por protozoos parásitos, como la *Leishmania donovani*, sobre la respuesta de células citotóxicas naturales (NK) (494).

Estos resultados tienen como contrapartida su posible aplicación a diversas investigaciones para seleccionar metabolitos microbianos de acción inmunopotenciadora.

ii) *Relativos a alergias e hipersensibilidad.* Entre los modelos experimentales para ensayo de inmunofármacos que intervengan en la regulación endógena de *procesos de hipersensibilidad retardada*, donde todavía existen incógnitas sin resolver, se puede acudir a valoraciones de contractilidad sobre músculo liso (335) o incluso a métodos que producen una sensibilización alérgica por contacto (32, 1063). En este tipo de ensayos, la reacción efectora final se controla en función de un engrosamiento del pabellón auditivo externo, que se produce por pincelaciones con oxazolona o cloruro de picrilo seis días después de que los ratones hubieran sido sensibilizados sobre la piel de la zona ventral con el mismo producto.

Con este método, hemos obtenido excelentes resultados en ensayos sobre distintos inmunomoduladores y supresores (807). Dicho modelo permite vislumbrar la participación de las distintas poblaciones linfocitarias, particularmente las supresoras, y la existencia de anticuerpos homocitotrópicos como una respuesta «in vivo» de inmunidad celular.

En cuanto al desencadenamiento de *cuadros de inflamación alérgica*, cuyo problema inmunopatológico permanece aún sin resolver, dada su gran complejidad, obliga a disponer de modelos animales que permitan estudiar, tanto la regulación del Sistema Inmune en estos procesos de alergia atópica (101) como la intervención

que tienen la histamina y otros mediadores de la inflamación en los mecanismos de regulación (306, 340). Tampoco está bien precisado el papel de los eosinófilos en los procesos inflamatorios, aunque parecen actuar como «limpiadores» de las moléculas mediadoras que ocasionan las lesiones tisulares (234a, 1040).

La clave de la predisposición a inflamaciones alérgicas puede estar genéticamente determinada, según parece haber sido demostrado por Lundberg (568a) al conseguir, después de 24 generaciones de entrecruzamiento de cobayas, dos razas que se diferencian en sus niveles de respuesta a una anafilaxia respiratoria inducida por albúmina de huevo. Como control de antialérgicos en Inmunofarmacología Clínica y también para distinguir entre un enfermo atópico y otro que no lo sea (a pesar de presentar la misma sintomatología), se ha utilizado la determinación de IgE (1055) y de otra clase de inmunoglobulina (IgND) en suero (456). También, en controles de diagnóstico y seguimiento inmunofarmacológico de todos los procesos alérgicos, sin distinción de atópicos, se acude a las determinaciones de histamina. Este agente vasoactivo, cuya liberación investigaron Schultz y Dale utilizando íleon de cobaya como tejido receptor (215, 850) y que, por primera vez, fue determinada fluorométricamente por Shore y cols. (874), es hoy controlada exactamente en ensayos normalizados (258) y automatizados (635) hasta conseguir más de 300 determinaciones en una jornada de trabajo: es posible que una técnica de este tipo reúna todos los condicionantes requeridos para ensayos de escrutinio inmunofarmacológico.

No resulta fácil conseguir, en ratones, *respuestas anafilácticas* que sean uniformes y reproducibles, ya que esta especie puede ser variable en su resistencia al shock anafiláctico. Kaneta y cols. (474), buscando un método de rutina para el escrutinio inmunofarmacológico de anti-alérgicos potenciales, proponen un ensayo por transferencia pasiva de una inflamación anafiláctica en una pata de ratón: utilizan anticuerpos homólogos de la clase IgC<sub>1</sub>, obtenidos a partir de líquido ascítico de ratones repetidamente inoculados en la cavidad peritoneal con albúmina bovina y coadyuvante de Freund; los fármacos han de ser administrados treinta minutos antes por vía intraperitoneal o también, oralmente, una hora antes de inyectar la dosis de ascitis desencadenante de la reacción anafiláctica. Nosotros hemos diseñado un modelo para ratón, en el que se origina un cuadro generalizado de anafilaxia pasiva por inmuno-complejos «in vivo» (732), en el que existe una clara participación del complemento regulada a través del sistema H-2 (733). El experimento consiste en producir una sensibilización previa con suero antiendotoxina de

*Brucella abortus* y desencadenar un cuadro de choque anafiláctico mediante la inyección de la molécula endotóxica. Este método puede ser empleado no sólo para ensayo de anti-histamínicos, sino también para el examen inmunofarmacológico de compuestos anti-aterogénicos potenciales (813).

iii) *Relativos al rechazo de antígenos celulares y procesos neoplásicos.* En los modelos experimentales para exploraciones funcionales, relativas a la eliminación de células que presenten «nuevos» determinantes antigénicos; es decir, aquellos procesos *relacionados con la vigilancia inmunológica*, habrá que distinguir entre el ensayo de inmunosupresores para su aplicación en los casos de rechazo de trasplantes (74) y otros modelos que sean aplicables al tratamiento de tumores. El tema presenta dificultades de extrapolación a situaciones clínicas, ya que una modalidad terapéutica sobre un tumor puede no servir como modelo predecible para el tratamiento de otro en cualquier sistema experimental o clínico (394, 402, 755). De aquí que se intenten establecer procedimientos de escrutinio inmunofarmacológico, en relación con modificadores de la respuesta biológica, procurando obtener datos no sólo en inmunoprophilaxis, sino también en el control de posibles metástasis (952). Es preciso tener en cuenta que, en un modelo experimental con implantación tumoral, se resuelve una situación inicial en animales normales y con una mínima carga del tumor; mientras que, clínicamente, cuando se llega a un diagnóstico positivo ya ha tenido lugar la difusión de las primeras metástasis (282). Asimismo hay que considerar el tipo de tumor experimentalmente inducido; si es por virus oncogénicos o mediante diferentes carcinógenos químicos, físicos, por radiaciones o incluso por implantación de tumores a partir de muestras clínicas; según Baldwin (45), no todos los tumores exhiben neoantígenos reconocibles por el huésped, o mejor aún, acudiendo a una terminología más precisa, pueden existir diferencias en la frecuencia de inmunogenicidad que dependen de la naturaleza y concentración del tumor implantado. Por tanto, parece lógico admitir que en la investigación de inmunofármacos de este tipo se requiera, tanto como la eliminación de un tumor primario, el poder controlar la difusión de metástasis y también conocer qué parámetros inmunológicos pueden estar involucrados en el rechazo de tumores, así como cuál puede ser su más eficaz manipulación inmunofarmacológica.

iv) *Relativos a procesos autoinmunitarios.* Al ocuparnos de modelos experimentales que puedan tener aplicación al estudio de *cuadros clínicos autoinmunitarios*, en los que se produce una verdade-

ra autoagresión del huésped por fallos en su sistema de reconocimiento celular, nos encontramos con una gran versatilidad de ensayos en los que se intenta plasmar experimentalmente situaciones que se correspondan con diversos cuadros de enfermedades crónicas, aunque su patogénesis, en muchos casos, siga siendo todavía una completa incógnita. Como ejemplo, por su significación clínica e impacto social, dedicaremos más atención a la investigación de *medicamentos anti-artríticos*: Un retrato robot de la enfermedad —artritis reumatoide— nos presentaría unas articulaciones en las que el cartilago y el hueso van siendo lentamente desgastados, erosionados, por un tejido conjuntivo invasor y proliferante llamado pannus; se sabe que este material procede de la membrana sinovial, en su zona microvascular, pero ignoramos por qué se produce y persiste durante gran parte de la vida media de un paciente. El cuadro inmunopatológico se complica aún más por la inflamación (1071) y por la intervención, en ocasiones, de un factor reumatoide (459) y de inmunocomplejos circulantes, cuya detección puede hacerse por diversos métodos (971, 995, 996), puesto que dan origen a muy diversos modelos experimentales (161).

Existen varios modelos animales para producción de artritis experimental en los que ensayar inmunofármacos (94), pero quizá sea el más utilizado el de la artritis inducida por coadyuvante completo de Freund; se basa en el fenómeno descubierto por Stoerk y colaboradores hace más de treinta años (928) y revisado más de una vez, en cuanto a sus características (947) y posibilidades como método de selección (96). Aunque no es un modelo perfecto, resulta muy popular por su reproductibilidad y fácil lectura de resultados, siempre que se cuiden los detalles experimentales y se seleccione un buen material artritogénico (94), ya sea de micobacterias, nocardias o corinebacterias; éstos son los materiales biológicos más utilizados, aunque también puedan emplearse peptidoglicanos de distintas especies bacterianas. Hoy se acepta que en la artritis reumatoide también intervienen mecanismos inmunes diversos —posiblemente de hipersensibilidad frente a antígenos propios—, como han observado algunos autores en respuestas anti-colágeno, tanto de tipo humoral (24, 158) como de tipo celular (897, 938, 980). En todos estos casos se produce una destrucción crónica de la matriz del tejido conjuntivo del cartilago y hueso (con liberación de fragmentos de colageno tipos I y II) y también de la proteína central del proteoglicano, con lo que se producen incrementos en la liberación de colagenasa y otras enzimas del tejido sinovial reumatoide. Estas enzimas, en presencia de algunos fragmentos promotores, propician la interacción con linfocitos macrófago-sensibilizados, con células

dendríticas y con fibroblastos para perpetuar así el proceso reumatoide (220); estos datos llevaron a Trentham y cols. (981, 982) a considerar el colágeno como un antígeno artrítogénico. En dicho modelo, se desarrolla una artritis inflamatoria mediante la inmunización de ratas con mezclas antigénicas de colágeno y coadyuvante incompleto de Freund. Existen otros modelos en rata que están menos estudiados, como los de poliartritis experimentales producidas inyectando la molécula CP20961, que es un inductor sintético de IFN (197), o también distintas moléculas de muramil-dipéptidos (505), que actúan como artrítogénicos y son capaces de desencadenar un cuadro clínico indistinguible del clásico, incluso en sus aspectos histopatológicos. Resulta interesante el hecho de que la reactividad poliartrítica de estos muramil-dipéptidos esté condicionada a la presencia del timo (504), puesto que este cuadro experimental no puede desarrollarse en ratas atímicas. Otros modelos, que recuerdan a la artritis reumatoide humana y en los que aparece la reacción confinada a la cavidad sinovial, son el de artritis monoarticular antígeno-inducida, producida por Dumonde y Glynn en conejos inmunizados con fibrina más coadyuvante completo de Freund (243); este cuadro experimental puede ser desencadenado incluso por albúmina de huevo (170), por albúmina bovina (172) o por axudados inflamatorios autólogos (715). Asimismo pueden producirse cuadros de artritis semejantes, además de en conejos, en cobayas e incluso en ratones, usando albúmina bovina metilada (125a). El hecho de que la patología de la artritis reumatoide esté asociada con complejos inmunes, intra-articulares y circulantes, hace que algunos autores hayan preconizado recientemente una reacción pasiva de Arthus, producida en ratas, como un método de rastreo inmunofarmacológico que permite medir la actividad de moléculas anti-inflamatorias: usando este método se puede controlar, además, la formación de edema y el grado de infiltración de células polimorfonucleares (44).

En esta revisión relativa a diseño de modelos experimentales para ensayo de inmunomoduladores, sobre *otros cuadros patológicos de autoagresión* distintos de la artritis, cabe citar aún varios modelos más particulares de enfermedades autoinmunes, como pueden ser las trombocitopenias, encefalitis autoinmunitarias y otras enfermedades producidas por alteraciones en la regulación del sistema inmune. El modelo de *trombocitopenia aloinmune*, desarrollado por Mylvagaham y cols. (653), mediante sensibilización de ratas macho BN (Brown Norway) con plaquetas obtenidas de ratas Lewis, ha sido aplicado con cierta frecuencia para comprender mejor la intervención del sistema fagocitario mononuclear (durante las

transfusiones plaquetarias) en pacientes aloimmunizados o en cuadros de púrpura post-transfusión y también para el ensayo de fármacos alcaloídicos derivados de la vinca.

Existe una enfermedad autoinmune que puede ser utilizada como una aproximación experimental a cuadros de *lupus eritematoso*: se desarrolla espontáneamente en ratones hembra NZB/WF<sub>1</sub> (New Zealand Black/White), híbridos de las razas NZB y NZW. En estos animales surge un cuadro autoinmune multifactorial en el que están implicados factores genéticos, víricos, inmunológicos y hormonales; en sus tejidos es posible detectar la glucoproteína gp70 de la envoltura de partículas víricas tipo C junto con inmunocomplejos ADN/anti-ADN. No se conocen los mecanismos moleculares de la lesión fundamental, aunque sí se sabe que están alterados los mecanismos normales de regulación inmunológica, posiblemente a nivel de la función epitelial tímica. También las razas de ratones B5XB y MRL/1 son capaces de desarrollar, espontáneamente, formas lupoideas características: en el primer caso (B5XB) se produce anemia hemolítica, con presencia de células lupo-eritematoides (LE), glomerulonefritis por inmunocomplejos y arteritis necrotizante; mientras que en el segundo caso (MRL/1) se desarrollan linfopatías generalizadas con presencia de células LE y una glomerulonefritis progresiva debida a inmunocomplejos. Sobre estos modelos experimentales se pueden ensayar los efectos de distintos inmunosupresores (153) con una supuesta aplicación inmunofarmacológica potencial frente al lupus eritematoso humano. Otro cuadro autoinmunitario, con algunas semejanzas al lupus eritematoso, por cuanto también existen anticuerpos antinucleares, es la *esclerodermia*. Aunque su patogénesis es desconocida, se ha propuesto un modelo murino basado en un cuadro crónico de rechazo a trasplantes dérmicos (442). Mediante este modelo cabe estudiar, además de las condiciones en que se produce el rechazo, las respuestas de anticuerpos antinucleares en ratones irradiados a los que se inyectan suspensiones de células linfoides alogeneicas o semi-alogeneicas. El ensayo de inmunomoduladores específicos puede también, en estos casos, proporcionar alguna luz al control inmunofarmacológico de esta enfermedad.

Un modelo de *encefalitis autoinmune* experimental que permite estudiar, tanto la enfermedad desmielinizante del sistema nervioso central como servir de prototipo de enfermedades autoinmunes mediadas por células T, es el inducido en ratas Lewis mediante inoculación con proteínas básicas de mielina o con homogeneizados de médula, emulsionados con coadyuvante completo de Freund (696). Este cuadro experimental también puede ser producido en ratones,



pero en este caso se observa que además de inocular las proteínas existe el requerimiento específico de inoculaciones intravenosas con vacuna de pertussis (551,528). Esta enfermedad está mediada por líneas celulares T-dependientes, de carácter supresor, que carecen de inmunoglobulinas de superficie y también de receptores para Fc y complemento (69, 71). En estos casos, el estado de enfermedad puede ser regulado por la supresión reversible de ciertos linfocitos T, efectores específicos, que reaccionan frente a determinantes críticos de antígenos propios (70).

Durante la *infección pielonefritica*, en ratas, se origina una lesión tisular consecuente con una deficiencia de regulación a nivel de células T supresoras; por esto, Williams y cols. (1048), estudiando las modificaciones de respuesta inmune mediada por células, proponen un modelo experimental para estudiar estas lesiones celulares durante la infección pielonefritica que, por otra parte, resultan aliviadas o curadas cuando intervienen inmunosupresores específicos tipo ciclofosfamida (627, 628).

v) *Relativos a inmunodeficiencias*. Tienen un excepcional interés para la Inmunofarmacología todos aquellos modelos relativos a *inmunodeficiencias* (672); estos procesos pueden alcanzar, desde anomalías congénitas que condicionan aberraciones en las células linfoides hasta simples disminuciones de la actividad inmunitaria normal, como la que se producen durante la senectud y que a su vez pueden desencadenar enfermedades neoplásicas y autoinmunes (184, 305, 512, 793). Pueden realizarse controles de Inmunofarmacología Clínica sobre el estado de inmunidad celular en ancianos y su respuesta a inmunofármacos por medio de ensayos intradérmicos, con PPD, tricofitina, candidina, varidasa e hipersensibilización a dinitroclorobenceno (DNCB) (184). Otro tipo de ensayos, para estudios de inmunodeficiencias primarias en las que aparecen fallos en el desarrollo de las células T y B (672), con alteraciones en la regulación del sistema inmune (822), consiste en la determinación —mediante anticuerpos monoclonales— de los desequilibrios producidos entre dos subpoblaciones de células T cuyo balance es imprescindible para la homeostasis del sistema. Rosen (822), mediante anticuerpos monoclonales específicos de receptores, ha examinado las variaciones existentes entre poblaciones de células T-estimuladoras/T-cooperadoras y entre las T-citotóxicas/T-supresoras; con ello ha intentado definir algunos modelos con «defecto en la inmunorregulación y posibilitar así su corrección mediante el empleo de inmunofármacos que controlen las variaciones de ambos índices. Según se ha comprobado en humanos, la modificación de los cocien-

tes en la relación de células T-estimuladoras/T-supresoras o en la de T-citotóxicas/T-supresoras, dentro de los linfocitos T periféricos, puede reflejar la existencia de deficiencias primarias que afecten a las células B o a las T (763); asimismo, excesos relativos en las poblaciones  $T_1$ ,  $Ia^+$ , o del tipo  $T_1Ia^+$ , pueden definir desórdenes en la regulación inmunitaria que conducen a bronquiectasias progresivas graves o a una agammaglobulinemia (766, 828). Del mismo modo, la falta transitoria de células T cooperadoras, en niños de 3-4 meses de edad, conduce a una «hipogammaglobulinemia infantil transitoria» que se manifiesta clínicamente en episodios febriles inexplicables y en bronquitis (879). También, defectos en las células T supresoras, durante la infancia, pueden conducir al «síndrome de hiperglobulinemia E» que se caracteriza por infecciones recurrentes, dermatitis pruriginosas crónicas y por elevación de IgE frente antígenos de *Staphylococcus aureus* (309).

No es fácil disponer de modelos animales que reflejen experimentalmente estas situaciones de inmunodeficiencia, sobre todo cuando se pretendan estudiar inmunodeficiencias a nivel enzimático (589). Por tanto, lo que se suele hacer es utilizar animales inmunodeprimidos por distintas dosis de radiación ionizante (74) o por tratamientos con ciclosporina A, que neutraliza o suprime a las células T (513), o con ciclofosfamida, que según la dosis puede afectar solamente a los linfocitos T o a ambos tipos de células T y B. También, en ocasiones, una inmunosupresión experimental puede producirse con azathioprina, prednisolona o incluso con sueros anti-linfocitarios de una determinada especificidad celular (22, 147). En nuestro caso, hemos obtenido buenos resultados con distintos fármacos inmunomoduladores (806, 807) utilizando animales experimentalmente inmunodeprimidos, incluso en sistemas «ex vivo» o «in vitro» (730, 810); así hemos podido comprobar la acción restauradora de distintos inmunomoduladores de síntesis. Sin embargo, en todos los casos, los resultados que se obtienen ofrecen unas posibilidades limitadas para su extrapolación a la situación real de los síndromes de inmunodeficiencia, donde el cuadro patológico tiene otros tipos de expresión clínica al poder intervenir gérmenes oportunistas o infecciones secundarias por bacterias u hongos (patógenos ocasionales) cuya virulencia se exalta por las condiciones del huésped. Esta situación nos lleva de la mano a la curiosamente denominada «patología del huésped inmunocomprometido» o también de «pacientes de alto riesgo», en los que las relaciones huésped-parásito aparecen desequilibradas en favor del segundo, debido a que las defensas inmunitarias del huésped resultan deficientes por mala nutrición, alcoholismo, droga-adicción, quemaduras, traumas, infec-

ciones o incluso yatrogénicamente por empleo de algunos medicamentos (247). Ante tal situación, caben tres posiciones: *a*) Mantener separados al huésped y al parásito, remedio temporal conseguido por aislamiento en ambientes estériles o cabinas de flujo laminar, hasta tanto se encuentra una solución más definitiva; *b*) destruir al parásito mediante quimioterapia o empleo de antibióticos, lo que se convierte en una solución transitoria y repetitiva si no se elimina del todo la inmunodeficiencia; y *c*) mejorar las defensas del huésped mediante el empleo de inmunofármacos moduladores o estimuladores de la respuesta inmune.

Uno de los modelos experimentales que más destaca últimamente en la bibliografía, en temas relativos al *empleo de inmunopotenciadores*, es el de la infección latente por *Neumocystis carinii*, parásito de entidad esotérica en ratas (223) que, mediante el empleo de corticosteroides, para establecer una inmunodepresión (827), se convierte en un agente infeccioso habitual capaz de producir una pneumocistosis alveolar (292) de difícil control por quimioterapia (293). Al encontrar similares implantaciones de *Pneumocitis* en humanos y en ratas, sometidos a tratamientos por corticosteroides (295), pese a las lógicas diferencias entre los microorganismos de ambos orígenes, Frenkel y cols. (294) pensaron utilizar esta infección latente por *Pneumocystis* como modelo experimental en ratas para estudios de quimioterápicos e inmunopotenciadores: se ha revelado que este parásito es una importante causa de neumonía en pacientes inmunosuprimidos (336, 1020) para cuyo diagnóstico, Borras y cols. (121), realizan estudios comparativos sobre un modelo experimental. Walzer y cols. (1021) sugieren una modificación del modelo precedente, en el que la inmunodepresión se origina por corticosteroides y dieta pobre en proteínas, y lo sustituyen por otro en el que se utilizan ratones atímicos (nu/nu); también, por otra parte, Masur y Jones (596) proponen un modelo «in vitro» en el que se puede estudiar la interacción de *P. carinii* con macrófagos y células L.

### 3.1.2. Los modelos matemáticos en Inmunofarmacología

A medida que fue avanzando el conocimiento de la fenomenología inmunológica fue prosperando también la disponibilidad de *modelos matemáticos* para describirla. Según Judith, R. Lumb (568), el alcance de la contribución de cada modelo particular depende: *a*) de la extensión del modelo en cuanto al fenómeno que representa; *b*) de la disponibilidad de datos cuantitativos para ensa-

yar todos los aspectos del modelo; y *c*) de la extensión en el uso que puedan dar al modelo otro sin investigadores. Basta asomarse a la bibliografía del tema para encontrar que, entre los modelos inmunológicos puramente teóricos y los de aplicación matemática existe una controversia en su distinción, aplicabilidad y coordinación: Lumb defiende la preponderancia del tratamiento matemático en el desarrollo conceptual, mientras que Giorno (321) concede más mérito a los teóricos de la Inmunología porque les valora más participación experimental en los sistemas de estudio. De hecho, es fácil encontrar conjunción de ambas tendencias en ejemplos de excepcional interés para el avance de la Inmunología, como son: los trabajos matemáticos de Bell (61, 62), el de la teoría de selección clonal de Burnet (137) y la hipótesis de redes de interacción idiotípica de Jerne (449), que fue revisada matemáticamente por Richter (787) y también por Hierneaux (403). Se observa que en muchas ocasiones estos tratamientos matemáticos de datos experimentales aparecen enfocados, más que a la respuesta inmune «per se», a un aspecto teórico con el que se trata de establecer relaciones funcionales entre las distintas variables biológicas experimentalmente ensayadas. De su análisis cabe establecer hipótesis sobre los mecanismos de regulación que, subsiguientemente, permitirán suponer cuáles van a ser los elementos diana sobre lo que es preciso actuar con los inmunofármacos. Estos esfuerzos matemáticos se han dirigido principalmente al análisis de comportamientos en la formulación de modelos teóricos que se van modificando a medida que desaparecen las limitaciones del conocimiento. Desde hace unos quince años, según se señala en la revisión de De Lisi (224), se han ido efectuando distintas aproximaciones matemáticas para precisar las bases teóricas del crecimiento y diferenciación celular, la intervención del antígeno y la síntesis de anticuerpos; esto ha dado lugar a los modelos de Bell (63), de Jilek y Klein (454) y al de Perelson y cols. (703) y también a que se iniciara el estudio teórico de la cooperación célula-célula con intervención del sistema mayor de histocompatibilidad (66). Sin embargo, desde nuestro punto de vista, los trabajos que más pueden haber atraído el interés, por su aplicación inmunofarmacológica, son los referentes a la regulación de las fases tempranas de los procesos secretores de basófilos y mastocitos en los cuadros inflamatorios y alérgicos (226, 230) y aquellos otros que tratan de dilucidar las complejas secuencias de reacción del sistema complemento (225).

Problemas de interés teórico en Inmunofarmacología, durante el curso de una respuesta humoral, pueden ser los relativos al conocimiento de la dinámica de las concentraciones de anticuerpos, del

antígeno y de varios tipos de células, particularmente de los linfocitos B. También deberá tenerse en cuenta el comportamiento periódico oscilatorio de la respuesta, en cuanto a concentraciones de anticuerpo y antígeno, según que este último mantenga un único encuentro con los antígenos T-independientes (703) o, por el contrario, tenga un carácter replicativo (610), como sucede en el caso típico de la infección brucelósica; de este modo, será posible distinguir matemáticamente entre enfermedad febril aguda y enfermedad crónica de escasa febrícula. Son bastantes los modelos matemáticos que es posible aplicar a las muy diversas situaciones que se pueden encontrar en la investigación inmunofarmacológica, ya sea desde aspectos teóricos de la respuesta inmune (455) hasta aquellos referentes a la diferenciación (702, 501) o proliferación celular (743, 862, 229, 3 ), así como sobre la síntesis de anticuerpos circulantes (704, 350) y la dinámica en la aparición de células formadoras de anticuerpos (385, 611).

Son de destacar, en cuanto al estudio de respuestas más particulares, algunos modelos para la formulación, al azar, de la dinámica de una superinfección en función del tiempo. Así, por ejemplo, en casos de paludismo, haciendo medidas de los estados de recuperación, se puede tener idea de la posibilidad de recidivas, según el balance, entre huésped e infección (1036) y, si en el sistema se hace intervenir un inmunofármaco, cabe la posibilidad de medir su efecto teórico. También se encuentran otros modelos que apuntan a resolver problemas más complejos, como los derivados de una respuesta inflamatoria, consecuente con una invasión bacteriana de los tejidos; con ellos se pretende entender y predecir la relación entre fenómenos de transporte celular —representados por motilidad y quimiotaxis— y la susceptibilidad de la infección (533). En cuanto a predicciones etiopatogénicas de enfermedades por inmunocomplejos, que también pueden intervenir en cuadros inflamatorios inmunopatológicos, existen también modelos simulados basados en reacciones de inmunoprecipitación (917, 916), que permiten evaluar respuestas con intervención de inmunofármacos.

Quizá sea la patología del cáncer la que más especialistas en biomatemática ha atraído; así ha sido posible encontrar distintos modelos en relación con el tema desde un planteamiento teórico, de carácter estocástico tiempo-dependiente, y que estudia el desarrollo de carcinogénesis a través de múltiples niveles (208, 716, 491, 351), hasta un modelo probabilístico sobre la quimio-resistencia de células tumorales (167), pasando por formulaciones matemáticas referentes a respuestas citotóxicas (613), o de las células NK (614) o, incluso, del efecto del interferón sobre estas células (612).

Hay que tener en cuenta también que la Inmunofarmacología incluye no sólo el estudio del efecto de inmunofármacos potenciales sobre miriadas de células y factores endógenos capaces de modular la respuesta inmune, sino que también ha de estudiar posibles interacciones farmacodinámicas y farmacocinéticas entre agentes inmunoterapéuticos y otros fármacos, e incluso conocer si las sustancias inmunomodificadoras pueden inhibir o alterar la actividad de diferentes enzimas microsomales de localización hepática, como sucede con inmunoestimulantes bacterianos del tipo *Corynebacterium parvum* (643) o con el *Bacillus Calmette-Guerin* (270). Esto nos conduce a estudiar las interacciones receptor-fármaco y a las descripciones cuantitativas que en Farmacología se exigen para evaluar la acción de medicamentos (337). Es posible encontrar un modelo operativo de interacción farmacológica receptor-estímulo, sobre tres parámetros (102), en el que intervienen: la constantes de disociación receptor-estímulo ( $K_A$ ), la concentración total del receptor ( $R_0$ ) y un parámetro particular ( $K_E$ ) capaz de definir la transducción del complejo estímulo-receptor (A.R.) a un efecto farmacológico. La razón  $R_0/K_s$ , definida como «razón de transductor» ( $\gamma$ ), parece ser una definición lógica de un estimulante en un sistema de reacción bimolecular que obedece a la ley de acción de masas. Un programa de análisis numérico para interacciones receptor-ligando en el que se comparan directamente las cantidades medidas y los valores teóricos, ha sido desarrollado por Peters y Pingoud (713) con el fin de equilibrar los datos en sistemas de unión desconocidos. Mediante este procedimiento se evitan posibles errores en la representación de Scatchard, especialmente cuando se trate de esquemas de unión más complejos. También Cook y Bielkiewicz (171) proponen una técnica, con aplicación de computadores, en la que se pueden comparar simultáneamente varias curvas dosis-respuesta mediante un análisis de varianza.

Por último, en el campo industrial, puede ser necesario definir con seguridad los mercados potenciales de inmunofármacos en función de unos resultados de investigación clínica experimental, en los que deben considerarse importantes tanto la eficacia terapéutica como la tolerancia relativa. En estos casos, en los que pueden coexistir una muestra pequeña y una gran cantidad de datos, el valor de la significación estadística dependerá de la relación entre el número de parámetros estudiados y el tamaño de la muestra, lo que puede conducir a riesgos en la consecución de una decisión acertada. Schnitker (848), aplicando su método teórico de decisión a resultados estadísticos en farmacología clínica, reduce el número de parámetros a pocos factores, convenientemente seleccionados, pero

que necesariamente puedan ser muy importantes; de esta forma la relación entre el número de sujetos ensayados y el número de parámetros permanece válida a lo largo del tiempo y así es posible conseguir un planteamiento estadístico que resulta significativo para propósitos predictivos.

### **3.1.3. Escrutinio y evaluación inmunofarmacológica de modificadores de respuesta biológica**

Cualquier molécula capaz de modificar la respuesta inmunitaria actúa sobre la propia capacidad funcional del huésped, ya sea específica o inespecíficamente, según que la modificación o modulación esté o no especialmente vinculada a un antígeno dado. Aunque la utilización de sustancias coadyuvantes en la producción de anticuerpos data de experimentos iniciados en 1925 por Ramón (Tabla 1), el proceso normal de investigación sobre lo que más tarde habrían de llamarse inmunomoduladores fue postergado y detenido por los éxitos logrados en la antibioterapia de infecciones bacterianas y por el desarrollo de vacunas de virus atenuados o mutados. Sin embargo, la creciente aparición de antibiótico-resistencias, unido al propósito de conseguir nuevos fármacos que fueran efectivos en tratamientos anti-cancerosos, hizo renacer con mayor fuerza el interés por el tema anteriormente preferido: en esta segunda época, coincidiendo con extraordinarios avances en investigación inmunológica fundamental, se inició la búsqueda de inmunofármacos capaces de influir en la regulación de la respuesta inmunitaria y de intensificar la capacidad de vigilancia inmunológica del huésped.

Pese a los positivos resultados experimentales hasta ahora obtenidos y aun disponiendo de muy diversos tipos de moléculas (Tabla 9), con diferentes mecanismos de acción moduladora sobre el Sistema Inmune, son escasos los inmunofármacos verdaderamente efectivos cuando se evalúan desde un punto de vista clínico, y esto puede ser debido a que en origen se utilizan sistemas de escrutinio insuficientemente adecuados para evaluar la efectividad de estos medicamentos potenciales. Para que un agente biológico o químico pueda ser recomendado como inmunomodificador para someterle a ensayos clínicos, ha de superar experimentos críticos capaces de predecir su comportamiento inmunofarmacológico, tanto en ensayos «in vitro» como en modelos experimentales «in vivo», todos ellos con capacidad discriminadora y con posibilidad para sugerir aplicaciones clínicas específicas; no cabe excluir el que una molécula activa frente a ciertos defectos inmunitarios y sus síndromes co-

TABLE 9. Referencia de distintos agentes antitumorales y compuestos modificadores de la respuesta inmune, potencialmente utilizables en Inmunofarmacología experimental o clínica y agrupados según su origen.

- A. Procedentes de microorganismos (células enteras, fracciones subcelulares o moléculas derivadas).  
*Mycobacterium bovis* atenuado (BCG); *Propionibacterium* acnes; *Bordetella pertussis* fase I; *Brucella abortus*; *Pseudomonas aeruginosa*, *Nocardia* sp., *Moraxella* sp.; *Candida albicans*; *Bifidobacterium* sp.; *Streptococcus* del grupo A; *Lactobacillus casei*; *Myxococcus* sp.
- Paredes celulares de micobacterias y nocardias; fracciones PI y SF de *Brucella melitensis*; algunas preparaciones extracelulares del citoplasma y de membranas de estreptococos; micelios de estreptomicas; preparaciones de ribosomas; extractos fosfolípidicos de *Listeria*.
- Lipopolisacáridos y endotoxinas bacterianas; lipoproteínas; polisacáridos de *propionibacterium*, de pneumococos y de pseudomonas; lentinanos de *Lentinus* codes; mananos de *Rodothorula* y *Sporobolomyces*; B-1, 3 glucanos; ácidos teicoicos y lipoteicoicos; péptidoglicanos; trealosa 6,6'-dimicolato o «cord factor»; glicoproteínas de *Klebsiella pneumoniae* o RU-41740; muramil-peptidos.
- Proteínas, glucopéptidos u otros glucoderivados procedentes de hongos (AM3), de *Listeria monocytogenes* (EBP), de *Klebsiella*, de *Streptococcus faecalis* (OK-432) y de *Bacillus alvei*; polisacáridos diversos y moléculas anfifílicas como *Zymosan* (*Saccharomyces*); *Pachyman*, *Pachymaran* y análogos; *Schizophyllon* (*Schizophyllum commune*); *Pustulan*.
- Moléculas obtenidas a partir de vegetales como *Krestin*, Ps-K (*Coriolus versicolor*), ácido aristolóquico (*Aristolochia indica*), *cyclomunina* (*Fusarium equiseti*) y *trimetil-lisina*; inmunomodificadores de pequeño tamaño molecular como *Bestatina*, *Amastatina*, *Fosphenicina*, *Esterasina*, *Dicetocoridina*, *cortolinas* y *Ebalactona*.
- Diferentes antibióticos como anfotericinas B y E, *Mitomicina C*, *Ciclosporina A*, *Actinomicina D*, *Acido fucsidico*, *Acetclacinomicina*.

B. Polipéptidos biológicos

Interferones, linfoquinas y monoquinas; mediadores del crecimiento y diferenciación celular; factores tímicos e inmunoglobulinas; *Tuftsina*; polipeptido de calostro bovino rico en prolina; *fibronectina*; *citocalasina A* y proteínas catiónicas de granulocitos.



---

### C. Oligo y polinucleótidos

Poli A; U; Poli I; C; tRNA; dsRNA de bacteriófagos; factor de transferencia.

---

### D. Vitaminas y otros compuestos naturales y derivados

Vitaminas A y E; lipoidolaminas, linestrol; coenzima Q; derivados de esfingosina; retinoides; limonoides; esteroides; prostanoídes; ácido picolinico.

---

### E. Moléculas sintéticas

Polipéptidos ramificados (LADK); lipopéptidos; Timopointina; anti-aterogénicos; indometacina y otros anti-inflamatorios no esteroideos (Etodo lac, MDL-035; dexametasona; Timegadina; Isoprinosina (Methisoprinol, Inosiplex); levamisol y dictilditiocarbamato (DTC); thiabendazol (TBZ) y thiazobenzothiazol (WY-40453); NTP 15392, NTP 16416; tilorona y otros copolímeros del pirano; teofilina maltosa-estearato (MHS) y otros glicolípidos sintéticos; muramil-dipéptidos; dipeptido-adamantilamida y muramil-derivados de síntesis; análogos de nitrosourea (RPCNU, RECNU y clorozotocin); isoxazol derivados (HWA, 486); LF-1695; RHC 2851; WY-18.251 y NSC 310633; mercaptoimidazol y otros midazol derivados; DPF; TEI-3096; therafectina (SM1213); NTP15392, SA96 y F1686; compuesto 68; ácidos poliacrílicos y polimilactílicos; cimetidina; frentizol; pirimetamina; pentamidina; pirimidinones, policetilenglicoles, alcaliccateoles y ácidos poliamina-policarboxílicos; polisulfatos; compuestos eliminadores de radicales libres (cinaridol-3, alcafosfatos, dihidroquinolinas, etc.); dialquilitinas.

Agentes citotóxicos diversos y entre ellos, la 2-cloroadenosina, 5-fluorodecoxiuridina, vincristina, alanosina, mizoribina, aclacinomicina A, pcpломicina, rivabirina, cicloeximida e hidracida del ácido maleico; 8-azaguanina, bleomicina, clifticina; metil-glicosil-bis-guanilhidrazona (MGBG); ciclofosfamida; cinnarizina y análogos (Azimexon, BM06002, BM12531).

---

### F. Compuestos metálicos

Compuestos de platino; carboximetil-germanio (Gr 132); cromoglicato disódico; cloruros de zinc; plomo y niquel e hidróxido de berilo.

---

rrespondientes resulte ineficaz o perjudicial en otros cuadros inmunopatológicos y de aquí la escasa confianza de los clínicos en la utilización de estos inmunomoduladores: *situación, ésta, que puede ser superada si se potencian investigaciones básicas orientadas tanto al conocimiento de mecanismos de acción y de las dianas celulares de los distintos inmunomodificadores como a la precisión de las exigencias que se han de cumplir en la evaluación inmunofarmacológica de esta clase de medicamentos.*

Un somero examen de la Tabla 9 basta para hacerse idea de las dificultades que entraña realizar un perfecto escrutinio inmunofarmacológico de tantos y tan diversos agentes y moléculas con actividad terapéutica potencial sobre el Sistema Inmune; maxime cuando efectos biológicos semejantes pueden estar originados por agentes inmunomodificadores cuyo rango de variabilidad alcanza desde algo tan complejamente biológico como una micobacteria, por ejemplo, hasta una tan sencilla molécula de síntesis como el dietildithiocarbamato. Existe el firme propósito de utilizar, siempre que sea posible, moléculas de síntesis o de origen natural perfectamente purificadas; ello permitirá llevar a cabo con garantía, todas las investigaciones necesarias para dilucidar su mecanismo de acción molecular así como los protocolos experimentales encaminados a determinar su posible inmunotoxicidad y su caracterización en inmunofarmacología clínica. En este sentido, se sugiere una serie de ensayos inmunológicos y farmacológicos que, en un desarrollo secuencial como el indicado en la Tabla 10 permite conocer las posibilidades de utilización de un agente inmunomodificador recién aislado.

En una primera fase se pretende demostrar el impacto del fármaco potencial sobre el Sistema Inmune y descartar aquellas moléculas cuya toxicidad es manifiesta; en un segundo grupo de ensayos se precisa el mecanismo de acción, cuyo conocimiento permitirá diseñar una estrategia efectiva en una pretendida restauración del Sistema Inmune y por otra parte conocer si un tratamiento determinado puede originar efectos secundarios indeseables sobre otras funciones del organismo (sangre, corazón, pulmón, hígado, riñón) y particularmente sobre el Sistema Inmune, o lo que es lo mismo determinar su perfil inmunotoxicológico. Desde la reunión científica de Arlington (Virginia) en 1980, relativa a «Especificidad de órganos diana», se aprecia un creciente interés por los temas de Inmunotoxicología; buena prueba de ello han sido los seminarios internacionales de Guilford (Surrey) en 1982, el de Research Triangle Park (Carolina del Norte) en 1983 y el de Luxemburgo en 1984; en todos

**TABLA 10.** Secuencias de la diversa metodología aplicada al escrutinio de los posibles agentes modificadores de respuesta inmune.

VERTIENTE INMUNOLOGICA	VERTIENTE FARMACOLOGICA
<p>A) Primera etapa: pruebas preliminares «in vivo»</p> <p>Respuesta linfoproliferativa «ex vivo» comparando con PHA, Con A, LPS, PWM, DXS, en poblaciones linfocitos totales y en linfocitos T y B aislados.</p> <p>Efecto sobre síntesis de anticuerpos T-independientes (LPS) y sobre la aparición de células formadoras de anticuerpos IgG e IgM frente a antígenos T-dependientes (SRBC).</p> <p>Influencia a nivel de SRE (índice esplénico) y ensayos sobre variaciones de respuestas fagocitarias.</p> <p>Influencia sobre respuestas inespecíficas del tipo citotóxico (células NK).</p> <p>Ensayos de hipersensibilidad frente a SRBC; pruebas de contacto con oxazolona y en un sistema proteínico (DNP-BGG).</p> <p>Efecto sobre los niveles de acción del complemento.</p> <p>Análisis de factores genéticos (estirpes, isogénicas) y epigenéticos (edad, sexo, estado fisiológico).</p>	<p>Pruebas de pirogenicidad.</p> <p>Toxicidad aguda (DL50).</p> <p>Índice de liposolubilidad.</p> <p>Toxicidad crónica.</p>

TABLA 10 (continuación)

B) Segunda etapa: aproximación al modo de acción y mecanismos	
Influencia sobre respuestas linfocitarias mixtas (MLR).	Toxicidad para sistemas hematopoyético hematología y efecto sobre médula ósea.
Capacidad de inducción «in vivo» de las distintas subpoblaciones de células T y B.	
Influencia sobre metabolismo de macrófagos y granulocitos; y estudio de respuestas funcionales.	Control de hepatoesplenomegalia; síndrome linfoproliferativo; granulomatosis; inducción de tumorigénesis; hipersensibilización.
En el caso particular de coadyuvantes, asociación a antígenos particulares (marcados) o determinación de sus dianas celulares.	Si es inmunomodulador, comprobar que no tiene efectos coadyuvantes capaces de predisponer a cuadros autoinmunes y alergizantes del medio ambiente; ensayos del efecto artrtrigénico.
Citotoxicidad celulo-mediada frente a distintas dianas celulares.	
Estudios sobre factores mediadores; inducción de IFN y otras linfoquinas, factores de crecimiento y diferenciación; variaciones en la síntesis de PGs en los sobre-nadantes de cultivo.	Escrutinio de posibles acciones anti-inflamatorias, anti-agregantes plaquetarias; efecto sobre presión sanguínea y cardio-respiratoria; estudios de coagulación.
Síntesis de anticuerpos «in vitro» con distintas poblaciones linfoides.	Variación en los niveles de nucleótidos cíclicos. De terminación de estructura molecular y estudios de relación estructura-actividad.
Localización de dianas moleculares con anticuerpos monoclonales.	
En el caso particular de citostáticos, realizar pruebas diferenciadoras, ensayo de anti-renales en ratón y predicción de la inmuno-sensibilidad por incorporación de $^3\text{H}$ nucleótidos.	

C) Tercera etapa: investigación pre-clínica

Acciones anti-infecciosas aguda y crónica en animales normales y en inmunodeprimidos.

Ensayos de respuesta en cuadros de anafilaxia pasiva local y generalizada.

Reacciones de transplantantes (injerto de piel, inyección de células alogeneicas o tumorales).

Influencia en la dinámica de formación «in vivo» de células citotóxicas anti-tumorales.

Influencia en la inhibición de tumores primarios y en progresión de metástasis.

Estudio sobre modelos de enfermedades autoinmunes.

Estudio sobre modelos de inmunodeficiencia.

Farmacocinética y biodisponibilidad, atendiendo a distintos parámetros de interés inmunológico.

Farmacodinamia y ensayos sobre órganos aislados.

Influencia sobre los niveles de hormonas circulantes.

Interacción con otros fármacos y análisis de su metabolismo hepático.

Aplicación de modelos matemáticos al control de tratamientos.

ellos se ha resaltado el interés de conocer las reacciones adversas para el Sistema Inmune condicionadas por la exposición, tanto a xenobióticos como a tratamientos inmunoterapéuticos ya sean de origen natural o sintético: *en el seminario internacional de Luxemburgo, destacando las importantes implicaciones que para la salud pública tiene la temática inmunotoxicológica, se acordó unánimemente apoyar las investigaciones orientadas al perfeccionamiento y desarrollo de técnicas inmunológicas en Toxicología, recomendando decididamente a las instituciones científicas y laboratorios industriales que cooperen al mejor conocimiento del riesgo inmunotoxicológico.* Y con esta secuencial búsqueda de inmunomodificadores, al llegar a los estudios pre-clínicos, habrán de relacionarse las medidas cinéticas del fármaco en fluidos biológicos con los datos sobre eficacia clínica y toxicidad. El conocimiento de los perfiles inmunofarmacológicos permite diseñar una estrategia efectiva que alcance a restaurar el Sistema Inmune durante la caracterización clínica del modificador de respuesta biológica.

En el caso particular de quimioterápicos anti-tumorales será preferible utilizar aquellas moléculas que « in vivo » no afecten, o afecten lo menos posible, a la capacidad citotóxica dependiente de macrófagos (580) y también comprobar que este fármaco potencial no disminuye la actividad de células NK (581). Existe una grave heterogeneidad de comportamiento de los inmunoterápicos y aún no se conocen bien los fundamentos moleculares de la diversidad de efectos que este tipo de agentes pueda tener para las células T supresoras que intervienen en la regulación de la respuesta humoral (Ts) y en la hipersensibilidad retardada (Ts-DTH) (18, 914).

En la investigación de modificadores de respuesta biológica, antes de iniciar los ensayos de caracterización clínica de los mismos, se requieren criterios particulares de evaluación, puesto que no basta contestar a los interrogantes de Toxicología y Farmacología aplicables a cualquier medicamento sino que además —siguiendo lo recomendado por Renoux para la evaluación inmunofarmacológica de un medicamento (773)— habrá de ensayarse el producto sobre distintas subpoblaciones celulares inmunocompetentes y comprobar: *a)* que carece de antigenicidad y de efectos inmunosensibilizantes; *b)* que no es cancerígeno ni produce alteraciones linfoproliferativas perjudiciales; *c)* que tiene un índice terapéutico adecuado, además de estar desprovisto de inmunotoxicidad específica para células linfoides; y *d)* que su composición química y métodos de identificación garantizan una reproducibilidad de resultados en los distintos modelos de ensayo. En cualquier caso, cabría distinguir entre dos

modalidades preliminares de aproximación experimental, según que se trate de estudiar coadyuvantes o inmunopotenciadores conjugados a un antígeno particular (12, 457), o se investigue la utilidad de un inmunomodificador activo en el que resulta menos previsible el empleo de preparaciones normalizadas y en el que, por tanto, los ensayos clínicos o (mejor) pre-clínicos, no deben limitarse a estudiar aplicaciones monofocales del medicamento potencial, como pueden ser los ensayos sobre tumores, respuestas de hipersensibilidad o efectos sobre una inmunodeficiencia determinada, sino que también ha de estudiarse su comportamiento sobre otros modelos adicionales que incluyan respuestas de mayor complejidad: procesos anti-inflamatorios, rechazo de injertos, actividades anti-infecciosa y auto-inmunitaria (Tabla 10). En el primer caso, deberán utilizarse modelos animales cuyos datos puedan ser extrapolables a la respuesta humana, tales como ensayos de protección frente a dosis infectivas de microorganismos vivos (249) o modelos con antígenos molecularmente definidos (lipopolisacáridos, polisacáridos, proteínas, lipoproteínas y glicopéptidos) donde la influencia sobre la captación y presentación del antígeno pueda ser controlada mediante el nivel de anticuerpos «in vivo» o «ex vivo». La disponibilidad de técnicas para cultivos celulares facilita el conocimiento molecular de las interacciones entre antígeno, receptor linfocitario y sus mediadores (737).

En relación con los animales a utilizar, son los ratones y ratas los más frecuentemente empleados aunque también, para ensayos de escrutinio preliminar, puede resultar muy útil el empleo de aves o de otros animales inferiores en cuanto a su nivel en la escala zoológica, pero que sin embargo pueden proporcionar una respuesta sencilla, rápida y reproducible con alta disponibilidad de substrato vivo y con un menor gasto. En cualquier caso, habrá de tenerse en cuenta que en el efecto observable influye, además de la dosis, la ruta de administración así como el órgano o zona anatómica particular a que se refiere el estudio y también los intervalos relativos en cuanto a la administración del antígeno: *una exacta precisión de estos parámetros experimentales permitirá controlar los efectos «paradójicos» de signo contrario que, en ocasiones, se observan durante la caracterización clínica de los modificadores de respuesta biológica* (860).

### **3.2. Modificación farmacológica del Sistema Inmune**

A medida que se fueron conociendo los distintos modos de respuesta discriminada frente a componentes propios y extraños, el

concepto de Sistema Inmune fue variando, desde el más sencillo supuesto de atribuirle los mecanismos de defensa del huésped hasta considerarle como *un sistema de reconocimiento individual provisto de regulación autónoma y perfectamente integrado con otros sistemas generales del organismo que, a su vez, pueden modificar su comportamiento.*

Mantener este sistema dentro de los límites de una regulación autónoma en la normalidad, deja de ser un contratiempo producido por un agente extraño al que hay que atender mediante una quimioterapia que actúe frente a este agresor (ya sea microorganismo, parásito o células cancerosas) para convertirse en un estado de equilibrio salud/enfermedad que habrá de conservarse en su perfección y favorecerle. Para ello puede ser preciso modificar el comportamiento del huésped mediante el empleo de fármacos inmuno-reguladores: *la restauración de un Sistema Inmune debilitado o deficitario, origen o secuela de numerosos cuadros patológicos, constituye uno de los logros terapéuticos más importantes que la investigación biomédica haya conseguido en los últimos años.*

Durante mucho tiempo la manipulación terapéutica del Sistema Inmune estuvo limitada a procedimientos de inmunización activa y pasiva hasta que se empezó a poner en práctica el uso de fármacos inmunorreguladores. Los niveles de heterogeneidad encontrados entre este tipo de agentes inmunoterápicos, aun tratándose de moléculas estrechamente relacionadas, ha dado lugar a imprecisiones entre los límites que los distingue como inmunosupresores, inmunomoduladores o inmunopotenciadores; esta clasificación operativa puede convertirse en errónea, puesto que el efecto dependerá tanto de las circunstancias de su aplicación como de las poblaciones celulares inmunocompetentes a las que el fármaco tiene acceso en un momento dado: no es extraño, por tanto, que se señalen efectos bifásicos del muramil-dipéptido o de lipopolisacáridos sobre las actividades generadoras de anión superóxido con macrófagos de cobaya cuando se estimulan con inmuno-complejos, aglutinina de germen de trigo o forbol-miristato (1056), y que se considere el fenómeno de variaciones de fase —durante la modulación de la respuesta inmune frente a distintos estímulos antigénicos— como la falta de una verdadera interrelación dosis-respuesta entre el fármaco y su efecto (218). Aunque no se conoce cuál es el verdadero mecanismo responsable de estos comportamientos bimodales, se supone que pueden influir los diferentes umbrales de respuesta de las diversas subpoblaciones celulares que actúan, o la superimposición del efecto estimulador sobre unas células junto con una subsiguiente disminución de activi-



dad en otras; este fenómeno puede ser debido incluso, a que se produzca una estimulación diferencial sobre los diversos tipos de efectoras. En consecuencia, son varios los autores que han preferido utilizar genéricamente el término de *inmunomodulador* (364, 464, 856) aunque ya empiece a estar más generalizado el concepto de *modificadores de respuesta biológica* (669, 952), para todas aquellas moléculas que, actuando sobre el huésped, sean capaces de suprimir la respuesta inmune en el caso de trasplantes o de restaurar el sistema inmunitario para intervenir en la curación de enfermedades tan diversas como las infecciosas, hipersensibilizaciones, inmunodeficiencias, cuadros autoinmunitarios, cáncer, alteraciones por senilidad, etc.

### **3.2.1. Aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos en el empleo de modificadores de respuesta biológica**

Desde algunos datos aportados por Dannenberg en 1968, relativos a una activación inespecífica de macrófagos por micobacterias o productos de ellas derivados (216) hasta los tratamientos de enfermos de SIDA con agentes biológicos sintetizados mediante tecnología de DNA recombinante (761), son muchos y de muy diverso origen los agentes ensayados para suprimir, potenciar o modular distintas respuestas inmunitarias patológicas. En la Tabla 9 se reseña, desde algunas sales minerales hasta muy diferentes compuestos orgánicos de síntesis que se han utilizado experimental o clínicamente con propósitos inmunoterapéuticos. La actividad de estas sustancias puede depender de diversos factores, entre otros: la configuración óptica de su molécula (como en levamisol y análogos de muramil-dipéptido), la dosis-dependencia de alguna estimulación metabólica particular (en ciclomunina), la variable sensibilidad de ciertas aminopeptidasas (en bestatina) o de metaloenzimas (en dietil-ditio-carbamato), etc. Junto al efecto de estos modificadores específicos de la respuesta inmune podrían considerarse además la de otros fármacos que aun no siendo propiamente inmunomoduladores, pueden alterar una respuesta inmune normal, tal como sucede con anti-atérogenicos (813), neurolépticos (729) e incluso muchos de los antibióticos utilizados corrientemente (290, 579, 623, 714, 734), que pueden estimular o deprimir una respuesta inmunitaria.

Para obviar una variabilidad de efectos que pueda ser motivada por anomalías en el proceso de absorción del agente inmunomodificador, o por producirse alteraciones en su metabolismo, biotransformación o eliminación (lo que modificaría su biodisponibilidad) es necesario utilizar moléculas perfectamente definidas. Así, cuando se parte de microorganismos, es obligado continuar el estudio de

extractos y fracciones subcelulares de dicho microorganismo hasta llegar a localizar la molécula natural responsable del efecto inmunomodificador. Seguidamente, el conocimiento de su estructura química permitirá pasar al diseño de compuestos de síntesis capaces de actuar sobre dianas celulares muy específicas. El interés del tema ha impulsado en tan alto grado este tipo de investigaciones que es posible disponer de centenares de moléculas de síntesis con potencial aplicación en la terapéutica de alteraciones del Sistema Inmune. Buena prueba de ello es la obra de recopilación de St. Georgiev (835) en la que se recoge información sobre el perfil biológico, síntesis y estructura química de no menos de 2.000 moléculas ensayadas en enfermedades inmunológicas durante las dos últimas décadas. Pese a la existencia de tan numerosos compuestos de síntesis, sigue siendo necesaria la búsqueda de moléculas de este tipo a partir de microorganismos, plantas y animales, donde la fantasía humana es siempre superada por la madre Naturaleza y donde constantemente las interacciones huésped-parásito son una clara enseñanza de la supervivencia de los mejor dotados.

Con lo hasta aquí reseñado descariámos dejar definitivamente aclarado que la investigación de compuestos modificadores de respuestas biológicas —tal como esquematizamos en la Tabla 10— ha de seguir una marcha racional en la que se coordinen estudios adecuados sobre Farmacocinética, Farmacodinamia e Inmunofarmacología Clínica, junto con todas aquellas otras investigaciones a un nivel molecular que puedan dar idea de los mecanismos de acción y relaciones estructura-actividad hasta llegar al diseño de inmunofármacos de síntesis totalmente específicos.

Aunque todavía son poco frecuentes los estudios sobre Farmacocinética de inmunomoduladores, pueden considerarse dos modalidades de aproximación al problema, bien sea estudiando los coeficientes de biodisponibilidad o evaluando los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción en función del tiempo, bien sea analizando el comportamiento de los receptores linfocitarios para determinar la relación entre la capacidad de unión del fármaco y la célula diana, así como su correspondencia con los efectos inmunológicos; estos últimos estudios requieren la comparación e interacción con estimuladores (agonistas) y bloqueadores (antagonistas) de una acción perfectamente controlada y se aplican sobre todo a estudios de regulación inmuno-neuroendocrina. La principal dificultad en estos estudios de farmacocinética reside, unas veces, en la indefinición molecular del agente biológico y otras, en la falta de sensibilidad y especificidad de los ensayos para medir las mínimas

concentraciones de compuestos que son altamente activos en fluidos biológicos de enfermos sometidos a inmunofarmacoterapia. Dificultades, estas, que se pretende obviar mediante la aplicación de técnicas de radio-inmuno-ensayo e inmuno-enzimáticas de alta sensibilidad.

De los varios estudios farmacocinéticos consultados (Tabla 11) quizá sean algunos fármacos inmunosupresores, tales como ciclofosfamida (738), azathioprina, 6-mercaptopurina, prednisona y prednisolona (67), los más estudiados desde el punto de vista farmacocinético. Según datos revisados por Benet y colaboradores (67) parece que la información acumulada se corresponde más al comportamiento «in vitro» o «ex vivo» de los distintos tipos de células inmunocompetentes que a la medida de eficacia y toxicidad de estos fármacos sobre el paciente; sin embargo, cabe la posibilidad de utilizar la reacción mixta de linfocitos (MLR) como modelo aplicable en Inmunofarmacodinamia para medir el efecto del suero o plasma de enfermos tratados con esta clase de inmunosupresores y buscar así su correlación con la cinética de dichos fármacos (318). De este modo ha sido posible relacionar medidas farmacodinámicas (porcentajes de inhibición de MLR) y niveles plasmáticos de prednisolona en voluntarios sometidos a distintas dosis de tratamiento (67) y también se ha comparado la actividad inhibidora de formación de rosetas con los niveles séricos de azathioprina (o sus metabolitos) en enfermos renales (39). En el caso particular de la ciclofosfamida, que es una molécula inactiva «in vitro» y que requiere la acción de enzimas microsomales hepáticas para alcanzar su efectividad «in vivo» (67), se ha estudiado su farmacocinética por cromatografía de gases encontrando que su vida media es de 6 a 12 horas (469), pudiendo correlacionar estos niveles séricos con su efecto farmacodinámico mediante ensayos de activación en linfocitos B. Estudios farmacocinéticos con cimetidina indican una vida media de unas 2 a 3 horas, absorbiéndose el 77 por 100 por vía endovenosa y el 62 por 100 por vía oral con un 19 por 100 de unión a las proteínas plasmáticas (906, 1018). El interés por conocer la influencia del tiempo en Farmacocinética y Biofarmacia ha sido recientemente destacado en el último congreso anual de la Federación Internacional de Farmacéuticos.

Datos importantes a tener en cuenta en los estudios farmacodinámicos de inmunomodificadores son la posible alteración de sus efectos y del grado de especificidad según distintas circunstancias: a) inclusión en liposomas, como es el caso particular de preparaciones liposómicas de muramil-dipéptido con propósito de activar es-

TABLA 11. Diferentes estudios farmacocinéticos relativos a inmunomodificadores.

- 
- Microorganismos marcados con  $^{99m}\text{Tc}$  o  $^3\text{H}$  y distribución orgánica de vacunas fluoresceinadas (188).
  - Cinética y catabolismo de inmunoglobulinas intravenosas (678, 679).
  - Cinética de muramil-dipéptido en liposomas (284).
  - Timosina  $\alpha_1$  sintética marcada con isótopos (566).
  - Sobre tilorona, análogos y sus metabolitos (193).
  - Distribución y destino de dietil-ditiocarbamato con ( $^{35}\text{S}$ ) DTC (783).
  - Cinética y distribución de ciclosporina por cromatografía líquida (HPLC) y radioinmunoensayo (440).
  - Cinética de cinarizidinas (92).
  - Cinética de ( $^{14}\text{C}$ ) MVE-2 (151).
  - Azathioprina y 6-mercaptopurina (67, 318).
  - Cimetidina (906, 1018).
  - Cinética de ciclofosfamida y sus metabolitos (469, 738).
- 

pecíficamente a macrófagos (284); *b*) interacción con otros fármacos como sucede en asociaciones de cimetidina en inmunosupresores, que pueden dar lugar a alteraciones en el grado de supresión debido a que esta molécula inhibe el metabolismo microsomal y modifica la velocidad de eliminación del inmunosupresor; y *c*) otras circunstancias derivadas del estado de enfermedad del huésped.

Por otra parte, se han comprobado importantes cambios en la biotransformación, en la *tilorona* (inductor de IFN y estimulador de la respuesta humoral en el huésped) y la *teofilina* (broncodilatador que aumenta los niveles de AMPc) cuando existen infecciones por virus o incluso durante el período negativo de una vacunación anti-viral (785); en estas condiciones pueden resultar modificados los perfiles farmacocinéticos y como consecuencia los parámetros de biodisponibilidad del inmunofármaco. Varios autores, cuyos resultados se recogen en la revisión de Chandra y cols. (193), han estudiado el destino metabólico de moléculas de  $^{14}\text{C}$ -tilorona en función del tratamiento y han determinado —para distintas especies animales— los niveles de absorción y redistribución en hígado, bazo, pulmones, nódulos linfáticos, tracto intestinal y otros órganos; en algunos de estos estudios se alcanza a desvelar la distribución subcelular de la tilorona en distintos órganos y a identificar sus metabolitos, derivados de los procesos de dialquilación, oxidación y reducción. El hígado puede desempeñar un papel preponderante en la metabolización de tilorona puesto que precipitados de homogeneizados de hígado de rata obtenidos a 700xg contiene la fracción mayor del fármaco administrado y en distinto grado de biotransformación. También Millen (649) y Soyka (909) han comprobado que el tratamiento con inmunoestimulantes bacterianos inhibe distintos enzimas microso-

males que intervienen en el metabolismo de fármacos; aunque no se conoce todavía el mecanismo responsable de este efecto sobre la biotransformación hepática de medicamentos mediada por citocromo P-450, el tema es de tal importancia clínica que ha llevado a algunos investigadores a realizar estudios farmacocinéticos «in vivo» en los que se comprueba la influencia del tratamiento con inmunostimulantes en la eliminación de un compuesto de ensayo-control como la fentoina, o bien comparando los tiempos de sueño subsiguiente a tratamientos con hexobarbital (909); cabe admitir por tanto, que estas modificaciones ocasionadas por la actividad hepática pueden estar estrechamente relacionadas con el efecto de inmunostimulantes que actúen a través del sistema retículo endotelial (649).

La otra vertiente de los estudios inmunofarmacocinéticos según el término utilizado en la Conferencia Internacional sobre Inmunofarmacología celebrada en Brighton (Gran Bretaña), para referirse a la farmacocinética de moléculas reguladoras del Sistema Inmune, está mucho más relacionada con investigaciones de tipo fundamental y pretende conocer las propiedades farmacocinéticas de los receptores celulares intentando aproximarse a los mecanismos que gobiernan la función de los receptores en la captación y transmisión de señales específicas subsiguientes a la formación de complejos de alta afinidad (187). La información hasta ahora conseguida, está más vinculada al campo de la regulación neuroendocrina del Sistema Inmune (386); ello es debido a los datos de que se dispone sobre la estrecha correlación entre la capacidad de algunas dianas celulares para unirse específica y cuantitativamente, tanto a hormonas mediadoras de efectos biológicos como a sus diferentes agonistas y antagonistas, lo que permite determinar exactamente el fin de una respuesta biológica. De los tres tipos de receptores —según que su localización esté en la membrana plasmática, citosol o núcleo de la célula— son los de membrana los más estudiados en relación con el Sistema Inmune: así, independientemente de aquellas respuestas originadas a nivel de receptores hormonales que transmiten señales capaces de gobernar el equilibrio entre AMPc y GMPc (124, 683, 936), también nosotros hemos podido comprobar modificaciones en la presencia de dopaminérgicos y sus bloqueadores (729, 814), en respuestas linfoproliferativas y en los distintos niveles de citotoxicidad de células NK producidas por moléculas adrenérgicas (820).

Por otra parte, la disponibilidad de anticuerpos monoclonales frente a moléculas muy específicas permite determinaciones más precisas para conocer el momento, número y nivel de actividad fun-

cional de los distintos receptores que intervienen en una respuesta inmune analizada secuencialmente. Estas determinaciones señalan el comienzo de un posible empleo potencial de anticuerpos mono-específicos frente a moléculas muy particulares para lograr una regulación controlada del Sistema Inmune, intentando bloquear algunas funciones celulares específicas, utilizando estos anticuerpos frente a diversos antígenos de superficie en distintas células inmunocompetentes. Con este propósito, los marcadores y receptores de células T han sido hasta ahora los únicos estudiados (737), debido a que este tipo de células constituyen un complejo y heterogéneo grupo de subpoblaciones linfocitarias que funcionalmente, pueden actuar como iniciadoras, cooperadoras, efectoras o supresoras de una respuesta inmunitaria según sus marcadores (149). Se sabe que las células T iniciadoras, son linfocitos Lyt 1<sup>+</sup>, 2, 3<sup>+</sup> de vida corta, atraen otros linfocitos circulantes hacia la zona de la agresión, amplifican la respuesta y tienen características fenotípicas semejantes a las células reguladoras del circuito inmunológico descrito por Cantor y Gershon (147); estas células pueden ser inhibidas por anticuerpos anti-Thy 1 y complemento (671, 752). Asimismo, se ha buscado modificar la respuesta inmune a nivel de receptores de las células T cooperadoras (Lyt-1<sup>+</sup>, 2, 3<sup>-</sup>) (146), de las T efectoras o citotóxicas (Lyt 1<sup>-</sup>, 2, 3<sup>+</sup> y Lyt 1<sup>+</sup>, 2, 3<sup>+</sup>) (145, 871) y de las T supresoras que pertenecen mayoritariamente al fenotipo Lyt 1<sup>-</sup>, 2, 3<sup>+</sup> (443, 869), aunque también se hayan podido encontrar fenotipos Lyt 1<sup>+</sup>, 2, 3<sup>+</sup> en supresiones inespecíficas (644).

El hecho de que no exista una perfecta correlación entre fenotipo celular y función inmune, hace difícil el propósito de eliminar funciones particulares de la respuesta mediante el empleo de antiseros de este tipo, máxime cuando se ha comprobado que las respuestas inmunitarias son una resultante de interacciones complejas entre distintas subpoblaciones linfocitarias. Ello conduce a otras aproximaciones científicas en las que se busca resolver el problema por modificaciones del equilibrio entre los distintos conjuntos de células particulares o actuando sobre las células precursoras para orientarlas en una dirección prefijada. En este sentido, se ha iniciado una aplicación particular de anticuerpos mono-específicos en la terapia del cáncer (493, 552), ya sean aislados o acoplados químicamente a moléculas citostáticas (691); esta nueva estrategia de bioselección de dianas celulares («targeting» para los anglosajones) que permite conseguir elevadas concentraciones locales del fármaco en células o tejidos específicamente reconocidos, sugiere futuras tendencias de investigación para una potencial estimulación o inhibición de la respuesta inmune tomando como dianas a diversos marcadores de

la red idiotípica (576). Así planteado el problema, quizá la mejor forma de conocer la farmacocinética de estos «peculiares» inmunofármacos sea a través de su incorporación a liposomas.

En relación con estudios inmunofarmacológicos cuantitativos para conseguir definir los procedimientos terapéuticos con fármacos antitumorales, se ha avanzado más en la vertiente farmacocinética que en la farmacodinámica, llegando a precisar bastante las relaciones entre tiempo y concentraciones del fármaco en función de las dosis, frecuencia y ruta de administración; sin embargo, el aspecto farmacodinámico que precisa las concentraciones del fármaco en el sitio del receptor para conseguir una respuesta biológica es mucho menos conocido por las dificultades que entraña medir exactamente y de modo directo las concentraciones de la molécula activa en el sitio del receptor; hasta ahora se miden las concentraciones plasmáticas y se asume que ellas pueden reflejar las que corresponden a nivel del receptor. Según la revisión de Powis, los estudios de biodisponibilidad con algunas moléculas anticancerosas pueden presentar fenómenos de absorción errática o variable como consecuencia de un metabolismo hepático-intestinal alterado (739). Además de esta circunstancia, otros dos factores pueden influir en la farmacodinamia de los agentes antitumorales, según que la interacción fármaco-receptor sea reversible o irreversible y según que la respuesta esté directa o indirectamente relacionada con la concentración. Esta relación dosis-respuesta puede ser compleja y con frecuencia depende de la cinética celular y de ciertos procesos intercelulares no bien conocidos; también puede darse el caso de que el metabolito activo haya de originarse «in vivo» después de ciertos procesos de transformación bioquímica y en ese caso no es posible relacionar las concentraciones sanguíneas del fármaco no ligado, antes de su transformación (o del metabolito activado) con las que existen en los receptores superficiales de la célula (739); en estos casos conviene plantearse si el nivel de respuestas se corresponde mejor con la concentración (c) del medicamento, con la integral de concentración durante un tiempo variable (cxt), con el tiempo de exposición (t), o con cualquier otro parámetro farmacocinético. Según parece cxt resulta de mayor predecibilidad farmacocinética en relación con la respuesta y está inversamente relacionado con la eliminación del fármaco según la fórmula  $cxt = \text{dosis/ml}$ .

Para que la información farmacocinética tenga significación farmacodinámica, es preciso realizar estudios en paralelo con especies animales y en humanos. En cualquier caso las investigaciones farmacocinéticas deben plantearse: a) con respuestas terapéuticas de

una actividad que sea perfectamente detectable; *b*) en estudios clínicos en los que la pauta de administración se cambie de forma que puedan obtenerse respuestas modificadoras según los casos; *c*) siguiendo protocolos de experimentación clínica que comprendan un sólo fármaco y un número significativo de casos, en los que se incluyan pacientes con disfunción hepática o renal en sus estadios tempranos; y *d*) relacionando los parámetros farmacocinéticos de toxicidad y de respuesta terapéutica.

Como en la mayoría de los casos los compuestos utilizables pueden ocasionar efectos tóxicos secundarios, se hace necesario administrar las menores dosis posibles y para ello se ha ideado la utilización de combinaciones de inmunopotenciadores (407); en estos casos, hay que determinar previamente si la combinación de ambos coadyuvantes es sinérgica, aditiva o antagónica en cuanto al aumento de la respuesta humoral o celular y también qué grado de cooperación existe entre ambos compuestos, dependiendo del modo de acción de cada componente.

### **3.2.2. Versatilidad de mecanismos en los modificadores de respuesta inmune**

El gran número de compuestos anteriormente reseñados (Tabla 9) puede intervenir en acciones farmacológicas diversas y en la mayoría de los casos, sin toxicidad significativa, pero lo más destacable es su manifiesta selectividad de acción sobre el Sistema Inmune y que llega a alcanzar a los componentes celulares individuales del propio sistema. Es posible comprobar efectos —entre los producidos por estos agentes inmunomodificadores— capaces de mimetizar actividades tan específicamente inmunológicas como las inducidas por hormonas tímicas, interferones, interleuquinas y otros factores activadores. Esto hace suponer que la inmunoterapia farmacológica alcanzará una utilización parangonable a los tratamientos hasta ahora aplicados en cuadros patológicos relacionados con deficiencias en otros sistemas orgánicos y que, con el uso racional de estos agentes, se podrán conseguir excelentes resultados terapéuticos en aquellos casos en que se detecten disfunciones de linfocitos T o B, de macrófagos, de células NK o allí donde sea necesario aumentar o controlar la función de todos estos inmunocitos.

Pese al gran esfuerzo investigador de inmunólogos, bioquímicos y farmacólogos, el verdadero mecanismo de acción de estos modificadores de respuesta inmune, sigue siendo una incógnita en la



mayoría de los casos, puesto que la respuesta fisiológica está ligada a la integridad funcional del Sistema Inmune y además, este armamentarium de inmunoestimulantes presenta una gran heterogeneidad de efectos, tanto por su nivel de acción inmuno farmacológica —dependiente del tipo de célula diana primariamente sensible— como por el tipo de mecanismo molecular que se pone en juego o por la pauta del tratamiento. Así, las moléculas de ácidos policarboxílicos sintéticos (repletos de cargas negativas), según sea su modalidad de aplicación, pueden variar el sitio de acción y especificidad hasta el punto de que su efecto pueda ser supresor o estimulante; también las inmunomodificaciones terapéuticas, producidas en relación con el timo, pueden variar en sus efectos, intensidad y duración según se trate de preparados tímicos multifactoriales, hormonas monofactoriales aisladas o compuestos timo-miméticos de síntesis; Spreafico nos mostró recientemente en el Simposio de Madrid sobre «Nuevos avances en Inmunología» (913) las diferencias de capacidad de restauración de distintas preparaciones multifactoriales de hormona tímica (TP1) sobre respuestas de hipersensibilidad retardada que habían sido deprimidas por quimioterápicos. Cabe asimismo encontrar la versatilidad del efecto inmunomodulador —como veremos más adelante— en función de que el compuesto actúe preferentemente sobre macrófagos o sobre el variopinto linaje de las células T; inclusive, aun actuando sobre una misma población celular, es posible encontrar diferencias derivadas del mecanismo de acción que se van a traducir en variaciones de actividad de la respuesta inmune.

Al considerar los distintos mecanismos por los que tan numerosos compuestos (Tabla 9) son capaces de actuar sobre el Sistema Inmune hay que diferenciar dos grandes grupos según se trate de compuestos que actúan sobre los circuitos inmuno-reguladores con un efecto positivo o potenciador o bien su acción sea fundamentalmente inmunosupresora.

### I) *Con efectos inmunopotenciadores*

En general cabe señalar que los inmunomoduladores con capacidad preferentemente inmunopotenciadora no suelen exhibir una actividad antitumoral tan manifiesta como la observada para los quimioterápicos citostáticos que suelen ser preferentemente inmunosupresores. Es posible restaurar gran parte de la actividad de células NK, lesionadas por tratamientos con citostáticos inmunosupresores, cuando se administran previamente moléculas inductoras de IFN, y se ha comprobado que las células NK activadas por

IFN pasan a ser más resistentes a radiaciones, ciclofosfamida, ciclosporina, etc.

Si es difícil conocer el modo de acción de moléculas aisladas, lo es mucho más cuando se trata de efectos complejos derivados del empleo de microorganismos o de fracciones subcelulares de ellos obtenidas (804); la activación que producen sobre los distintos componentes celulares del sistema condiciona, con frecuencia, otros efectos indeseables como pueden ser la estimulación de células supresoras, algunas reacciones cruzadas con los tejidos del huésped, etc.

Ante esta imprevisible heterogeneidad de efectos, a cuyo conocimiento se ha llegado por medio de tratamientos, frecuentemente empíricos, revisaremos tan sólo algunas de las actividades y mecanismos de acción que corresponden a aquellas moléculas que sean químicamente definidas. Nuestros resultados sobre respuestas linfoproliferativas «in vitro» con moléculas anfífilas de *Propionibacterium acnes* (602) y con otras procedentes de bifidobacterias (334) demuestran una acción similar a la encontrada «in vivo» con ciertas bacterias anaerobias facultativas entre las que destaca el *Corynebacterium parvum*, por los muchos estudios a que ha dado lugar (188). En todos los casos, los efectos responden a una clara acción estimuladora del sistema reticulo-endotelial (SRE): la administración de estas bacterias, muertas por calor, produce una hepatoesplenomegalia debida a la multiplicación localizada de macrófagos y también, posiblemente, al reclutamiento de monocitos a partir de la médula. Estas bacterias, o sus fracciones, funcionan como un coadyuvante inmunogénico para antígenos T-dependientes, activando los macrófagos e, inclusive, llegan a modular las respuestas humoral y celular. La búsqueda de una definición molecular del agente activo a partir de estas bacterias o de sus fracciones condujo al descubrimiento de moléculas de muramil-dipéptido (MPD) (5), de las que más tarde habrían de sintetizarse varios centenares. Las moléculas de MDP producen una estimulación inespecífica de la respuesta anti-infecciosa del huésped (203) aunque con algunas variaciones que dependen de la estructura del analógo molecular, de la dosis y de la pauta del tratamiento así como de influencias medioambientales; por otra parte, también influye la naturaleza del microorganismo, el grado de lesión patógena y el patrimonio genético del huésped (203). Su mecanismo de acción se caracteriza por una rápida activación de los macrófagos, estimulando su capacidad microbicida y tumorocida con liberación de aniones superóxidos; por tanto, estas moléculas de MDP están in-

dicadas como coadyuvantes asociados a nuevas vacunas, llegando a formar uniones covalentes con antígenos virales sintéticos (284).

Otras moléculas de origen microbiano con aplicación como inmuno fármacos son los polisacáridos: entre ellos, los *lentinanos*, capaces de potenciar las respuestas humoral y celular, a la vez que estimulan la síntesis de IFN y de algunas proteínas séricas que, al condicionar una activación de las células NK, favorecen la defensa antitumoral. Aoki, revisando las distintas actividades biológicas de estas moléculas (25), esquematiza una serie de mecanismos entre los que destacan los incrementos de reactividad de los precursores de células efectoras que responden: a linfoquinas principales (299), al factor activador de macrófagos (MAF), al factor reemplazante de células T (TRF), a interleuquina 2 (IL-2), etc. A su vez, de este aumento de reactividad de las células precursoras, resultan estimuladas la generación de linfocitos T citotóxicos, la de células NK, la de macrófagos activados y la de anticuerpos. El lentinano, en estos casos de inmunopotenciación, puede actuar indirectamente como una segunda señal (209) que origina incrementos de IL-1, que favorecen el paso de células linfoides prematuras a células maduras en presencia de IL-2, MAF y TRF con capacidad para responder a linfoquinas (299). Del mismo modo, las células T maduras generan un factor estimulador de la colonización (CSF) que, secuencialmente, va a producir IL-1. Por otra parte, con los lentinanos, también aparecen incrementos de proteínas de fase aguda en suero (575) que modulan o ponen en marcha respuestas inmunes inespecíficas; no se excluye que en estas activaciones por lentinano pueda actuar también el IFN, como sucede con otros inmunopotenciadores de naturaleza polianiónica. Otros glicanos, como los conocidos dentro de los grupos de *mananos* (771), *glucanos* (375, 705) o *levanos* (441), según sus características, pueden actuar también como inmunomoduladores y pese a su comunidad de composición cada uno tiene su propia personalidad aunque todos tengan la común propiedad de ser lisosomatrópicos (441).

Dentro de las moléculas químicas definidas, obtenidas a partir de microorganismos, merecen mencionarse los preparados *OK-432*, *RU. 41740* y *AM3*. El primero de ellos, *OK-432*, procede de una estirpe poco virulenta de *Streptococcus pyogenes* (771) y tiene capacidad para modular respuestas linfocitotóxicas (622). También aumenta la actividad de células NK y para ello es necesario que exista un metabolismo celular exaltado con síntesis de RNA y proteínas. No cabe responsabilizar al IFN de este efecto, puesto que no resulta inhibido por anticuerpos anti-IFN y tampoco se encon-

tró ningún factor estimulador activo en los sobrenadantes de las células NK. También el preparado *RU-41740*, que es un extracto químicamente definido procedente de *Klebsiella pneumoniae* (913), tiene capacidad para estimular las células NK, encontrándose un cierto tropismo en este efecto, ya que resultan más activadas las poblaciones linfoides de pulmón que las de bazo. En cuanto al AM3 —inmunomodulador obtenido en España —es una preparación semisintética compuesta por un polisacárido de origen fúngico, unido de manera no covalente a una proteína vegetal y todo el conjunto adsorbido en una matriz inorgánica de sulfo-fosfato cálcico (1000). Es activador del sistema reticulo-endotelial, atrae células activadas hacia el foco de lesión estimulando las defensas inmunitarias anti-infecciosas (800), tiene acción a nivel de macrófagos (150) y acelera la recuperación de la actividad citotóxica de células NK en animales previamente inmunodeprimidos (49, 815).

Particular interés tiene un grupo de compuestos naturales de bajo peso molecular entre los que destaca la molécula de *bestatina*, obtenida de filtrados de cultivo de *Streptomyces olivoreticuli* (989), con capacidad para potenciar algunas actividades linfoproliferativas, la síntesis de anticuerpos y respuestas de hipersensibilidad retardada, así como de inhibir el crecimiento de células tumorales en animales. La bestatina, por sí sola, carece de efectos mitogénicos sobre las células T en cultivo, pero sin embargo incrementa la incorporación de timidina en presencia de dosis subóptimas de IL-2 exógena; este efecto parece ser debido a que cuando se estimulan con PHA las células T cooperadoras en presencia de bestatina se manifiesta más intensamente la acción de los receptores de IL-2 y en consecuencia resulta incrementada la sensibilidad a este factor. En cuanto al mecanismo, tan sólo se sabe que inhibe competitivamente la leucinaminopeptidasa y la aminopeptidasa B pero se carece de otros detalles relativos a la intimidad del fenómeno (989).

Existe un activador natural de todas las funciones conocidas de los macrófagos y granulocitos neutrófilos; es la *tuftsin* y su deficiencia en mutantes humanos condiciona la propensión a infecciones. Se trata de un oligopéptido, cuya estructura ha sido determinada (treonina-lisina-prolina-arginina) hasta el punto de ser obtenido por síntesis (658). Este tetrapéptido, procedente del dominio CH2 del fragmento Fc de  $\gamma$ -globulina, mejora la actividad de los macrófagos en la fase del procesado del antígeno y facilita las señales de comunicación en las interacciones con los linfocitos T cooperadores para estimular la producción de anticuerpos. Intracelularmente, en pocos minutos, eleva los niveles de guanílico cíclico

(GMPC) a casi el doble, al mismo tiempo que disminuyen los niveles de adenilico cíclico (AMPC) hasta, aproximadamente, un tercio de los valores control, ocasionando también una estimulación en el flujo metabólico del hexosamonofosfato para producir iones superóxido. Todos estos efectos se traducen finalmente en una marcada actividad tumoricida, estimulación de inmunogénesis y un mayor poder bactericida (657).

La acción inmunopotenciadora se inicia por la unión electrostática de la tuftsina a la célula, seguida de un rápido acoplamiento a receptores específicos existentes en macrófagos y polimorfonucleares, para conseguir la final internalización del complejo péptido-receptor. Estudios con moléculas de tuftsina-tritiada apuntan la posibilidad de que estos receptores puedan acomodarse específicamente a los segmentos nativos del fragmento Fc (658) y siendo inhibido este efecto por tratamientos con neuraminidasa.

Otros activadores naturales de la inmunidad son algunas *vitaminas liposolubles* como la A y E. Relacionados con la vitamina A y carotenos están los *retinoides*, moléculas de alto interés en su aplicación como antineoplásicos (577, 620); estimulan las respuestas linfoproliferativas a PHA e intervienen en la regulación de la respuesta inmune. Según Sidell y cols. (876) los retinoides incrementan la sensibilidad de ciertos timocitos (T3<sup>+</sup> T6 Fc $\mu$ ) a la activación por PHA pero no modifican la proliferación interleuquina-2-dependiente ni afectan a las células accesorias involucradas con la producción de IL-2.

Entre las moléculas de síntesis cuyo efecto modulador se produce también a través de una estimulación del SRE y activación de los macrófagos, existen algunos *policarboxilatos de bajo peso molecular* como el compuesto denominado *NED.137*. Su complejo mecanismo de acción está mediado por los linfocitos T y B, cuya respuesta proliferativa mitógeno-inducida resulta modificada (967). Estos copolímeros del anhídrido etilen-maleico (EMA) producen «in vivo» una disminución pasajera de la síntesis de DNA en cultivos celulares, aunque por otro lado se consiga la restauración de la respuesta en células sintetizadoras de anticuerpos una semana después del tratamiento. Esta molécula se considera como un activador policlonal del sistema linfoide y con capacidad inductora de IFN (609) aunque no existe estrecha correlación entre esta inducción y su actividad antitumoral. En relación con estas estructuras moleculares, también se han sintetizado otras sustancias polianiónicas como la *suramina*, polisulfato utilizado en el tratamiento de tripanosomiasis y oncocercosis, que recientemente se ha demos-

trado como estimulador de las defensas inespecíficas del huésped (126) e inhibidor de las reacciones de hipersensibilidad retardada. Este efecto parece deberse a una activación de células T supresoras, sin afectar a los macrófagos ni a las células B (645).

Existe una cierta semejanza, en cuanto al efecto potenciador para la síntesis de anticuerpos, entre los policarboxilatos de bajo peso molecular y los *copolímeros del pirano* (MVE-1 al MVE-5). El más utilizado es el copolímero cíclico del *eter divinil-maleico* (MVE-2), que actúa sobre funciones celulares dependientes de cationes divalentes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$ ; en función de la dosis, su efecto inmunoprotector beneficioso (1 a 25 mg/kg), puede convertirse en indeseable o tóxico (>50 mg/kg) y la duración del efecto depende del tipo celular (151). A dosis bajas (<25 mg/kg) actúa como inductor de IFN, estimulando sobre todo las células NK y activando los macrófagos; también actúa sobre los linfocitos T, aumentando su cooperación con los B y estimulando las células T citotóxicas; de todo ello depende fundamentalmente su efecto tumoricida sobre desarrollos neoplásicos menores de  $10^5$  células. Entre los efectos no deseados y que se originan utilizando dosis más altas de 50 mg/kg de peso, están la estimulación de células T supresoras, que producen prostaglandinas y que pueden inhibir la respuesta inmune. El mecanismo de activación de macrófagos no es totalmente conocido aunque es posible que dependa de la capacidad de interactuar con los cationes divalentes. Según se ha comprobado, el MVE-2 desreprime o, por el contrario, inhibe la síntesis del DNA en el núcleo de células hepáticas dependiendo de la concentración del ion  $\text{Mg}^{2+}$  (634) y también, en extractos de germen de trigo, puede inhibir la RNA polimerasa DNA-dependiente por mecanismos involucrados en la competición de cationes divalentes (344) de un modo semejante a como el versene (EDTA) inhibe la iniciación y elongación de la cadena de DNA. Aunque no se tiene una evidencia directa, se sugiere que desplazamientos en el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  pueden intervenir en la activación de macrófagos y de linfocitos por el MVE-2 (162, 984). También los otros copolímeros del pirano son inductores de IFN aunque existen pocos estudios sobre ello (151).

La inducción de IFN y posible activación de células NK, junto con la estimulación de macrófagos, siempre han sido consideradas como indicios positivos de una actividad tumoricida y tumorostática: este es el caso de algunas moléculas de *aminas lipóideas* (417) cuyas propiedades recuerdan a algunos lípidos naturales de membrana. Estos compuestos inducen una resistencia antiviral

mediada por IFN, además de su acción anti-tumoral y como coadyuvante inmunitario. Sus propiedades varían en función de la estructura molecular que responde a cuatro tipos representativos:

NN-diacetadecil,N'-N'bis, (2-hidroxietil) propanediamina (CP20.961).

NN-dihexadecil-m-xililenediamina (CP28888).

3,5-dihexadeciloxi-n-etilbenzilamina (CP34315).

4-aminometil-1-(2,3-(di-n-deciloxi)-n-propil)-4-fenilpiperidol (C46685).

En su ensayo biológico hay que recurrir a formulaciones especiales con aceites y sustancias liposolubles, para conseguir suspensiones homogéneas que faciliten su absorción por el organismo, en la que también influye la ruta de administración (984). Su mecanismo inmunomodulador, relacionado con la inducción de un IFN ácido-lábil, es difícil de investigar puesto que sus efectos se producen únicamente «in vivo» y por medio de interacciones cooperadoras entre macrófagos y linfocitos. Sin embargo, el efecto antitumoral no es debido al IFN sino a la eliminación del estado de anergia del huésped que padece el tumor.

Otros compuestos sintéticos inductores de IFN son la *tilorona* y sus análogos moleculares (193) y algunos *nucleótidos policíclicos* (622). La *tilorona* es capaz de estimular la respuesta humoral frente a antígenos T-dependientes y T-independientes en cuanto a sus niveles de inmunoglobulinas, tanto de IgG e IgM como de IgE, aunque deprime las respuestas celulo-mediadas y las de hipersensibilidad retardada (601). Es una molécula interesante en cuanto que puede utilizarse como coadyuvante en vacunas, cuando se administra simultáneamente con el inmunógeno y porque puede producir dos tipos de IFN según las condiciones experimentales (319). Su administración condiciona un paradójico efecto inmunomodulador en el que se deprimen las células T, en el momento preciso de la respuesta a las células presentadoras del antígeno (CPA), mientras que los linfocitos B no resultan afectados y pueden responder a estas CPA. No se conoce el verdadero mecanismo de acción de la *tilorona* ni las sutilezas de su comportamiento frente a las distintas subpoblaciones de células T y sus interacciones celulo-mediadas, que pueden modificarse según la sensibilización producida, tiempo de administración del fármaco y tipo de lesión ocasionada (601). En cuanto a los otros compuestos inductores de IFN, los nucleótidos policíclicos *poly A: U* y *poly I: C* (622), son potentes inductores de IFN con capacidad para modular las reacciones de linfocitotoxicidad; con el segundo de ellos (*poly I: C*) aumenta significativamente la actividad de células NK.

Otro tipo de mecanismos de acción molecular de gran interés son los desarrollados por inmunomoduladores que afectan específicamente al linaje de las células T; entre ellos citaremos a la *timosina* y moléculas relacionadas (566), a algunos *thio-compuestos* afines a la molécula de *levamisol* (15, 769, 771) y también los *inosin-derivados* como *isoprinosina* y *NPT-15.396* (983). En cuanto al primer grupo citado, las timosinas, constituyen una mezcla de varios componentes; y según se ha demostrado con la timosina F5, éstas actúan sobre distintas subpoblaciones de células T durante su maduración: la timosina  $\alpha_7$  transforma las células T inmaduras en supresoras, mientras que las timosinas  $\beta_3$  y  $\beta_4$  intervienen en estadios tempranos de maduración de las células de médula TdT<sup>-</sup> para formar protimocitos TdT<sup>+</sup>. Existen distintos factores tímicos como la timulina, timopoyetina, ubiquitina, FTS, THF y PTH (566), que pueden inducir «in vitro» la aparición de distintos antígenos superficiales de células T (Thy, Ly, 1, 2, 3) en distintas células precursoras y actuar como inmuno-restauradoras «in vivo». Las interrelaciones de estos compuestos con el sistema nervioso central (7, 659) y con el sistema reproductor (370, 760) proporcionan una aproximación definitiva al tratamiento de algunos cuadros de patología endocrina.

El levamisol presenta una actividad timomimética mediada por un factor sérico independiente del timo funcional. En esta molécula la mitad imidazólica estimula «in vitro» la función de las células T periféricas y macrófagos, mientras que el grupo thiol influye decisivamente en las variaciones del potencial redox (15). Su mecanismo de acción podría estar relacionado con alteraciones en la distribución del Ca<sup>2+</sup> intracelular, por la estrecha relación existente entre este catión y la actividad de los nucleótidos cíclicos; y la inducción de guanílico cíclico (GMPC) podría explicar el mecanismo de activación de linfocitos y macrófagos humanos en presencia de fitohemaglutinina (PHA) e interleuquina, respectivamente. Tanto el levamisol, como el timosin-pentapéptido (TPS), son capaces de antagonizar «in vitro» la acción anti-fosfodiesterásica de teofilina y adenosina (15).

Dentro de este grupo de inmunomoduladores sintéticos conteniendo azufre en su molécula, existen otros compuestos de interés entre los que destacan por su peculiar relación con el neocortex cerebral la molécula de *dietilditiocarbamato sódico* (DTC) (769), que actúa sobre las células T periféricas y a la que se llegó después de intensos estudios sobre la ambivalencia del levamisol (775). La capacidad inmuno-restauradora del DTC sobre la regulación inmunitaria depende más de la relación entre las respuestas inducidas por dos



lectinas PHA/Con A) que de la propia intensidad de las respuestas blastogénicas, medidas por incorporación de timidina (783). También incrementa la citotoxicidad natural (NK), dependiendo de la dosis y edad del huésped, pero a intervalos de tiempo distintos a los regidos por IFN, el cual es incapaz de ser inducido por el DTC. Su mecanismo se identifica con el reemplazo de señales que regulan los últimos estadios en la maduración y diferenciación de pro-timocitos a células Thy-1<sup>+</sup>; según se ha comprobado en ratones atímicos (nu/nu) esta estimulación la realiza a partir de un factor (*hepatosina*) que es específico para células T y cuya síntesis tiene lugar en el hígado. Se ha comprobado que el neocortex ejerce cierta influencia en los estadios tempranos de diferenciación de células T y que el efecto del DTC se produce indirectamente a través de una estimulación controlada por la red del sistema nervioso central, que a su vez influye en el sistema endocrino para estimular en el hígado la síntesis de factores hormonales específicos que actúan sobre el linaje de células T: así el DTC estimula la aparición de antígenos Thy-1 y recluta células Thy-1<sup>+</sup> a partir de precursores pre-sensibilizados.

Vistas las propiedades inmunomoduladoras de estos thiocompuestos, se han sintetizado casi un centenar de *thiazolobenzothiazoles* y *thiazolobenzimidazoles*. De ellos, han destacado tres moléculas (*Wy-18.251*, *Wy-40.453* y *Wy-43.502*) por su efecto potenciador sobre la inmunidad celulo-mediada, además de su capacidad para estimular las respuestas linfoproliferativas a Con A y PHA e incrementar la producción de interleuquinas (346). El derivado benzothiazolico *Wy-18.251* interviene en la maduración de pro-timocitos de modo semejante a la timosina (256), no tiene efecto sobre las células B, si bien estimula la respuesta humoral y potencia la actividad fagocitaria específica de macrófagos peritoneales sensibilizados (346). En cuanto a los otros dos compuestos (*Wy-40.453* y *Wy-43.502*), en asociación mesoiónica, tienen un marcado efecto inhibitor sobre la difusión de metástasis (1044). En este tipo de compuestos hay que tener muy en cuenta la relación concentración/actividad para evitar efectos bifásicos indeseables, ya que dosis excesivas pueden resultar inactivas o estimular el crecimiento de metástasis (256, 346).

Existen otros inmuno-restauradores que también afectan particularmente a las células T y si se tiene en cuenta que existen inmunodeficiencias asociadas a defectos de adenosin-deaminasa, su mecanismo de acción podría estar relacionado con la presencia de inosina en su molécula. Entre estos compuestos, el más conocido y empleado en principio como antiviral, es la isoprinosina (inosiplex o methiso-

prinol) (641, 642, 665) cuyo perfil inmunofarmacológico fue estudiado por Simone (232); actúa como una hormona tímica estimulando la diferenciación de pro-timocitos y la sensibilización de receptores específicos en células T. Asimismo, potencia la respuesta fagocitaria de macrófagos mediante modulación de sus receptores y estímulo de la proliferación linfoquina-inducida con lo que potencia su función microbicida. «In vivo», se han descrito incrementos en las respuestas celular y humoral condicionadas, posiblemente, por su acción sobre células T cooperadoras (664) particularmente en animales inmunodeprimidos (807). La isoprinosina puede actuar en combinación con IFN, tanto frente a infecciones virales (400) como a tumores, y también afecta variablemente a granulocitos y células NK (983); asimismo se han encontrado interesantes efectos de inmunopotenciación en respuestas de hipersensibilidad retardada (807). No se conoce exactamente su mecanismo molecular aunque se sabe que aumenta los niveles de RNA total y del RNA mensajero de los linfocitos, cuando están deprimidos por una infección viral, en tanto que bloquea el mRNA del virus (664); este compuesto es capaz de potenciar la producción de las interleuquinas IL-1 e IL-2 (400) y también de producir IFN, tanto «in vitro» como «in vivo», mientras que el compuesto NPI-15392 (similar a la isoprinosina), induce IFN únicamente «in vitro». Tratamientos «in vivo» con NPT-15392 a dosis bajas (10-100 µg/kg, i.p.) tienen efectos variables sobre las respuestas linfoproliferativas inducidas por mitógenos de células T (Con A, PHA), ya que estimula esta respuesta en animales con índice blastogénico bajo y la deprime cuando este índice es alto en los controles normales: este fenómeno fue también observado por nosotros con isoprinosina sobre ratones Balb/c (807). «In vitro» y con dosis aún más pequeñas (0,01 a 10 µg), se induce la formación de células T supresoras, cuya aparición no está influida por IFN, que no se detecta en los sobrenadantes de los cultivos (622), ni por prostaglandinas porque el efecto no se bloquea por tratamientos con indometacina y cimetidina. Como la isoprinosina, el NPT-15.392, induce la aparición de marcadores Thy-1 en células inmaduras, modula las reacciones de una variedad de linfocitos T y de monocitos (622). Su mecanismo de acción apunta también a una intervención en el metabolismo del RNA según se ha comprobado por medidas de refringencia nuclear en células de animales tratados con este compuesto.

## II) *Con efectos inmunosupresores*

Hasta aquí hemos estado revisando diversas actividades y mecanismos de acción de inmunoterápicos con efectos estimulantes inespecíficos sobre la respuesta inmune cuya aplicación potencial es

extraordinaria. Sin embargo, quizá sean las moléculas inmunosupresoras las más ampliamente utilizadas en clínica para resolver problemas relativos a cuadros patológicos de hipersensibilización y de autoagresión, evitar el rechazo de trasplantes y establecer una terapia inmunosupresora en el control de neoplasias. Entre estas últimas moléculas, los citostáticos, al igual que los inmunopotenciadores, son capaces de afectar a las células en su regulación modificando la expresión de los receptores de membrana o su estructura, o bien alterando la producción de linfoquinas u otros mediadores. Así, en términos generales, los mecanismos podrían diferenciarse en tres modalidades que, además, no son excluyentes entre sí: *a*) estimulación de la capacidad funcional de distintas poblaciones linfoides con acción antineoplásica, como sucede con las células NK y los alcaloides de la Vinca o con los monocitos-macrófagos y los compuestos de platino y las antraciclinas; *b*) modificación fenotípica o desmascaramiento de los antígenos superficiales de las células tumorales, en un proceso de «xenogeneización», que facilite su rechazo inmunológico por el huésped singéico; y *c*) aumento de la sensibilidad de las células neoplásicas a la lisis por anticuerpos y a distintos tipos de inmunocitos. Entre los inmunosupresores habitualmente utilizados destacan los esteroides, ciclosporina A, ciclofosfamida y los derivados de la cianoaziridina.

La amplia utilización de *glucocorticoides* en enfermedades inmunitarias y en procesos inflamatorios, ha desembocado en el diseño de gran número de compuestos de síntesis en los que existe elevada potencia anti-inflamatoria con un mínimo efecto secundario mineral-corticoide y una actividad inmunosupresora variable, dependiendo de su estructura molecular (316, 343, 523, 570). La acción de los corticoides sobre el Sistema Inmune ha sido ampliamente estudiada (190, 695) aunque existen diferencias de actividad no bien conocidas. Langhoff y Ladefoged (530), en ensayos «in vitro», han pretendido aclarar la heterogeneidad de efectos tomando como patrones a tres tipos de moléculas: *a*) fluorohidrocortisona y metilprednisolona, que son altamente activas en la supresión de respuestas linfoproliferativas PHA-inducidas en linfocitos T; *b*) cortisona, dehidrocortisol y tetrahidrocortisol, que tienen escasa actividad; y *c*) hidrocortisona, con una potencia intermedia. Sus estudios en relación con la sensibilidad de células T, células K y células NK revelan una gran heterogeneidad de comportamiento entre las distintas subpoblaciones suprimidas, sobre todo frente a las moléculas más activas, lo que habrá de tenerse en cuenta a la hora de hacer una aplicación terapéutica discriminadora.

Otro fármaco que interfiere con procesos inflamatorios inmuno-mediados y cuyo estudio es interesante como agente antilinfocitario, es la *ciclosporina A*; este compuesto actúa fundamentalmente sobre las células T cooperadoras e inhibe directamente la blastogénesis de las células T y B; por otro lado, deprime rápidamente la actividad de las células NK, sin influir la presencia de células T, B o macrófagos como sucede con ciclofosfamida o azatioprina. Las bases moleculares de la actividad ciclosporínica, según revisan Jacobs y Eglin (440), residen en una interferencia ligada a la liberación de interleuquinas, actuando en estadios muy tempranos de la respuesta inmuno-mediada frente a antígenos extraños. Su mayor efecto es sobre las células T cooperadoras, durante la liberación de IL-2, el cual se inicia por un bloqueo de IL-1 a nivel de macrófagos y que termina por impedir la generación de linfocitos T citotóxicos.

Aunque parezca paradójico existen compuestos inmunosupresores que pueden dar lugar a una potenciación de la respuesta inmune, como es el caso de la *ciclofosfamida* (738), uno de los mejor conocidos por ser de los más empleados. Este compuesto no tiene efectos «in vitro»; sin embargo, después de su administración oral o por vía endovenosa aparecen los metabolitos citotóxicos en el suero. Se ha comprobado que la molécula sufre una transformación por oxidasas hepáticas de función mixta, apareciendo la 4-OH-ciclofosfamida, que es altamente citotóxica y está en equilibrio dinámico con la aldofosfamida, que se descompone en *mostaza de fosforamida* y *acroleína*; por otra parte, se forma carboxifosfamida, que da lugar a *mostaza nornitrogenada*, que junto con las dos anteriores y la 4-OH-ciclofosfamida constituyen los metabolitos citotóxicos altamente alquilantes sobre las bases del DNA (987); de aquí que las células sean más sensibles en las fases G<sub>1</sub> y S, que es cuando hay síntesis de DNA, aunque haya ocasiones en que también se produzca lesión celular en las fases de reposo del ciclo biológico.

En determinadas condiciones, puede actuar como inmunopotenciador en dermatitis alérgicas, en casos de hipersensibilidad retardada a productos microbianos y a proteínas solubles; también, en ocasiones, puede estimular la respuesta en anticuerpos, particularmente las IgE (987). El factor crítico que determina si la ciclofosfamida deprime o potencia una respuesta inmune en estos sistemas experimentales es el momento de administración del fármaco en relación con el antígeno: si se administra dos días antes, potencia; mientras que si es dos días después, suprime. En cuanto al mecanismo de acción de la ciclofosfamida, se distinguen por su sensibilidad a la hidroxilciclofosfamida (4-HP-CY) dos poblaciones de células T

de bazo: una capaz de transferir hipersensibilidad adoptiva ( $T_{DH}$ ) y otra que suprime esta reacción DTH ( $T_s$ ). El primer tipo de células resiste 3  $\mu\text{g/ml}$  de 4-HP-CY, mientras que las segundas son sensibles a 1  $\mu\text{g/ml}$ . Según Schwartz y cols. (72) la ciclofosfamida aumenta la respuesta de hipersensibilidad retardada (DTH) a eritrocitos cuando la dosis de antígeno es supraóptima, pero la deprime cuando es óptima y suponen que esto obedece a una depresión de las células T amplificadoras (capaces de amplificar la reacción de DTH como de suprimirla, según los casos). Dicha hipótesis supone que esta molécula suprime respuestas destinadas a ser fuertes y aumenta respuestas destinadas a ser débiles; lo que realizaría por una depresión selectiva de distintas células T supresoras (72).

El *azimexon* (242), es otro inmunosupresor con capacidad inmunopotenciadora. Su administración, dependiendo de la dosis, puede dar lugar a tres acciones inmunofarmacológicas: *a*) una estimulación de las células NK (con dosis inferiores a 25 mg/kg); *b*) una estimulación de las células T supresoras ( $T_s$ ), que condiciona un descenso en el número y actividad de las células T cooperadoras ( $T_H$ ), contrarrestando la actividad de las células NK, y *c*) si se eleva aún más la dosis ( $> 25$  mg/kg), se producen cambios en los eritrocitos con aparición de los cuerpos de inclusión de Heinz, anemia hemolítica y esplenomegalia (622). No se sabe de cierto si la acción sobre las células  $T_s$  es directa o se produce como consecuencia de un bloqueo del sistema reticuloendotelial (SRE) por la presencia de hemosiderina. Se ha comprobado que la estimulación de  $T_s$  o disminución de  $T_H$  (medida por incorporación de timidina después de su activación con PHA) coincidía con una inhibición de la función SRE medida por fagocitosis con partículas de carbón. El hecho de que el *azimexon*, en lugar de producir depresión leucocitaria como otros citostáticos alquilantes, produzca incrementos dosis-dependientes de leucocitos hace pensar en que su actividad antitumoral se origina por mecanismos inmunológicos y que este incremento producido, a dosis altas, sea un mecanismo de retroalimentación para contrarrestar la anemia hemolítica a partir de la médula.

En este caso de los citostáticos inmunosupresores, aunque se conozcan perfectamente sus estructuras moleculares, no se vislumbra el verdadero mecanismo de acción por la ausencia de sistemas bioquímicos adecuados que definan la regulación de la respuesta en función del accidente molecular que produce el compromiso inmunológico. Sin embargo, Kazmer y cols. (483) han intentado hacer una clasificación del efecto de distintos agentes inmunosupresores atribuyendo sus efectos a inhibición de adenosin-deaminasa (ADA)

o purin-nucleósido-fosforilasa (PNP). Sus resultados indican que *methotrexato*, *chlorambucil* y *1-β-D-arabinofuranosilcitosina* son más tóxicos para las células T que para las B, mientras que *azathioprina*, *5-mercaptopurina*, *5-fluorouracilo* y *6-thioguanina* son altamente tóxicos para ambos tipos de células T y B. Ciclosfosfamida y oxipurina son linfotóxicos tan sólo a partir de concentraciones superiores a 300 μM. Ninguna de las moléculas ensayadas inhibió en linfoblastos T o B la actividad de los enzimas ADA y PNP: el procedimiento es recomendable para distinguir entre capacidad inmunosupresora y linfocitotoxicidad de moléculas citostáticas.

La heterogeneidad de acción entre las moléculas citostáticas que pueden funcionar como inmunopotenciadoras tiene importante consecuencia para su utilización en clínica; será crucial el planteamiento de estudios farmacodinámicos que determinen las curvas dosis-respuesta y alerten sobre la posibilidad de efectos bifásicos dosis-dependiente; asimismo, en estos estudios deberá tenerse en cuenta otra heterogeneidad debida a circunstancias locales según la fisiopatología de los distintos órganos, ya que, por ejemplo, los macrófagos alveolares del pulmón son más sensibles a la supresión que los macrófagos esplénicos. Esta información definirá las ventajas del empleo de un compuesto en lugar de otro, según las condiciones de tratamiento. Antes de llegar a la aplicación clínica de un citostático, por ejemplo, será conveniente determinar su perfil inmunofarmacológico sobre las distintas subpoblaciones linfocitarias y comparar la inhibición de células precursoras y efectoras en relación con la actividad supresora que controla una respuesta humoral (Ts-abs) y una celular (Ts-dth) para un mismo antígeno; esto, según indica Spreafico (913), permite diseñar los niveles de sensibilidad relativa entre las distintas células inmunocompetentes. Esta diferente sensibilidad de las células integrantes de los circuitos reguladores de la respuesta inmune explica que, en ciertas condiciones de tratamiento, puedan actuar como inmunopotenciadores algunos fármacos que originariamente son citotóxicos inmunosupresores.

### 3.2.3. Aproximación farmacológica a la moderna Inmunoterapia

En la pasada década, la clásica inmunoterapia, que empleaba como inmunógenos los propios microorganismos muertos o atenuados, recibió un gran respaldo con los intentos de eliminación inmunológica de los focos residuales de tumores que hubieran podido persistir después de ablación quirúrgica o de tratamiento quimioterápico. Fue el Profesor Mathé, en París, quien realizó el primer

intento clínico de atajar una leucemia linfoblástica aguda por inmunoterapia anticancerosa (597) y muchos otros los que le siguieron en su empeño con esta terapéutica (451, 663). Con estos resultados, aunque no se alcanzó el sueño de la total eliminación de los cuadros neoplásicos, al menos sí se fijaron algunas bases importantes de conocimiento como las destacadas por Hadden (364): *a)* relación entre prognosis tumoral e inmunocompetencia del huésped; *b)* limitaciones de la inmunoterapia anti-tumoral inespecífica; *c)* dificultades en la manipulación de la inmunocompetencia; *d)* necesidad de superar, mediante inmunoterapia, los mecanismos supresores que dificultan el rechazo del tumor, y *e)* toxicidad y ambivalencia de las preparaciones microbianas que pueden hacer fracasar la inmunoterapia antitumoral inespecífica.

Diseños en el escrutinio de inmunomodificadores para el tratamiento del cáncer han sido racionalmente considerados por Fidler y cols. (282); también Prehen (740) ha puesto de manifiesto ciertas anomalías en las curvas dosis-respuesta relativas a la defensa inmunitaria frente a tumores, especulando sobre las relaciones edad/tipo de cáncer y edad/reacción autoinmunitaria, que puede igualmente tener su origen en alteraciones de la regulación inmune. En estos estudios de inmunoterapia anti-neoplásica es muy importante conocer el origen e inmunogenicidad de las células cancerosas para poder tener en cuenta los antígenos tumor-asociados (TAA) que van a servir de diana a la reactividad inmunológica del huésped (1035): esto va a servir de base a modelos en los que se combina la quimioterapia con la transferencia de células T inmunes y que parecen ser efectivos en síndromes experimentales de malignidad singeneica (205).

En relación con la inmunoterapia anti-infecciosa y con algunos aspectos farmacológicos de la inmunoterapia de cuadros patológicos relacionados con la regulación del Sistema Inmune (infecciones crónicas, enfermedades auto-inmunes, inmunodeficiencias, senilidad, etc.) se han logrado éxitos mucho más espectaculares que han abierto de par en par las puertas de una «nueva Inmunoterapia» de la que se espera la posibilidad de alcanzar la meta fijada por la Asamblea General de la OMS en 1977 de conseguir... «*salud para todos en el año 2000*». Existen varias razones que justifican el nacimiento de una moderna inmunoterapia, cada vez más alejada de la clásica, cuyos fundamentos son: *a)* los avances en el conocimiento y aplicación de los mecanismos moleculares de la inmunidad; *b)* la clonación de genes individuales en células eucariotas para conseguir moléculas biológicas muy activas y altamente purificadas; *c)* la in-

mortalización de híbridos celulares con capacidad para secretar continuamente anticuerpos monoespecíficos e invariables; y *d*) la aplicación de secuenciadores y computadoras al desarrollo de genes y oligopéptidos sintéticos. Todo ello conduce a la preparación de factores inmunomoduladores (670); vacunas sintéticas (30) y anticuerpos muy específicos transportadores de fármacos selectivos que como «misiles biológicos programados» puedan localizar de un modo infalible las dianas moleculares más escondidas y así destruir la célula tumoral o interceptar comunicaciones en la red idiotípica para modificar la respuesta inmune (285).

### I) *El empleo de vacunas en la actualidad*

Pese a los adelantos conseguidos en vacunoterapia no se han llegado a sustituir totalmente algunos de los procedimientos inmunoterápicos más clásicos, los cuales se utilizan todavía en los países en vías de desarrollo con propósitos de eliminar infecciones endémicas: se trata de la administración de vacunas combinadas o de la inoculación simultánea de dos o más vacunas con distinta localización. En esta inmunización combinada o simultánea será preciso investigar algunos posibles fenómenos de interferencia o hiperactividad, aunque hasta ahora la literatura no ha señalado ningún aumento de reactividad por encima de la que pueda corresponder a un fenómeno de superposición, ni tampoco de interferencias, salvo que se trate de virus vivos (694). La protección inmunitaria frente a la infección bacteriana crónica es un tema que ha recibido particular atención (524): en estos casos, conocer las peculiaridades de la interacción parásito-huésped puede suministrar datos de interés para la problemática de inmunomodulación, teniendo en cuenta también que en el resultado final intervienen tanto factores genéticos (204, 720) como nutricionales y del medioambiente (134). El desequilibrio de esta interacción estará influido por mecanismos de supervivencia intracelular del microorganismo y la mayor o menor efectividad de una respuesta inmune celulo-mediada (573). Todavía no se han encontrado antígenos definitivamente protectores en muchas infecciones crónicas, pero sí se conocen los requerimientos para lograr la respuesta vacunante celulo-mediada, ésta se resume en que el inmunógeno ha de producirse en el estado intracelular y ha de ser presentado por los macrófagos, consiguiendo promover la activación de un conjunto apropiado de células T. Cualquier fallo en una de estas premisas producirá estímulos alterados, incapaces de poner en marcha la secuencia de acontecimientos apropiados para lograr la respuesta inmunitaria adecuada.



Cabe admitir que la nueva inmunoterapia tenga sus orígenes en la tecnología del fraccionamiento celular, lo que ha permitido utilizar como inmunógenos paredes celulares, fracciones ribosómicas e incluso moléculas definidas. Está suficientemente demostrada la potencia vacunante de polisacáridos capsulares (453) así como de fracciones ribosomales procedentes de distintas bacterias (254, 255), aunque existen conflictos de opinión en cuanto a la molécula que soporta la actividad inmuno protectora de estas vacunas. Así para Eisenstein (253), ciertas porciones contaminantes de antígeno O son los verdaderos determinantes antigénicos de las vacunas ribosomales de estirpes isogénicas de *Salmonella* por él preparadas, mientras que otros responsabilizan del efecto protector a ciertas fracciones proteicas o de ácidos ribonucleicos (970, 972); lo cual no es sorprendente, dada la fuerte afinidad molecular que existe entre lipopolisacáridos y ácidos nucleicos (674) y el que se puedan obtener altos niveles de anticuerpos frente a proteínas aisladas o frente a proteínas asociadas a policáridos de *Neisseria meningitidis* (1069).

El mecanismo de acción de estas vacunas ribosomales se orienta a suponer la existencia de una acción moduladora sobre la respuesta del huésped (255) en la que se pueden estimular las interacciones entre macrófagos y células T cooperadoras sin aparente modificación de las respuestas mediadas por células B (792). Además de las aplicaciones vacunales clásicas, se ha propuesto el empleo de vacunas ribosomales de *Streptococcus mutants* para la protección de caries dental (428) y también de otras bacterias, como inmunoterapia en asma bronquial (941). Antes de realizar la aplicación clínica de este tipo de vacunas debe conocerse cual es su peculiar modo de acción y para ello es imprescindible desarrollar experimentos de transferencia con suero y con células de bazo (792), comprobando así si la respuesta inmunitaria desarrollada es humoral —como en estreptococos— o celular, como en *Klebsiela*. Ensayos de transferencia inmunitaria con preparaciones de RNA se han realizado «in vitro» (117) e «in vivo» (50, 350), consiguiendo resultados similares a los obtenidos con linfocitos T (830) para comprobar en qué células reside la memoria inmunológica frente a ciertas infecciones.

Muchas de las vacunas registradas comercialmente contra enfermedades virales —producidas por virus vivos, mutados o atenuados—, han producido espectaculares resultados en la total erradicación o disminución de la incidencia de enfermedades como la viruela, varicela, sarampión, rubeola, parotiditis, poliomiélitis, etc., pero su empleo no está exento de un cierto índice de riesgo que la moderna

Inmunoterapia está intentando superar mediante Biotecnología. En las nuevas vacunas —idealmente concebidas— se pretende utilizar tan sólo aquellas moléculas inmunogénicas capaces de desencadenar una protección inmunitaria eficaz, prescindiendo de otros componentes virales que puedan originar efectos secundarios indeseables. Entre las subunidades virales más apropiadas para desencadenar la protección inmunitaria se encuentran los *peplómeros* (proteínas de la envuelta viral) (638), que pueden obtenerse con forma física de micelas o monoméricas para, después reconstituirlas en vesículas lipídicas conocidas como *virosomas* o *inmunosomas* (709). Se ha comprobado que las formas monoméricas tienen escaso poder inmunogénico e incluso pueden presentar un efecto inmunosupresor (639). Morein y cols. han ideado un nuevo tipo de complejo inmunogénico de proteínas de membrana viral acopladas al glicosido Quil A; estas estructuras semisintéticas, denominadas «*iscomas*» (640), producen títulos de anticuerpos diez veces superiores a los obtenidos con las preparaciones micelares (639). Se ha comprobado que, en los inmunosomas, las glicoproteínas conservan la misma orientación molecular que en la partícula viral y así sus epítomos particulares tienen la misma accesibilidad (709).

Con las posibilidades actuales de producir masas de antígenos virales mediante tecnología de ADN recombinante (42, 546, 706) cabría la posibilidad de preparar gran variedad de estas subunidades vacunales (133, 317); sin embargo, estos inmunógenos puros, no son todavía plenamente satisfactorios por el elevado coste de su preparación, dada la gran cantidad de dosis vacunales necesarias para inducir una adecuada inmunidad. Con el fin de obviar estas dificultades, se intenta la unión química de las cadenas polipeptídicas a diversos ácidos grasos y así conseguir compuestos anfifílicos que más tarde serían incorporados a los liposomas (870). Este mismo criterio científico cabe aplicarse a péptidos sintéticos, cuya utilización como fármacos e inmunógenos específicos es otra de las líneas de investigación aplicada (117; 281) que se abre en este abanico de posibilidades de la moderna Inmunoterapia.

En la práctica, el hecho de que cualquier región de la superficie de una proteína sea capaz de inducir la síntesis de anticuerpos contra esa proteína señala el camino para el diseño racional de vacunas sintéticas y, así, conociendo una secuencia determinada de nucleótidos es posible averiguar la secuencia de aminoácidos de la proteína correspondiente y seleccionar la región de mayor interés para conseguir un efecto biológico o una protección inmune determinada (545). Nuestro grupo de trabajo a partir de tetradeca- y pentadeca-péptidos

sintéticos ha obtenido anticuerpos monoclonales capaces de reconocer moléculas de IFN  $\alpha$  y  $\gamma$  humanos. No todos los péptidos son antigénicos en la misma medida, al depender de la hidrofobicidad parcial de alguna de sus regiones, y son reconocidos por los anticuerpos según la configuración espacial y movilidad de la región polipeptídica que facilita sus interacciones antígeno-anticuerpo (4).

En investigación básica los anticuerpos anti-péptido son útiles para la caracterización de las regiones específicas que definen el comportamiento de una proteína, para localización de productos génicos en determinadas células y organelas y para identificación de funciones enzimáticas (872); en investigación aplicada pueden utilizarse en el diseño de vacunas sintéticas altamente específicas (199, 498, 545). La fabricación de péptidos sintéticos, predecibles a partir del conocimiento de la secuencia de bases, permite disponer de péptidos químicamente puros y estables (547, 944), cuya hidrofobicidad y capacidad inmunogénica habrán de determinarse en estudios subsiguientes. Con frecuencia, los anticuerpos anti-péptido así programados, en su estado de solución, reaccionan con estructuras proteicas nativas y tienen la propiedad de adoptar distintas conformaciones moleculares o de variar la orientación de sus cadenas sobre la superficie de la molécula; de este modo, el anticuerpo anti-péptido es capaz de bloquear una conformación particular, inducida a su medida o adaptar a ella sus propios sitios de combinación (546).

El camino hasta el logro final está siendo largo y costoso ya que es necesario clonar —en un vector molecular apropiado— el gen codificador de la proteína diana que va a ser reconocida por el anticuerpo neutralizante; para ello, hay que disponer también de vectores que contengan todas las secuencias de bases requeridas para la transcripción, traducción y expresión del polipéptido en bacterias, levaduras o células de animales superiores; y después, en los casos de producción positiva hay que purificar la proteína secretada al medio extracelular. Todas estas secuencias peptídicas de antígenos protectores, sintetizados artificialmente o por ingeniería genética, tienen una masa molecular tan relativamente pequeña que es necesario estimular —o producir «de novo»— su capacidad inmunogénica. Para ello deberán incluirse dentro de conjugados inmunopotenciadores, en los que se asocia una proteína portadora y un inmunoadyuvante, o insertarlos por medio de secuencias hidrofóbicas entre bicapas lipídicas artificiales (liposomas) (924).

La necesidad de conseguir coadyuvantes desprovistos de toxicidad y de efectos secundarios (pirogenicidad, poliartritis, abscesos

locales, etc.) llevó a más de 200 científicos de todo el mundo a reunirse periódicamente en Bethesda, para tratar del tema... «potenciación de la respuesta inmunitaria frente a vacunas» (250). La existencia de inmunorreguladores sintéticos de bajo peso molecular abre posibilidades de diseñar coadyuvantes capaces de actuar sobre compartimentos preseleccionados del Sistema Inmune. Por el momento, los coadyuvantes más recomendados son de tres tipos: muramil-dipéptidos, polinucleotidos y liposomas. De ellos, los primeros, son quizá los que ofrecen mayores posibilidades como moduladores pero tienen el inconveniente de su elevado costo; también se utilizan muy distintas moléculas, unas aisladas de microorganismos (lipopolisacáridos, glicopéptidos, etc.) (250), otras sintéticas (pentaclorofeno, toxafeno) o derivados inorgánicos (plomo, selenio) (508) y emulsiones oleo-acuosas estables que se asocian a los coadyuvantes lipofílicos tensioactivos (1053). Estructuralmente, estos últimos surfactantes lipofílicos, tienen una gran región hidrofóbica ligada a una pequeña región hidrofílica, son insolubles en agua y deben utilizarse junto con vehículos lipofílicos inertes de escasa viscosidad y rápidamente metabolizables; entre ellos destacan moléculas de dimicolato de trehalosa (TDM), el lípido A de lipopolisacáridos y ciertos tensioactivos hidrofóbicos de carácter polimérico (430). En cuanto a sus mecanismos de acción, que son desconocidos, parecen centrarse sobre los macrófagos en su interacción con las células B obviando requerimientos de células T cooperadoras (T<sub>H</sub>) y también, sobre distintas subpoblaciones de linfocitos T, activando particularmente las células T<sub>H</sub> o inhibiendo las T supresoras. Uno de sus efectos puede ser, durante el procesado antigénico, la liberación de un factor que estimula la proliferación de linfocitos en las áreas timo-dependientes y favorecer por tanto, indirectamente, la formación de anticuerpos al provocar una mayor sensibilización de estas células T. Según Koller y cols. (508) los coadyuvantes pueden alterar la duración y magnitud de la respuesta de anticuerpos, especialmente las IgM, por tanto recomiendan —siempre que sea posible— llevar a cabo protocolos de ensayo inmunotoxicológico en ratas para evaluar si se producen situaciones de indiferencia o inmunosupresión no deseables, particularmente en casos de huésped inmunocomprometido. Estos ensayos deberán completarse con otros en los que se determine la mejor ruta y pauta de inmunización según el tipo de respuestas a obtener; en este sentido, Tannock y cols. (955) consiguen una excelente respuesta anti-influenza por vía oftálmica, comparada con la obtenida por vía nasal o subcutánea, en tanto que Taubman y cols. (956) ensayan distintos coadyuvantes selectivos para potenciar la respuesta inmune secretora por vía oral.

También Scheneweiss y su grupo, utilizando un modelo de infección experimental en ratón, por herpes simplex en área genital, estudian la influencia de diferentes modos de inmunización (847) para poder determinar la protección inmunitaria a tres niveles según se trate de la multiplicación del virus en las membranas mucosas, de que se manifieste la infección aguda o latente ganglionar o que, eventualmente, pueda llegar a alcanzar la letalidad por encefalitis. Según el tipo de vacunación y modo de infección, comparan los resultados en tres modalidades de inmunización: homóloga-heterotópica, heteróloga-homotópica y heteróloga-heterotópica y así comprobaron que: *a*) ni el tipo de virus ni el sitio de la inoculación son factores altamente críticos; *b*) que existen factores generalizados (humorales), dependientes del tipo de inmunización, que protegen contra el episodio letal; y *c*) que también pueden existir factores locales (probablemente celulares) que intervienen fundamentalmente en la protección aguda local y en la infección latente ganglionar.

## II) *Empleo farmacológico de anticuerpos.*

La seroterapia clásica, basada en la utilización de sueros heterólogos, ha experimentado una substancial transformación en la última década acudiendo a inmunoglobulinas plasmáticas, inmunes e hiperinmunes, procedentes de convalecientes humanos (908). A partir de inmunoglobulinas polivalentes, obtenidas por plasmaféresis, de donantes inmunizados, se consiguen inmunoglobulinas (Ig) específicas para lograr una eficaz protección contra hepatitis A y B, rubeola, tosferina, rabia, tétanos y otras infecciones. También se utilizarán inmunoglobulinas anti-D homólogas para prevenir la inmunización feto-maternal en mujeres gestantes Rh negativas y pese a que la OMS ha declarado extinguida la viruela en nuestro planeta, se mantienen lotes de Ig antivariólica (congelada o liofilizada) para atender a una eventual reaparición de esta enfermedad. El perfeccionamiento de la obtención y purificación de estos anticuerpos ha llegado al extremo de permitir la administración intravenosa de gammaglobulinas modificadas por diversos tratamientos: Ortiz Masllorens (678) da idea de los métodos de obtención de estos inmunofármacos en los que se ha eliminado el fragmento Fc para evitar la actividad anti-complemento y señalar sus ventajas en relación con su mejor dosificación, absorción, aprovechamiento, rapidez de acción, facilidad de administración y menor riesgo. Además de las inmunoglobulinas específicas obtenidas a partir de plasma de individuos convalecientes y vacunados, también hay posibilidad de disponer de inmunoglobulinas normales o inespecíficas, obtenidas de

conjuntos de población humana (más de un millar de individuos por lote de plasma), para las que se supone un amplio espectro de especificidad, como el que puede encontrarse en la población general que protegerá frente a una amplia gama de antígenos. Estos preparados son particularmente utilizables con fines profilácticos o en casos de hipogammaglobulinemias. La administración de inmunoglobulinas intravenosas permite tratamientos rápidos y eficaces en casos de sépsis grave post-quirúrgicas; sin embargo, serán poco eficaces cuando esté afectada la capacidad opsonizante del huésped porque si bien conservan inalterada su capacidad de reconocimiento del antígeno a través de los fragmentos F (ab')<sub>2</sub> o similares no pueden activar el sistema complemento. Las Ig digeridas enzimáticamente son aplicadas para detoxificar o eliminar de la circulación fármacos o antígenos sin riesgo a la patogénesis de complejos antígeno-anticuerpo; entre estas preparaciones debe destacarse la de Ig anti-J5 utilizada en cuadros de shock endotóxico (679). También resulta de interés el empleo de inmunoglobulinas inespecíficas obtenidas a partir de placenta por sus especiales propiedades inmunoregulatoras.

Cabe esperar que estas inmunoglobulinas sean totalmente sustituidas por los anticuerpos monoclonales pero la obtención de hibridomas humanos permanece todavía en los dominios de la experimentación ya que los híbridos humano x humano son mucho más difíciles de conseguir que los híbridos ratón x ratón (529) o rata x ratón (812); además queda por seleccionar variantes secretoras de estirpes mielomatosas humanas que sean estables y que permitan obtener híbridos celulares humanos con alta capacidad de producción de anticuerpos monoclonales.

Entre las numerosas aplicaciones de los anticuerpos monoclonales, cabe destacar desde un punto de vista inmunoterápico, el potencial inmunizante de los anticuerpos anti-idiotipo, según se ha demostrado utilizando modelos animales (832): *es particularmente alentador que mediante manipulación de una expresión idiotípica pueda inducirse una inmunidad específica anti-infecciosa*. Harp y colaboradores (380), utilizando anticuerpos monoclonales frente al antígeno T-2000 de linfocitos de ratón —que parece estar involucrado en la respuesta a mitógenos y en el desplazamiento de moléculas H-2—, consiguen modular «in vitro» la generación de linfocitos T citotóxicos alorreactivos; esta supresión linfoproliferativa en ausencia de complemento difiere de la conseguida con anticuerpos anti-Lyt-2 y no se aprecian efectos supresores para otras moléculas de la superficie celular. La extraordinaria mono-especificidad de los

anticuerpos secretados por hibridomas se ha intentado explotar en la inmunoterapia de tumores y son numerosos los modelos animales propuestos para su estudio (552). Normalmente, estos anticuerpos monoclonales van dirigidos contra distintos antígenos de diferenciación pero, pese a los alentadores resultados conseguidos con estos anticuerpos frente a algunos cuadros leucémicos, todavía no han entrado a formar parte del arsenal terapéutico. Entre las dificultades a tener en cuenta están las de seleccionar aquellos determinantes idiotípicos particulares y específicos de cada tumor, cuyo bloqueo inmunológico no entrañe perjuicio para el resto del tejido linfoide normal y las de evitar la neutralización del efecto beneficioso de estos anticuerpos por la gran cantidad de inmunoglobulinas idiotípicas que, ocasionalmente, puedan ser secretadas por las células mielomatosas. Stevenson y cols. (922) señalan que la eliminación de idiotipos inmunoglobulínicos de células B neoplásicas permitirá la ablación total o parcial del tumor afectando mínimamente al tejido normal; también, en casos de linfoma folicular, puede aparecer una involución en presencia del anticuerpo anti-idiotípico como consecuencia de una regulación inmunológica. Experimentos en casos de leucemia linfocitaria crónica sugieren el empleo de derivados con mayor actividad citotóxica.

Por el perfeccionamiento conseguido en la obtención y purificación de inmunoglobulinas específicas intravenosas y de anticuerpos monoclonales se ha iniciado el desarrollo de nuevas formas de inmunoterapia. Se utilizan estos anticuerpos en el transporte selectivo de diversos fármacos, hasta alcanzar a células o estructuras subcelulares determinadas y con ello, «las balas mágicas» sugeridas por Ehrlich a principios de siglo recobraban su actividad y esta vez de una manera definitiva. En la revisión de O'Neill (637) aparecen una docena de sistemas inmunotóxicos diferentes en los que toxinas, enzimas citostáticos, u otros fármacos se conjugan con anticuerpos de especificidad variable; en principio, la mayoría de conjugados fármaco-anticuerpos se prepararon con inmunoglobulinas de antisueros xerogéneos adsorbidos, hasta que la aparición de anticuerpos monoclonales de alta monoespecificidad permitió ahondar en el problema de un modo más preciso uniendo a ellos potentes toxinas como la ricina o la toxina diftérica para preparar inmunotoxinas anti-tumorales (168) o con acción selectiva frente a subpoblaciones de células T responsables del rechazo injerto frente a huésped (749). Blythman y sus colaboradores, han conseguido efectos antitumorales en ratones y humanos, utilizando inmunotoxinas en las que anticuerpos IgG monoespecíficos anti-Thy<sub>1,2</sub> o anti-T6J se acoplan a la cadena A de ricina (113, 114, 115) con capacidad para inhibir

la síntesis de proteínas en los ribosomas, mientras que la subunidad B (que es la no utilizada) se une a residuos de galactosa para facilitar el paso transmembranal de la subunidad A.

El tema de los conjugados de fármaco y anticuerpo («immunotargeting» de los autores anglosajones) es de tal importancia que llevó a la Academia de Ciencias de Nueva York, el pasado año, a organizar una interesante reunión científica relativa a «Macromoléculas como fármacos y como portadores de materiales biológicamente activos»; con este motivo tuvo lugar una sesión monográfica sobre métodos de marcado inmunobiológico de moléculas («targeting») (345, 691). Parece claro que en los casos que afectan a la modulación de la red inmunitaria, la capacidad de alcanzar determinadas células diana dependerá de la alta avidéz y especificidad de los anticuerpos monoclonales que se obtengan, procurando evitar perturbaciones para otros componentes interrelacionados con la red inmunitaria. El mayor problema, aún no resuelto, se refiere al grado cuantitativo de liberación del material teledirigido «in vivo» hasta la célula deseada (576). Así, para la activación «in situ» de macrófagos, se han elaborado liposomas conteniendo muramil-dipéptido cuya efectividad de acción biológica vendría influida por el tamaño, carga de superficie y composición lipídica, aunque como otros materiales particulados se distribuyen preferentemente en órganos en los que existe una elevada actividad del sistema reticulo endotelial (284, 849).

### **3.3. Modificación farmacológica de la respuesta inmune a través de mecanismos integradores de distintos sistemas fisiológicos**

Hasta aquí se han revisado tan sólo aquellas modificaciones de los mecanismos autónomos de regulación, pero también existen posibilidades de modular diversas respuestas inmunitarias por una acción farmacológica sobre las secreciones hormonales, el nivel de nucleótidos cíclicos, el transporte de cationes o la modificación de otros factores que —actuando como mensajeros secundarios— pueden intervenir en los mecanismos de regulación integradora con participación de los sistemas nervioso y endocrino. Cuando la supervivencia de un organismo se ve amenazada por causas que desequilibran su homeostasis, se activa una serie de mecanismos fisiológicos conjuntados con el fin de neutralizar o defenderse del efecto nocivo: *En la normal o anormal actuación de todo un complejo sistema de interrelaciones inmuno-neuro-endocrinas reside el equilibrio salud/enfermedad.*



Es posible encontrar cuadros clínicos en los que entran en juego complejos sistemas de interrelación fisiopatológica, como en las crisis asmáticas en las que intervienen gran número de mediadores y hormonas circulantes, defectos metabólicos intracelulares y anomalías de receptores, mecanismos de respuesta nerviosa, etc.; también, dentro de los complicados sistemas efectores de una respuesta inflamatoria existe participación del Sistema Inmune y de otros sistemas con alteraciones en los mecanismos de coagulación y de fibrinólisis; o bien en las lesiones intestinales de la enfermedad de Crohn, donde aparecen infiltraciones de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas como demostración evidente de una implicación inmunitaria en su patogénesis, que Elson y cols. (259) señalan como alteración de los mecanismos inmuno-reguladores condicionados a la existencia de unas células T supresoras (Ts) anormales que —análogamente a las células contra-supresoras encontradas por Gershon y cols. en el ratón (313)— son capaces de bloquear las células Ts normales y evitar la expresión de su actividad. También en pacientes atópicos se observa anomalías de regulación inmunitaria que se manifiestan en un defecto peculiar de células supresoras en su respuesta a la histamina (796); por tener reducido el número de receptores  $H_2$  son incapaces de producir un factor supresor inducible por histamina (HSF) que hace que los monocitos liberen menos prostaglandina E. En otros cuadros patológicos de autoagresión, inmunodeficiencias, etc. también se revela la intervención de complejos sistemas interrelacionados, cuyos límites de actuación son difíciles de desentrañar. La Inmunofarmacología, utilizando fármacos capaces de modificar indirectamente la respuesta y actuando sobre los mecanismos de regulación integradora, pone de manifiesto el enorme iceberg que representa la patología inmunitaria: intenta bucear en la escondida masa de desconocimientos sumergidos donde se encuentran las respuestas de cómo manipular el Sistema Inmune, a partir de las interacciones neuroendocrinas, para alcanzar el estado de equilibrio ideal que es la salud.

### **3.3.1. Interdependencia inmunopatológica entre distintos sistemas del organismo**

Muchas enfermedades del tejido conjuntivo producidas por inmunocomplejos circulantes (475), incluso respuestas inflamatorias, con la formación de inmunocomplejos «in situ», resultan ejemplos adecuados para interrelacionar los sistemas de complemento, fibrinolítico y de coagulación dentro de un mismo cuadro inmunopatológico. Hace más de quince años que Ratnoff (758) señalara la exis-

tencia de estrechas relaciones entre respuesta inmune, inflamación, fibrinólisis y hemostasis en los que hoy se ha visto que intervienen distintas piezas clave como el factor Hageman, complemento, prostaglandinas, serotonina, factor activador de plaquetas, nucleótidos cíclicos,  $\text{Ca}^{2+}$ , etc. Asimismo, los complejos de antígeno-anticuerpo, al activar el complemento, originan una serie de péptidos capaces de producir una lesión inflamatoria y celulolisis (1024); pero además, por otro lado, actuando sobre las plaquetas, inducen su agregación (436) con la subsiguiente liberación de aminas biológicamente activas (392), de adenílico cíclico y del factor fp3 plaquetario (422) que, a su vez, actuando junto con el factor V (748) y el factor de Stuart (425) terminan por activar la trombina (378).

También los complejos inmunes son capaces de inducir la formación de plasmaquinina y de activar tanto el factor Hageman (252) como el sistema quinina (646) con lo que aparece este factor XII acelerando la coagulación sanguínea como una consecuencia de la intervención de los complejos antígeno-anticuerpo. El factor Hageman es un elemento clave en todas estas interrelaciones porque además de iniciar la coagulación sanguínea, puede activar la kaliceína a través del kaliceinógeno (758), del factor de permeabilidad plasmática (56, 594) o de la plasmina (757); esta última puede, a su vez, actuar sobre el complemento transformando al C1S en C1-esterasa (759), escindiendo la fracción C3 en C3a (anafilotoxina) y C3b, inactivando además directamente al C4. Para Vroman (1008) la coagulación, la adherencia plaquetaria y de granulocitos, y otros fenómenos inmunitarios de adherencia a distintas superficies activadas por la vía del sistema complemento, representan distintas consecuencias de la absorción proteica que, con un criterio de generalización, podría ser considerado como la expresión de una clase de sistema amplificador de respuestas que se ha ido diversificando durante la evolución. Estas reacciones incluirían, tanto los complejos formados por coagulación y los cambios citoplasmáticos por lesión celular, como las reacciones antígeno/anticuerpo y la activación de membranas (por los sitios de combinación hidrofóbica) al interactuar con el complejo C5b-7 del complemento. Se ha demostrado que los distintos componentes de la cascada del complemento no sólo pueden influir en la regulación de la respuesta inmune (349, 1033) sino que también, por mediación de las fracciones C3 y C4, intervienen en la retracción y lisis del coágulo sanguíneo (964) y según las distintas situaciones moleculares individuales que median en la ruta clásica también modular la agregación de los complejos inmunes (1008).

Entre los distintos mediadores moleculares implicados en la interrelación de distintos sistemas fisiológicos destacan, en primer

lugar los *nucleótidos cíclicos*, su vasta influencia alcanza también a muy diversas situaciones patológicas, desde los procesos inflamatorios y cuadros de autoagresión hasta alteraciones en el reconocimiento y comunicación celular que pueden inducir anomalías de diferenciación y proliferación (363). A partir de 1960, en que Shuterland y Rall generalizaron el concepto de «segundo mensajero» —aplicado en primer lugar al adenílico cíclico (AMPC) y diez años más tarde al guanílico cíclico (GMPc)— y después de que Golberg y cols. (330) observaran el comportamiento biológico contrapuesto de ambas moléculas, tomó cuerpo de doctrina la hipótesis dualista de regulación celular con intervención de estos nucleótidos cíclicos al actuar como mediadores de hormonas, de distintos factores de diferenciación e incluso de condiciones medioambientales (temperatura, pH, nutrientes, etc.). Existen receptores farmacológicamente específicos para histamina, catecolaminas  $\beta$ -miméticas y prostaglandinas de las series E y A que responden a estas moléculas con elevación del AMPC y son competitivamente antagonizados por anti-histamínicos, propranolol (antagonista  $\beta$ -adrenérgico) pero no por fentolamina (antagonista  $\alpha$ -adrenérgico).

Entre las implicaciones de interés clínico que la molécula de adenílico cíclico tiene para el sistema endocrino, en sus relaciones con el Inmune, están las modificaciones desencadenadas por distintas hormonas entre las que cabe distinguir tres tipos de mecanismos de acción (558): *a*) los que actúan por unión a un receptor citoplasmático específico (complejo esteroide y receptor) que en su activación y translocación alcanza el núcleo celular para originar una activación selectiva de la expresión genética; *b*) los que actúan a través de un receptor hormonal acoplado a una función adenilato ciclasa que activa la proteína quinasa intracelular AMPC-dependiente para llegar a la fosforilación de proteínas substrato-específicas; y *c*) otros de comportamiento intermedio cuya interacción se ignora, aunque Liu (558) supone que conociendo la concentración y el patrón de la isozima correspondiente a la proteína-quinasa AMPC-dependiente (en los distintos tejidos diana) se pueden predecir los distintos tipos de interacción inmuno-endocrina. Todo esto convierte a los nucleótidos cíclicos en candidatos seguros para participar en la general interdependencia fisiológica de las reacciones inmunitarias con respuestas neuronales y endocrinas.

El ácido araquidónico (AA) es un importante precursor en el metabolismo de mediadores eicosanoides tales como prostaglandinas (PGs), tromboxanos (TXs), leucotrienos (LTs), hidroperóxidos y otras moléculas que, como los adenílico y guanílico cíclicos, intervienen en muy distintas reacciones inmunobiológicas, además de ac-

tuar como mediadores en reacciones de dolor e inflamación (219); así, moléculas estructuralmente semejantes al AA y conocidos inhibidores de lipo-oxigenasa tienen acción antipsoriasisica (890), lo que sugiere la comunidad de mecanismos. Las *prostaglandinas* (PGs), consideradas como mensajeros intercelulares entre las respuestas inflamatorias e inmunitarias, incrementan los niveles de adenilico cíclico (AMPc) y modifican la respuesta celular; cuando los linfocitos pierden su capacidad para distinguir entre células extrañas y propias, conservan su poder citotóxico y existe liberación de agentes quimiotácticos, desde una reacción inflamatoria inicial con liberación de grandes cantidades de PGs (a partir de macrófagos) se llega a una artritis reumatoide con destrucción autoinmune de las articulaciones; y también, en muchas situaciones clínicas de cáncer, existe evidencia de elevados niveles de PGs que condicionan situaciones de acusada inmunosupresión. Asimismo, las PGs funcionando como hormonas locales pueden regular diversas interacciones celulares con modificación de los niveles de AMPc (157) y modular reacciones de la artritis experimental por coadyuvantes mientras que no afectan a la hipersensibilidad retardada. Los *leucotrienos* (LTC, LTD, y LTE<sub>4</sub>), conocidos como sustancias anafilácticas de reacción lenta (SRS-A), son potentes vasoconstrictores de fibrina y además de producir modificaciones en la inmuno-respuesta celular, intervienen en enfermedades inflamatorias, donde sus efectos diferenciales pueden afectar a la redistribución del flujo sanguíneo periférico (278, 359).

Relacionado inmunobiológicamente con el ácido araquidónico (AA), se encuentran el *factor activador de plaquetas* (PAF). En determinadas circunstancias, las moléculas AA y PAF son liberadas a partir de neutrófilos de conejo y macrófagos alveolares de rata originándose, ambos, de un precursor común, la 1-alkil-2-acil, *sn*-glicero-3-fosfolina, aunque inhibidores de ciclooxigenasa como la indometacina no afectan a la degranulación de basófilos producida por el PAF (902). El factor activador de plaquetas, cuyo término fue acuñado por Benveniste y cols. en 1972, es de naturaleza lipídica y según el tipo de estimulación puede ser liberado, además de por basófilos, por plaquetas, neutrófilos y macrófagos. Interviene en la agregación plaquetaria, con liberación de serotonina, y está considerado como el mecanismo de iniciación para el depósito de inmunocomplejos. Por otra parte estimula la captación de Ca<sup>2+</sup> en relación con la síntesis de leucotrienos.

La *serotonina* es otro de los factores que interrelaciona distintos sistemas fisiológicos, ya que además de participar en reacciones de hipersensibilización e inflamatorias en relación con las plaquetas,

interviene en el sistema cardiovascular (591) y representa además un papel importante, que todavía no es bien conocido, en las respuestas de excitación del sistema nervioso central. Sus efectos estimuladores del comportamiento en los distintos tejidos parecen mediar por muy distintas clases de receptores; así, en relación con las plaquetas y con reacciones de hipersensibilización, se han identificado receptores tipo  $S_1$  y  $S_2$  mientras que en la fibra lisa gastrointestinal aparecen estímulos serotoninérgicos atribuibles a receptores tipo M y D que actúan como mediadores de la vasodilatación serotonin-inducida (553). Otra molécula vasoactiva —aunque de signo contrario— es el nonapéptido *bradiquinina*, que actúa en las fases iniciales de la respuesta inmune estimulando (durante un tiempo limitado) el tráfico de linfocitos sensibilizados por el antígeno y la formación de blastos; esta acción sobre el sistema inmunitario está modulada preferentemente por las prostaglandinas que, a su vez, producen una rápida y marcada reducción de los eosinófilos circulantes (637).

Recientemente, se ha encontrado otro tipo de relaciones entre Sistema Inmune y sistema vascular: se ha comprobado que algunas *lipoproteínas plasmáticas* ( $d \leq 1.053$  g/ml), conteniendo en su moléculas apolipoproteínas (Apo B y Apo E) pueden suprimir, en linfocitos T y B, activaciones policlonales mitógeno-inducidas como aquellas que estén moduladas por células accesorias. El hecho de que células accesorias de pacientes hipercolesterolémicos homocigóticos (de familias receptor-defectivas) sean capaces de modular esta misma respuesta, hace suponer que el efecto es independiente de los receptores de lipoproteínas de baja densidad; este efecto inmunosupresor varía según los diferentes grupos de donantes y en los resultados —dentro de cada grupo— influye el número total de células así como la proporción de células T y macrófagos (667, 668).

Por último, relacionando todas estas implicaciones entre muy diversos cuadros patológicos de distinto origen, existe también un acusado protagonismo para distintos cationes y preferentemente para el *calcio*, que se traducen en: *a*) que se hayan encontrado resultados contradictorios concernientes a requerimientos de calcio para el funcionamiento de agentes secretagogos y para la modulación de mediadores por nucleótidos cíclicos en la sensibilización de mastocitos (831); *b*) que el flujo de iones  $Ca^{2+}$  pueda intervenir en la regulación de guanilato-ciclasa y por tanto en los niveles de guanílico cíclico (GMPc); *c*) que influyan en la síntesis de RNA (363) e incluso en la polimerización de tubulina en macrófagos (986). Todo ello, lleva a admitir la existencia de una biorregulación coordinada entre los distintos sistemas fisiológicos: *la participación mediadora de todas estas moléculas, proporciona a los inmunofarmacólogos la*

*posibilidad de manipular a voluntad los mecanismos que mantienen en equilibrio la regulación del Sistema Inmune, utilizando muy diversos agentes farmacológicos.*

### **3.3.2. Modificación farmacológica de la inmunidad a través de mecanismos de integración homeostática**

Según se desprende de lo señalado en el apartado 2.2. precedente, el curso de una respuesta inmunogénica puede sufrir alteraciones que están condicionadas por el nivel de ciertas hormonas en el organismo; son, particularmente, las hormonas del timo, las gonadales y adreno-corticales, así como la insulina, somatotropina y tiroxina, las que más influencia tienen en este fenómeno. Una vez comprobados los hechos sobre los tres compartimentos funcionales que Hall y Goldstein (368) distinguen en el Sistema Inmune, de una manera artificiosa, para mejor examinar tan complejas interacciones, los inmunofarmacólogos emprenden distintos tratamientos como son: empleo de péptidos tímicos o de moléculas esteroides, bloqueo de los receptores H-2 de la histamina, modificación del equilibrio biorregulador entre adenílico y guanílico cíclico, e inhibición o estimulación de prostaglandinas y otros metabolitos del ácido araquidónico.

Al observar variaciones de respuesta inmune, que parecían relacionarse con interacciones entre sistema nervioso y la glándula tímica, se inició una nueva línea experimental utilizando extractos de timo en distintos grados de purificación; esto condujo a la evidencia de que el timo estaba regulado, en gran parte, de la misma manera que otros tejidos endocrinos (368). Se ha demostrado que: *a)* por manipulación del sistema nervioso central se llegan a producir modificaciones inmunes timo-dependientes e, inversamente, durante una inmunogénesis se producen cambios eléctricos, neuroquímicos y morfológicos en el sistema nervioso; *b)* se han localizado moléculas de timosina  $\alpha_1$  en el hipotálamo y si se inyectan timosinopéptidos en cerebro se inducen respuestas endocrinas e inmunológicas; y *c)* mediante implantaciones de tejido tímico se han podido corregir aberraciones neuro-hormonales por timopatías congénitas. Por tanto, hoy, el empleo de extractos tímicos (timosina, timostimulina, timopoyetina) e incluso sus moléculas de alta pureza, obtenidas por ingeniería genética, empieza a ser una realidad. El efecto de estos tratamientos, que se pueden prolongar durante seis a siete meses sin alteraciones fisiológicas concomitantes, se controla mediante el ensayo de rosetas E o mejor aún, determinando las rela-

ciones entre el número de infocitos OKT8<sup>+</sup> (citotóxicos/supresores) y los OKT4<sup>+</sup> (cooperadores/inductores). Así se controla el estado potencial de inmuno- respuesta en función de las células T maduras; se ha comprobado que su número disminuye con la edad para ir aumentando el número de células nulas timo-inducibles (Ti). En pacientes de cáncer, Chisari y Edgington (210) han aislado una  $\beta$ -lipoproteína de baja densidad que actúa como factor inhibidor de la formación de rosetas (RIF) y que es capaz de incrementar los niveles de adenílico cíclico (AMPC) con la consiguiente disminución de distintos parámetros inmunológicos (linfoproliferación, síntesis de anticuerpos, citotoxicidad, etc.). Por el contrario, la timosina y otros factores tímicos aumentan los niveles de guanílico cíclico (GMPc), antagonizan los efectos inmunodepresores del AMPC y hacen que pacientes linfopénicos alcancen sus valores normocíticos, actuando sobre la regulación homeostática del organismo, al cabo de unos meses de tratamiento.

A veces hay que acudir al empleo de activos agentes inmunosupresores que eviten el rechazo en situaciones anormales de gestación e incluso, con ocasión de malignizaciones, en los que existe supervivencia del tejido antigénico dentro de huésped. En estos casos se empieza a proponer la utilización de la gonadotropina coriónica (HGC) (376), glico proteína con dos subunidades (hGC $\alpha$ , hGC $\beta$ ) sintetizadas en la placenta, que como otras moléculas esteroides puede modificar la respuesta inmunitaria. En estos casos, esta hormona es capaz de inhibir respuestas de hipersensibilidad retardada (55) con distinta intensidad, dependiendo de la dosificación y de las características moleculares de las preparaciones empleadas. Es necesario utilizar preparados que contengan ambas subunidades (hGC $\alpha$ , hGC $\beta$ ) y que no estén desprovistas del ácido sialico. Este efecto es bloqueado por inhibidores de ciclooxigenasa (indometacina y aspirina) cuando se administran junto con la hormona, lo que hace pensar que su acción transcurre a través de mediadores tipo prostaglandina E, que eleva los niveles de AMPC.

La modulación farmacológica a través de mediadores admite una cierta versatilidad dependiendo del cuadro patológico y del mecanismo; así, en el asma alérgico, puede conseguirse una protección administrando tanto estimulantes  $\beta$ -adrenérgicos como antihistamínicos, corticosteroides, derivados de xantina, cromoglicato, etc. (300). Como es sabido, en estos casos, la alteración bronquial obedece a una reacción temprana cuyo mediador es la histamina mientras que una subsiguiente reacción tardía, en la que intervienen células inflamatorias, resulta mediada por leucotrienos, prostaglandinas y

tromboxanos; esta fase de la reacción es más resistente al tratamiento farmacológico. En casos de hipersensibilidad inmediata, sin embargo, se considera fundamental atender a la regulación de IgE; experimentos realizados por Ishizaka y su grupo (434) revelan la presencia de receptores  $Fc\epsilon R^+$  y de factores con afinidad para unirse a las IgE que tienen funciones biológicas opuestas (supresora y potenciadora). Estos receptores existen principalmente en las células B, aunque en casos de parasitosis por nematodos, puedan aparecer también en las células T; también, «in vitro», la proporción de estas células con receptores  $Fc\epsilon R^+$  está regulada por la concentración de IgE en el medio. En cuanto a los factores, ambos tienen afinidad para IgE y pesos moleculares parecidos, aunque se diferencian en su porción hidrocarbonada, lo que hace que el factor potenciador pueda ser eluido con  $\alpha$ -metil-D-manósido, mientras que no puede serlo el factor supresor; el primero de ellos se induce utilizando *Bordetella pertussis* como coadyuvante y el segundo con coadyuvante completo de Freund, ambos son derivados de distintas subpoblaciones de linfocitos T. En principio existen dos modos de regular la respuesta: uno de ellos, es por inhibición de la glicosilación con tunicamicina, con lo que se modifica la síntesis de ambos factores, desapareciendo el factor potenciador y quedando sólo el supresor; otro procedimiento de regulación de IgE se consigue mediante el empleo de glucocorticoides que inhiben la expresión de los receptores  $Fc\epsilon R^+$  y con ello se bloquea la actividad de las células para responder al factor potenciador. Por otra parte, también se ha comprobado que los tratamientos de glucocorticoides producen aumentos de una proteína inhibidora de fosfolipasa  $A_2$  (408). Se supone que esta proteína puede ser la causante del efecto anti-inflamatorio de los glucocorticoides, aunque Ishizaka piensa que dicha molécula también puede estar involucrada en la glicosilación de los factores IgE-potenciadores según comprobaron al pre-incubar las células con melitina, que es un activador de la fosfolipasa  $A_2$ . De aquí que sea posible aproximarse a la regulación de la respuesta sensibilizante en individuos atópicos utilizando tunicamicina, dexametasona, glucocorticoides o cualquier otro fármaco inhibidor de la fosfolipasa  $A_1$ , o también usando inhibidores de la glicosilación; quizá resida aquí el papel hiposensibilizante de la glucosamina observado en algunas asociaciones antibióticas (731).

Se ha confirmado que algunos mediadores de hipersensibilidad inmediata, así como otras distintas moléculas (inhibidores de xantina-oxidasa, isoproterenol, toxina colérica), son capaces de modificar con carácter bimodal el nivel de AMPc intracelular, dependiendo de la dosis y del momento de administración durante una respuesta



inflamatoria. Aunque la histamina pueda también incrementar los niveles intracelulares de AMPc, no está claro que su mecanismo de acción sea a través de este nucleótido cíclico ni que sus efectos obedezcan siempre a una señal de carácter negativo, puesto que existen casos en los que estas moléculas pueden forzar alguna señal positiva y esto es lo que ha conducido a intentar ejercer una modulación farmacológica de la respuesta inmune basándose en variaciones del nivel histamínico (797). En este caso, hay que tener en cuenta que la histamina se metaboliza en los neutrófilos por histaminasa, mientras que en monocitos y líquidos tisulares la degradación se realiza por medio de la histamin-metiltransferasa; lo que crea diferencias de respuesta según la participación relativa de las distintas subpoblaciones celulares y el tipo de inhibidor enzimático. Las potenciales aplicaciones clínicas surgieron de la observación según la cual enfermos de úlcera péptica tratados con cimetidina mostraban incrementos de hipersensibilidad retardada (36) y que pacientes alérgicos sometidos a tratamientos con cimetidina presentaban un incremento de las lesiones cutáneas cuando se repitieron las pruebas de sensibilidad. Así, cuando se aplicaron tratamientos con cimetidina a enfermos de candidiasis mucocutánea, por anergia y anomalías linfocitarias, se pudo comprobar que aparecía una fuerte reactividad anti-moniliasis además de ocasionar una inversión en las pruebas cutáneas de sensibilidad; incluso en cultivos «in vitro», la cimetidina incrementaba la producción de linfoquinas. También, cuando linfocitos de enfermos afectados del mal de Hodgking (en los que se suele apreciar escasez de receptores histamínicos y bajas respuestas citotóxicas alogeneico-inducidas) son pasados a través de columnas de adsorción con histamina, se modifica su comportamiento logrando respuestas más normales «in vitro». Se ha comprobado en pacientes atópicos que sus células supresoras no responden normalmente a la señal de histamina porque tienen menos receptores H-2, posiblemente porque el exceso de histamina circulante en estos enfermos produce una regulación negativa («down regulation») (59). Estas células T con función reguladora, disminuyen su nivel de regulación negativa y aumentan su reactividad inmuno-celular cuando son bloqueados sus receptores H-2 con cimetidina.

Otra faceta de la modulación farmacológica endocrina se basa en poder alterar a voluntad los mensajes transmitidos por adenílico cíclico (AMPc), puesto que en su papel de mensajero secundario mediatiza muy distintas funciones celulares y por tanto cabe la posibilidad de modificar paralelamente muy distintos procesos inmunitarios tanto «in vivo» como «in vitro». Agentes capaces de elevar los niveles de AMPc pueden inhibir varias funciones de las células

T, incluyendo su proliferación frente a antígenos y mitógenos, producción de linfoquinas y reacciones de citotoxicidad celulo-mediada (124), en tanto que las células B disminuirán en número de precursores o en la liberación de inmunoglobulinas según el momento de intervención del fármaco en relación con el antígeno (606). Cualquier compuesto que modifique los niveles de adenílico o guanílico cíclico en las células B, ya sea directamente actuando por antígenos T-independientes o a través de la señal de células T, puede modificar la expresión formadora de anticuerpos. La conjugación de un antígeno específico de membrana con agentes que modifiquen los niveles intracelulares de nucleótidos cíclicos puede producir moléculas que inhiban o estimulen la respuesta de la célula inmunocompetente al actuar sobre sus rutas depresora o inductora (1027); además, según las condiciones experimentales que acompañen a la intervención de estos agentes, se pueden originar efectos bidireccionales (935), dependiendo de que se produzca o no la liberación de otros mediadores de la acción inmunológica o inflamatoria (histamina, prostaglandinas E y F, leucotrienos, etc.). Así, la agregación plaquetaria resulta débilmente inhibida por AMPc como consecuencia de cambios en la actividad adenilato-ciclase por estimulación de PGE<sub>1</sub> y glucagón; en tanto que la trombina, norepinefrina, epinefrina y serotonina, inhibiendo la adenilato-ciclase, producen el efecto contrario (432). También se sabe que el flujo de Ca<sup>2+</sup> y el nivel de GMPc están íntimamente involucrados en la modulación de la agregación plaquetaria y aunque se han identificado receptores β— adrenérgicos en la membrana de las plaquetas se desconoce el mecanismo de acción de estos agentes. En términos generales, está perfectamente comprobado que la molécula de GMPc y los agentes que elevan su nivel intracelular actúan como potenciadores de actividad; mientras que el AMPc y los agentes que aumentan su producción actúan como inhibidores: este concepto de sistema bio-regulador, manipulado por tratamientos farmacológicos, puede aplicarse tanto a plaquetas como a macrófagos, linfocitos y polimorfonucleares.

Las prostaglandinas (PGs), mediadores que intervienen en el «afinado» de la regulación de una respuesta inmune (1029), están produciendo una acción que pasa inadvertida hasta que alteraciones de la inmuno-regulación debidas a variaciones en el nivel de PGs puedan contribuir de modo significativo a un estado patológico (311). El proceso se inicia con la estimulación de la fosfolipasa A<sub>2</sub> (y posiblemente de la fosfolipasa C) requisito previo para la liberación del ácido araquidónico a partir de fosfolípidos, y la posterior conversión del mismo en otros mediadores de diversa actividad biológica como son los endoperóxidos cíclicos de vida corta (PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>),

tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), las prostaglandinas clásicas (PGE<sub>1</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGEF<sub>2</sub>) y los productos de la ruta de la lipo-oxigenasa en la que aparecen los leucotrienos de reacción lenta (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>). Hay prostaglandinas (PGE<sub>1</sub> y PGE<sub>2</sub>) que proceden de ácidos grasos insaturados como el ac. dihomo- $\gamma$ -linolénico y que se encuentran en concentraciones muy inferiores a las PPGs que se derivan del ácido araquidónico, aunque sus efectos sobre la respuesta inmune sean análogos. Cuando las PGs estimulan la adenilato-ciclasa, se inhibe la proliferación celular, la producción de linfoquinas, la actividad citotóxica y algunos mecanismos supresores, aunque también estas moléculas sean capaces de activar las células NK y ciertas células T supresoras (157, 921).

Al poder actuar sobre el metabolismo de las PGs mediante inmunofármacos se puede establecer un control en distintos procesos patológicos de auto-inmunidad, inmunodeficiencias, tumores, etcétera (157, 196). En ciertos cuadros de *inmunodeficiencia celular*, especialmente en anergias secundarias y en condiciones crónicas de inflamación, están indicados los tratamientos con indometacina para restaurar la reactividad linfocitaria normal, así sucede en pacientes con la enfermedad de Hodgking y en cuadros de inmunodeficiencia común (339). También en procesos autoinmunitarios como en el lupus eritematoso, se ha comprobado que los inhibidores de prostaglandin-sintetasa (803) bloquean la función de ciertas células supresoras que intervienen fundamentalmente en el cuadro patológico. En cuanto a los procesos tumorales, existen muchos datos contradictorios en relación con el papel modulador de las PGs, que pueden explicarse por que: *a)* el efecto de una prostaglandina sobre un tumor depende de la naturaleza del mismo; *b)* se puede interactuar variablemente con inductores de interferón sobre diversos grados de malignidad; y *c)* se pueden modificar la actividad tumoricida de los macrófagos y reactivar las células NK (239, 571). En cualquier caso, la enorme complejidad de acción de moléculas tan activas necesita todavía muchas investigaciones aportando conocimientos hasta poder afirmar con seguridad que la inmunomodulación farmacológica, a través de mecanismos integradores de la homeostasis, es una realidad terapéutica.

#### 4. PERSPECTIVAS

Partiendo de la afirmación de Dausset ...«todo nuevo conocimiento es una liberación»... y puntualizando con d'Aurevilly ...« donde los historiadores se detienen, no encuentran nada, los poetas aparecen y adivinan»... es preciso admitir que un investigador científico en Biología vaya escudriñando entre las nieblas del futuro con el afán del historiador y la imaginación del poeta: así estará propicio al hallazgo de lo inesperado en su búsqueda liberadora de la enfermedad.

Si la futurología tiene difícil aplicación en la problemática de lo viviente —siempre dispuesta a saltar de órbita y adaptarse a nuevos paradigmas—, menos especulaciones cabe hacer aún en todo lo relacionado con la investigación biomédica donde la esperanzadora exigencia del humano enfermo choca con la constante aparición de nuevas incógnitas y con la necesidad de un más moderno recurso biotecnológico: es como el circense grito del «más difícil todavía» aplicado a «taponar el orificio por donde escapa la vida» según aparece representado en la alegórica fuente que adorna nuestro Centro de Investigaciones Biológicas. ¿Quién podría haber previsto los actuales avances en Biología molecular antes de que se realizara la primera clonación genética?, ¿cómo suponer la exponencial aplicación del experimento de hibridación celular que hicieron Koehler y Milsten en 1975?, ¿qué nuevos horizontes se avistarán cuando se resuelvan los enigmas planteados por una población linfocitaria que Janeway califica «de tercer mundo celular»?; mundo éste que está constituido por una pequeña subpoblación de células T capaces de secretar factores supresores con información suficiente para alcanzar altos grados de especificidad y heterogeneidad funcional. ¿Cómo puede una de estas células, al interactuar con distintas dianas celulares, realizar tan múltiples funciones y a concentraciones tan inverosímilmente pequeñas?, ¿hasta qué resultados terapéuticos podríamos llegar si se sigue investigando sobre posibilidades de modular selectivamente una respuesta inmune? La aplicación de inmunofármacos bien definidos actuando sobre determinados antígenos receptores de membrana, y aún sobre las estructuras con ellos asociadas, posibilitará, en un futuro próximo, la consecución de una tera-

pia de rutina para enfermedades aún no sometidas por el clínico tales como el cáncer, inmunodeficiencias, autoagresiones, etc.

Aun a riesgo de equivocarnos —dado el imprevisible y mutante giro de la investigación biomédica—, no podemos evitar la tentación de otear, desde los conocimientos actuales, los distintos caminos que se pierden en el horizonte inmunofarmacológico. Así, aplicando un método deductivo que parece lógico en el actual estado de la situación, resumiremos las perspectivas de diferentes líneas de estudio que podrían tener aliciente entre los equipos de investigación que deseen atender al reclamo de las prioridades establecidas por el Programa Movilizador de Biotecnología (\*): *el desarrollo de específicos inmunomodificadores, las nuevas vacunas y la peculiar nueva vía de una seroterapia moderna nos abren las ventanas de una alentadora creatividad científica.*

En la investigación de fármacos modificadores de la respuesta biológica hay que distinguir si se trata de nuevas moléculas de síntesis o son productos biológicos, cuyo caso tiene peculiares dificultades a superar, dada la propia variabilidad de sus complejos mecanismos de acción. La aplicación de la ingeniería genética a la obtención de moléculas activas, tales como hormonas del timo, interleuquinas, interferones y otros factores mediadores, podrá resolver en un inmediato futuro los problemas creados por la indefinición molecular de estos agentes naturales, llegándose a controlar por completo su toxicidad, actividad biológica y eficacia terapéutica. Históricamente, estas circunstancias son las que obligan a la industria farmacéutica a mantener una actitud cautelosa en el desarrollo de biofármacos, aunque se aprecia un interés creciente en el estudio de regiones particulares de algunas moléculas inmunoglobulínicas y también de péptidos procedentes de lisozima, debido a las perspectivas que presentan como moduladores de la respuesta inmunológica. Pese a los alentadores resultados positivos hasta ahora obtenidos con modificadores de respuesta biológica sobre enfermos clínicamente susceptibles, todavía estamos en los comienzos de la manipulación terapéutica del Sistema Inmune, sobre todo cuando se trata de resolver situaciones acuciantes en ese colectivo humano que se incluye bajo la etiqueta de «huésped inmunocomprometido» y para el que los resultados que se obtienen todavía bordean los límites de lo empírico. En este campo particular de la Inmunofarmacología quedan importantes tareas a realizar, como son: el diseño y desarrollo de nuevos compuestos basándose en mecanismos de acción bien conocidos, el estudio de sus perfiles inmunofarma-

(\*) «B. O. E.», de 25 abril 1986, y «B. O. E.», de 22 octubre 1985.

cológicos en función de los heterogéneos modos de acción y alcanzar un uso más racional de las moléculas actualmente conocidas.

También hay que definir perfectamente los parámetros de cada inmunofármaco —según puntualizara el Profesor Cadorniga en esta misma sala para el caso de fármacos aplicables a una asistencia primaria—, habría que adaptarlos a pautas de administración verdaderamente efectivas en las que se tengan en cuenta las influencias reguladoras positivas y negativas de cada subpoblación celular. La metódica farmacodinámica para este tipo de fármacos obliga a acudir a ciertas claves de entendimiento del sistema biológico en las que intervienen el equilibrio entre varias subpoblaciones linfocitarias, supresoras y cooperadoras, funcionalmente diferenciadas por aloantisueros (anti-Lyt 2), anticuerpos monoclonales ( $T_8$  y  $T_4$ ) o incluso una lectina particular que reacciona selectivamente frente a células T contrasupresoras (la de *Vicia villosa*). Así ha sido posible llegar, por ejemplo, hasta la identificación de un glicopéptido fenólico del *Mycobacterium leprae*, cuyo efecto supresor es consecuencia de un efecto sobre las células contrasupresoras; datos de este tipo pueden proporcionar esquemas racionales para una aplicación segura de modificadores de respuesta biológica que obvien los efectos paradójicos algunas veces contemplados como una muestra de las dificultades de su empleo.

Constituye un estupendo reto para la industria farmacéutica promover una I + D para moléculas de linfoquinas y citoquinas, altamente purificadas, para su utilización como reguladores de la respuesta inmune. Dada la diversidad del sistema biológico involucrado, una linfoquina particular puede tener una población restringida de células sobre las que manifiesta su acción por el hecho de que su señal es antígeno-específica, por lo que se recurre a preparar linfoquinas antígeno-inespecíficas (linfotoxina, factor estimulador de colonias, interferón) que son más generalmente aplicables desde el punto de vista clínico a distintas poblaciones de enfermos. Intentando ser objetivos en la necesidad de desarrollar esta vía terapéutica y sin dejarnos dominar por el entusiasmo y la imaginación he de mencionar aquí otras dificultades que han hecho que, pese a todos los avances científicos, tan sólo cuarenta fármacos importantes hayan alcanzado la aplicación clínica en el último cuarto de siglo y que la mayoría de ellos —según Oldham— presentan una actividad marginal: estas dificultades a vencer en el desarrollo de inmunofármacos son los condicionantes del mercado de medicamentos y la escasa flexibilidad o agilidad de los sistemas clásicos de registro para que este tipo de agentes terapéuticos pueda alcanzar su

aplicación clínica. Es cierto que con la aplicación de la ingeniería genética y el uso de anticuerpos monoclonales, el nivel de desarrollo de estas nuevas moléculas se ha elevado vertiginosamente, pero la diversidad, especificidad y originalidad de su aplicación requiere necesariamente importantes cambios, tanto en los sistemas de investigación y desarrollo científico como en los sistemas de financiación y criterios a considerar en la prospección del mercado y la normativa de registro. Así, la información sobre composición, formulación y pureza de un producto biológico (microorganismos, extractos celulares) puede ser menos precisa siempre que su actividad biológica esté perfectamente definida y controlada, y se mantengan normalizadas sus condiciones de producción; y, consideraciones sobre la dimensión del mercado y rentabilidad potencial, teniendo en cuenta la duración de los ensayos pre-clínicos y clínicos y la gran inversión necesaria para obtener industrialmente una hormona tímica, linfoquinas, etc., obligan a acudir a fórmulas mixtas de financiación entre organismos estatales e industrias privadas. Empieza a ser frecuente, en países muy desarrollados científicamente, la creación de empresas de tamaño reducido, pero de gran potencialidad investigadora en las que se acomete la investigación básica y se orienta el desarrollo del nuevo medicamento y de su proceso de fabricación, incluso hasta se llega a conseguir su aprobación por el Organismo de Sanidad correspondiente, pero el riesgo de su comercialización corre a cargo de otras firmas con complejos sistemas de financiación.

En cuanto a las perspectivas inmunofarmacológicas de la moderna sueroterapia, el desarrollo y aplicación de los anticuerpos monoclonales (AcMc) ha logrado superar la indefinición e inestabilidad de los antígenos que aparecía reflejada en la enorme diversidad de los anticuerpos clásicamente obtenidos. Estos anticuerpos mono-específicos se usarán, más cada día, tanto en su aplicación epidemiológica en el diagnóstico de la naturaleza y frecuencia de variaciones o mutaciones de distintos agentes infecciosos, como para lograr una inmunización pasiva frente a virus, bacterias y parásitos en individuos que no han tenido posibilidad de desarrollar una adecuada respuesta inmunitaria. Grandes perspectivas de futuro tienen dos peculiares aplicaciones de los anticuerpos monoclonales al campo de la modificación de respuestas inmunitarias, ya sea mediante su acoplamiento a fármacos citotóxicos para potenciar su efecto local, ya sea como anticuerpos anti-idiotipo capaces de manipular los esquemas de regulación del Sistema Inmune por acción específica sobre subpoblaciones particulares. Deberán promoverse nuevas líneas de investigación para evitar, en lo posible, lo oneroso de los culti-

vos masivos en biostatos para la obtención de AcMc con la posibilidad de ser marcados biosintéticamente con  $^{35}\text{S}$ -metionina o con  $^{75}\text{Se}$ -seleniometionina y sobre todo para conseguir óptimos crecimientos de híbridos celulares del tipo humano. La dificultad de generar hibridomas humanos —por su inestabilidad cromosómica— obliga a pensar en nuevos procedimientos, entre los que se destaca la transformación celular con el virus de Epstein-Barr, aunque existe el peligro de que se liberen virus xenotrópicos infectivos para células humanas. Asimismo habrán de mejorarse las técnicas de inmunización para obtener anticuerpos monoclonales frente a antígenos débilmente inmunogénicos, por modificación química de su molécula o por asociaciones a portadores más reactivos; esto es particularmente aplicable a zonas particulares del repertorio de receptores de células T para detección del «agritopo» y «desetopo» (dependientes del sistema MHC) y también para epítomos particulares de péptidos sintéticos con los que se suele utilizar glutaraldehído o la proteína KLH (keyhole limpet haemocyanin).

La problemática de mercado para estos nuevos reactivos es más particular, puesto que su empleo en una enfermedad determinada hace presumible que existan variaciones en la magnitud de la demanda según se trate de una enfermedad muy extendida o de anticuerpos anti-idiotipo aplicables, por ejemplo, a tumores muy específicos en los que la posibilidad de que existan reacciones cruzadas es bastante remota; esta limitación de mercado tan razonablemente ajustada hace que las compañías farmacéuticas no puedan desarrollar estos medicamentos bajo las pautas comerciales existentes. El hecho de que un determinado anticuerpo monoclonal, que es particular para un determinado tipo de células cancerosas sea aplicable tan sólo al 1,5 al 10 por 100 de los pacientes con un tipo particular de neoplasma, por la heterogeneidad clonal de este tipo de células dentro de estos pacientes, reduce el tamaño del mercado hasta unos extremos que esta preparación de sueros anti-cancerosos debe ser realizada por Organismos Públicos de Investigación, especialmente subvencionados, hasta tanto no se descubra un antígeno universal común frente al desarrollo o diferenciación neoplásica.

Por último, en esta visión futurista de la Inmunofarmacología, mantiene un papel preponderante el desarrollo de vacunas sintéticas; la controversia entre la preparación de inmunógenos por métodos convencionales o por Biotecnología ha demostrado las ventajas del segundo, particularmente en algunos casos como *Bordetella pertusis*, donde el uso vacunante de células enteras es altamente efectivo, pero la aparición —casuísticamente muy baja— de lesiones neurológicas que pueden llegar a ser letales, abonan en favor



del empleo del factor promotor de linfocitos (LPF) y de la hema-  
glutinina filamentosa de *B. pertussis* obtenidos por ingeniería ge-  
nética. La experimentación en este campo de las vacunas sintéticas es  
muy activa, en relación con las enfermedades víricas, debido a que  
aún faltan vacunas frente a virus tan importantes como los del gru-  
po herpes o algunos virus respiratorios; o a que alguna de las va-  
cunas en vías de desarrollo ocasionen importantes reacciones secun-  
darias o aporten genes con hipotética capacidad oncogénica, y, por  
supuesto, porque existen casos de variación antigénica que conlle-  
van a nuevos estados de virulencia. El hecho de que los péptidos  
sintéticos, o regiones parciales de antígenos sintéticos, puedan des-  
encadenar la formación de anticuerpos frente a proteínas naturales  
tiene enormes aplicaciones en el control de infecciones. Por este mi-  
metismo molecular entre regiones limitadas de distintos virus se  
pretende obtener vacunas de subunidades víricas de carácter poli-  
valente, como sucede con un retrovirus que produce leucosis felina  
en gatos y a partir del cual se pretende llegar a una vacuna anti-  
SIDA por la similitud que existe entre este virus de la panleucopenia  
felina y el HTLV-III productor del SIDA.

Por otra parte, en inmunoparasitología, clonando fragmentos del  
ADN complementario, obtenido del gen que expresa un antígeno de  
la superficie del *Plasmodium knowlesi* se produce una molécula  
que contiene epítomos de una proteína existente en el circunsporozoito  
del parásito; estudiando este fragmento de 36 pares de bases que  
se repiten secuencialmente, se ha sintetizado un dodecapéptido que  
constituye una fuente de inmunógeno para preparar vacunas sintéticas  
frente a esporozoitos de distintos plasmidios.

Pese a que están en marcha muy variados y originales programa-  
s de inmunización con péptidos sintéticos o subunidades no re-  
plicativas, existen problemas aún no resueltos por la necesidad de  
coadyuvantes o inmunopotenciadores que, asociados a estas moléculas  
de gran especificidad, aumenten su poder inmunogénico. *La falta de  
coadyuvantes inmunitarios representa el mayor obstáculo para el  
desarrollo de estas nuevas vacunas sintéticas*; modificaciones de  
carga eléctrica, retardadores de la adsorción de inmunógenos, cam-  
bios conformacionales en los epítomos o empleo de moléculas esti-  
mulantes de células presentadoras de antígenos, representan los  
distintos métodos inmunofarmacológicos con los que se pretende  
modular compartimentos preseleccionados del Sistema Inmune.

Otros aspectos particulares de investigación futura en este cam-  
po son: a) el desarrollo de vacunas frente a cuadros autoinmunes  
basados en el bloqueo o estimulación de receptores de distintas lí-

neas de linfocitos T; b) la obtención de un mediador endógeno de linfocitos que está sintetizado por monocitos circulantes y que tiene capacidad para estimular funciones específicas e inespecíficas del Sistema Inmune y que sería aplicable en inmunodeficiencias seniles o por desnutrición; y c) estudios farmacocinéticos de distintas rutas de administración vacunal para estimular los sistemas defensivos a nivel de mucosas con mayor efectividad, seguridad y reducción de costos.

Podemos tener una idea del interés en el desarrollo de nuevas vacunas sintéticas por el estudio de algunos datos relativos al cociente costo/beneficios, que fue estudiado el pasado año por el Instituto Médico de la Academia Nacional de Medicina en EE. UU. para el establecimiento de prioridades; en este informe se señala que una inversión de 20 millones de dólares en programas de I + D para ciertas vacunas preventivas podría conducir a un ahorro anual de dos billones de dólares en costos de atención sanitaria. Esta atención prioritaria por utilizar péptidos sintéticos como inmunógenos, el efecto inmunomodulador de ciertos oligopéptidos procedentes de moléculas naturales y el empleo de péptidos para estudiar el papel de algunos epítomos en relaciones huésped-parásito ha conducido hacia una nueva manifestación de la Biotecnología con particulares aplicaciones inmunofarmacológicas: llamada «*ingeniería de proteínas*».

La nueva tecnología se proyecta hacia el futuro, efectuando experimentos en los que se consiguen prototipos de polipéptidos ramificados, capaces de estimular la respuesta humoral del huésped y llegando, incluso, a neutralizar el efecto inmunosupresor de varias moléculas citotóxicas antitumorales; también, mediante estas técnicas, se «remiendan» proteínas naturales con vistas a mejorar su estabilidad y algunas otras de sus propiedades, aunque conservando su especificidad. Así se están obteniendo una serie de moléculas, genéricamente denominadas «*muteínas*», por ser ligeramente distintas a sus versiones proteínicas naturales; se está intentando aplicar este principio modificador a interleuquinas, interferones y otros factores inmunológicos para utilizarlos —en su versión muteínica— al tratamiento del cáncer y de algunos cuadros inmunopatológicos. Combinando la síntesis automática de péptidos con la posibilidad de añadir residuos exóticos a proteínas naturales modificadas —incluso con algún aminoácido distinto de los que intervienen en el código genético— se piensa conseguir proteínas quiméricas de actividades insospechadas: Así se ha construido una fantasmagórica versión de proteína globular sintética, la *betabelina*, formada por

dos láminas de tres filas de ocho aminoácidos cada una, más otra cadena de siete aminoácidos y todo ello entrelazado con un agente «engarzador» sintético. El próximo paso será la adición de distintas funciones catalíticas a la molécula de betabelina para lograr versiones moleculares de segunda y tercera generación en las que se vayan consiguiendo moléculas cada vez más seguras, efectivas y útiles, de hormonas sintéticas, modificadores de respuesta biológica, factores aceleradores de crecimiento y cualquier otro tipo de agente biológico de los que pueden ser clave en la Farmacoterapia del año 2000. Desde esta tribuna nos atrevemos a augurar un brillante porvenir para estas mágicas moléculas de síntesis, modernas «piedras filosofales» en el horizonte inmunofarmacológico, que constituirán los inmunofármacos del futuro.

\* \* \*

Con los últimos ejemplos de cómo la naciente ingeniería de proteínas puede influir en la creación de biofármacos cerramos nuestro estudio sobre esta joven disciplina científica —la *Inmunofarmacología*—, cuyo vertiginoso crecimiento es la réplica fiel de los avances realizados en Inmunología Básica. Si con este trabajo he conseguido llamar vuestra atención hacia esta naciente disciplina, si alguno de los asistentes se siente atraído por las perspectivas científicas que aquí son apuntadas, si entre las numerosas citas que reseñamos cabe encontrar un apoyo inicial para el estudio de algún tema científico concreto, me sentiré gratificado pensando que hoy se ha iniciado el camino de hacerme acreedor al alto honor que me habéis otorgado.

Muchas gracias.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. ABO, T., COOPER, M. D. y BALCH, C. M. (1982) *Postnatal expansion of the NK and K cell population in humans identified by the monoclonal HNK-1 antibody*. J. Exp. Med. **155**, 321-326.
2. ABO, T., MILLER, C. A., GARTLAND, G. L. y BALCH, C. M. (1983) *Differentiation stages of human natural killer cells in lymphoid tissues from fetal to adult life*. J. Exp. Med. **157**, 273-284.
3. ABSHER, R. G. y ABSHER, P. M. (1978) *Mathematical models and computer simulations of proliferation of human diploid fibroblast clones*. J. Theor. Biol. **72**, 627-638.
4. ADA, G. y SKEHEL, J. J. (1985) *Are peptides good antigens?* Nature **315**, 764-765.
5. ADAM, A. y LEDERER, E. (1984) *Muramyl peptides: immunomodulators, sleep factors, and vitamins*. Medic. Res. Rev. **4**, 111-152.
6. ADAMS, D. O. y HAMILTON, T. A. (1984) *The cell biology of macrophage activation*. Ann. Rev. Immunol. **2**, 283-318.
7. ADER, R. (1981) «*Psychoneuroimmunology*». Academic Press. New York.
8. AHMED, A. y SMITH, A. H. (1983) *Surface markers, antigens and receptor on murine T and B cells*. Part. 2 C. R. C. Crit. Rev. Immunol. **4**, 19-94.
9. AISENBERG, A. C. y LONGO, J. C. (1975) *Lymphocytic surface characteristic in malignant lymphoma*. Am. J. Med. **58**, 300-306.
10. ALDO-BENSON, M. y BOREL, Y. (1974) *The tolerant cell: Direct evidence for receptor blockade by tolerogen*. J. Immunol. **112**, 1793-1803.
11. ALEXANDER, D. ., BRITTON, H. G., FORSLING, M. L., NIXON, D. A. y RATCLIFFE, J. E. (1971) *The concentrations of adrenocorticotrophin, vasopresin and oxytocin in the foetal and maternal plasma of the sheep in the latter half of gestation*. J. Endocrinol. **49**, 179-180.
12. ALLISON, A. C. (1973) *Effects of adjuvants on different cell types and their interactions in immune responses*. En. «*Immunopotential*» CIBA Found. Symp. 18. Elsevier. Excerpta Medica. North-Holland Amsterdam, 73-99.
13. ALMERS, W. y STIRLING, Ch. (1984) *Distribution of transport proteins over animal cell membranes*. J. Membrane Biol. **77**, 169-186.
14. AMBLER, L. y HUDSON, A. M. (1984) *Pharmacokinetics and metabo-*

*lism of muramyl dipeptide and nor-muramyl-dipeptide (<sup>3</sup>H-labelled) in the mouse. Int. J. Immunopharmac. 6, 133-139.*

15. AMERY, W. K. y HORIG, Ch. (1984) *Levamisole. En «Immune Modulation Agents and their Mechanisms»*. Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Deker, Inc. N. Y. p. 383-408.
16. AMIR, S., BROWN, Z. W. y AMIL, Z. (1980) *The role of endorphins in stress: evidence and speculations. Neurosci. Biobehav. Rev. 4, 77-81.*
17. AMZEL, L. M. y POLJAK, R. J. (1979) *Three-dimensional structure of immunoglobulins. Ann. Rev. Biochem. 48, 961-997.*
18. ANACLERIO, E., CONTI, G., GOGGI, G., HONORATI, M. C., RUGGERI, A., MORAS, M. L. y SPREAFICO, F. (1980) *Effect of cytotoxic agents on suppressor cells in mice. Eur. J. Cancer 16, 53-58.*
19. ANDERSON, J. SJÖBERG, O. y MÖLLER, G. (1972) *Mitogens and probes for immunocyte activation and cellular cooperation. Transplant. Rev. 11, 131-170.*
20. ANDERSSON, B., SKOGLUND, A. C., RÖNNHOLM, M., LINDSTEIN, T., LAMON, E. W., COLLISSON, E. W. y WALAIA, A. S. (1981) *Functional aspects of IgM and IgG<sub>1</sub>C receptors on murine T lymphocytes. Immunol. Rev. 56, 5-50.*
21. ANDERSON, W. L. y TOMASI, T. B. (1979) *Quantification of non-specific immunosuppressive factors. Immunology 38, 69-74.*
22. ANDERSON, R. E. y WARNER, N. L. (1976) *Ionizing radiation and the immune response Adv. Immunol. 24, 216-335.*
23. ANDRIGHETTE, G. y ZOLLER, M. (1985) *Time course analysis of regulation of cytotoxic T cells. Cell Immunol. 93, 178-188.*
24. ANDRIOPOULOS, N. A., MESTECKY, J., MILLER, E. J. y BRADLEY, E. L. (1976) *Antibodies to native and denaturated collagens in sera of patients with rheumatoid arthritis. Arch. Rheum. 19, 613-617.*
25. AOKI, T. (1984) *Lentinan. En «Immune Modulation Agents and their Mechanisms»*. Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Deker. Inc. N. Y. p. 63-77.
26. ARGYRIS, B. F. (1978) *Suppressor activity in the spleen of neonatal mice. Cell. Immunol. 36, 354-362.*
27. ARGYRIS, B. F. (1982) *Nature of neonatal suppressors in the mouse. Cell. Immunol. 66, 352-359.*
28. ARIËNS, E. J. (1983) *Receptors: The materialization of a concept. Pharmaceutisch Weekblad Sci. Ed. 5, 121-128.*
29. ARIËNS, E. J. (1984) *Receptors: Perspectives in pathology and clinical medicine. J. Recep. Res. 4, 1-6.*
30. ARNON, R. (1980) *Chemically defined antiviral vaccines. Ann. Rev. Microbiol. 34, 593-618.*

31. ASHCROFT, F. M. (1984) *Ion channels in lymphocytes*. Immunol. Today 5, 232-233.
32. ASHERSON, G. L., ZEMBALA, M., PERERA, M., A. C. C., MAYHEW, B. y THOMAS, W. R. (1977) *Production of immunity and unresponsiveness in the mouse by feeding contact sensitizing agents and the role of suppressor cells in the Peyer's patches, mesenteric lymph nodes and other lymphoid tissues*. Cell. Immunol. 33, 145-155.
33. ATWELL, J. L. y MARCHALONIS, J. J. (1976) *Immunoglobulin classes of lower vertebrates distinct from IgM Immunoglobulin*. En: «Comparative Immunology». Ed. J. M. Marchalonis, Blakwell Sci. Publ. Oxford, p. 276-297.
34. AULT, K. A., UNANUE, E. R., KATZ, D. H. y BENACERRAF, B. (1974) *Failure of lymphocyte to re-express antigen receptors after brief interaction with a tolerogenic D-amionacid copolymer*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71, 3111-3114.
35. AUSTYN, J. M. y GORDON, S. (1981) *F4/80, a monoclonal antibody directed specifically against the mouse macrophage*. Eur. J. Immunol. 11, 805-815.
36. AVELLA, J., BINDER, H. J., MADSEN, J. E. y ASKENASE, P. W. (1978) *Effect of histamine H2-receptor antagonist on delayed hypersensitivity*. Lancet 1, 624-626.
37. AX, W. (1980) *Cell-mediated immunity model systems in tumor diagnosis*. Behring Inst. Mitt. 65, 94-98.
38. BACH, F. H., BACH, M. L. y SONDEL, P. M. (1976) *Differential function of major histocompatibility complex antigens in T-lymphocyte activation*. Nature (London) 259, 274-281.
39. BACH, J. F. y DARDENNE, M. (1970) *Etudes sur le métabolisme de l'azathioprine*. C. R. Acad. Sci. (Paris) 271, 453-456.
40. BACH, J. F., DARDENNE, M., GOLDSTEIN, A. I., GUHA, A. y WHITE, A. (1971) *Appearance of T-cell markers in bione marrow rosette-forming cells after incubation with thymosin, a thymic hormone*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68, 2734-2738.
41. BACH, J. F., DARDENNE, M. y PLEAU, J. M. (1977) *Biochemical characterization of a serum thymic factor*. Nature 266, 55-56.
42. BACHRACH, H. L. (1982) *Recombinant DNA technology for the preparation of subunit vaccines*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 181, 992-997.
43. BAGGIOLINI, M. (1984) *Phagocytes use oxygen to kill bacteria*. Experimentia 40, 906-909.
44. BAILEY, P. J. y STURM, A. (1983) *Immune complexes and inflammation. A study of the activity of anti-inflammatory drugs in the reverse pasive Arthus reaction in the rat*. Biochem. Pharmacol. 32, 475-481.
45. BALDWIN, R. W. (1976) *Relevant animal models for tumor immunotherapy*. Cancer Immunol. Immunother. 1, 197-198.

46. BALLS, M. y RUBEN, L. N. (1976) *Phylogeny of neoplasia and immune reactions to tumors*. En: «Comparative Immunology». Ed. J. J. Marchalonis. Blackwell Sci. Public. Oxford. p. 167-208.
47. BALNER, H., DERSJANT, H., BETEL, I., Van BEKKUM, D. W. (1970) *Current state of evaluating anti-human lymphocyte sera by «in vivo» testing*. Simp. Series Immunobiol. Standard. Ed. Karger, Basel 16, 179-188.
48. BAR, R. S. y ROTH, J. (1977) *Insulin Receptor status in Disease States of Man*. Arch. Intern. Med. 137, 474-481.
49. BARASOAIN, I., OJEDA, G., REJAS, M. T., PORTOLES, M. P., ROJO, J. M. y PORTOLES, A. (1985) *Efecto sobre la respuesta proliferativa, producción de interleuquina 2 y actividad NK de AM3*. Res. Com. Cientif. X Congr. Nac. Microbiol. Valencia. R-340.
50. BARASOAIN, I., ROJO, J. M. y PORTOLES, A. (1978) *Transfer of antibacterial immunity by «immune» RNA from animals treated with Pseudomonas lipopolysaccharide*. Z. Immun. Forsch. 154, 34-40.
51. BARASOAIN, I., ROJO, J. M. y PORTOLES, A. (1980) *«In vivo» effect of acetylsalicylic acid and two ether derived compounds on primary immune response and lymphoblastic transformation*. Immunopharmacology 2, 293-300.
52. BARASOAIN, I., ROJO, J. M. y PORTOLES, A. (1984) *Problemática y aplicaciones de los anticuerpos monoclonales en inmunodiagnosis y tratamientos inmunobiológicos*. An. Real. Acad. Farm. 50, 677-700.
53. BARDOS, P., DEGENNE, D., LEBRANCHU, Y., BIZIERE, K. Y RENOUX, G. (1981) *Neocortical lateralization of NK activity in mice*. Scand. J. Immunol. 13, 609-611.
54. BARR, I. G., PYKE, K. W., PEARCE, P., BAN-HOCK, T. y FUNDER, J. W. (1984) *Thymic sensitivity of sex hormones develops post-natally; an in vivo and in vitro study*. J. Immunol. 132, 1095-1099.
55. BARTOCCI, A., PAPDEMETRIOU, V., SCHLICK, E., NISULA, B. C. y CHIRIGOS, M. A. (1982) *Effect of crude and purified human chorionic gonadotrophin on murine delayed-type hypersensitivity: A role for prostaglandins*. Cell. Immunol. 71, 326-332.
56. BECKER, E. L. y KAGAN, L. J. (1964) *The permeability globulins of human serum and the biochemical mechanisms of hereditary angioneurotic edema*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 116, 866-870.
57. BEER, A. E. y BILLINGHAM, R. E. (1976) *«The Immunobiology of Mammalian Reproduction»*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs.
58. BEER, A. E. y BILLINGHAM, R. E. (1980) *Mechanism of non-rejection of foetoplacental allografts*. Folia Biológica (Praga) 26, 225-243.
59. BEER, D., OSBAND, M., McCAFFREY, R., SOTER, N. y ROCKLIN, R. E. (1982) *Abnormal histamine activated suppressor cell activity in atopic subjects*. N. Engl. J. Med. 306, 454-458.

60. BEER, A. E. y SIO, J. O. (1982) *Placenta as an immunological barrier*. Biol. Reprod. **26**, 15-28.
61. BELL, G. I. (1970) *Mathematical model of clonal selection and antibody production*. J. Theor Biol. **29**, 191-232.
62. BELL, G. I. (1971) *Mathematical model of clonal selection and antibody production III. The cellular basis of immunological paralysis*. J. Theor. Biol. **33**, 379-398.
63. BELL, G. I. (1974) *Model for the binding of multivalent antigen to cells*. Nature **248**, 430-431.
64. BELL, S. C. y BILLINGTON, W. D. (1983) *Anti-fetal allo-antibody in the pregnant female*. Immunol. Rev. **75**, 5-30.
65. BENACERRAF, B. y GERMAIN, R. N. (1978) *The immune genes of the major histocompatibility complex*. Immunol. Rev. **38**, 70-119.
66. BENACERRAF, B. y McDEVITT, H. O. (1972) *Histocompatibility-linked immune response genes*. Science **175**, 273-279.
67. BENET, L. Z., FREY, B. M., DING, T. L. y FREY, F. J. (1981) *The pharmacokinetics of immunoregulating drugs: Immunopharmacokinetics*. En: «*Advances in Immunopharmacology*». Eds. J. Hadden, L. Chedid., Mullen y F. Spreafico. Pergamon Press. Oxford, p. 29-36.
68. BENJAMIN, D. C., BERZOFKY, J. A., EAST, I. J., GURD, F. R. N., HANNUM, Ch., LEACH, S. J., MARGOLIASH, E., MICHAEL, J. G., MILLER, A., PRAGER, E. M., REICHLIN, M., SERCARZ, E. E., SMITH-GILL, S. J., TODD, P. A. y WILSON, A. C. (1984) *The antigenic structure of proteins: A reappraisal*. Ann. Rev. Immunol. **2**, 67-101.
69. BEN-NUN, A. y COHEN, R. (1982) *Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mediated by T cell lines: process of selection of lines and characterization of the cells*. J. Immunol **129**, 303-308.
70. BEN-NUN, A. y COHEN, I. R. (1982) *Spontaneous remission and acquired resistance of autoimmune encephalomyelitis (EAE) are associated with suppression of T cell reactivity: suppressed EAE effector T cells recovered as T cell lines*. J. Immunol. **128**, 1450-1457.
71. BEN-NUN, A. y LANDO, Z. (1983) *Detection of autoimmune cells proliferating to myelinating basic protein and selection of T cell lines that mediate experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice*. J. Immunol. **130**, 1205-1209.
72. BERD, D., MAGUIRE, H. C. Jr. y MASTRANGELO, M. J. (1984) *Immuno-potentiality by cyclophosphamide and other cytotoxic agents*. En: «*Immune Modulation Agents and their Mechanisms*». Eds. R. L. Fencil & M. A. Chirigos. Marcel Dekker, Inc. N. Y. p. 39-61.
73. BEREK, C., ETLINGER, H. y JULIUS, M. (1981) *Idiotypes. Antigens on the inside. Workshop Basel Institute for Immunology*. Ed Roche. Basilea.
74. BERENBAUM, M. C. (1975) *The clinical pharmacology of immunosuppressive agents*. En: «*Clinical aspects of Immunology*». 3.<sup>a</sup> ed. Gell,



- P. G. H., Coombs, R. R. A. y Lachman, P. J. Blackwell Sci. Pub. Oxford. p. 689-758.
75. BERGER, A. E., AVIS, J. E. y CRESSWELL, P. (1981) *A human leukocyte antigen identified by a monoclonal antibody*. Human Immunol. 3, 231-245.
  76. BERGER, G., MAZIERE, M., PRENANT, C., SASTRE, J. y COMAR D. (1984) *<sup>11</sup>C-labelling of a protein: Concanavalin A*. Int. J. Appl Radiat. Isot. 35, 81-83.
  77. BERNAR, A. y demás miembros del Comité de Antígenos de Diferenciación (1984). *Differentiation human leukocyte antigens: a proposed nomenclature*. Immunology Today 5, 158-159.
  78. BERNARD, J. 1975) *Actualities hematologiques*. Masson et Cie. Editeur. Paris.
  79. BERNHEIM, J. L., DORIAN, R. y MENDELSON, J. (1978) *DNA synthesis and proliferation of human lymphocytes in vitro*. 1. *Cell kinetics response to phytohemagglutinin*. J. Immuno. 120, 955-962.
  80. BESEDOWSKY, H. O., Da PRADA, M., Del REL, A. y SORKIN, E. (1981) *Immunoregulation by sympathetic nervous system*. Trends. in Pharm. Sci. 9, 236-238.
  81. BESEDOVSKY, H. O., Del REY, A. E. y SORKIN, E. (1983) *What do the immune system and the brain know about each other?* Immunology Today, 4, 342-346.
  82. BESEDOVSKY, H. O., Del REY, A. y SORKIN, E. (1983) *Immunoregulation*. Eds. Fabris, W., Garaci, E., Hadden, J. y Mitchinson, N. A. Plenum Press. London. p. 315-339.
  83. BESEDOVSKY, H. O., Del REY, A. y SORKIN, E. (1985) *Immune-neuroendocrine interactions*. J. Immunol. 135, 750s-754s.
  84. BESEDOVSKY, H. O., Del REY, A., SORKIN, E., Da PRADA, M. y KELLER, H. H. (1979) *Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system*. Cell. Immunol. 48, 346-355.
  85. BESEDOVSKY, H., Del REY, A., SORKIN, E., Da PRADA, M. BURRY, R. y HONEGGER, C. (1983) *The immune response evokes changes in brain noradrenergic neurons*. Science 221, 564-566.
  86. BESEDOVSKY, H. O., FELIX, D. y HAAS, H. (1977) *Hypothalamic changes during the immuneresponse*. Eur. J. Immunol. 7, 323-325.
  87. BESEDOVSKY, H. O. y SORKIN E. (1977) *Network of immune-neuroendocrine interactions*. Clin. Exp. Immunol. 27, 1-12.
  88. BESEDOVSKY, H. O., SORKIN, E., FELIX, D. y HAAS H. (1977) *Genetic defect in responsiveness to the B cell mitogen lipopolysaccharide*. Eur. J. Immunol. 7, 325-328.
  89. BESEDOVSKY, H. O., SORKIN, E., KELLER, M. y MÜLLER, J. (1975) *Changes in blood hormone levels during the immune response*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 150, 466-470.

90. BEUGNOT, M. C., SABOLOVIC, D., OTH, D. y DAVID, C. (1979) *Oral administration of killed Brucella abortus may increase immunity*. Ann. Immunol. **130c**, 79-84.
91. BEVAN, M. J. (1977) *In a radiation chimera, host H-2 antigens determine immune responsiveness of donor cytotoxic cells*. Nature. **269**, 417-418.
92. BICKER, U. F. (1984) *Immunopharmacological properties of 2-Cynarizidine derivatives*. En: «Immune Modulation Agents and their Mechanisms». R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Deker. Ind. N. Y. p. 447-473.
93. BICKER, U., SCHAUMANN, W. y HAAS, V. (1983) *Optimizing the lymphocyte transformation test in whole blood. I. Optimum conditions for thymidine incorporation*. J. Immunopharmacol. **5**, 1-12.
94. BILLINGHAM, M. E. J. (1983) *Models of arthritis and the search for anti-arthritis drugs*. Pharmac. Ther. **21**, 389-428.
95. BILLINGHAM, R., BRENT, L. y MEDAWAR, P. (1953) *Actively acquired tolerance to foreign cells*. Nature **172**, 603-608.
96. BILLINGHAM, M. E. J. y DAVIES, C. E. (1979) *Experimental models of arthritis in animals as screening test for drugs to treat arthritis in man*. Handbook exp. Pharmac. **50** II, 108-144.
97. BILLINGTON, W. D. y BELL, S. C. (1982) *Immunoregulatory factors in pregnancy: essential or irrelevant in the maintenance of the fetoplacental allograft?* Placenta Suppl. **4**, 13-23.
98. BIOZZI, G., STIFFEL, C., MOUTON, D. y BOUTHILLIER, Y. (1975) *Selection of lines of mice with high and low antibody responses to complex immunogens*. En: «Immunogenetics and Immunodeficiency». Ed. B. Benacerraf, MTP Lancaster. p. 179-227.
99. BZERE, K., RENOUX, M. y RENOUX, G. (1982) *Modulation of cellular immunity by the cerebral neocortex*. Neuroscience **7**, 528-536.
100. BHOGAL, B. S., EDELMAN, A., GIBBONS, J., JACOBSON, E. B., SISKIND, G. W. y THORBECKE, G. J. (1985) *Production of auto-anti-idiotypic antibody during the normal immune response*. Cell Immunol. **91**, 159-167.
101. BJORKSTEIN, B. y AHLSTEDT, S. (1984) *Relevance of animal models for studies of immune regulation of atopic allergy*. Allergy **39**, 317-327.
102. BLACK, J. W. y LEFF, P. (1983) *Operational models of pharmacological agonism*. Proc. R. Soc. Lond. B **220**, 141-162.
103. BLAESE, R. M., WEIDEN, P. L., KOSKI, L. y DOOLEY, N. (1974) *Infectious agammaglobulinemia: transmission of immunodeficiency with grafts of agammaglobulinemic cells*. J. Exp. Med. **140**, 1097-1101.
104. BLALOCK, J. E. (1984) *Regulation of lymphokine (interferon) production by corticotropin*. J. Immunol. **132**, 246-250.

105. BLALOCK, J. E. (1984) *The immune system as a sensory organ*. J. Immunol. **132**, 1067-1070.
106. BLALOCK, J. E. (1984) *The relationship between neuroendocrine hormones and lymphokines*. En: «Lymphokines 9», p. 1-18.
107. BLALOCK, J. E. y BARON, S. (1977) *Interferon-induced transfer of viral resistance between animal cells*. Nature **269**, 422-425
108. BLALOCK, J. E., GEORGIADES, J. y JOHNSON, H. M. (1979) *Immune type interferon induced transfer of viral resistance*. J. Immunol. **122**, 1018-1021.
109. BLALOCK, J. E., HARBOUR-McMENAMIN, D. y SMITH, E. M. (1985) *Peptide hormones shared by the neuroendocrine and immunologic systems*. J. Immunol. **135**, 858s-861s.
110. BLALOCK, J. E. y SMITH, E. M. (1981) *Human leukocyte interferon (HuIFN<sub>α</sub>): potent endorphin-like opioid activity*. Biochem. Biophys. Res. Comm. **101**, 472-478.
111. BLALOCK, J. E. y SMITH, E. M. (1985) *A complete regulatory loop between the immune and neuroendocrine systems*. Fred. Proceed. **44**, 108-111.
112. BLALOCK, J. E. y STANTON, J. D. (1980) *Common pathways of interferon and hormonal action*. Nature **283**, 406-408.
113. BLYTHMAN, H. E., BORD, A., BUISSON, I., JANSEN, F. K., RICHER, G y THURNEYSSSEN, O. (1984) *Antitumor effect of immunotoxins in mouse and human tumor models*. Protides of the Biol. Fluids. XXXII Colloquium Bruselas.
114. BLYTHMAN, H. E., CASELLAS, P., GROSS, O., GROSS, P., JANSEN, F. K., PAOLUCCI, F., PAU, B. y VIDAL, H. (1981) *Immunotoxins: hibrid molecular of monoclonal antibodies and a toxin subunit specifically kill tumour cells*. Nature **290**, 145-146.
115. BLYTHMAN, H. E. y GROS, P. (1985) *Immunotossine: una rassegna*. EOS J. Immunol. Immunopharmacol. **5**, 107-112.
116. BOCCI, V. (1985) *The physiological interferon response*. Immunol. Today **6**, 7-9.
117. BODANSZKY, M. (1985) *In search of new methods in peptide synthesis*. Int. J. Peptide Protein Res. **25**, 449-474.
118. BODMER, W. F. (1972) *Eevolutionary significance of the HLA system*. Nature (London) **237**, 139-145.
119. BONA, C. A. y KOHLER, H. (1983) *Immune Networks*. Ann. N. Y. Acad. Sci. **418**, 1-385.
120. BONAVIDA, B., BRADLEY, T., FAN, J., HISERODT, J., EFFROS, R. y WEXLER, H. (1983) *Molecular interaction in T cell-mediated cytotoxicity*. Immunol. Rev. **72**, 119-141.
121. BORRAS, R., CRESPO, M. D. y CALLEJA, M. (1983) *Métodos diagnós-*

*ticos de neuropatías por Pneumocystis carinii: Estudio comparativo sobre modelo experimental.* Microbiología 83, 1, 827-828.

122. BORST, J., PRENDIVILLE, M. A. y TERHORST, C. (1983) *The t3 complex on human thymus-derived lymphocytes contains two different subunits of 20 KDa.* Eur. J. Immunol. **13**, 576-580.
123. BOS, J. D. (1984) *A new approach to contact allergenicity screening.* Med. Hypoth. **15**, 103-108.
124. BUORNE, H. R., LICHTENSTEIN, L. M., HENNEY, C. S., MELMON, K. L., WEINSTEIN, Y. y SHEARER, G. M. (1974) *Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP.* Science **184**, 19-28
125. BRACK A. (1984) *Prebiotic synthesis and organization of biopolymer-like macromolecules.* Origins of life **14**, 229-236.
- 125 a. BRACKERTZ, D., MITCHELL, G. F., VADAS, M. A., MACKAL, I. R. (1977) *Studies on antigen-induced arthritis in mice. II. Immunologic correlates or arthritis susceptibility in mice.* J. Immunol. **118**, 1639-1644.
126. BRANDELY, M., LAGRANGE, P., HURTREL, B., MOTTA, I. y TRUFFA-BACHI, P. (1985) *Effects of suramin on the immune response to sheep red blood cells in mice. In vivo studies.* Cell. Immunol. **93**, 280-291.
127. BRAUN, W., FIRSHEIN, W. (1967) *Biodynamic effects oligonucleotides.* Bact. Rev. **31**, 83-94.
128. BRAUN, W. y NAKANO M. (1965) *Antibody formation: stimulation by polyadenylic and polycytidylic acids.* Science **157**, 819-821.
129. BRETSCHER, P. A. (1980) *The biological significance of cellular regulation. En: «Strategies of immune regulation».* Eds. E. E. Sercarz y A. J. Cunningham. Acad. Press. Inc. N. Y. p. 17-25.
130. BRODER, S., HUMPHREY, R., DURM, M., BLACKMAN, M., MEADE, B. GOLDMAN, C., STROBER, W. y WALDAN T. (1975) *Impaired synthesis of polyclonal immunoglobulins by circulating lymphocytes from patients with multiple myeloma.* N. Engl. J. Med. **293**, 887-891.
131. BRODSKY, F. M. (1984) *The intracellular traffic of immunologically active molecules.* Immunol. Today **5**, 350-357.
132. BROUWER, A. y KNOOK, D. L. (1983) *The reticuloendothelial system and aging: A review.* Mech. Ageing. Develop. **21**, 205-228.
133. BROWN, F. (1984) *Synthetic viral vaccines.* Ann. Rev. Microbiol. **3**, 221-235.
134. BRYCESON, A. (1974) *Anergy and suppressed cellular immunity in disease.* Progress Immunol. II, **3**, 161-170.
135. BURGESS, A. W. (1984) *The complex mediators of cell growth and differentiation.* Immunol. Today **5**, 155-158.
136. BURKE, C. N. y CROXALL, G. (1983) *Variations in composition of media and reagents used in the preparations of cell cultures from human and other animal tissues: Dulbecco's Earle's and Hank's balanced salt solutions* (Comunicación personal de C. N. Burke) p. 693-698.

137. BURNET, F. M. (1957) *A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection*. Australian J. Sci. **20**, 67-74.
138. BURNET, F. M. (1959) *Clonal selection theory of acquired immunity*. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
139. BURNET, F. M. (1960) *Teorías de Inmunidad*. En: «*Perspectives in Biology and Medicine*». Vol. III, núm. 4, p. 447-458.
140. BURNET, F. M. (1968) *Evolution of the immune process in vertebrates*. Nature **218**, 426-430.
141. BURNET, F. M. (1975) *The mechanism of immunity*. En «*Immunology*» p. 12-21. W. H. Freedman & Co., San Francisco.
142. BUTCHER, E. (1983) *Cellular traffic cues in vivo*. Immunol. Today **4**, 309.
143. BUTLER, V. P. Jr. (1978) *The immunological assay of drugs*. Pharmacol. Rev. **29**, 103-184.
144. CANTOR, H. (1983) *Control of the immune system by monoclonal T-cell peptides*. En: «*Humoral factors in host defense*». Eds. Yamamura et al. Acad. Press. Tokyo, p. 61-70.
145. CANTOR, H. y BOYSE, E. A. (1975) *Functional subclasses of T lymphocytes bearing different Ly antigens. I. The generation of functionally distinct T cell subclasses as a differentiative process independent of antigen*. J. Exp. Med. **141**, 1376-1389.
146. CANTOR, H. y BOYSE, E. A. (1977) *Regulation of cellular and humoral immunity by T-cell subclasses*. Cold-Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **41**, 23-32.
147. CANTOR, H. y GERSHON, R. K. (1979) *Immunological circuits: cellular composition*. Fed. Procc. **38**, 2058-2064.
148. CANTOR, H., y KASAI, M., SHEN, F. W., LECLERC, J. C. y GLIMCHER, L. (1979) *Immunogenetic analysis of «natural killer» activity in the mouse*. Immunol. Rev. **44**, 3-12.
149. CANTOR, H., SIMPSON, E., SATO, U. L., FATHMAN, C. G. y HERZENBERG, L. A. (1975) *Characterization of subpopulations of T lymphocytes. I. Separation and functional studies of peripheral T-cells binding different amounts of fluorescents anti-Thy:1,2 (Theta) antibody using a fluorescence-activated cell sorter (FACS)* Cell. Immunol. **15**, 180-196.
150. CAÑAVATE, M. L., PONTON, J., AMURRIO, C., REGULEZ, P., CAÑADA, J. L., SAURA, A., CISTERNA, R., PIVEL, J. P. y SADA G. (1984) *Efecto de un nuevo inmunomodulador sobre la funcionalidad de macrófagos de ratón*. Rev. Clin. Españ. **173**, 159-162.
151. CARRANO, R. A., JULIUCCI, J. D., LUCE, J. K., PAGE, J. A. e IMONDI, A. R. (1984) *Development of an immunoadjuvant for cancer treatment*. En: «*Immune Modulation Agents and their Mechanisms*». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Dekker, Inc., N. Y. p. 243-260.

152. CANTRELL, D. A. y SMITH, K. A. (1983) *Transient expression of interleukin 2 receptors. Consequences for T cell growth.* J. Exp. Med. **158**, 1895-1911.
153. CAVALLO, T., GRANHOLM, N. A. y GRAVES, K. (1984) *Immunoreactants in murine lupus nephritis: effects of azathioprine.* J. Clin. Lab. Immunol. **13**, 117-121.
154. CECCHI, R. L. (1984) *Stress: Prodrome to immune deficiency.* An. N. Y. Acad. Sci. **437**, 286-289.
155. CEREDIG, R., LOWENTHAL, J. W., NABHOLZ, M. y McDONALD H. R. (1985) *Expression of interleukin-2 receptors as a differentiation marker on intrathymic stem cells.* Nature **314**, 98-99.
156. CERNY, J. y KELSOE, G. (1984) *Priority of the anti-idiotypic response after antigen administration: artefact or intriguin network mechanism?* Immunol. Today **3**, 61-62.
157. CEUPPENS, J. L. y GOODWING, J. S. (1984) *Prostaglandins as modulators of T- and B-lymphocyte function. En: «Immune modulation agents and their mechanisms».* Eds. R. L. Fenichel y M. A. Chirigos. Marcel Dekker, Inc. N. Y. p. 627-648.
158. CLAGUE, R. B., SHAW, M. J. y HOLT, L. P. J. (1980) *Incidence of serum antibodies to native type I and type II collagens in patients with rheumatoid arthritis.* Ann. Rheum. Dis. **39**, 201-206.
159. CLARK, D. A. (1985) *Materno-fetal relations.* Immunology Letters **9**, 239-247.
160. CLERICI, N., REBOIRAS, S., FIERRO, C. y LEYUA-COBIAN, F. (1984) *Expression of Ia like (HAL-DR) antigens on human alveolar macrophages.* Clin. Exp. Med. **58**, 388-394.
161. COCHRANE, C. G. y KOFFLER, D. (1973) *Immune complex disease in experimental animals and man.* Adv. Immunol. **22**, 185-264.
162. COFFEY, R. G., HADDEN, E. M. y HADDEN, J. W. (1977) *Evidence for cyclic GMP and calcium mediation of lymphocyte activation by mitogens.* J. Immunol. **119**, 1387-1394.
163. COGOLI, A. y TSCHOPP, A. (1985) *Lymphocyte reactivity during spaceflight.* Immunology Today **6**, 1-4.
164. COGOLI, A., TSCHOPP, A. y FUCHS-BISLIN, P. (1984) *Cell sensitivity to gravity.* Science **225**, 228-230.
165. COHEN, S., PICK, E. y OPPENHEIM, J. J. (1979) *«Biology of the lymphokines».* Academic Press. Nueva York.
166. COHEN, I. R. y WEKERLE, H. (1973) *Regulation of autosensitization: The immune activation and specific inhibition of self-recognizing T lymphocytes.* J. Exp. Med. **137**, 224-238.
167. COLDMAN, A. J. y GOLDIE, J. H. (1983) *A model for the resistance of tumor cells to cancer chemotherapeutic agents.* Mathematical Biosciences **65**, 291-307.

168. COLLIER, R. J. y KAPLAN, D. A. (1984) *Immunotoxins*. Sci. Amer. **251**, 56-61.
169. CONRAD, D. H. y FROESE, A. (1978) *Characterization of the target cell receptor or IgE. Properties of the receptor isolated from rat basophilic leukemia cells by affinity chromatography*. J. Immunol. **120**, 429-437.
170. CONSDEN, R., DOBLE, A., GLYNN, L. E. y NIND, A. P. (1971) *Production of a chronic arthritis with ovalbumin. Its retention in rabbits knee joint*. Ann. Rheum. Dis. **39**, 201-206.
171. COOK, D. A. y BIELKIEWICK, B. (1984) *A computer-assisted technique for analysis and comparison of dose-response curves*. J. Pharmacol. Method. **11**, 77-89.
172. COOKE, T. D., HURD, E. R., ZIFF, M. y JASIN, H. E. (1972) *The pathogenesis of chronic inflammation in experimental antigen induced arthritis. II. Preferential localization of antigen-antibody complexes to collagenous tissues*. J. Exp. Med. **135**, 323-338.
173. COOPER, E. L. (1979) *L'evolution de l'immunité*. La Recherche **103**, 824-833.
174. COOPER, M. D. y LAWTON, A. R. (1972) *Circulating B-cells in patients with immunodeficiency*. Am. J. Pathol. **69**, 513-528.
175. COOPER, M. D., LAWTON, A. R. y KINCADE, P. W. (1972) *A two-stage model for development of antibody producing cells*. Clin. Exp. Immunol. **11**, 143-146.
176. CORBEL, C. (1982) *Different factors active in lymphoid and hematopoietic proliferation produced by single clones of helper T cell hybridomas*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. **100**, 231-237.
177. CORBEL, C., ANDERSSON, J., MELCHERS, F. y ZEUTHEN, J. (1982) *A «panreactive» T cell hybridoma which produces TCGF constitutively*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. **100**, 173-178.
178. CORBEL, C. y MELCHERS, F. (1983) *Requirement for macrophages or T cell-derived factors in the mitogenic stimulation of murine B lymphocytes by lipopolysaccharides*. Eur. J. Immunol. **13**, 528-533.
179. COSENZA, H. (1976) *Detection of anti-idiotypic reactive cells in the response to phosphorylcholine*. Eur. J. Immunol. **6**, 114-116.
180. COSENZA, H. y KOHLER, H. (1973) *Specific receptors of antibodies and cells*. 3rd Int. Convoc. Immunol. Karger, Basel. p. 330-339.
181. COSENZA, H., QUINTANS, J. y LEFKOVITS, I. (1975) *Antibody response to phosphorylcholine in vitro. I. Studies on the frequency of precursor cells, average clone size and cellular cooperation*. Eur. J. Immunol. **5**, 343-349.
182. COUTINHO, A., PETTERSSON, S., RUUTH, E. y FORNI, L. (1983) *Immunoglobulin C gene expression IV. Alternative control of IgG<sub>1</sub>-producing cells by helper cell-derived B cell-specific growth of maturation factors*. Eur. J. Immunol. **13**, 269-272.

183. CRISANTI, A. (1983) *Monoclonal antibodies against cytolytic T cell lines*. Basel Inst. Immunol. Ann. Rep. p. 88.
184. CROCE, J., THOMAZ de CARVALHO, E., PASINI, V., CASTAO, L. y DOSERRO, C. C. (1984) *La evaluación de la inmunidad celular en ancianos a través de tests cutáneos*. Allergol, et. Immunopathol. 12, 105-109.
185. CROCKER, P. R. (1984) *Antigen presentation. A transformed approach*. Immunol. Today 5, 132.
186. CROSS, R. J., MARKESBERY, W. R., BROOKS, W. H. y ROSZMANN, T. L. (1980) *Hypothalamic-immune interactions. I. The acute effect of anterior hypothalamic lesions on the immune response*. Brain. Res. 196, 79-87.
187. CUATRECASAS, P. (1974) *Membrane receptors*. Ann. Rev. Biochem. 43, 169-214.
188. CUMMINS, C. S. (1984) *Corynebacterium parvum and its fractions*. En «Immune Modulation Agents and their Mechanisms». Eds. R. L. Fencil & M. A. Chirigos. Marcel Deker, Inc. N. Y. p. 163-190.
189. CUNNINGHAM, A. J. y SERCARZ, E. (1971) *The asynchronous development of immunological memory in helper (T) and precursor (B) cell lines*. Eur. J. Immunol. 1, 413-421.
190. CUPPS, T. R. y FAUCI, A. S. (1982) *Corticosteroid-mediated immunoregulation in man*. Immunol. Rev. 65, 133-155.
191. CZERKINSKY, C. C., TARKOWSKY, A., NILSSON, L. A., OUCHTERLONY, Ö, NYGREN, H. y GRETZER, C. (1984) *Reverse enzyme-linked immunospot assay (RELISPOT) for the detection of cells secreting immunoreactive substances*. J. Immunol. Method. 72, 489-496.
192. CHABY, R. y GIRARD, R. (1985) *Preparative scale separation of functionally distinct murine B cell subpopulations*. J. Immunol. Method. 80, 255-265.
193. CHANDRA, P., WOLTERS DORF, M. y WRIGHT, D. J. (1979) *Tilorone hydrochloride*. En: «Mechanisms of action of antieukaryotic and antiviral compounds». Ed. F. E. Hahan. Springer-Verlag. Berlín, p. 385-413.
194. CHANDY, K. G., DECOURSEY, T. E., CAHALAN, M. D. y GUPTA, S. (1985) *Ion channels in lymphocytes*. J. Clin. Immunol. 5, 1-6.
195. CHANDY, K. G., DECOURSEY, T. E., CAHALAN, M. D. y GUPTA, S. (1985) *Electroimmunology: the physiologic role of ion channels in the immune system*. J. Immunol. 135, 787s-791s.
196. CHANG, J. y LEWIS, A. J. (1984) *Prostaglandins and cyclooxygenase inhibitors*. En: *Immune modulation agents and their mechanisms*. Eds. R. L. Fencil y M. A. Chirigos. Marcel Deker, Inc. N. Y. p. 649-667.
197. CHANG, Y. H., PEARSON, C. M. y ABE, C. (1980) *Adjuvant polyarthritis. IV. Induction by a synthetic adjuvant: immunologic, histopathologic and other studies*. Arch. Rheum. 23, 62-71.



198. CHAOUAT, G., CHAFFAUX, S., DUCHET-SUCHAUX, M. y VOISIN, G. A. (1980) *Immunoactive products of mouse placenta. I. Immunosuppressive effects of crude and water-soluble extracts.* J. Reprod. Immunol. 2, 127-139.
199. CHARNAY, P., GERVAIS, M., LOUISE, A., GALIBERT, F. y TIOLLAIS, P. (1980) *Biosynthesis of hepatitis B virus surface antigen in Escherichia coli.* Nature 286, 893-895.
200. CHARY, T. W. y EISEN, H. N. (1980) *Effects of N-tosyl-L-lysyl-chloromethyl-ketone on the activity of cytotoxic T lymphocytes.* J. Immunol. 124, 10281033.
201. CHATTERJEE-HASROUNI, S. y LALA, P. K. (1979) *Localization of H-2 antigens on mouse trophoblasts cells.* J. Exp. Med. 149, 1238-1256.
202. CHATTERJEE-HASROUNI, S. y LALA, P. K. (1981) *MHC antigens on mouse trophoblast cell: Paucity of Ia antigens despite the presence of H-2K and D.* J. Immunol. 127, 2070-2073.
203. CHEDID, L., PARANT, M., PARANT, F., LEFRANCIER, P., CHOAY, J. y LEDERER, E. (1977) *Enhancement of nonspecific immunity to Klebsiella pneumoniae infection by a synthetic immunoadjuvant (N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine) and several analogs.* Proc. Natl. Acad. Sci. 74, 2089-2093.
204. CHEERS, C., McKENZIE, I. F. C., PEVLOV, H., WAID, C. y YORK, J. (1977) *Resistance and susceptibility of mice to bacterial infection.* Infect. Immunity. 19, 755-761.
205. CHEEVER, M. A., GREENBERG, P. D. y FEFER, A. (1984) *Potential for specific cancer therapy with immune T lymphocytes.* J. Biol. Respons. Modif. 3, 113-127.
206. CHEN, Ch. e HIRSCH, J. G. (1972) *The effects of mercaptoethanol and of peritoneal macrophages on the antibody-forming capacity of non-adherent mouse spleen cells in vitro.* J. Exp. Med. 136, 604-617.
207. CHERKY, C. (1980) *Nouvelles internationales: Un gene ancestral commun aux molécules fondamentales de l'immunité.* La Recherche 11, 179-190.
208. CHIAN, Ch. L. (1983) *The theory of multistage carcinogenesis.* Mathematical Biosciences 67, 33-40.
209. CHIHARA, G. y HAMURO, J. (1984) *Lentinan, a T-cell-oriented immunopotenciador. Its experimental and clinical applications and possible mechanism of immune modulation.* En: «Immune Modulation Agents and their Mechanisms». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Deker. Inc. N. Y. p. 409-436.
210. CHISARI, F. V. y EDINGTON, T. S. (1975) *Lymphocyte E rosette inhibitory factor: A regulatory serum lipoprotein.* J. Exp. Med. 142, 1092-1107.
211. CHIU, E. K. Y. y RICHARDSON, J. (1983) *On the role of prostaglandins in brain mechanisms controlling blood pressure.* Gen. Pharmac. 14, 553-563.

212. CHOI, Y. S., LEE, M. S. y ROSENSPIRE, A. J. (1983) *A novel method for radiolabeling antigen-binding receptors of lymphocytes*. *Molec. Immunol.* **20**, 1249-1257.
213. DAERON, M. y FRIDMAN, W. H. (1985) *Fc receptors as regulatory molecules*. *Ann. Inst. Pasteur* **136 C**, 383-438.
214. DAFNY, N., PRIETO-GOMEZ, B. y REYES-VAZQUEZ, C. (1985) *Does the Immune System Communicate with the Central Nervous System? Interferon modifies central nervous activity*. *J. Neuroimmunol.* **7**, 1-12.
215. DALE, H. H. (1913) *The anaphylactic reaction of plain muscle in the guinea pig*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **4**, 167-223.
216. DANNENBERG, A. M. Jr. (1968) *Cellular hypersensitivity and cellular immunity in the pathogenesis of tuberculosis: specificity, systemic and local nature, and associated macrophage enzymes*. *Bacterial. Rev.* **32**, 85-102.
217. DARWIN, C. (1859) *On the Origin of Species*. Atheneum, Nueva York, p. 80.
218. DAVIES, M. (1983) *Phase variations in the modulation of the immune response*. *Immunol. Today* **4**, 103-106.
219. DAVIES, P., BAILEY, P. J. y GOLDENBERG, M. M. (1984) *The role of arachidonic acid oxigenation products in pain and inflammation*. *Ann. Rev. Immunol.* **2**, 335-357.
220. DAYER, J. M. (1982) *Aspects of resorption and formation of connective tissue during chronic inflammation in rheumatoid arthritis*. *Eur. J. Rheum. Inflamm.* **4**, 457-468.
221. DE CLERCK, F. F. y HERMAN, A. G. (1983) *5-Hydroxytryptamine and platelet aggregation*. *Fed. Proc.* **42**, 228-232.
222. DEEG, H. J. y SULLIVAN, K. M. (1983) *Chimeras no longer a myth*. *Immunol. Today* **4**, 155-156.
223. DELANOE, P. y DELANOE, M. (1912) *Sur les rapports des kystes de Carini du poumon des rats avec le Trypanosoma lewisi*. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **155**, 658-660.
224. DeLISI, C. (1983) *Mathematical modeling in immunology*. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **12**, 117-138.
225. DeLISI, C., BOYLE, M. y BORSOS, T. (1980) *Analysis of the colloid osmotic step of complement-mediated immune hemolysis*. *J. Immunol.* **125**, 2055-2062.
226. DeLISI, C., SIRAGANIAN, R. (1979) *Receptor cross-linking and histamine release. II. Interpretation and analysis of anomalous dose response patterns*. *J. Immunol.* **122**, 2293-2299.
227. DELOVITCH, T. L., PRESS, J. L. y McDEVITT, H. O. (1978) *Expression of murine Ia antigens during embryonic development*. *J. Immunol.* **120**, 818-824.

228. Del REY, A., BESEDOWSKY, H. O., SORKIN, E., Da PRADA, M. y ARRENBRECHT, S. (1981) *Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system, II*. Cell. Immunol. **63**, 329-334.
229. DeMAERTELAER, V. y GALAND, P. (1977) *Cell kinetics: A model of stimulated populations*. J. Theor. Biol. **69**, 429-445.
230. DEMBO, M. y GOLDSTEIN, B. (1980) *A model of cell activation and desensitization by surface immunoglobulin: the case of histamine release from human basophils*. Cell. **22**, 59-67.
231. De PAOLI, P., REITANO, M., BATTISTIN, S., CASTIGLIA, C. y SANTINI, G. (1984) *Enumeration of human lymphocyte subsets by monoclonal antibodies and flow cytometry: a comparative study using whole blood or mononuclear cells separated by density gradient centrifugation*. J. Immunol. Meth. **72**, 349-353.
232. De SIMONE, C. (1985) *Immunopharmacological profile and clinical trials with methisoprinol*. EOS **5**, 83-87.
233. DICKLER, H. B. (1976) *Lymphocyte receptors for immunoglobulin*. Adv. Immunol. **24**, 167-214.
234. DODET, B. y TOURAINE, J. L. (1985) *L'avenir des enfants-bulle*. La Recherche **16**, 656-659.
- 234 a. DOR, P. J., ACKERMAN, S. J. y GEICH, G. J. (1983) *Charcot-Leyden crystal protein and eosinophil granuloma major basic protein in sputum of patients with respiratory diseases*. J. Allergy Clin. Immunol. **71** Suppl. 112.
235. DORF, M. E. y BENACERRAF, B. (1984) *Suppressor cells and immunoregulation*. Ann. Rev. Immunol. **2**, 127-158.
236. DORSCH, S. y ROSER, B. (1975) *T cells mediate transplantation tolerance*. Nature **258**, 233-235.
237. DROEGE, W. (1875) *In vivo induction of suppressor cells in mice*. Basel Inst. for Immunology Ann. Rep. p. 79.
238. DROEGE, W. (1975) *Suppression of the allograft rejection by antigen in experienced suppressor cells*. Basel Inst. for Immunology Ann. Rep. p. 80.
239. DRYSDALE, B. y SHIN, H. S. (1981) *Activation of macrophages for tumor cell cytotoxicity: Identification of indomethacin sensitive and insensitive pathways*. J. Immunol. **127**, 760-765.
240. DUBOIS, M. P. (1971) *Sur l'apparition des sécrétions hormonales dans l'hypophyse foetal dans bovins; mis en évidence par immunofluorescence des cellules gonadotropes thyroïdiques*. C. R. Acad. Sci. D. (Paris) **272**, 1793-1795.
241. DUKOR, P., BIANCO, C. y NUSSENZWEIG, V. (1971) *Bone marrow origin of complement receptor lymphocytes*. Eur. J. Immunol. **1**, 491-494.
242. DUKOR, P., TARCSAY, L. y BASCHANG, G. (1979) *Immunostimulants*. Ann. Rep. Med. Chem. **14**, 146-147.

243. DUMMONDE, D. C. y GLYNN, L. E. (1962) *The production of arthritis in rabbits by an immunological reaction to fibrin*. Brit. J. Exp. Path. **43**, 373-383.
244. Du PASQUIER, L. (1973) *Ontogeny of the immune response in cold-blooded vertebrates*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. **61**, 38-88.
245. Du PASQUIER, L. (1976) *Amphibian models for study of the ontogeny of immunity*. En: «Comparative Immunology». Ed. J. J. Marchalonis. Blackwell Sci. Publ. Oxford p. 390-418.
246. DUTTON, R. W. (1975) *Separate signals for the initiation of proliferation and differentiation in the B cell response to antigen*. Transplant. Rev. **23**, 66-77.
247. EASMON, C. S. F. y GAYA, H. (1983) *Second International Symposium on Infections in the Immunocompromised host*. Acad. Press. London.
248. EDELMAN, G. (1970) *The structure and function of antibodies*. Sci. Am. **223**, 34-42.
249. EDELMANN, R. (1980) *Vaccine adjuvants*. Rev. Infect. Dis. **2**, 370.
250. EDELMANN, R., HARDEGREE, M. C. y CHEDID, L. (1980) *Summary of an International symposium on potentiation of the immune response to vaccines*. J. Infect. Dis. **141**, 103-112.
251. EDWARDS, A. J., BACON, T. H., ELMS, C. A., VERARDI, R. FELDER, M. y KNIGHT, S. (1984) *Changes in the population of lymphoid cells in human peripheral blood following physical exercise*. Clin. Exp. Immunol. **58**, 420-427.
252. EISEN, V. y SMITH, H. G. (1970) *Plasmakinin formation by complexes of aggregated X-globulin and serum proteins*. Br. J. Exp. Path. **51**, 328-336.
253. EISENSTEIN, T. K. (1975) *Evidence for O antigens as the antigenic determinants in «ribosomal» vaccines prepared from Salmonella*. Infect. Immunity **12**, 346-377.
254. EISENSTEIN, T. K. (1978) *Ribosomal vaccines: a review*. En: «New Trends and Developments in Vaccines». Eds. A. Voller y H. Friedman. MTP. Press. Ltd. Lancaster p. 211-222.
255. EISENSTEIN, T. K., ANGERMAN, C. R. y DEAKINS, L. W. (1981) *Ribosomal vaccines as immunomodulators*. En: «Immunomodulation by bacteria and their products». Eds. H. Friedman, T. W. Klein y A. Szentivanyi. Plenum Press. N. Y. p. 199-214.
256. ELFENBEIN, G. J., GOLDSTEIN, A. L., ADAMS, J. S. y RAVLIN, H. M. (1980) *Thymosin-induced T cell marker expression and enhanced mitogen responsiveness in allogeneic marrow transplant recipients*. Transplantation **29**, 113-118.
257. ELLIS, A. E. (1980) *Antigen-trapping in the spleen and kidney of the plaice *Pleuronectes platessa* L.* J. Fish Dis. **3**, 413-418.
258. ELORZA, F. L., RUBIO, N., LIZASO, M., MALAGON, F. y DORADO,

- M. E. (1982) *Estandarización del test de liberación de histamina*. *Allergol. et Immunopathol.* **10**, 221-228.
259. ELSON, C. O., JAMES, S. P., GRAEFF, A. S. y STROBER, W. (1983) *Humoral immunoregulation in Crohn's disease*. En: «*Regulation of the immune response*». 8th Int. Convoc. Immunol. Amherst, N. Y. p. 299-308.
260. ERB, P. y FELDMANN, M. (1975) *The role of macrophages in the generation of T-helper cells. I. The requirement for macrophages in helper cell induction and characteristics of the macrophage-T-cell interaction*. *Cell. Immunol.* **19**, 356-367.
261. ERB, P., RAMILA, G., SKLENAR, I., KENNEDY, M. y SUNSHINE, G. H. (1985) *Evaluation of accessory cell heterogeneity. III. Role of dendritic cells in the in vitro activation of the antibody response to soluble antigens*. *Immunobiol.* **169**, 424-435.
262. ERLANGER, B. F. (1985) *Anti-idiotypic antibodies: what do they recognize?* *Immunol. Today* **6**, 10-11.
263. ESKOLA, J., RUUSKANEN, O., SOPPI, E., VILJANEN, M. K., JARVINEN, M., TOIVONEN, H. y KOUVALAINEN, K. (1978) *Effect of sport stress on lymphocytes transformation and antibody formation*. *Clin. Exp. Immunol.* **32**, 339-345.
264. EVANS, R. L. y ENGLEMAN, E. G. (1985) *Progress toward understanding self-tolerance*. *Seminar Hematology* **22**, 68-80.
265. FABRIS, N. (1984) *Neuroimmunoendocrinologia*. *EOS*, **4**, 183,189.
266. FABRIS, N., PIERPAOLI, W. y SORKIN, E. (1971) *Hormones and the immunological capacity. III. The immunodeficiency disease of hypopituitary Snell-Bagg dwarf mice*. *Clin. Exp. Immunol.* **9**, 209-215.
267. FABRIS, N., PIERPAOLI, W. y SORKIN, E. (1971) *Hormones and the immunological capacity. IV. Restorative effects of developmental hormones or of lymphocytes on the immunodeficiency syndrome of the dwarf mouse*. *Clin. Exp. Immunol.* **9**, 227-232.
268. FAIGEAS, M. J., FIORAMONTI, J. y BUENO, L. (1984) *Prostaglandin E2: A neuromodulator in the central control of gastrointestinal motility and feeding behaviour by calcitonin*. *Science* **225**,1050-1052.
269. FAMAHEY, J. P., FONTAINE, J., SEAMAN, I. y REUSE, J. (1979) *The effects of antiinflammatory steroids on the response of the guinea pig isolated ileum to acetylcholine, histamine, nicotine, 5-hydroxytryptamine and electrical stimulation*. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **309**, 191-195.
270. FARQUHAR, D., LOO, T. L., GUTTERMAN, J. V., HERSH, E. M. y LUNA, M. A. (1976) *Inhibition of drug-metabolizing enzymes in the rat after Bacillus Calmette-Guerin treatment*. *Biochem. Pharmacol.* **25**, 1529-1535.
271. FARRAN, E. (1983) *Presentation, regulation and cellular assassination*. *Immunol. Today* **4**, 303.
272. FARRAR, J. J. y KOOPMAN, W. J. (1979) *Characterization of mitogenic factors and their effect on the antibody response «in vitro»*. En: «*Bio-*

- logy of the lymphokines». Eds. Cohe, Pick & Oppenheim. Academic Press. N. Y. p. 325-346.
273. FAULK, W. P. y McINTYRE, J. A. (1981) *Trophoblast survival*. Transplantation **32**, 1-23.
274. FAUSTMAN, D., HAUPTFELD, V., DAVIE, J. M., LACY, P. E. y SHREFFLER, D. C. (1980) *Murine pancreatic B-cells express H-2K and H-2D but not Ia antigens*. J. Exp. Med. **151**, 1563-1568.
275. FAZEKAS, S. (1983) *Automated production of monoclonal antibodies in a cytostat*. J. Immunol. Meth. **57**, 121-136.
276. FAZEKAS DE ST. GROTH, S. (1975) *The joint evolution of antigen and antibodies*. En: «From molecular recognition to perception». Proc. 5th Confer. Versalles.
277. FEDER, J. y TOLBERT, W. R. (1983) *Cultivo a gran escala de células de mamífero*. Investigación y Ciencia **76**, 8-16.
278. FEIGEN, L. P. (1983) *Differential effects of leukotrienes C<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> and E<sub>4</sub> in the canine renal and mesenteric vascular beds*. J. Pharmacol. Exper. Ther. **225**, 682-687.
279. FELDMANN, M. y DIENER, E. (1970) *Antibody-mediated suppression of the immune response in vitro*. J. Exp. Med. **131**, 247-274.
280. FESTING, M. F. W., MAY, D., CONNORS, T. A., LOVELL, O. y SPARRROW, S. (1978) *An athymic nude mutation in the rat*. Nature **274**, 365-366.
281. FERRAILOLO, B. y BENET, L. Z. (1985) *Peptides and protein as drugs*. Pharm. Res. **4**, 151-156.
282. FIDLER, I. J., BERENDET, M., y OLDHAM, R. K. (1982) *The rationale for and design of a screening procedure for the assessment of biological response modifiers for cancer treatment*. J. Biol. Respons. Modif. **1**, 15-26.
283. FLEISCH, J. H., RINKEMA, L. E. y MARSHALL, W. S. (1984) *Pharmacological receptors for the leukotrienes*. Biochem. Pharmacol. **33**, 3919-3922.
284. FOGLER, W. E. y FIDLER, I. J. (1984) *Modulation of the immune response by muramyl dipeptide*. En: «Immune Modulation Agents and their Mechanisms». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Dekker. Inc. N. Y. p. 499-512.
285. FOON, K. A., BERNHARD, M. I. y OLDHAM, R. K. (1982) *Monoclonal antibody therapy: assessment by animal models*. J. Biol. Resp. Modif. **1**, 277-304.
286. FORD, W. L., ROLSTAD, B. y FOSSUM, S. (1984) *The elimination of allogeneic lymphocytes: a useful model of natural killer cell activity «in vivo»*. Immunol. Today **5**, 227-228.
287. FOURNAU, Ph., BONNET, P., BOURGUE, M. F. y PARIS, J. (1984) *Prostacyclin bioassays using inhibition of platelet aggregation and relaxation of rabbit coeliac artery*. J. Pharmacol. Methd. **11**, 53-60.

288. FORNI, L. y COUTINHO, A. (1978) *Receptor interactions on the membrane of resting and activated B cells*. Nature (London) **273**, 304-306.
289. FORNI, L. y COUTINHO, A. (1982) *The production of membrane or secretory forms of immunoglobulins is regulated by C-gene-specific signals*. Nature **299**, 173-175.
290. FORSGREN, A. y BANCK, G. (1978) *Influence of antibiotics on lymphocyte function in vitro*. Infection **6** suppl. 1, 91-97.
291. FOX, S. W. y DOSE, K. (1977) *Molecular evolution of the origin of life*. Marcel Dekker, N. Y.
292. FRENKEL, J. K., GOOD, J. T. y SHULTZ, J. A. (1965) *Pathogenesis and chemotherapy of Pneumocystis carinii infection of rats*. En: «Progress in Protozoology». Excerpt. Med. Intern. Congr. Ser. 91 p. 129.
293. FRENKEL, J. K., GOOD, J. T. y SHULTZ, J. A. (1965) *Corticosteroid-induced relapse of Pneumocystis infection of rats and its prevention with sulfadiazine-pyrimethamine therapy*. Fed. Proc. **24**, 614.
294. FRENKEL, J. K., GOOD, J. T. y SHULTZ, J. A. (1966) *Latent Pneumocystis infection of rats, relapse, and chemotherapy*. Lab. Invest. **15**, 1559-1577.
295. FRENKEL, J. K. y HAVENHILL, M. A. (1963) *The corticoid sensitivity of golden hamsters, rats, and mice*. Lab. Invest. **12**, 1204-1220.
296. FRIEDMAN, H., KLEIN, T. W. y SZENTIVANYI, A. (1981) *Immunomodulation by bacteria and their products*. Proc. Conference on Immunomodulation at Tampa (Florida). Plenum Press. New York.
297. FRIEDMAN, R. M. y VOGEL, S. N. (1983) *Interferons with special emphasis on the immune system*. Adv. Immunol. **34**, 97-140.
298. FROST, H., CAHILL, R. N. P. y TRNKA, Z. (1975) *The migration of recirculating autologous and allogeneic lymphocytes through single lymph nodes*. Eur. J. Immunol. **5**, 839-843.
299. FRUEHAUF, J. P., BONNARD, G. D. y HERBERMAN, R. B. (1982) *The effect of lentinan on production of interleukin-1 by human monocytes*. Immunopharmacology **5**, 65-74.
300. FUDENBERG, H. H., STITES, D. P., CALDWELL, J. L. y WELLS, J. V. (1978) *Immunología Clínica*. Ed. Man. Moder. S. A. Mejico. p. 475-495.
301. FUNG, M. C., HAPPEL, A. J., YMER, S., COHEN, D. R., JOHNSON, R. M., CAMPBELL, H. D. y YOUNG, I. G. (1984) *Molecular cloning of cDNA for murine interleukin-3*. Nature **307**, 233-238.
302. GAAL, D., HUDECZ, F. y SZEKERKE, M. (1984) *Immunomodulatory effect of synthetic branched polypeptides I*. J. Biol. Res. Mod. **3**, 174-184.
303. GALABRU, J. y HOVANESSIAN, A. G. (1984) *Interferon: action antivirale et effets biologiques*. Bull. Inst. Pasteur. **82**, 283-334.
304. GALANT, S. P. y REMO, R. A. (1975)  *$\beta$ -adrenergic inhibition of human T lymphocyte rosettes*. J. Immunol. **114**, 512-513.

305. GARDEN, I. D. (1980) *The effect of aging on susceptibility to infection.* Rev. Infect. Dis. **2**, 801-810.
306. GAROVOY, M. R., REDDISH, M. A. y ROCKIN, R. E. (1983) *Histamine-induce suppressor factor (HSF): Inhibition of helper T cell generation and function.* J. Immunol. **130**, 357-361.
307. GASSER, D. L. y SILVERS, W. K. (1974) *Genetic determinants of immunological responsiveness.* Adv. Immunol. **18**, 1-66.
308. GEE, A. Ph. (1984) *Advantages and limitations of methods for measuring cellular chemotaxis and chemokinesis.* Mol. Cell. Biochem. **62**, 5-11.
309. GEHA, R. S., REINHERZ, E., LEUNG, D., MCKEE, K. T., SCHLOSSMAN, S. y ROSEN, F. S. (1981) *Deficiency of suppressor T cells in the hyperimmunoglobulin E syndrome.* J. Clin. Invest. **68**, 783-791.
310. GELIN, C., BOOMSSELL, L., DAUSSET, J. y BERNARD, A. (1984) *The heterogeneity and functional capacities of human thymocyte subpopulations.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **81**, 4912-4916.
311. GEMSA, D., BÄRLIN, E., LESER, H. G., DEIMANN, W. y SEITZ, M. (1981) *Prostaglandins and leukotrienes: Physiological and pathophysiological mediators of immunity.* Behring Inst. Mitt. **68**, 51-67.
312. GERHARD, W., HACKETT, C. y MELCHERS, F. (1983) *The recognition specificity of a murine helper T cell for hemagglutinin on influenza virus A/PR/8/341.* J. Immunol. **130**, 2379-2385.
313. GERSHON, R. K., EARDLEY, D. D., DURUM, S., GREEN, D. R., SHEN, F. W., YAMAUCHI, K. CANTOR, H. y MURPHY, D. B. (1981) *Contra-suppression. A novel immunoregulatory activity.* J. Exp. Med. **153**, 1533-1546.
314. GERSHON, R. K., KONDO, K. (1971) *Infectious immunological tolerance.* Immunology **21**, 903-914.
315. GERUGHTY, R. M., ROSENAU, W. y MOON, H. D. (1966) *In vitro transfer of immunity by ribosomes.* J. Immunol. **97**, 700-708..
316. GERVAIS, F., MARTEL, R. R. y SKAMENE, E. (1984) *The effect of the non-steroidal anti-inflammatory drug etodolac on macrophage migration in vitro and in vivo.* J. Immunopharmac. **6**, 205-214.
317. GETHING, M. J. y SAMBROOCK, J. (1982) *Construction of influence haemagglutinin genes that code for intracellular and secreted forms of the protein.* Nature **300**, 598.
318. GIBALDI, M. y PERRIER, D. (1975) *«Pharmacokinetics»* M. Dekker, New York, p. 293-296.
319. GIBSON, J. P., MEGEL, H., CAMYRE, K. P. y MICHAEL, J. G. (1976) *Effect of tilorone hydrochloride on the lymphoid and interferon responses of athymic mice.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **151**, 264-266.
320. GIDLUND, M., ORN, A., WIGZELL, H., SENIK, A. y GRESSER, I. (1978) *Enhanced NK activity in mice injected with interferon and interferon inducers.* Nature **273**, 759-761.



321. GIORNO, R. (1983) *The value of theoretical immunology*. Immunology Today 4, 336.
322. GIRON, L. T., CURTCHEN, K. A., y DAVIS, J. N. (1980) *Lymph nodes: a possible site for sympathetic neuronal regulation of immune responses*. Ann. Neurol. 8, 520-527.
323. GITLIN, D. y BIASSUCI, A. (1969) *Development of  $\gamma$  G,  $\gamma$  A,  $\gamma$  M,  $\beta$ 1c,  $\beta$ 1A, C'I esterase inhibitor, ceruloplasmin, transferrin, hemopexin, haptoglobin, fibrinogen, plasminogen,  $\alpha$ 1-antitrypsin, orosomucoid,  $\beta$ -lipoprotein,  $\alpha$ 2-macroglobin, and prealbumin in the human conceptus*. J. Clin. Invest. 48, 1433-1446.
324. GLIMCHER, L., SHEN, F. W. y CANTOR, H. (1977) *Identification of a cell-surface antigen selectively expressed on the natural killer cell*. J. Exp. Med. 145, 1-9.
325. GODING, J. W. (1982) *Biological effects of antibodies to lymphocyte surface receptors*. Springer Semin. Immunopathol. 5, 463-475.
326. GOEDEL, D. V., YLVERTON, E., ULLRICH, A., HEYNEKER, H. L., MIOZARI, G., HOLMES, W., SEEBUG, P. H., DULL, T., MAY, L., STEBBING, N., CREA, R., MAEDA, S., McCANDLISS, R., SLOMA, A., TABOR, J. M., GROSS, M., FAMILLETTI, P. C., y PESTKA, S. (1980) *Human leucocyte interferon produced by E. coli is biologically active*. Nature 287, 411-416.
327. GOTZE, A., KANELLOPOULOS, J. y METZGER, R. (1981) *Domain structure of the receptor for IgE*. Fed. Proc. 40, 968-970.
328. GOETZL, E. J. y PAYAN, D. G. (1984) *Inhibition by somatostatin of the release of mediators from human basophils and rat leukemic basophils*. J. Immunol. 131, 3255-3258.
329. GOFFEY, R. G. y HADDEN, J. W. (1985) *Neurotransmitters, hormones, and cyclic nucleotides in lymphocyte regulation*. Fed. Proceed. 44, 112-117.
330. GOLDBERG, N. D., HADDOX, M. K., DUNHAM, E., LOPEZ, C., y HADDEN, J. W. (1974) *Control of proliferation in animal cells*. Eds. B. Clarkson & R. Baserga pp. 609-626 Cold Spring Harbor Press. C. S. H.
331. GOLDSTEIN, A., LOW, T. L. K., MacADOO, M., MacCLURE, J., THURMAN, G. B., ROSSIO, J., LAI, C. Y., CHANG, D., WANG, S. S., HARVEY, C. RAMEL, A. H. y MEIENHOFER, J. (1977) *Thymosin  $\alpha_1$ : Isolation and sequence analysis of an immunologically active thymic polypeptide*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 725-729.
332. GOLDSTEIN, D., SCHEID, M., BOYSE, E. A., BRAND, A. y GILMOUR, D. G. (1977) *Thymopoietin and bursopoietin: induction signals regulating early lymphocyte differentiation*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 41, 5-8.
333. GOLSTEIN, P., SVEDMYR, E. A. J. y WIGZELL, H. (1971) *Calls mediating specific in vitro cytotoxicity. I. Detection of receptor-bearing lymphocytes*. J. Exp. Med. 134, 1385-1402.

334. GOMEZ, E., PEREZ-SILVA, G., MELGAR, M. M., GIL, I. y PORTOLES, A. (1986) *Exocellular products from Bifidobacterium adolescentis as immunomodifiers in the lymphoproliferative responses of mouse splenocytes*. FEMS Microbiol. Letters. (en prensa).
335. GONZALEZ ALVAREZ, R. y ARRUZAZABALA, M. L. (1982) *Effects of disodium cromoglycate on smooth muscle*. Allergol. et. Immunopathol. 10, 201-204.
336. GOODELL, B., JACOBS, J. B., POWELL, R. D. y DeVITA, V. T. (1970) *Pneumocystis carinii: the spectrum of diffuse interstitial pneumonia in patients with neoplastic diseases*. Ann. Intern. Med. 72, 337-340.
337. GOODMAN, A., GOODMAN, L. S. y GILMAN, A. (1982) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, 6.<sup>a</sup> edi. Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, pp. 17-55.
338. GOODWIN, J. S. y MESSNER, R. P. (1978) *Prostaglandin E, inhibition of mitogen stimulation in patients with multiple sclerosis*. Prostaglandins 15, 28-33.
339. GOODWIN, J. S., MESSNER, R. P., BANKHURST, A. D., PEAKE, G. T., SAIKI, J. H. y WILLIAMS, R. C. Jr. (1977) *Prostaglandin-producing suppressor cells in Hodgkin's disease*. New Engl. J. Med. 297, 963-968.
340. GOODWIN, J. S. y WEBB, D. R. (1980) *Regulation of the immune response by prostaglandins*. Clin. Immunol. and Immunopathol. 15, 108-122.
341. GOTTLIEB, P., STABINSKY, Y. ZAKUTH, V., SPIRER, Z. y FRIDKIN, M. (1983) *Synthetic pathways to tuftsin and radioimmunoassay*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 419, 12-22.
342. GOWANS, J. L. y UHR, J. W. (1966) *The carriage of immunological memory by small lymphocytes in the rat*. J. Exp. Med. 124, 1017-1031.
343. GRASSO, R. J., WEST, L. A., GUAY, R. C. Jr. y KLEIN, T. W. (1983) *Inhibition of yeast phagocytosis by dexamethaxone in macrophage cultures; reversibility of the effect and enhanced suppression in cultures of stimulated macrophages*. J. Immunopharmac. 4, 265-278.
344. GREENE, R. y MUNSON, B. (1980) *Inhibition of purified wheat germ DNA dependent RNA polymerase by pyran copolymer*. Can. J. Biochem. 58, 295-298.
345. GREGORIADIS, G., SENIOR, J., WOLFF, B. y KIRBY, Ch. (1985) *Targeting of liposomes to accessible cells in vivo*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 446, 319-340.
346. GREGORY, F. J. (1984) *Thiazolobenzimidazole and thiazolobenzothiazole compounds as biological response modifiers*. En: «Immune Modulation Agents and their Mechanisms». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Dekker, Inc. N. Y. p. 21-38.
347. GRISWOLD, W. R. y NELSON, D. P. (1984) *A rapid method for the determination of antibody affinity*. Immunol. Letters 7, 229-232.
348. GRONDEL, J. L. y HARMSSEN, E. G. M. (1984) *Phylogeny of interleu-*

kins: growth factors produced by leucocytes of the cyprinid fish, *Cyprinus carpio* L. *Immunology* **52**, 477-482.

349. GRONSKI, P., BODENBENDER, L., KANZY, E. J., LOOS, M. y SELLER, F. R. (1985) *The modulation of immune complex aggregation by classical pathway mediated.* *Immunobiol.* **169**, 346-361.
350. GROSSMAN, Z., ASOFSKY, R. y De LISI, C. (1980) *The dynamics of antibody secreting cell production: Regulation of growth and oscillations in the response to T-independent antigens.* *J. Theor. Biol.* **84**, 49-92.
351. GROSSMAN, A. y BERKE, G. (1980) *Tumor escape from immune elimination.* *J. Theor. Biol.* **83**, 267-296.
352. GULIAN, D. y LACHMAN, L. B. (1985) *Interleukin-1 stimulation of astroglial proliferation after brain injury.* *Science* **228**, 497-499.
353. GÜNTHER, E. (1973) *A brief review of immune response genes in mice.* *Transplant. Proc.* **5**, 1315-1319.
354. GÜNTHER, E. (1979) *Close associations between particular I. region-determined cell surface antigens and Ir gene-controlled immune responsiveness to synthetic polypeptides in wild rats.* *Eur. J. Immunol.* **9**, 391-401.
355. GÜNTHER, E. (1980) *Aspects of genetic control of immune responsiveness.* *Behring Inst. Mitt.* **65**, 62-70
356. GUPTA, S., PATHWA, R., O'REILLY, R., GOOD, R. A. y SIEGAL, F. P. (1976) *Ontogeny of lymphocyte subpopulations in human fetal liver.* *Proc. Natl. Acad. Sci.* **73**, 919-922.
357. GUPTA, S., RAZIYUDDIN, A. y SARKAR, F. H. (1984) *Receptors for human alpha interferon: are gangliosides involved?* *J. Interferon Res.* **4**, 305-314.
358. GUTMANN, E., HASEK, M. y CHUTNA, J. (1976) *Passive immunological enhancement of muscle allografts in rats.* *Transplantation* **21**, 220-224.
359. GUTTERY, J. E., TILDEN, A., HERRON, D. K., GALLAGHER, P., BAKER, S. R. y ADES, E. W. (1984) *Leukotrienes (LTB<sub>4</sub> and LTD<sub>4</sub>): in vitro effects of human lymphocyte proliferation and transformation.* *J. Clin. Lab. Immunol.* **13**, 151-153.
360. HAAIJMAN, J. J., MICKLEM, H. S., LEDBETTER, J. A., DANGEL, J. LL. y HERZENBERG, L. A. (1981) *T cell ontogeny: organ location of maturing populations (defined by surface antigen markers) is similar in neonates and adults.* *J. Exp. Med.* **153**, 605-614.
361. HAAS, W. y Von BOEHMER, H. (1978) *Techniques for separation and selection of antigen specific lymphocytes.* *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **84**, 3-119.
362. HAAS, W. y Von BOEHMER, H. (1984) *T cell proliferation and differentiation.* En: «*Leukemia. Dahlem Konferenzen*». Eds. I. L. Weissman. Springer-Verlag.

363. HADDEN, J. W. (1977) *Cyclic nucleotides in lymphocyte proliferation and differentiation*. En: «*Immunopharmacology*». Eds. J. W. Hadden, R. G. Coffey y F. Spreafico. Plenum Med. Book Co. N. Y. p. 1-28.
364. HADDEN, J. W. (1981) *The Immunopharmacology of Immunotherapy: and update*. En: «*Advances in Immunopharmacology*». Eds. J. Hadden, L. Chedid, P. Mullen y F. Spreafico. Pergamon Press. Oxford, p. 327-340.
365. HADDEN, J. W. (1983) *Immunoregulation*. Eds. Fabris, W., Garaci, E., Hadden, J. y Mitchinson, N. A. Plenum Press. Londres p. 201-230.
366. HADDEN, J. W., CHEDID, L., MULLEN, P. y SPREAFICO, F. (1981) *Advances in Immunopharmacology*. Pergamon Press. Oxford.
367. HADDEN, J. W., HADDEN, E. M. y MIDDLETON, E. Jr. (1970) *Lymphocyte blast transformation*. Cell. Immunol. 1, 583-595.
368. HALL, N. R. y GOLDSTEIN, A. L. (1984) *Endocrine regulation of host immunity. The role of steroids and thymosin*. En: «*Immune modulation agents and their mechanisms*». Eds. R. L. Fenichel y M. A. Chirigos. Marcel Dekker. Inc. N. Y. p. 533-563.
369. HALL, N. R., LEWIS, J. K. y SCHIMPF, R. D. (1978) *Effects of diencephalic and brainstem lesions on haematopoietic stem cells*. Soc. Neurosci. Abst. 4, 20-26.
370. HALL, N. R., MCGILLIS, J. P., SPANGELO, B., PALASZYNSKI, E., MOODY, T. y GOLDSTEIN, A. L. (1982) *Evidence for a neuroendocrine-thymus axis mediated by thymosin polypeptides*. En: «*Current Concepts in Human Immunology and Cancer Immunomodulation*». Eds. B. Serrou, C. Rosenfeld, J. C. Daniels y J. P. Saunders. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam, p. 653-660.
371. HAMBURGER, R. N. (1975) *Peptide inhibition of the Prausnitz-Küstner reaction*. Science 789, 389-390.
372. HAMMAR, J. A. (1935) *Innervations-verhältnisse der Krelorgane der thymus bis in den 4 tetalmonat*. Z. Microskant. Forsch. 8, 253-258.
373. HÄMMERLING, V., CHIN, A. F. y ABBOTT, J. (1976) *Ontogeny of murine B lymphocytes: sequence of B-cell differentiation from surface-immunoglobulin-negative precursors to plasma cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73, 2008-2012.
374. HÄMMERLING, G. J. y McDEVITT (1974) *Antigen binding T and B lymphocytes. I. Differences in cellular specificity and influences of metabolic activity on interaction of antigen with T and B cells*. J. Immunol. 115, 1726-1733.
375. HAMURO, J., WAGNER, H. y ROLLINGHOFF, M. (1978)  *$\beta$  (1-3) glucans as a probe for T cell specific immune adjuvants. II. Enhanced in vitro generation of cytotoxic T lymphocytes*. Cell. Immunol. 38, 328-335.
376. HAN, T. (1975) *Human chorionic gonadotropin. Its inhibitory effect on cell-mediated immunity «in vivo» and «in vitro»*. Immunology 29, 509-515.
377. HANNUM, Ch. FREED, J. H., TARR, G., KAPPLER, J. y MARRACK, P.

- (1984) *Biochemistry and distribution of the T cell receptor*. Immunol. Rev. **81**, 161-176.
378. HARDISTY, R. M. (1968) *Platelet aggregation and platelet factor-3 availability in bleeding disorders*. Exp. Biol. Med. **3**, 189-195.
379. HARFAST, B., HUDDLESTONE, J. R., CABALI, P., MERIGAN, T. G. y OLDSTONE, M. B. A. (1981) *Interferon acts directly on human B lymphocytes to modulate immunoglobulin synthesis*. J. Immunol. **127**, 2146-2152.
380. HARP, J. A. y EWALD, S. J. (1984) *Modulation of in vitro immune responses by monoclonal antibody to T-2000 antigen*. Cell. Immunol. **81**, 71-80.
381. HASEK, M. y CHUTNA, J. (1979) *Complexity of the state of immunological tolerance*. Immunol. Rev. **46**, 3-26.
382. HASEK, M., CHUTNA, J., SLADECEK, M., MCHACKOVA, M., BUBENIK, J. y MATOUSEK, V. (1975) *Attempts to compare the effectiveness of blocking factors and enhancing antibodies in vivo and in vitro*. Transplantation **20**, 95-100.
383. HASEK, M. y HOLAN, V. (1983) *Tolleranza immunologica: una rassegna sui meccanismi cellulari e molecolari*. EOS **3**, 91-97.
384. HASEK, M., LENGEROVA, A. y HRABA, T. (1961) *Transplantation immunity and tolerance*. Adv. Immunol. **1**, 1-66.
385. HEGE, J. S. y COLE, L. J. (1966) *A mathematical model relating circulating antibody and antibody forming cells*. J. Immunol. **97**, 34-40.
386. HELDERMAN, J. H. y STROM, T. B. (1982) *Pharmacokinetic properties of cellular receptors with special reference to lymphocytes*. En: «Immunopharmacology». Eds. P. Sirois y M. Rola-Pleszczynski. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam p. 15-26.
387. HELLSTROM, I., HELLSTROM, K. E. y ALLISON, A. C. (1971) *Neonatally induced allograft tolerance may be mediated by serum-borne factors*. Nature **230**, 49-51.
388. HELTIANU, C., SIMONESCU, M. y SIMONESCU, N. (1984) *Detection of histamine receptors at cellular level*. Biochem. Pharmacol. **33**, 343-346.
389. HENHART, P. A. (1985) *Mechanism of lymphocyte-mediated cytotoxicity*. Ann. Rev. Immunol. **3**, 31-58.
390. HENNEY, C. S. (1977) *T cell-mediated cytotoxicity: An overview of some current issues*. Contemp. Top. Immunobiol. **7**, 245-252.
391. HENNEY, C. S., BOURNE, H. R. y LICHTENSTEIN, L. M. (1972) *The role of cyclic 3', 5' adenosine monophosphate in the specific cytolytic activity of lymphocytes*. J. Immunol. **108**, 1526-1534.
392. HENSON, P. M. y SPIERGELBERG, H. L. (1973) *Release of serotonin from human platelets induced by aggregated immunoglobulins of different classes and subclasses*. J. Clin. Inv. **52**, 1282-1286.

393. HERBERMAN, R. B. (1978) *In vitro tests of cellular immunity in man*. Invest. Cell. Pathol. 1, 227-248.
394. HERBERMAN, R. B. (1983) *Counterpoint: animal tumor models and their relevance to human tumor immunology*. J. Biol. Resp. Modif. 2, 39-46.
395. HERBERMAN, R. B. (1983) *Immunoregulation and natural killer cells*. En: «Regulation of the Immune Response». Eds. P. L. Ogra y D. M. Jacobs. S. Karger, Basel, p. 38-47.
396. HERBERMAN, R. B., DYEN, J. Y., KAY, H. D., ORTALDO, J. R., RICCARDI, C., BONNARD, G. D., HOLDEN, H. T., FRAGNANI, R., SANTONI, A. y PUCCHETTI, P. (1979) *Natural killer cells: characteristics and regulation of activity*. Immunol. Rev. 44, 43-70.
397. HERBERMAN, R. B., NUNN, M. E. y HOLDEN, H. J. (1978) *Low density of Thy-1 antigen on mouse effector cells mediating natural cytotoxicity against tumor cells*. J. Immunol. 121, 304-309.
398. HERBERMAN, R. B. y ORTALDO, J. R. (1981) *Natural killer cells: Their role in defenses against disease*. Science 214, 24-30.
399. HERBERT, A. G. y WATSON, J. D. (1985) *A cycle analysis of murine lymphokines*. Lymphokine Res. 4, 5-11.
400. HERSEY, P., BINDON, C., BRADLEY, M. y HASIC, E. (1984) *Effect of isoprinosine on interleukin 1 and 2 production and on suppressor cell activity in pokeweed mitogen stimulated cultures of B and T cells*. Int. J. Immunopharmac. 6, 321-328.
401. HERZENBERG, L. A., BLACK, S. J. y HERZENBERG, L. A. (1980) *Regulatory circuits and antibody responses*. Eur. J. Immunol. 10, 1-11.
402. HEWITT, H. B. (1979) *Answer to the letter to the editor: appropriateness of animal models for the immunology of human cancer*. Cancer Res. 39, 4286-4287.
403. HIERNAUX, J. (1981) *Antiidiotypic networks*. Fed. Proceed. 40, 1484-1488.
404. HIGGINS, G. y CHOI, Y. S. (1979) *Avian antigen-binding T cell from bursectomized chickens by autoradiography*. J. Immunol. 123, 2068-2075.
405. HILDEMANN, W. H. (1977) *Specific immuno-recognition by histocompatibility markers: The original polymorphic system of immunoreactivity characterists for all multicellular animals*. Immunogenetics 5, 193-202.
406. HILDEMANN, W. H., RAISON, R. L., CHEUNG, G., HULL, C. J., AKAKA, L. y OKAMOTO, J. (1977) *Immunological specificity and memory in a scleractinian coral*. Nature (London) 270, 219-223.
407. HILGERS, L. A., Th., SNIPPE, H., JANSZE, M. y WILLIERS, J. M. N. (1985) *Combinations of two synthetic adjuvants: synergistic effects of a surfactant and a polyanion on the humoral immune response*. Cell. Immunol. 29, 203-209.

408. HIRATA, F., SCHEIFFMAN, E., VENKATASUBRAMANIAN, K., SOLOMON, D. y AXELROD, J. (1980) *A phospholipase A<sub>2</sub> inhibitory proteins in rabbit neutrophils induced by glucocorticoids*. Proc. Natl. Acad. Sci. **77**, 2533-2536.
409. HIRSCH, S. y GORDON, S. (1983) *Surface antigens as markers of mouse macrophage differentiation*. Intern. Rev. Exp. Pathol. **25**, 51-75.
410. HIRSCHHORN, R. y MARTIN, D. W. (1978) *Enzyme defects in immunodeficiency*. Springer Sem. Immunopathol. **1**, 299-321.
411. HISERODT, J. C., BRITVAN, L. C. y TARGAN, S. R. (1982) *Characterization of the cytolytic reaction mechanism of the human natural killer (NK) lymphocyte: Resolution into binding programming and killer cell-independent steps*. J. Immunol. **129**, 1782-1787.
412. HISERODT, J. C., TIANGCO, G. J. y GRANGER, G. A. (1979) *The LT system in experimental animal. IV. Rapid specific lysis of <sup>51</sup>Cr labelled allogenic target cells by highly unstable high mw lymphotoxin-receptor complex(es) released in vitro by activated alloimmune T lymphocytes*. J. Immunol. **123**, 332-341.
413. HODES, R. J., GERMAIN, R. N. y BLUESTONE, J. A. (1984) *The regulation of the immune system*. Immunol. Today **5**, 279-285.
414. HOFFMANN, G. W. (1975) *A theory of regulation and self-nonself discrimination in an immune network*. Eur. J. Immunol. **5**, 638-647.
415. HOFFMANN, M. K. (1980) *Antibody regulates the cooperation of B cells with helper cells*. Immunol. Rev. **49**, 79-91.
416. HOFFMAN, D. (1983) *Les mecanismes de défense chez les insectes*. Bull. Inst. Pasteur **81**, 259-261.
417. HOFFMAN, W. W. (1984) *Lipoidal amines. En: «Immune Modulation Agents and their Mechanisms»*. Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Deker. Inc. N. Y. p. 121-132.
418. HOFFMANN, M., KOENIG, S., MITTLER, R. S., OETTGEN, H. F., RALPH, P. y HAMMERLING, U. (1978) *Macrophage factor controlling differentiation of B cells*. J. Immunol. **122**, 497-503.
419. HOKFELT, T., JOHANSSON, O., LJUNGDAHL, A., LUNDBERG, J. M. y SCHULTZBERG, M. (1980) *Peptidergic neurones*. Nature (London) **284**, 515-421.
420. HOLLENBERG, M. D. (1982) *Membrane receptors and hormone action. II. New perspectives for receptor-modulated cell function*. TIPS **3**, 25-28.
421. HOOD, L. y PRAHL, J. (1971) *The immune system: A model for differentiation in higher organisms*. Adv. Immunol. **14**, 291-351.
422. HOROWITZ, H. I., RAPAPORT, H. I., YOUN, R. C. y FUJIMOTO, M. M. (1965) *Change in platelet factor 3 as a means of demonstrating immune reactions involving platelets. Its use as a test for quinidine-induced thrombocytopenia*. Transfusion (Philad.) **5**, 336-340.

423. HORSBURG, C. R. Jr. y KIRKPATRICK, C. H. (1984) *A microtiter assay for human monocyte activation by lymphokines*. J. Immunol. Meth. **72**, 207-217.
424. HORWITZ, D. A. y BAKKE, A. C. (1984) *An Fc receptor-bearing, third population of human mononuclear cells with cytotoxic and regulatory function*. Immunology Today **5**, 148-153.
425. HOUGIE, C., BARROW, E. M. y GRAHAM, J. B. (1957) *Stuart factor defect I. Segregation of an hereditary hemorrhagic state from an heterogeneous group heterofone called «stable» factor deficiency*. J. Clin. Inv. **36**, 448-453.
426. HOWARD, M., FARRAR, J., HILFIKER, M. L., JOHNSON, B., TAKATSU, K., HAMAOKA, T. y PAUL, W. E. (1982) *Identification of a T-cell-derived B cell growth factor distinct from interleukin 2*. J. Exp Med. **155**, 914-923.
427. HOZUMI, N. y TONEGAWA, S. (1976) *Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA **73**, 3628-3632.
428. HUIS, J. y FISCHER, M. (1984) *Immunogenicity, biochemical and serological characterizations of ribosomal preparations from human oral strains of serotypes c and d of the bacterium streptococcus mutants*. Arch. Oral. Biol. **29**, 1001-1007.
429. HUME, D. A. y WEIDEMANN, M. J. (1980) *Mitogenic lymphocyte transformation*. Res. Monogr. Immunol. **2**. Elsevier/North-Holland Biomed. Press. Amsterdam.
430. HUNTER, R., STRICKLAND, F. y KEZDY, F. (1981) *The adjuvant activity of nonionic block polyer surfactants. 1. The role of hydrophile-lipophile balance*. J. Immunol. **127**, 1244-1247.
431. HUSER, H., HAIMOVICH, J. y JATON, J. C. (1975) *Anigen binding and idiotypic properties of reconstituted immunoglobulin G derived from homogeneous rabbit anti-pneumococcal antibodies*. Eur. J. Immunol. **5**, 206-210.
432. IGNARRO, L. J. (1977) *Regulation of polymorphonuclear leukocyte, macrophage, and platelet function*. En: «Immunopharmacology». Eds. J. W. Hadden, R. G. Coffey y F. Spreafico. Plenum Medical Book Co. N. Y. p. 61-86.
433. INGLOT, A. D. (1983) *The hormonal concept of interferon*. Brief review. Arch virol. **76**, 1-13
434. ISHIZAKA, K. (1981) *Regulation of the IgE response*. Behring Inst. Mitt. **68**, 7-18
435. ISHIZAKA, T., HIRATA, F., ISHIZAKA, K y AXELROD, J. (1980) *Stimulation of phospholipid methylations, Ca<sup>2+</sup> influx and histamine release by bridgings of IgE receptors on rat mast cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **77**, 1903.
436. ISHIZAKA, T. e ISHIZAKA, K. (1962) *Biological antivites of aggrega-*



ted  $\gamma$ -globulin. V. Agglutination of erythrocytes and platelets. J. Immunol. 89, 709-715.

437. ISHIZUKA, M., GANFI, M. y BROWN, W. (1970) *Cyclic AMP-effects on antibody formation and their similarities to hormone-mediated events*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 134, 963-970.
438. ITURRALDE, M. y COLL, J. (1984) *Cultivo de células animales*. Med. Clin. (Barcelona) 82, 273-280.
439. ITO, M., SLESS, F. y PAROTT, D. M. V. (1977) *Evidence for control of complement receptor rosette-forming cells by  $\alpha$  and  $\beta$  adrenergic agents*. Nature (London) 266, 633-635.
440. JACOBS, P. y EGLIN, L. (1984) *Cyclosporin A. Current status, including the Cape Town experience*. En: «Immune Modulation Agents and their Mechanisms». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Dekker. Inc. N. Y. p. 191-228.
441. JACQUES, P. J. (1982) *Immunomodulator polysaccharides*. En: «Current Concepts in Human Immunology and Cancer Immunomodulation». Eds. B. Serrou, C. Rosenfield, J. C. Daniels y J. P. Saunders. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam. p. 429-438.
442. JAFFEE, B. D. y CLAMAN, H. N. (1983) *Chronic graft-versus-host disease (GVHD) as a model for scleroderma. I. Description of model systems*. Cell Immunol. 77, 1-12.
443. JANDINISKI, J., CANTOR, H., TADAKUMA, T., PEAVY, D. L. y PIERCE, C. W. (1976) *Separation of helper T cells from suppressor T cells expressing different Ly components. I. Polyclonal activation: suppressor and helper activities are inherent properties of distinct T cell subclasses*. J. Exp. Med. 143, 1382-1390.
444. JANEWAY, Ch. A. Ic., BOTTOMLY, K. Jr., HOROWITZ, J., KAYE, J., JONES, B. y TITE, J. (1985) *Modes of cell: cell communication in the immune system*. J. Immunol. 135, 739s-742s.
445. JANOSSY, G., TIDMAN, N., PAPAGEORGIU, E. S., KUNG, P. C. y GOLDSTEIN, G. (1981) *Distribution of T lymphocyte subsets in the human bone marrow and thymus: An analysis with monoclonal antibodies*. J. Immunol. 126, 1608-1613.
446. JANSEN, F. K., BLYTHMAN, H. E., CARRIERE, D., CASELLAS, P., GROS, O., GROS, P., PAOLUCCI, F., PAU, B. PONCELET, P., RICHER, G., VIDAL, H. y VOISIN, G. A. (1981) *Assembly and activity of conjugates between monoclonal antibodies and the toxic subunit of ricin (immunotoxins)*. En: «Monoclonal Antibodies and T-cell Hybridomas». Eds. Hammerling, Hammerling & Kearney, Elsevier North Holland p. 229.
447. JATON, J. C. (1974) *Completion of the analysis of the primary structure of the variable domain of a homogeneous rabbit antibody to type III pneumococcal polysaccharide*. Biochem. J. 143, 723-732.
448. JERNE, N. K. (1955) *The natural-selection theory of antibody formation*. Proc. Nat. Acad. Sci. 41, 849-857.

449. JERNE, N. K. (1974) *Toward a network theory of the immune system*. Ann. Immunol. Paris, 125C, 373-389.
450. JERNE, N. K., HENRY, C., NORDIN, A. A., FUJI, H., KOROS, A. M. C. y LEFKOVITS, I. (1974) *Plaque forming cells: Methodology and Theory*. Transplant. Rev. 18, 130-191.
451. JELJASZEWICZ, J., LUDWIG, H. y PULVERER, G. (1983) *Immuno-modulation of cancer by bacterial products*. Proc. 13th Intern. Congr. Chemoterapy. Eds. K. H. Spitzzy y K. Karrer. SS94 (225) 1-53 Viena.
452. JENKIN. C. R. (1976) *Factors involved in the recognition of foreing material by phagocytic cells from invertebrates*. En: «Comparative Immunology». Ed. J. J. Marchalonis. Blackwell Sci. Publ. Oxford. p. 80-97.
453. JENNINGS, H. J. (1983) *Capsular polysaccharides as human vaccines*. En: «Advances in Carbohidrate Chemistry and Biochemistry». Vol. 41. Eds. R. S. Tipson & D. Horton. Academic Press. p. 155-208.
454. JILEK, M. y KLEIN, P. (1979) «Modeling and Optimization in complex Systems». Springer-Verlag, Heidelberg.
455. JILEK, M. y STERZL, J. (1973) *On a theory of the immune response*. Trans VI Prague conference 275-289.
456. JOHANSSON, S. G. O. (1967) *Raised levels of a new immunoglobulin class (IgND) in asthma*. Lancet II, 951-953.
457. JOHNSON, A. G. (1981) *Microbial adjuvants and immune responsiveness*. En: *Immuno-modulation by bacteria and their products*. Eds. H. Friedman, W. Klein y A. Szentivanyi. Plenum Press, N. Y. 1-11.
458. JOHNSON, P. M., BARNES, R. M. R., HART, C. A. y FRANCIS, W. J. A. (1984) *Determinants of immunological responsiveness in recurrent spontaneous abortion*. Transplation 38, 280-284.
459. JOHNSON, P. M. y FAULK, W. P. (1976) *Rheumatoid factor. Its nature, specificity, and production in rheumatoid arthritis*. Clin. Immunol. Immunopathol. 6, 414-430.
460. JOHNSON, E. M., KARN, J. y ALLFREY, V. G. (1974) *Early nuclear events in the induction of lymphocyte proliferation by mitogens. Effects of concanavalin A on the phosphorylation and distribution on nonhistone chromatin proteins*. J. Biol. Chem. 249, 4990-4999.
461. JOHNSON, H. M., SMITH, E. M., TORRES, B. A. y BLALOCK, J. E. (1982) *Neuroendocrine hormone regulation of «in vitro» antibody production*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 79, 4171.
462. JOHNSON, H. M., TORRES, B. A., SMITH, E. M., DION, L. D. y BLALOCK, J. E. (1984) *Regulation of lymphokine ( $\gamma$ -interferon) production by corticotrophin*. J. Immunol. 132, 246-250.
463. JOKINEN, M. P., CLARKSON, T. B. y PRICHARD, R. W. (1985) *Recent advances in molecular pathology. Animal models in atherosclerosis research*. Exper. Mol. Path. 42, 1-28.

464. JOLLES, P. y WERNER, G. H. (1981) *What's new in immunomodulation?* Trends Biochem. Sci. **6**, 330-333.
465. JONDAL, M., HOLM, G. y WIGZELL, H. (1972) *Surface markers on human T and B lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells.* J. Exp. Med. **136**, 207-215.
466. JOSHI, A. R., SARKA, F. H. y GUPTA, S. L. (1982) *Cross-linking of human leukocyte interferon  $\alpha$ -2 to its receptor on human cells.* J. Biol. Chem. **257**, 13884-13887.
467. JOST, A. (1969) *The extent of foetal endocrine autonomy.* En: «*Foetal Autonomy*». Ciba Found. Symp. Eds. Wolstenholm, G. E. W. & O'Connor, M. Churchill. London, p. 79.
468. JOST, A., VIGIER, B., PREPIN, J. y PERCHELEI, J. P. (1973) *Studies on sex differentiation in mammals.* En: «*Recent Progress in Hormone Research*». Vol. 29. Ed. Greep, R. O. Academy Press. New York & London p. 1.
469. JUMA, F. D., ROGERS, H. J. y TROUNCE, J. R. (1979) *Pharmacokinetics of cyclophosphamide and alkylating activity in man after intravenous and oral administration.* Brit. J. Clin. Pharmacol. **8**, 209-218.
470. KALISS, N. (1958) *Immunological enhancement of tumor homograft in mice.* A review. Cancer Res. **18**, 992-003.
471. KALLAND, T. y CAMPBELL, T. (1984) *Effects of diethylstilbestrol on human natural killer cells in vitro.* Immunopharmacology **8**, 19-25.
472. KAMPS, W. A. y COOPER, M. D. (1984) *Development of lymphocyte subpopulations identified by monoclonal antibodies in human fetuses.* J. Clin. Immunol. **4**, 36-39
473. KANELLOPOULOS, J. M., WIGGLESWORTH, N. M., OWEN, M. J. y CRUMPTON, M. J. (1983) *Biosintesis and molecular nature of T<sub>3</sub> antigen of human T lymphocytes.* EMBO J. **10**, 1807-1814.
474. KANEA, S., ISHIZUKI, S., FUJIHIRA, E. y MITSUYA, M. (1984) *Mouse paw anafilaxis.* J. Immunol. Meth. **71**, 83-95.
475. KAPLAN, A. P. (1981) *Immune complexes and connective tissue disease.* Bull. N. Y. Acad. Med. **57**, 638-649.
476. KAPLAN, A. M., BEAR, H. D., KIRK, L., CUMMINS, C. y MOHANAKUMAR, T. (1978) *Relationship of expression of a cell-surface antigen on activated murine macrophages to tumor cell cytotoxicity.* J. Immunol. **120**, 2080-2085.
477. KAPLAN, J., NOLAN, D. y REED, A. (1982) *Altered lymphocyte markers and blastogenic responses associated with 24 hours delay in processing of blood samples.* J. Immunol. Meth. **50**, 187-191.
478. KAPP, J. A., CANTOR, H., PIERCE, C. W. y BENACERRAF, B. (1977) *Genetic control of the antibody response to GAT.* Fed. Proc. **36**, 1224.
479. KATAGIRI, Ch. (1978) *Xenopus laevis as a model for the study of immunology.* Develop. Comp. Immunol. **2**, 5-14.

480. KATZ, D. A. y SKIDMORE, B. J. (1977) *Self recognition as the predominant mechanism for communication in the immune system*. Progr. Immunol. **3**, 322-330.
481. KAUFMAN, J. F. y DU PASQUIER, L. (1983) *Structure of Xenopus laevis MHC class II antigens*. Basel Inst. Immunol. Ann. Rep. p. 37.
482. KAYE, J., JONES, B. y JANEWAY, Ch. A. Jr. (1984) *The structure and function of T cell receptor complexes*. Immunol. Rev. **81**, 39-63.
483. KAZMERS, I. S., DADDONA, P. E., DALKE, P. y KELLEY, W. N. (1983) *Effect of immunosuppressive agents on human T and B lymphoblast*. Biochemical Pharmacology **32**, 805-810.
484. KELLER, S. E., SCHLEIFER, S. J., SHERMA, J., CAMERINO, M. S., SMITH, H. y STEIN, M. (1981) *Comparison of a simplified whole blood and isolated lymphocyte stimulation technique*. Immunol. Comm. **10**, 417-431.
485. KENNET, R. H., McKEARN, T. J. y BECHTOL, K. B. (1981) «*Monoclonal Antibodies. Hybridomas: A new dimension in biological analysis*». Plenum Press. N. Y.
486. KEY, M. E., BRANDHORST, J. S. y HANNA, M. G. Jr. (1984) *More on relevance of animal tumor models: Immunogenicity of transplantable leukemias of recent origin in syngeneic strain 2 guinea pigs*. J. Biol. Resp. Modif. **3**, 359-365.
487. KIEFER, M. C., SNODGRASS, R. y STEINMETZ, M. (1983) *Cloning of T cell specific cDNA sequences*. Basel Inst. Immunol. Ann. Rep. p. 31.
488. KIESSLING, R., HOCHMAN, P. S., HALLER, O., SHEARER, G. M., WIGZELL, H. y CUDKOWICZ, G. (1972) *Evidence for a similar or common mechanism for natural killer activity and resistance to hematopoietic grafts*. Eur. J. Immunol. **7**, 655-663.
489. KIESSLING, R., KLEIN, E. y WIGZELL, H. (1975) «*Natural*» *killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype*. Eur. J. Immunol. **5**, 112-117.
490. KIESSLING, R. y WIGZELL, H. (1979) *An analysis of the murine NK cell as to structure, function and biological relevance*. Immunol. Rev. **44**, 165-208.
491. KIMMEL, M., KIMMEL, B. y SKIERSKI, J. (1983) *Mathematical model of leukemic cell circulation in the mouse*. Mathematical Biosciences **67**, 81-99.
492. KINDRED, B. y LOOR, F. (1974) *Activity of host-derived T cells which differentiate in nude mice grafted with co-isogenic or allogenic thymuses*. J. Exp. Med. **139**, 1215-1227.
493. KIRCH, M. E. y HAMMERLING, U. (1981) *Immunotherapy of murine leukemias by monoclonal antibody. I. Effect of passively administered antibody on growth of transplanted tumor cells*. J. Immunol. **127**, 805-810.

494. KIRKPATRICK, C. E. y FARRELL, J. P. (1984) *Mechanisms of depression of splenic natural killer cell function in C57BL/6 mice infected with Leishmania donovani*. Cell. Immunol. **87**, 601-612.
495. KISHIMOTO, T. (1985) *Factors affecting B-cell growth and differentiation*. Ann. Rev. Immunol. **3**, 133-157.
496. KISHIMOTO, T., HIRAI, Y., SUEMURA, M. y YAMAMURA, Y. (1976) *Regulation of antibody response in different immunoglobulin classes. I. Selective suppression of anti-DNP IgE antibody response by pre-administration of DNP-coupled Mycobacterium*. J. Immunol. **117**, 396-404.
497. KISHIMOTO, T. e ISHIZAKA, K. (1975) *Immunologic and physico-chemical properties of enhancing soluble factors for IgG and antibody responses*. J. Immunol. **114**, 1177-1184.
498. KLEID, D., YANSURA, D., SMALL, B. y DOWBENKO, D. (1981) *Cloned viral protein vaccine for foot-and-mouth disease: Responses in cattle and swine*. Science **214**, 1125-1129.
499. KLEIN, J. (1984) *What causes immunological nonresponsiveness?* Immunol. Rev. **81**, 177-202.
500. KLEIN, J., JURETIC, A., BAXEVANIS, C. N. y NAGY, Z. A. (1981) *The traditional and new version of the mouse H-2 complex*. Nature (London) **291**, 455-460.
501. KLEIN, P., STERZL, J. y DOLEZAL, J. (1981) *A mathematical model of B lymphocyte differentiation: control by antigen*. J. Math. Biology **13**, 67-86.
502. KLIMPEL, G. R., SARZOTTI, M., REYES, V. E. y KLIMPELL, K. D. (1985) *Characterization of cytotoxic cells generated from in vitro cultures of murine bone marrow cells*. Cell. Immunol. **92**, 1-13.
503. KNOWLES, D. J. C. y WESTON, B. J. (1984) *A simple rapid technique to measure neutrophil or serum bactericidal activity*. J. Immunol. Meth. **72**, 411-420.
504. KOHASHI, O., AIHARA, K., OZAWA, A., KOTANI, S. y AZUMA, I. (1982) *New model of a synthetic adjuvant N-acetyl muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine-induced arthritis clinical and histologic studies in athymic nude and athymic rats*. Lab. Invest. **47**, 27-36.
505. KOHASHI, O., TANAKA, A., KOTANI, S., SHIBA, T., KUSUMOTO, S., YOKOGAWA, K., KAWATA, S. y OZAWA, A. (1980) *Arthritis-inducing ability of synthetic adjuvants. N-acetyl-muramyl peptides and bacterial disaccharide peptides related to different oil vehicles and their composition*. Infect. Immunol. **29**, 70-75.
506. KÖHLER, G. y MILSTEIN, C. (1975) *Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity*. Nature. **256**, 495-497.
507. KOLB, H. (1977) *On the phylogenetic origin of the immune system: A hypothesis*. Dev. Comp. Immunol. **1**, 193-206.
508. KOLLER, L. D., EXON, J. H. y NORBURY, K. C. (1983) *Induction of*

- humoral immunity to protein antigen without adjuvant in rats exposed to immunosuppressive chemicals.* J. Toxicol. Environm. Health. **12**, 173-181.
509. KÖLSCH, E., OBERBARNSCHEIDT, J., BRÜNER, K. y HEUER, J. (1980) *The Fc-receptor: Its role in the transmission of differentiation signals.* Immunol. Rev. **49**, 61-78.
510. KOMURO, K. y BOYSE, E. A. (1973) *Induction of T lymphocytes from precursor cells in vitro by a product of the thymus.* J. Exp. Med. **138**, 479-482.
511. KÖNIG, W., PFEIFFER, P., SZPERALSKI, B. y BOHN, A. (1981) *Membrane biochemical event in mast cell and basophil activation and secretion.* Behring Inst. Mitt. **68**, 30-50.
512. KOPERSZTYCH, S., REZKALLAH, T., MIKIS, S., NASPITZ, C. K. y MENDES, N. F. (1976) *Cell-mediated immunity in P1TZ, patients with carcinoma. Correlation between clinical stage and immunocompetence.* Cancer **38**, 1149-1154.
513. KOPONEN, M., GRIEDER, A. y LOOR, F. (1984) *Interference of cyclosporin with lymphocyte activation: blockage of the mitogen-induced increases of lysosomal and mitochondrial activities.* Immunology **53**, 55-61.
514. KOPPEL, G. A., HAISCH, K. D., SPOETHE, S. M., SCHMIDTKE, J. R. y FLEISCH, J. H. (1981) *Schultz-Dale reaction in mouse trachea.* J. Pharmacol. Meth. **6**, 39-43.
515. KRUEGER, J. M., PAPPENHEIMER, J. R. y KARNOVSKY, M. L. (1982) *The composition of sleep-promoting factor isolated from human urine.* J. Biol. Biochem. **257**, 1664-1669.
516. KRUEGER, J. M., PAPPENHEIMER, J. R. y KARNOVSKY, M. L. (1982) *Sleep-promoting effects of muramyl peptides.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **79**, 6102-6106.
517. KRUSE, P. F. y PATTERSON, J. R. (1973) «*Tissue culture: methods and applications*». Acad. Press. N. Y.
518. KUEHL, F. A. Jr., HULES, J. L., EGAN, R. W., HAM, E. A., BEVERIDGE, G. C. y VAN ARAMAN, C. G. (1977) *Role of prostaglandin endoperoxide PGG<sub>2</sub> in inflammatory processes.* Nature (Londres) **265**, 170-173.
519. KUMAGAI, S., STEINBERG, A. D. y GREEN, I. (1981) *Antibodies to T cells in patients systemis lupus erythematosus can induce antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity against human T cells.* J. Clin. Invest. **67**, 605-614.
520. KUNG, P. C., GOLDSTEIN, G., REINHERZ, E. L., SCHLOSSMAN, S. F. (1979) *Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens.* Science **206**, 347,348.
521. KUNG, J. T. y PAUL, W. E. (1983) *B-lymphocyte subpopulation.* Immunol. Today **1**, 37-39.
522. KUNTZ, A. y RICHINS, C. A. (1945) *Innervation of the bone marrow.* J. Comp. Neurol. **82**, 213-218.

523. LAGHI-PASINI, L., PASQUI, A. L., CECCATELLI, L. y DI PERRI, T. (1984) *In vitro inhibition of granulocyte function by timegadine, a new anti-inflammatory agent*. Int. J. Tiss. Reac. **6**, 9-15.
524. LAGRANGE, P. H. y CLOSS, O. (1979) *Protective immunity to chronic bacterial infectious*. Scand. J. Immunol. **10**, 285-290.
525. LALA, P. K., CHATTERJEE-HASROUNI, S. y MONTGOMERY, B. (1983) *Major histocompatibility antigens on murine and human trophoblasts cells*. Transplant. Proc. **15**, 237-239.
526. LANCKI, D. W., MA, D. I., HAVRAN, W. L. y FITCH, F. W. (1984) *Cell surface structures involved in T cell activation*. Immunol. Rev. **81**, 65-94.
527. LANDAY, A., LARY-GARTLAND, G., ABO, T. y COOPER, M. D. (1983) *Enumeration of human lymphocyte subpopulations by immunofluorescence: a comparative study using automated flow microfluorometry and fluorescence microscopy*. J. Immunol. Methods **58**, 337-347.
528. LANDO, Z. y BEN-NUN, A. (1984) *Experimental autoimmune encephalomyelitis mediated by T-cell line. II. Specific requirements and the role of Pertussis vaccine for the in vitro activation of the cells and induction of disease*. Clin. Immunol. Immunopathol. **30**, 290-303.
529. LANE, H.C. y FAUCI, A. S. (1983) *The establishment of human-human and human-mouse B cell hybrids and their use in the study of B cell activation*. En: «*Monoclonal antibodies. Probes, for the study of autoimmunity and immunodeficiency*». Eds. B. F. Haynes & G. S. Eisenbarth. p. 131-151.
530. LANGHOFF, E. y LADEFOGED, J. (1985) *The immunosuppressive potency of various steroids on peripheral blood lymphocytes, T cells, NK and K cells*. Int. J. Immunopharm. **7**, 483-489.
531. LANZAVECCHIA, A. (1985) *Antigen-specific interaction between T and B cells*. Nature **314**, 357-358.
532. LARRICK, J. W., BRINDLEY, Y. y DOYLE, M. V. (1985) *An improved assay for the detection of Interleukin-1*. J. Immunol. Meth. **79**, 39-45.
533. LAUFFENBURGER, D. y KELLER, K. H. (1979) *Effects of leukocyte random motility and chemotaxis in tissue inflammatory response*. J. Theor. Biol. **81**, 475-503.
534. LAWRENCE, T. S., BEERS, W. H. y GILULA, N. B. (1978) *Transmission of hormonal stimulation by cell to cell communication*. Nature **272**, 501-506.
535. LAWRENCE, H. S. y BORKOWSKY, W. (1983) *A new basis for the immunoregulatory activities of transfer factor. An arcane dialect in the language of cells*. Cell. Immunol. **82**, 102-116.
536. LAWLOR, G., AMMANN, A. J., WRIGHT, W. C., LA FRANCHI, S. H., BILSTROM, D. y STEIHM, E. R. (1974) *The syndrome of cellular immunodeficiency with immunoglobulin*. J. Pediatr. **84**, 143-146.
537. LEBLEU, B. y CONTENT, J. (1982) *Mechanisms of interferon action: Biochemical and genetic approaches*. Interferon **4**, 47-94.

538. LEE, T. H., AUSTEN, K. F., COREY, E. J. y DRAZEZ, J. M. (1984) *Leukotriene E<sub>4</sub>-induced airway hyperresponsiveness of guinea pig tracheal smooth muscle to histamine and evidence for three separate sulfidopeptide leukotriene receptors*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **81**: 4922-4925.
539. LEDBETTER, J. A., y HERZENBERG, L. A. (1979) *Xenogeneic monoclonal antibodies to mouse lymphoid differentiation antigens*. Immunol. Rev. **47**, 63-90.
540. LEFKOVITS, I. y WALDMANN, H. (1984) *Limiting dilution analysis of the cells of immune system. I. The clonal basis of the immune response*. Immunol. Today **5**, 265-268.
541. LE FUR, G., PHAN, T. y UZAN, A. (1980) *Identification of stereospecific <sup>3</sup>H-spiroperidol binding sites in mammalian lymphocytes*. Lif. Sci. **26**, 1139-1148.
542. LEIBSON, H. J., GEFTER, M., ZLOTNIK, A., MARRACK, P. y KAPPLER, J. W. (1984) *Role of  $\gamma$ -interferon in antibody-producing responses*. Nature (London) **309**, 799-801.
543. LEIBSON, H. J., MARRACK, P. y KAPPLER, J. W. (1981) *B cell helper factors. I. Requirement for both interleukin 2 and another 40,000 mol wt factor*. J. Exp. Med. **154**, 1681-1693.
544. LENGYEL, P. (1981) *Mechanisms of interferon action: The (2'-5') (A) synthetase-RNase L pathway*. Interferon **3**, 77-99.
545. LERNER, R. A. (1983) *Vacunas sintéticas*. Investigación y Ciencia **79**, 38-48.
546. LERNER, R. A. (1982) *Tapping the immunological repertoire to produce antibodies of predetermined specificity*. Nature **299**, 592-596.
547. LERNER, R. A., SUTCLIFFE, J. G. y SHINNICK, T. M. (1981) *Antibodies to chemically synthesized peptides predicted from DNA sequences as probes of gene expression*. Cell **23**, 309-310.
548. LERNHARDT, W., CORBEL, C., WALL, R. y MELCHERS, F. (1982) *T-cell hybridomas which produce B lymphocyte replication factors only*. Nature **300**, 355-357.
549. LE ROITH, D., SHILOACH, J., BERELOWTIZ, M., FROHMAN, L. A., LIOTTA, A. S., KRIEGER, D. T. y ROTH, J. (1983) *Are messenger molecules in microbes the ancestors of the vertebrate hormones and tissue factors?* Fed. Proceed. **42**, 2602-2607.
550. LE ROITH, D., SHILOACH, J., y ROTH, J. (1982) *Is there an earlier phylogenetic precursor that is common to both the nervous and endocrine systems?* Reptides **3**, 211-215.
551. LEVINE, S. y SOWINSKI, R. (1973) *Experimental allergic encephalomyelitis in inbred and outbred mice*. J. Immunol. **110**, 139-143.
552. LEVY, R., y MILLER, R. A. (1983) *Tumor therapy with monoclonal antibodies*. Fed. Proceed. **42**, 2650-2654.
553. LEYSEN, J. (1983) *Serotonin receptor binding sites: is there pharmacological and clinical significance*. Med. Biol. **61**, 139-143.



554. LI, C. Y., ZIESMER, S. C., YAM, L. T., ENGLISH, M. C. y JANCKI-LA, A. J. (1984) *Practical immunocytochemical identification of human blood cells*. Am. J. Clin. Pathol. **81**, 204-212.
555. LINDAL-KIESSLING, K. y PETERSON, R. D. A. (1969) *The mechanism of phytohaemagglutinin action. I. Mouse spleen cells in short-term culture. The effect of neo-natal exposure to phytohaemagglutinin*. Exp. Cell. Res. **54**, 231-236.
556. LINDHAL, P., LEARY, P. y GRESSER, I. (1972) *Enhancement by interferon of the specific cytotoxicity of sensitized lymphocytes*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **69**, 721-725.
557. LINDENMANN, J. (1973) *Speculations on idiotypes and homobodies*. Ann. Immunol. Institut Pasteur. **124 C**, 171-184.
558. LIU, A, Y-C. (1984) *Modulation of the function and activity of cAMP-dependent protein kinase by steroid hormones*. Trends Pharmacol. Sci. **5**, 106-109.
559. LIVETT, B. G., GEFFEN, L. B., y AUSTIN, L. (1968) *Axoplasmic transport of <sup>14</sup>C-noradrenaline and protein in splenic nerves*. Nature **217**, 278-279.
560. LOBERA, T., SANZ, M. L. y SUBIRA, M. L. (1982) *Dose-response curves for lymphoblast transformation by phytohemagglutinin stimulation*. Allergol. et Immunopathol. **10**, 125-130.
561. LOHMANN-MATTHES, M. L., DOMZIG, W., ZHRINGER, M. y LANG, H. (1980) *K cell and NK cell like activity of macrophage precursor cells*. Behring Inst. Mitt. **65**, 26-31.
562. LOMEDICO, P. T., GUBLER, U., HELLMANN, C. P., DUKOVICH, M., GIRI, J. G., PAN, Y. E. COLLIER, K., SEMIONOW, R., CHUA, A. O. y MIZEL, S. B. (1984) *Cloning and expression of murine interleukin-1 cDNA in Escherichia coli*. Nature **312**, 458-462.
563. LONGO, D. L., MATIS, L. A. y SCHWARTZ, R. H. (1981) *Insights into immune response gene function from experiments with chimeric animals*. En: CRC Crit. Rev. Immunol. (N. I. H.), pp. 83-132.
564. LOOR, F. y ROELANTS, G. E. (1977) *B and T cells in immune recognition*. A Wiley-interscience Publ. J. Wiley & Sons, N. Y.
565. LOVETT, E. J., SCHNITZER, B., KEREN, D. F., FLINT, A., HUDSON, J. L. y McCLATCHEY, K. D. (1984) *Application of flow cytometry to diagnostic pathology*. Lab. Invest. **50**, 115-140.
566. LOW, T. L. K. y GOLDSTEIN, A. L. (1984) *Thymosin, peptidic moieties, and related agents*. En: «Immune Modulation Agents and their Mechanisms». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Dekker. Inc. N. Y. pp. 135-162.
567. LUM, L. G., MUCHMORE, A. V., KEREN, D., DECKER, J., KOSKI, I., STROBER, W. y BLAESE, R. M. (1979) *A receptor for IgA on human T lymphocytes*. J. Immunol. **122**, 65-69.
568. LUMB, J. R. (1983) *The value of theoretical models in immunological research*. Immunology Today **4**, 209-210.

- 568a. LUNDBERG, L. (1979) *Guinea pig inbred for studies of respiratory anaphylaxis*. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. (C) **87**, 55-66.
569. LUX, S. E., JOHSTON, R. B., AUGUST, L. S., SAY, B., PENCHASZADEH, V. B., ROSEN, F. S. y McKUSICK, V. A. (1970) *Chronic neutropenia and abnormal cellular immunity in Cartilage hair hipoplasia*. N. Engl. J. Med. **282**, 231-236.
570. LUZZANI, F., COLOMBO, G., SCHIATTI, P., SELVA, D. y GLASSER, A. (1984) *Inhibition of PG production by MDL-035, a new non-steroidal non-acidic anti-inflammatory compound, in rat gastric mucosa and inflammatory exudate*. Pharmacol. Res. Comm. **16**, 755-763.
571. McCARTHY, M. E. y SWILLING, B. S. (1981) *Differential effects of prostaglandins on the antitumor activity of normal and BCG-activated macrophages*. Cell. Immunol. **60**, 91-99.
572. McGARRITY, G. J., SARAMA, J. y VANAMAN, V. (1985) *Cell culture techniques* ASM News **51**, 170-183.
573. MACKANESS, G. B. (1971) *Resistance to intracellular infection*. J. Infect. Dis. **123**, 439-444.
574. McMANUS, J. P., WHITFIELD, J. F. y YOUNDALE, T. (1971) *Stimulation by epinephrine of adenylcyclase activity, cyclic AMP formation, DNA synthesis and cell proliferation in populations of rat-thymic lymphocytes*. J. Cell. Physiol. **77**, 103-116.
575. MAEDA, Y. Y., CHIHARA, G. y ISHIMURA, K. (1974) *Unique increase of serum proteins and action of antitumor polysaccharides*. Nature **252**, 250-251.
576. MAGEE, W. E. y RISTOW, S. S. (1983) *Targeting to lymphoid cells of the immune network*. Pharmac. Ther. **21**, 295-323.
577. MALKOVSKY, M. y MEDAWAR, P. B. (1984) *Retinoids and in vivo immunity to transplantable tumours: a terra relatively incognita*. Immunol. Today **5**, 178-180.
578. MALKOVSKY, M., y MEDAWAR, P. B. (1984) *Is immunological tolerance (non-responsiveness) a consequence of interleukin 2 deficit during the recognition of antigen?* Immunol. Today **5**, 340-343.
579. MANDELL, L. A. (1982) *Effects of antimicrobial and antineoplastic drugs on the phagocytic and microbicidal function of the polymorphonuclear leukocyte*. Rev. Infect. Dis. **4**, 683-397.
580. MANNING, M. J. (1979) *Evolution of the vertebrate immune system*. J. Roy. Soc. Med. **72**, 683-688.
581. MANTOVANI, A., LUINI, W., CANDIANI, G. P. y SPREAFICO, F. (1980) *Effect of chemotherapeutic agents on natural and BCG-stimulated macrophage cytotoxicity in mice*. Int. J. Immunopharmacol. **2**, 333-340.
582. MANTOVANI, A., LUINI, W., PERI, G., VECCHI, A., y SPREAFICO, F. (1978) *Effect of chemotherapeutic agents on natural cell-mediated cytotoxicity in mice*. J. Natl. Cancer Inst. **61**, 1255-1262.

583. MARCU, K. B. (1983) *Regulation of c-myc gene transcription*. Basel Inst. Immunol. Ann. Rep. p. 32.
584. MARCHALONIS, J. J., VASTA, G. R., WARR, G. W. y BARKER, W. C. (1984) *Probing the boundaries of the extended immunoglobulin family of recognition molecules: Jumping domains, convergence and minigenes*. Immunol. Today 5, 133-136.
585. MARKLEY, J. L. y ULRICH, E. L. (1984) *Detailed analysis of protein structure and function by NMR spectroscopy: survey of resonance assignments*. Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 13, 493-521.
586. MARKOWSKY, G. y WOHLGEMUTH, A. (1983) *Identifying antigens and antibodies in serology*. Mathemat. Bioscienc. 66, 273-282.
587. MARQUET, A., LARRAGA, V., DIEZ, J. L., AMELA, C. RODRIGO, J., MUÑOZ, E. y PESTAÑA, A. (1984) *Immunogenicity of fatty acid anilides in rabbits and the pathogenesis of the Spanish Toxic oil syndrome*. Experientia 40, 977-980.
588. MARRACK, P. (1984) *More on the T-cell receptor*. Nature 309, 310-311.
589. MARTIN, D. W. Jr. (1979) *Enzyme defects and immune dysfunction*. CIBA Found. Symp. 68 Casparie, Heerhugowaard.
590. MARTZ, E., HEAGY, W. y GROMKOWSKI, S. H. (1983) *The mechanism of CTL-mediated killing; monoclonal antibody analysis of the roles of killer and target-cell membrane proteins*. Immunol. Rev. 72, 73-96.
591. MARWOOD, J. F. y STOKES, G. S. (1984) *Serotonin (5HT) and its antagonists: involvement in the cardiovascular system*. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 11, 439-456.
592. MASCARDO, R. N., BARTON, R. W. y SHERLINE, P. (1984) *Somatostatin has an antiproliferative effect on Concanavalin A activated rat thymocytes*. Clin. Immunol. Immunopathol. 33, 131-138.
593. MASEK, K. y KADLEC, O. (1983) *Fastidious bacteria and the urethral syndrome: A 2 year clinical and bacteriological study of 51 women*. The Lancet 2, 1277-1280.
594. MASON, B. y MILES, A. A. (1962) *Globulin permeability factor without kininogenase activity*. Nature 196, 587-589.
595. MASTRO, A. M. (1983) *Phorbol ester tumor promoters and lymphocyte proliferation*. Cell Biology Intern. Rep. 7, 881-893.
596. MASUR, H. y JONES, T. C. (1978) *The interaction in vitro of Pneumocystis carinii with macrophages and L-cells*. J. Exp. Med. 147, 157-170.
597. MATHE, G., AMIEL, J. L., SCHWARZENBERG, L., SCHNEIDER, M., CATTAN, A., SCHLUMBERGER, J. R., HAYAT, M. y VASSAL, F. (1969) *Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukaemia*. The Lancet 1, 697-699.
598. MATHEWS, P. M., FROELICH, Ch. J., SIBBITT, W. L. y BANKHURST, A. D. (1983) *Enhancement of natural cytotoxicity by  $\beta$ -endorphin*. J. Immunol. 130, 1658-1662.
599. MATTESON, D. R. y DEUTSCH, C. (1984) *K channels in T lymphocytes*.

- tes a patch clamp study using monoclonal antibody adhesion.* Nature (London) **307**, 468-471.
600. MEDAWAR, P. (1973) «*Immunopotential*» Ciba Foundation Symposium 18. Elsevier Excerpta Medica. North-Holland Amsterdam. London. New York.
  601. MEGEL, H. y GIBSON, J. P. (1984) *Tilorone and related analogs.* En: «*Immune Modulation Agents and their Mechanisms*» Eds. R. L. Fencil & M. A. Chirigos. Marcel Dekker. Ins. N. Y. pp. 97-120.
  602. MELCHERS, F. y ANDERSSON, J. (1984) *B cell activation: Three steps and their variations.* Cell **37**, 715-720.
  603. MELCHERS, F., COUTINHO, A., HEINRICH, G., ANDERSSON, J. (1975) *Continuous growth of mitogen-reactive B-lymphocytes.* Scand. J. Immunol. **4**, 853-858.
  604. MELGAR, M. M., PEREZ-SILVA, G., GIL, I., GOMEZ, E. y PORTOLES, A. (1985) *Respuesta proliferativa de linfocitos murinos por acción de moléculas anfífilas de Propionibacterium acnes.* Rev. Españ. Fisiol. **41**, 225-234.
  605. MELLMAN, I. S., STEINMAN, R. M. UNKELESS, J. C. y COHN, Z. A. (1980) *Selective iodination and polypeptide composition of pinocytic vesicles.* J. Cell. Bio. **86**, 712-722.
  606. MELMON, K. L., ROSENKRANZ, R. P., y ROCKLIN, R. E. (1981) *Autacoids as modulators of the inflammatory and immune response.* Am. J. Med. **71**, 100-106.
  607. MERAYO, F., y PORTOLES, A. (1958) *Estudio de los mecanismos de resistencia a la infección en cámaras de baja presión.* Bioastronautics III. Abst. 27 Congr. Intern. Astron. Fed.
  608. MERDRIGNAC, G., DUVAL, J., GOURANTON, J. y GENETET, B. (1982) *Changes in cAMP metabolism during phagocytosis of S. aureus by human monocytes.* RES: J. Reticul. Soc. **32**, 209-218.
  609. MERIGAN, T. C. (1967) *Induction of circulating interferon by synthetic anionic polymers of known composition.* Nature **214**, 416-417.
  610. MERRILL, S. J. (1978) *A model of the stimulation of B-cells by replicating antigen.* Mathematical Biosciences **41**, 125-141.
  611. MERRILL, S. J. (1978) *A model of the stimulation of B-cells by replicating antigen. II.* Mathematical Biosciences **41**, 143-155.
  612. MERRILL, S. J. (1981) *A model of the role of natural killer cells in immune surveillance. I.* J. Math. Biology **12**, 363-373.
  613. MERRILL, S. J. (1982) *Foundations of the use of an enzyme-kinetic analogy in cell-mediated cytotoxicity.* Mathematical Biosciences **62**, 219-235.
  614. MERRILL, S. J. (1983) *A model of the role of natural killer cells in immune surveillance. II.* J. Math. Biology **17**, 153-162.
  615. METCALF, E. S. y KLINMAN, N. R. (1977) *In vitro tolerance of bone marrow cells: a marker for B cell maturation.* J. Immunol. **118**, 2111-216.

616. METCALF, E. S., SCHRATER, A. F. y KLINMAN, N. R. (1979) *Murine models of tolerance induction in developing and mature B cells*. Immunological Rev. **43**, 143-183.
617. METCHNIKOFF, E. (1907) *«Immunity in Infective Diseases»*. Cambridge University Press.
618. METGER, H. (1978) *The IgE-mast cell system as a paradigm for the study of antibody mechanisms*. Immunol. Rev. **41**, 186-199.
619. MEUER, J. C., ACUTO, O., HERCEND, T., SCHLOSSMAN, S. F. y REINHERZ, E. L. (1984) *The human T-cell receptor*. Ann. Rev. Immunol. **2**, 23-50.
620. MEYSKENS, F. L., MATHE, G. y SCHMÄHL, D. (1983) *Retinoids; a new approach to presentation and therapy fo cancer*. Symp. 63, part. 201, 13th Int. Congr. Chemoth. Viena, p. 201/1-30.
621. MICHIBAYASHI, T. (1978) *Inhibitory action of prostaglandin E on smooth muscle contraction and calcium responses*. Prostaglandin **15**, 803-812.
622. MICKSCHE, M., COLOT, M. y UCHIDA, A. (1984) *Modulation of human lymphocytotoxicity by biological response modifiers*. En: *«Immune Modulation Agents and their Mechanisms»*. Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Deker. Inc. N. Y. p. 363-379.
623. MILATOVIC, D. (1982) *Effect of subinhibitory antibiotic concentrations on the phagocytosis of Staphylococcus aureus*. Eur. J. Clin. Microbiol. **1**, 97-101.
624. MILGROM, F. y DUBISKI, S. (1957) *Antigenicity of antibodies in the same species*. Nature (London) **179**, 1351-1352.
625. MILLER, J. F. A. P. (1973) *Immunological memory*. Contemp. Topics. Immunobiol. **2**, 151-164.
626. MILLER, R. G. (1980) *How a specific antiself deletion mechanism can effect the generation of the specificity repertoire*. En: *«Strategies of Immune regulation»*. Eds. Sercarz & Cunningham. Acad. Press. P. 307-312.
627. MILLER, T. (1983) *Effect of cyclophosphamide on acute vs chronic renal infection in rats*. J. Infect. Dis. **148**, 337.
628. MILLER, T. (1983) *Immunomodulatory interactions of suppressor cells, cell mediated immunity, and cyclophosphamide in experimental pyelonephritis*. J. Infect. Dis. **148**, 1096-1100.
629. MILLER, G. C., MURGO, A. J. y PLOTNIKOFF, N. P. (1983) *Enkephalins-enhancement of active T-cell rosettes from lymphoma patients*. Clin. Immunol. Immunopathol. **26**, 446-451.
630. MILLER, T. y STEWART, E. (1980) *«Filler» cells are non immunological cushions*. Cell. Immunol. **49**, 307-316.
631. MILSTEIN, C. y LENNOX, E. (1980) *The use of monoclonal antibody techniques in the study of developing cell surfaces*. Curr. Topic Develop. Biol. **14**, 1-32.
632. MINKIN, C., BANNON, D. J. Jr., POKRESS, S. y MELNICK, M. (1985)

- Multiwell chamber chemotaxis assays: Improved experimental design and data analysis.* J. Immunol. Methods **78**, 307-321.
633. MITCHINSON, N. A. (1964) *Induction of immunological paralysis in two zones of dosage.* Proc. Royal Soc. Ser. B. **161**, 275-279.
634. MOHR, S. J., MASSICOT, J. G. y CHIRIGOS, M. A. (1978) *Derepression of nuclear template restrictions for DNA synthesis by the immunostimulator pyranocopolymer.* Cancer Res. **38**, 1610-1616.
635. MONEO, I., BOOTELLO, A., HINOJOSA, M. y ALCOVER, R. (1980) *Nuevos avances en la determinación de histamina automatizada.* Allergol. et Immunopathol. Suppl. VII **311**.
636. MONROY, A. y ROSAT, F. (1979) *The evolution of the cell-cell recognition system.* Nature **278**, 165-166.
637. MOORE, T. C. (1984) *The modulation by prostaglandins of increases in lymphocyte traffic induced by bradykinin.* Immunology **51**, 455-460.
638. MOREIN, B., HELENIUS, A., SIMONS, K., PETERSSON, R., KAARIAINEN, L. y SCHIRRMACHER, V. (1978) *Effective subunit vaccines against an enveloped animal virus.* Nature (London) **276**, 715-718.
639. MOREIN, B. y SIMONS, K. (1985) *Subunit vaccines against enveloped viruses: virosomes, micelles and other protein complexes.* Vaccine **3**, 83-93.
640. MOREIN, B., SUNDQUIST, B., HOGLUND, S., DALSGSAARD, K. y OSTERHAUS, A. (1984) *Iscom, a novel structure for antigenic presentation of membrane proteins from enveloped viruses.* Nature **308**, 457-459.
641. MORIN, A. y BALLEET, J. J. (1982) *A recent overview on in vitro and in vivo immunological activities of methisoprinol.* Allergol. Immunopathol. **10**, 109-114.
642. MORIN, A., BALLEET, J. J., TOURAIN, J. L. y HADDEN, J. W. (1982) *Current status of isoprinosine. En: Current concepts in Human Immunology and Cancer Immunomoculation.* Eds. B. Serrou. p. 479-489.
643. MOSEDALE, B. H. y SMITH, M. A. (1975) *Corynebacterium parvum and anaesthetics.* Lancet **1**, 168.
644. MOSIER, D. E., MATHIESON, B. J. y CAMPBELL, P. S. (1977) *Lyphe-  
notype and mecanisms of action of mouse neonatal suppressor T cells.* J. Exp. Med. **146**, 59-73.
- 644 a. MOSCOVITCH, M., KAUFMANN, Y. y BERKE, G. (1984) *Memory CTL-hybridoma: a model system to analyze the anamnestic response of cytolytic T lymphocytes.* Proc. Natl. Acad. Sci. **133**, 2369-2375.
645. MOTTA, I., BRANDELL, M., TRUFFA-BACHI, P., HURTREL, B. y LAGRANGE, P. (1985) *Effects of suramin on the immune responses to sheep red blood cells in mice. II. In vitro studies.* Cell. Immunol. **93**, 292-302.
646. MOVAT, H. Z. (1968) *Activation of the kinin system by antigen-antibody complexes. En: «Bradykinin and related kinins».* Eds. M. Rocha e Silva & Rothschild. Livraria. Sao Paulo p. 177.

647. MOYA, P., ALONSO, M. L., BAIXERAS, E. y RONDA, E. (1984) *Immunomodulatory activity of isoprinosine on experimental viral infections in avian models*. *Int. J. Immunopharm.* **6**, 339-343.
648. MÜLLBACHER, A. y EICHNER, R. D. (1984) *Immunosuppression in vitro by a metabolite of human pathogenic fungus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 3835-3837.
649. MULLEN, P. W. (1981) *Immuno-enhancement and drug elimination kinetics in vivo*. En: «*Advances in Immunopharmacology*». Eds. J. Hadden, L. Chedid, P. Mullen y F. Spreafico. Pergamon Press, Oxford, p. 3-9.
650. MULLEN, P. W. y HADDEN, J. W. (1985) *Abs. 3rd Intern. Conf. Immunopharmacology Pergamon Press. Oxford.*
651. MURAGUCHI, A., KEHRL, J. H., BUTLER, J. L. y FAUCI, A. S. (1984) *Regulation of human B-cell activation, proliferation, and differentiation by soluble factors*. *J. Clin. Immunol.* **4**, 337-347.
652. MURGITA, R. A., HOOPER, D. C., STEGAGNO, M., DELOVITCH, T. L. y WIGZELL, H. (1981) *Characterization of murine newborn inhibitory T lymphocytes: functional and phenotypic comparison with an adult T cell subset activated «in vitro» by alpha-fetoprotein*. *Eur. J. Immunol.* **11**, 957-964.
653. MYLVAGAHAM, R., SPRINZ, P. G., AHN, Y. S. y HARRINGTON, W. J. (1984) *An animal model of alloimmune thrombocytopenia. I. The role of the mononuclear phagocytic system (MPS)*. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **31**, 163-170.
654. NAKANISHI, K., HOWARD, M., MURAGUCHI, A., FARRAR, J., TA. KATSU, K., HAMAOKA, T. y PAUL, W. E. (1983) *Soluble factors involved in B cell differentiation of two distinct T cell replacing factors*. *J. Immunol.* **130**, 2219-2224.
655. NAKAYAMA, E. (1982) *Blocking of effector cell cytotoxicity and T-cell proliferation by Lyt antisera*. *Immunol. Rev.* **68**, 117-134.
656. NAJJAR, V. A. (1983) *Tuftsins, a natural activator of phagocyte cells: An overview*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **419**, 1-11.
657. NAJJAR, V. A. y BUMP, N. (1984) *Tuftsins (thr-lys-pro-arg). A stimulator of all known functions of macrophage*. En «*Immune Modulation Agents and their Mechanisms*». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Dekker. Inc. N. Y. p. 229-242.
658. NAJJAR, V. A. y FRIDKIN, M. (1983) *Antineoplastic, immunogenic and other effects of the tetrapeptide tuftsins: A natural macrophage activator*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **419**, 1-272.
659. NEMEROFF, C. B. y DUUN, A. J. (1981) «*Molecular and Behavioral Neuroendocrinology*». Spectrum, New York.
- 659a. NETA, R. (1983) *A comparison between interferon and lymphokines*. *EOS* **3**, 117-122.
660. NEZLIN, R. S. (1977) «*Structure and biosynthesis of antibodies*». Ed. F. Haurowitz. Indiana University. Bloomington. Indiana p. 105-216.

661. NIKOLOVA, M., PETROVA, L. y DUSHKOVA, R. (1984) *Effect of piracetam in models of experimental inflammation*. Int. J. Tiss. Reac. **6**, 17-21.
662. NILSSON, V. R. y NILSSON, B. (1984) *Simplified assays of hemolytic activity of the classical and alternative complement pathways*. J. Immunol. Meth. **72**, 49-59.
663. OETTGEN, H. F., PINSKY, C. M. y DELMONTE, L. (1976) *Treatment of cancer with immunomodulators*. Med. Clin. North Amer. **60**, 511-537.
664. OHNISHI, H., KOSUZUME, H., INABA, H., OKUBA, M., MORITA, Y., MOCHIZUKI, H. y SUZUKI, Y. (1982) *Mechanism of host defence suppression induced by viral infection: Mode of action of inosiplex as an antiviral agent*. Infect. Immunity **38**, 243-250.
665. OHNISHI, H., KOSUZUME, H., INABA, H., OHKURA, M., SHIMADA, S. y SUZUKI, Y. (1983) *The immunomodulatory action of inosiplex in relation to its effects in experimental viral infections*. Int. J. Immunopharmac. **5**, 181-196.
666. OHNO, S. (1977) *The original function of MHC antigens as the general plasma membrane anchorage site of organogenesis-directing proteins*. Immunol. Rev. **33**, 59-68.
667. OKANO, Y., MACY, M., CARDIN, A. D. y HARMONY, J. A. K. (1985) *Suppression of lymphocyte activation by plasma lipoproteins: modulation by cell number and type*. Exptl. Cell. Biol. **53**, 199-212.
668. OKANO, Y., MACY, M. y HARMONY, J. A. K. (1985) *Accessory cells reduce lipoprotein suppression of lymphocyte activation*. Biochim. Biophys. Acta **845**, 68-80.
669. OLDHAM, R. K. (1985) *Biologicals and biological response modifiers: design of clinical trials*. J. Biol. Resp. Modif. **4**, 117-128.
670. OLDHAM, R. K. y SMALLEY, R. V. (1983) *Immunotherapy: The old and the new*. J. Biol. Resp. Modif. **2**, 1-37.
671. OLSSON, L. y CHAESSON, M. H. (1973) *Studies on subpopulations of theta-bearing lymphoid cells*. Nature New Biol. **244**, 50-52.
672. OMS (1978) «*Immunodeficiencia*». Informe de un Grupo Científico. Ginebra (Suiza).
673. O'NEILL, G. J. (1979) *The use of antibodies as drug carriers*. En: *Drug carriers in Biology and Medicine*. Ed. G. Gregoriadis. Academic Press. London. p. 23-41.
674. O'NEILL, G. J. y TODD, J. P. (1961) *Extraction of nucleic acid-free lipopolysaccharide from gram negative bacteria*. Nature (London) **190**, 344-345.
675. OPPENHEIM, J. J. (1968) *Relationship in vitro lymphocyte transformation to delayed hypersensitivity in guinea pigs and man*. Fed. Proceed. **27**, 21-28.
676. OPPENHEIM, J. J. y GERY, I. (1982) *Interleukin 1 is more than an interleukin*. Immunol. Today **3**, 113.



677. ORTALDO, J. R. y HERBERMAN, R. B. (1984) *Heterogeneity of natural killer cells*. Ann. Rev. Immunol. **2**, 359-394.
678. ORTIZ MASLLORENS, F. (1983) *Empleo terapéutico de las gammaglobulinas humanas*. Revista A. E. F. H. **7**, 193-200.
679. ORTIZ MASLLORENS, F. (1984) *Immunoglobulinas humanas como agentes terapéuticos: realidades y promesas*. Immunología **3**, 127-129.
680. OSEROFF, A., OKADA, S. y STROBER, S. (1984) *Natural suppressor (NS) cells found in the spleen of neonatal mice and adult mice given total lymphoid irradiation (TLI) express the null surface phenotype*. J. Immunol. **132**, 101-110.
681. O'SHANNESY, D. J., DOBERSEN, M. J. y QUARLES, R. H. (1984) *A novel procedure for labeling immunoglobulins by conjugation to oligosaccharide moieties*. Immunol. Letters **8**, 273-277.
682. OWEN, R. D. (1945) *Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins*. Science **102**, 400-403.
683. OWEN, J. J. T., COOPER, M. D. y RAFF, M. C. (1974) *In vitro generation of B lymphocytes in mouse fetal liver, a mammalian «bursa equivalent»*. Nature **249**, 361-363.
684. OWEN, R. L. y NEMANIC, P. (1978) *Antigen processing structures of the mammalian intestinal tract: an SEM study of lymphoreticular organs*. Scand. Electron. Microsc. **2**, 367-378.
685. PAECHT-HOROWITZ, M., BERGER, J. y KATCHALSKY, A. (1970) *Prebiotic synthesis of polypeptides by heterogeneous polycondensation of amino-acid adenylates*. Nature **228**, 636-639.
686. PAIGE, Ch. J. (1983) *Surface immunoglobulin-negative B-cell precursors detected by formation of antibody-secreting colonies in agar*. Nature **302**, 711-713.
687. PAIGE, Ch. J., SCHREIER, M. H. y SIDMAN, C. L. (1982) *Mediators from cloned T helper cell lines affect immunoglobulin expression by B cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **79**, 4756-4760.
688. PAIN, D., ISLAMKHAM, M. y SUROLIA, A. (1982) *Quantitation of receptors and their ligands by non-radioisotopic techniques*. TIPS **3**, 135-137.
689. PANDIAN, M. R. y TALWAR, G. P. (1971) *Effect of growth hormones on the metabolism of thymus and on the immune response against sheep erythrocytes*. J. Exp. Med. **134**, 1095-1113.
690. PANTELOURIS, E. M. (1971) *Observations on the immunobiology of «nude» mice*. Immunology **20**, 247-252.
691. PAPAHDJOPOULOS, D., HEATH, T., BRAGMAN, K. y MATTHAY, K. (1985) *New methodology for liposome targeting to specific cells*. Ann. N. Y. Acad. Sci. **446**, 341-348.
692. PEPPENHEIMER, J. R. (1983) *Induction of sleep by muramyl peptides*. J. Physiol. **336**, 1-11.
693. PARKER, C. W. (1975) En: «*Immune recognition*» Ed. Rosenthal, A. S. Academic Press, New York, p. 331-336.

694. PARKMAN, P. D., HOPPS, H. E., ALBRECHT, P. y MEYER, H. M. Jr. (1985) *Administración simultánea de vacunas*. En: «Avances recientes en inmunización». Publ. Cient. 451 Org. Panam. de la Salud. Washington. p. 68-83.
695. PARRILLO, J. E., y FAUCI, A. S. (1979) *Mechanism of glucocorticoid action on immune processes*. Ann. Rev. Pharmac. Toxicol. **19**, 179-201.
696. PATERSON, P. Y. (1966) *Experimental allergic encephalomyelitis and autoimmune disease*. Adv. Immunol. **5**, 131-208.
697. PAUL, W. E. (1984) *Nomenclature of lymphokines wich regulate B-lymphocytes*. Molecular Immunol. **21**, 343.
698. PAULING, L. (1940) *A theory of the structure and process of formation of antibodies*. J. Am. Chem. Soc. **62**, 2643-2647.
699. PAYAN, D. G., BREWSTER, D. r. y GOETZL, E. J. (1983) *Specific stimulation of human T lymphocytes by substance P*. J. Immunol. **131**, 1613-1615.
700. PAYAN, D. G., y GOETZL, E. J. (1985) *Modulation of lymphocyte function by sensory neuropeptides*. J. Immunol. **135**, 783s-786s.
701. PEELER, K., WIGZELL, H. y PECK, A. B. (1983) *Isolation and identification of the naturally occurring, newborn spleen-associated suppressor cells*. Scand. J. Immunol. **17**, 443-454.
702. PERELSON, A. S., MIRMIRANI, M. y OSTER, G. F. (1976) *Optimal strategies in Immunology. I. B-cell differentiation and proliferation*. J. Math. Biol. **3**, 325-367.
703. PERELSON, A. S., MIRMIRANI, M. y OSTER, G. F. (1978) *Optimal strategies in Immunology. II. B memory cell production*. J. Math. Biol. **5**, 213-256.
704. PERELSON, A. S. y WIEGEL, F. W. (1979) *A calculation of the number of IgG molecules required per cell to fix complement*. J. Theor. Biol. **73**, 317-332.
705. PEREZ, H. A., BOLIBAR, J. y SAN BLAS, G. (1984) *The immunomodulatory effect of yeast glucan on delayed hypersensitivity*. J. Immunopharmacol. **6**, 305-321.
706. PERKUS, M., PICCINI, A., LIPINSKAS, B. R. y PAOLETTI, E. (1985) *Recombinant vaccinia virus: Immunization against multiple pathogens*. Science **229**, 981-982.
707. PERNIS, B. (1975) *The effect of anti-IgD antiserum on antibody production in rhesus monkeys*. En: «Membrane receptors of lymphocytes». Eds. M. Seligman, J. L. Prend homme & F. M. Kourilsky. p. 25-26. North-Holland Publ. Co. Amsterdam.
708. PERRET, G. y SIMON, P. (1984) *La radiorécepteur essai: Principes et applications a la Pharmacologie*. J. Pharmacol. (Paris) **15**, 265-286.
709. PERRIN, P., THIBODEUA, L. y SUREAU, P. (1985) *Rabies immunosome (subunit vaccine) structure and immunogenicity. Pre-and post-exposure protection studies*. Vaccine **3**, 325-332.
710. PESCE, A. J., y DOSENKUN, A. K. (1983) *Interrelationships between*

*the immune systems, complement, coagulation and inflammation.* Clin. Physiol. Biochem. **1**, 92-116.

711. PESTAÑA, A., LARRAGA, V. y MARQUET, A. (1983) *L'huile toxique espagnole: premier bilan.* La Recherche **14**, 986-988.
712. PETERS, J. H. y HAUSEN, P. (1971) *Effect of phytohemagglutinin on lymphocyte membrane transport. I. Stimulation of uridine uptake.* Eur. J. Biochem. **19**, 502-508.
713. PETERS, F. y PINGOUD, A. (1979) *Numerical analysis of binding studies: A direct procedure avoiding the pitfalls of a Scatchard analysis of equilibrium data.* Int. J. Bio-Medical Computing **10**, 401-415.
714. PETERSON, P. K. (1982) *How antibiotics augment host defence.* Eur. J. Clin. Microbiol. **1**, 335-337.
715. PHILLIPS, J. M., KAKLAMANIS, P. y GLYNN, L. E. (1966) *Experimental arthritis associated with auto-immunization.* Ann. Rheum. Dis. **25**, 165-174.
716. PIANTADOSI, S., HAZELRIG, J. B., y TURNER, E. Jr. (1983) *A model of tumor growth based on cell cycle kinetics.* Mathematical Bioscience **66**, 283-306.
717. PIERPAOLI, W. y SORKIN, E. (1968) *Hormones and immunologic capacity I. Effect of heterologous antigrowth hormone antiserum on thymus and peripheral lymphatic tissue in mice. Induction of a wasting syndrome.* J. Immunol. **101**, 1036-1043.
718. PIGUET, P. F., IRLE, C. y VASSALLI, P. (1981) *Immunosuppressor cells from newborn mouse spleen are macrophages differentiating in vitro from monoblastic precursors.* Eur. J. Immunol. **11**, 56-61.
719. PLA, M. y SHALEV, A. (1983) *Determinants chez les invertébrés analogues aux antigènes du complexe major d'histocompatibilité.* Bull. Inst. Pasteur. **81**, 273-275.
720. PLANT, J. y GLYNN, A. A. (1974) *Natural resistance to Salmonella infection, delayed hypersensitivity and Ir genes in different strains of mice.* Nature **248**, 345.
721. PLOTNIKOFF, N. P., KASTIN, A. J., COY, D. H., CRISTENSEN, C. W., SCHALLY, A. V. y SPIRITES, M. A. (1976) *Neuropharmacological actions of enkephalin after systemic administration.* Life Sci. **19**, 1283-1288.
722. PLOTNIKOFF, N. P., y MILLER, G. C. (1983) *Enkephalins as immunomodulators.* Int. J. Immunopharmac. **5**, 437-441.
723. PLOTNIKOFF, N. P. y MURGO, A. J. (1985) *Enkephalins-endorphins: stress and the immune system.* Fed. Proc. **44**, 91.
724. PLOTNIKOFF, N. P., MURGO, A. J., y FAITH, R. E. (1984) *Neuroimmunomodulation with enkephalins: effects on thymus and spleen weights in mice.* Clin. Immunol. Immunopathol. **32**, 52-56.
725. POLLET, R. J. y LEVEY, G. S. (1980) *Principles of membrane receptor physiology and their application to clinical medicine.* Ann. Inter. Med. **92**, 663.

726. PORTOLES, A. (1980) *Psiquiatría e Inmunología. Nuevas perspectivas de investigación*. Psiquis **2**, 12-20.
727. PORTOLES, M. P. (1985) «*Estudios sobre mecanismos de interacción entre células citotóxicas y sus células diana*». Tesis Fac. Ciencias. Univ. Complutense Madrid.
728. PORTOLES, A., BARASOAIN, I., OJEDA, G., PORTOLES, M. P. y ROJO, J. M. (1983) *Isoprinosine reverses cyclophosphamide-induced suppression of lymphocyte blastogenesis responses*. Immunomodulators. Proc. 13 Intern. Congr. Chemother. **91**, 24-28.
729. PORTOLES, A., OJEDA, G., PORTOLES, M. P. y ROJO, J. M. (1982) *Effects of several neuroleptic compounds on the blastogenic response of spleen cells from mice*. Int. J. Tiss. Reac. **4**, 133-140.
730. PORTOLES, A., OJEDA, G., ROJO, J. M., PORTOLES, M. P. y BARASOAIN, I. (1983) *Modulatory effect of isoprinosine on lymphocyte proliferative response under immunodepressive conditions*. J. Immunopharm. **5**, 245-256.
731. PORTOLES, A., PEREZ UREÑA, M. T., RAMOS, F., LOPEZ, R. y ESPINOSA, M. (1975) *Penicillin immunogenicity in the presence of different pharmaceutical adjuvants*. Int. J. Clin. Pharmacol. **11**, 7-9.
732. PORTOLES, A., ROJO, J. M. y DIAZ, R. (1984) *Cuantificación (por nomogramas) de parámetros fisiopatológicos en un modelo experimental de anafilaxia pasiva por inmunocomplejos*. Rev. Esp. Fisiol. **40**, 297-310.
733. PORTOLES, A., ROJO, J. M. y DIAZ, R. (1986) *Influence of mouse genotype on the passive systemic anaphylaxis by immune complexes*. Infect. Immun. (en prensa).
734. PORTOLES, A., ROJO, J. M. e HIDALGO, A. (1980) *Variaciones, en la formación de moléculas penicilin-inmunosensibilizantes, condicionadas por diversos tratamientos*. Immunologica, **1**, 11-19.
735. POSKITT, D. C. y TRNKA, Z. (1975) *The appearance of cells secreting antibodies specific for antigens other than those which induced their formation*. Basel Inst. for Immunology. Ann. Rep. p. 83.
736. POSISIL, M., JANDOVA, D., FISEROVA, A. y HOFMAN, J. (1983) *Killer cell activity in ontogeny. II. Augmentation by LPS, PPD and BCG*. Develop. Comp. Immunol. **7**, 745-746.
737. POTWOROWSKI, E. F. y FOURNIER, M. (1982) *T-cell markers and receptors: potential use in immune modulation*. En: «*Immunopharmacology*». Eds. P. Sirois y M. Rola-Pleszczynski. Elsevier, Amsterdam p. 27-47.
738. POUPON, M. F., KOLB, J. P. y LESPINATS, G. (1978) *Induction of suppressor cells in mice by cyclophosphamide*. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) **129** C, 475-487.
739. POWIS, G. (1985) *Anticancer drug pharmacodynamics*. Cancer Chemother. Pharmacol. **14**, 177-183.
740. PREHN, R. T. (1983) *The dose-response curve in tumor-immunity*. Int. J. Immunopharm. **5**, 255-257.
741. PRESS, J. L. y KLINMAN, N. R. (1973) *Enumeration and analysis of*

- antibody-forming cell precursors in the neonatal mouse.* J. Immunol. **111**, 829-835.
742. PREUD'HOMME, J. L., CLAUVEL, J. P. y SELIGMANN, M. (1975) *Immunoglobulin B-bearing lymphocytes in primary immunodeficiencies.* J. Immunol. **114**, 481-485.
743. PROTHERO, J. (1980) *Control of stem cell proliferation: A density-dependent commitment model.* J. Theor. Biol. **84**, 725-736.
744. PTAK, W. y SKOWRON-CENDRZAK, A. (1977) *Fetal suppressor cells. Their influences on the cell-mediated immune responses.* Transplantation **24**, 45.
745. PUJOL-BORRELL, R., BOTTAZZO, G. F. y FELDMANN, M. (1984) *Un cambio en la expresión de los antígenos de histocompatibilidad podría conducir a la autoinmunidad.* Med. Clin. (Barc.) **82**, 594-595.
746. PUTNAM, F. H. (1983) *From the first to the last of the immunoglobulins.* Clin. Physiol. Biochem. **1**, 63-91.
747. QUAN, P. C., ISHIZAKE, T. y BLOOM, B. (1982) *Studies on the mechanism of NK cell lysis.* J. Immunol. **128**, 1786-1791.
748. QUICK, A. J. (1943) *On the constitution of prothrombin.* Am. J. Phys. **140**, 212-216.
749. QUINONES, R. R., YOULE, R. J., KERSEY, J. H., ZANJANI, E. D., AZEMOVE, S. M., SODERLING, C. C., LEBEIN, P. W., BEVERLEY, P. C., NEVILLE, D. M. y VALLERA, D. A. (1984) *Anti-T cell monoclonal antibodies conjugated to ricin as potential reagents for human GVHD prophylaxis.* J. Immunol. **132**, 678.
750. QUINTANS, J. y LEFKOVITS, I. (1976) *Clonal expansion and thymus dependence. Microculture experiments with TNP-tyopolysaccharide.* En: *Immune reactivity of lymphocytes.* p. 101-106. Plenum Press. N. Y.
751. RADOUX, D., KINET-DENÖEL, C., HEINEN, E., MOEROMANS, M., de MEY, J. y SIMAR, L. J. (1985) *Retention of immune complexes by Fc receptors on mouse follicular dendritic cells.* Scand. J. Immunol. **21**, 345-353.
752. RAFF, M. C. y CANTOR, H. (1971) *Subpopulations of thymus cells and thymus-derived lymphocytes.* Prog. Immunol. **1**, 83-93.
753. RAFF, M. C., STERNBERG, M. y TAYLOR, R. (1970) *Immunoglobulin determinants on the surface of mouse lymphoid cells.* Nature **225**, 553-554.
754. RAIMOND, F., MOREL, E. y BACH, J. F. (1984) *Evidence for the presence of immune reactive acetylcholine receptors on human thymus cells.* J. Neuroimmunology. **6**, 31-40.
755. RAPP, H. J. (1979) *Letter to the editor; appropriateness of animal models for the immunology of human cancer.* Cancer Rev. **39**, 4285-4286.
756. RATCLIFFE, M. J. H., JULIUS, M. H. (1983) *Two classes of bystander B cell response: Activation requirements reflect those of B cells in general.* J. Immunol. **131**, 581-586.
757. RATNOFF, O. D. (1965) *Increased vascular permeability induced by human plasmin.* J. Exp. Med. **122**, 905-912.

758. RATNOFF, O. D. (1969) *Some relationships among hemostasis, fibrinolytic phenomena, immunity and the inflammatory response*. Adv. Immunol. **10**, 145-158.
759. RATNOFF, O. D. y NAFF, G. B. (1967) *The conversion of C1s to C1 esterase by plasmin and trypsin*. J. Exp. Med. **125**, 337-344.
760. REBAR, R. W., MIYAKE, A., LOW, T. L. K. y GOLDSTEIN, A. L. (1981) *Thymosin stimulates secretion of luteinizing hormone-releasing factor*. Science **214**, 669-671.
761. REDDY, M. M., CHINOY, P. y GRIECO, M. H. (1984) *Differential effects of interferon- $\alpha$ , and interleukin-2 on natural killer cell activity in patients with acquired immune deficiency syndrome*. J. Biol. Resp. Modif. **3**, 379-386.
762. REILLY, F. D., McCUSKEY, R. S. y MEINEKE, H. A. (1976) *Studies of the thimopoietic microenvironment*. Anat. Rec. **185**, 109-117.
763. REINHERZ, E. L., COOPER, M. D., SCHLOSSMAN, S. F. (1981) *Abnormalities of T cell maturation and regulation in human beings with immunodeficiency disorders*. J. Clin. Invest. **68**, 699-705.
764. REINHERZ, E. L., KUNG, P. C., GOLDSTEIN, G., LEVY, R. H. y SCHLOSSMAN, S. F. (1980) *Discrete stages of human intrathymic differentiation: Analysis of normal thymocytes and leukemic lymphoblasts of T-cell lineage*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **77**, 1588-1592.
765. REINHERZ, E. L., KUNG, P. C., GOLDSTEIN, G. y SCHLOSSMAN, S. F. (1979) *Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **76**, 4061-4065.
766. REINHERZ, E. L., RUBINSTEIN, A., GEHA, R. S., STRELKAUSKAS, E. J., ROSEN, F. S. y SCHLOSSMAN, S. F. (1979) *Abnormalities of immunoregulatory T cells in disorders of immune function*. New Engl. J. Med. **301**, 1018-1022.
767. REINHERZ, E. L. y SCHLOSSMAN, S. F. (1980) *The differentiation and function of human T lymphocytes*. Cell **19**, 821-827.
768. REISNER, Y., O'REILLY, R. J., KAPOOR, N. y GOOD, R. A. (1980) *Allogeneic bone marrow transplantation using stem cells fractionated by lectins: VI. In vitro analysis of human and monkey bone marrow cells fractionated by sheep red blood cells and soybean agglutinin*. Lancet **2**, 1320-1323.
769. RENOUX, G. (1981) *Levamisole and sodium diethyldithiocarbamate*. TIPS **9**, 248-249.
770. RENOUX, G. (1982) *Du bon usage de l'immunopharmacologie*. EOS **4**, 167-169.
771. RENOUX, G. (1982) *Biological augmenting agents*. En: «Immunopharmacology». Eds. P. Sirois y M. Rola-Pleszczynsky. Elsevier Biomedical Press. p. 287-314.
772. RENOUX, G. (1983) *The thymic factor system*. Biomedicine & Pharmacotherapy. **37**, 433-440.
773. RENOUX, G. (1983) *Les exigences de l'évaluation immunopharmacologique d'un médicament*. En: «Situation actuelle et orientations futures

- en toxicologie du médicament*». Eds. G. Zbinden, F. Cohadon, J. Y. De-taille y G. Mazne. John Libbey Eurotext. Paris, p. 310-314.
774. RENOUX, G. (1984) *Brain neocortex and immune system*. Immunology Today 5, 218.
775. RENOUX, G. (1984) *The mode of action of immuthiol. (Sodium diethyl-dithiocarbamate)*. En: «*Immune Modulation Agents and their Mechanisms*». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Dekker, Inc. N. Y. p. 607-624.
776. RENOUX, G., BIZIERE, K., BARDOS, P., DEGENNE, D. y RENOUX, M. (1982) *NK activity in mice is controlled by the brain neocortex*. En: «*NK cell and other natural effector cells*». Ed. Herberman, R. B., Academic Press. New York, p. 639-643.
777. RENOUX, G., BIZIERE, K. y RENOUX, M. (1982) *Le neocortex céré-bral contrôle le système immunitaire*. Bull. Acad. Nat. Med. 166, 61-68.
778. RENOUX, G., BIZIERE, K., RENOUX, M. y GUILLAUMIN, J. M. (1980) *Le cortex cérébral règle les réponses immunes des souris*. C. R. Acad. Sci. Paris 290 D, 719-722.
779. RENOUX, G., BIZIERE, K., RENOUX, M. y GUILLAUMIN, J. M. (1983) *The production of T cell-inducing factors in mice is controlled by the brain neocortex*. Scand. J. Immunol. 17, 45-50.
780. RENOUX, G., BIZIERE, K., RENOUX, M., GUILLAUMIN, J. M. y DE-GENNE, D. (1983) *A balanced brain asymetry modulates T cell-media-ted events*. J. Neuroimmunology 5, 227-238.
781. RENOUX, G. y RENOUX, M. (1979) *Immunopotential and anabo-lism induced by sodium diethylthiocarbamate*. J. Immunopharmacol. 1, 247-267.
782. RENOUX, G. y RENOUX, M. (1983) *DTC, a T-cell-specific agent nu/nu mice*. En: «*Current drugs and methods of Cancer treatments*». Ed. Mathe, G., Mihich, E. y Reizenstein, P. Masson, New York, p. 171-173.
783. RENOUX, G. y RENOUX, M. (1984) *Diethylthiocarbamate (DTC). A biological augmenting agents specific for T cells*. En: «*Immune Mo-dulation Agents and their Mechanisms*». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Dekker. Inc. N. Y. p. 7-20.
784. RENOUX, G., RENOUX, M., LEMARIE, E., LAVANDIER, M., GRECO, J., BARDOS, P., LANG, J. M., BOILLETOT, A., OBERLING, F., AR-MAND, J., MUSSETT, A. y BIRON, G. (1983) *Sodium diethylthiocar-bamate (imuthiol) and cancer*. En: «*Biological response modifiers in human oncology and immunology*». Ed. Len, T., Specter, S., Friedman, H. & Szentivanyi A. Plenum Publ. Co. p. 223-239.
785. RENTON, K. W. (1981) *Effects of interferon inducers and viral infec-tion on the metabolism of drugs*. En: «*Advances in Immunopharmacolo-gy*». Eds. J. Hadden, L. Chedid, P. Mullen y F. Spreafico. Pergamon Press, Oxford, p. 17-24.
786. RICH, R. R. y PIERCE, C. W. (1973) *Biological expressions of lympho-cyte activation. I. Effects of phytomitogens on antibody synthesis in vitro*. J. Exp. Med. 137, 205-223.
787. RICHTER, P. H. (1975) *A network theory of the immune system*. Eur. J. Immunol. 5, 350-354.

788. RIGAU-LLOVERAS, J., GRAU-OLLETE, M. R. y RIVERA-FILLAT, M. P. (1984) *Método de selección de células en distintas fases del ciclo mitótico*. Rev. Españ. Fisiol. **40**, 87-94.
789. RIJKERS, G. T. (1982) *Non-lymphoid defense mechanisms in fish*. Dev. Comp. Immunol. **6**, 1-14.
790. RITCHIE, D. M., HAHN, D. W. y McGUIRE, J. L. (1984) *Smooth muscle contraction as a model to study the mediator role of endogenous lipoxigenase products of arachidonic acid*. Life Sci. **34**, 509-513.
791. ROBBINS, J. H. (1964) *Tissue culture studies of the human lymphocyte*. Science **146**, 1648-1654.
792. ROBERT, D., IVANOV, B., FONTANGES, R., NORMIER, G., PINEL, A. M. y D'HINTERLAND, L. D. (1982) *Study of the mode of action of ribosomal vaccines from Klebsiella and Streptococcus pneumoniae and their ribonucleic and protein fractions using passive immunization*. Microbiol. Immunol. **26**, 933-940.
793. ROBERTS-THONSON, I. C., YOUNGCHAIYUD, U., WHITTINGHAM, S. y MACKAY, I. R. (1974) *Aging immune response, and mortality*. Lancet **2**, 368-370.
794. ROCH-ARVEILLER, M., DROUIN, J. Y. PUISIEUX, F. y GIROUD, J. P. (1984) *Direct identification of a chemoattractant by a visual assay*. Blood cells **10**, 129-133.
795. ROCH-ARVEILLER, M. y GIROUD, J. P. (1984) *A visual technique for the study of the pharmacological modification of polymorphonuclear chemotaxis*. Blood cells **10**, 135-145.
796. ROCKIN, R. E., KISELIS, I. y MATLOFF, S. (1983) *Abnormal immunoregulation in atopic patients*. En: «Regulation of the Immune Response» 2th Int. Convoc. Immunol. Amherst. N. Y. p. 309-316.
797. ROCKLIN, R. E. (1982) *Modulation of inflammatory and immune responses by histamine*. En: «Immunopharmacology». Eds. P. Sirois & M. Rola-Pleszczynski. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam. p. 49-74.
798. RODKEY, S. (1974) *Studies of idiotypic antibodies production and characterization of auto-anti-idiotypic sera*. J. Exp. Med. **139**, 712-720.
799. RODRIGUES, G., ANDERSSON, G., WIGZELL, H. y PECK, A. B. (1979) *Non T-cell nature of the naturally occurring, spleen-associated suppressor cells present in the newborn mouse*. Eur. J. Immunol. **9**, 737-746.
800. RODRIGUEZ, F., BRIEVA, A., TUDURI, P., VELASCO, R., MARTINEZ, A., RODRIGUEZ-NOVAS, G., GUERRERO, A., PIVEL, J. P. y SADA, G. (1983) *Estudio de la influencia de un nuevo fármaco sobre el sistema inmune y su relación con la resistencia a la infección provocada en ratón*. Rev. Clin. Españ. **169**, 191-193.
801. ROJO, J. M. (1984) *Positive selection by «panning» of B lymphocytes using unfractionated anti-immunoglobulin antiserum*. Rev. Españ. Fisiol. **40**, 463-468.
802. ROJO, J. M., BARASOAIN, I. y PORTOLES, A. (1981) *Variable effects of indomethacin and four related compound on lymphocyte blastogenesis and cell-mediated cytotoxicity*. Int. J. Clin. Pharma. Ther. Toxicol. **19**, 420-424.



803. ROJO, J. M., BARASOAIN, I. y PORTOLES, A. (1981) *Further studies on the immunosuppressive effects of indomethacin*. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. **19**, 220-222.
804. ROJO, J. M., BARASOAIN, I. y PORTOLES, A. (1985) *La inmunomodulación producida por moléculas de origen microbiano. Su problemática*. En: «Microbiología 85», vol. 2. Ed. Rodríguez Torres, A. Valladolid, p. 361-379.
805. ROJO, J. M., BARASOAIN, I., PORTOLES, M. P., OJEDA, G. y PORTOLES, A. (1982) *Efecto modulador de isoprinosina, dexametaxona e indometacina sobre la reacción mixta de linfocitos y la respuesta citotóxica mediada por células*. Rev. Real Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat. **76**, 875-893.
806. ROJO, J. M., BARASOAIN, I., PORTOLES, M. P., OJEDA, G. y PORTOLES, A. (1984) *Modulación de la respuesta inmune por distintas moléculas esteroides*. En: «Aspectos actuales en Biología y Medicina». Ed. A. Rodríguez. Valladolid, p. 423-439.
807. ROJO, J. M., OJEDA, G., y PORTOLES, M. P. (1983) *Enhancement and restoration of contact sensitivity reactions by isoprinosine*. J. Immunopharmacol. **5**, 231-243.
808. ROJO, J. M., OJEDA, G., PORTOLES, M. P., y PORTOLES, A. (1983) *Inhibition of T and B lymphoblastic response by mithramycin, dacarbazine, prospidium chloride and peptichemio*. Chemotherapy **29**, 345-351.
809. ROJO, J. M. y PORTOLES, M. P. (1980) *Prostaglandin-induced changes on mitogen activated bone marrow cells*. Immunology Letters **1**, 317-320.
810. ROJO, J. M. y PORTOLES, M. P. (1982) *Lymphoid-organ variations and blastogenic responses of splenocytes in estrogen-progesterone treated virgin and multiparous mice*. Int. J. Clin. Pharm. Ther. **20**, 139-141.
811. ROJO, J. M., PORTOLES, M. P., BARASOAIN, I. y PORTOLES, A. (1982) *Exogenous additions of prostaglandins variably alter the blastogenic responses of B and T lymphocytes from different lymphoid organs*. Immunopharmacology **4**, 95-104.
812. ROJO, J. M., PORTOLES, M. P., BARASOAIN, I. y PORTOLES, A. (1984) *Procedimiento de obtención de híbridos celulares rata x ratón, capaces de sintetizar anticuerpos que detectan antígenos masculinos específicos (H-Y)*. Patente 534499.C.S.I.C.
813. ROJO, J. M., PORTOLES, M. P., OJEDA, G. y PORTOLES, A. (1986) «*In vitro*» modulation of lymphocyte proliferative responses by agonists and antagonists of dopamine receptors. Immunopharmacology (en prensa).
814. ROJO, J. M., PORTOLES, P., OJEDA, G. y PORTOLES, A. (1986) «*In vitro*» modulation of lymphocyte proliferative responses by agonists and antagonists of dopamine receptors. Immunopharmacology (en prensa).
815. ROJO, J. M., REJAS, M. T., OJEDA, G., PORTOLES, M. P., y BARASOAIN, I. (1986) *Enhancement of lymphocyte proliferation, interleukin-2 production and NK activity by Immunoferon (AM-3), a fungal immunomodulator: variations in normal and immunosuppressed mice*. Int. J. Immunopharm. (en prensa).
816. ROLINK, A. y MELCHERS, F. (1983) *Attempts to induce autoimmuni-*

- ity in F1 hybrid mice by injection of alloreactive T cell lines derived from one of the parental strains. *Basel Inst. Immunol. Ann. Rep.* p. 95.
817. ROMANO, T. J. y THORBECKE, G. J. (1975) *Thymus influence on the conversion of 19S to 7S antibody formation in the response to TNP-Brucella*. *J. Immunol.* **115**, 332-338.
818. RONDA, E., MOYA, M. P. y ALONSO, M. L. (1982) *Avian interferon response to tilorone: effect on immune system*. *Dugs. Exptl. Clin. Res* **8**, 611-618.
819. RONDA, E., MOYA, M. P., ALONSO, M. L. y BAIXERAS, E. (1984) *Actividades inmunomodificadoras del interferón y sus inductores*. En: «*Aspectos actuales en Biología y Medicina*». Ed. Rodríguez, A. Barcelona, p. 405-422.
820. RONDA, E., MOYA, M. P., BAIXERAS, E. y ALONSO, M. L. (1983) *Influence of adrenergic agents on spontaneous and interferon-induced natural killer activity*. *Adv. Immunother.* **288**, 81-86.
821. ROOT-BERNSTEIN, R. y WESTALL, F. (1983) *Sleep factors: Do muramyl peptides activate serotonin binding sites?* *The Lancet* **1**, 653-655.
822. ROSEN, F. S. (1982) *Immunodeficiency diseases: models of immunoregulatory defects*. En: «*Current concepts in Human Immunology and Cancer Immunomodulation*». Eds. B. Serrou, C. Rosenfeld, J. C. Daniels y J. P. Saunders. Elsevier Biomed. Press. Amsterdam, p. 69-74.
823. ROTH, J., LE ROITH, D., SHILDACH, J., ROSENZWEIG, J. L., LES-  
NIAK, M. A. y HAVRANKOVA, J. (1982) *The evolutionary origins of hormones, neurotransmitters, biology*. *N. Engl. J. Med.* **306**, 523-527.
824. ROUSE, B. T. y WARNER, N. L. (1974) *Infectious immunological tolerance*. *Immunology* **21**, 903-914.
825. ROWE, D. S., HUG, K., FORNI, L. y PERNIS, B. (1973) *Immunoglobulin D as a lymphocyte receptor*. *J. Exp. Med.* **138**, 965-972.
826. RUBEN, L. N. (1984) *Some aspects of the phylogeny of macrophage-lymphocyte immune regulation*. *Develop. Comp. Immunol.* **8**, 247-256.
827. RUBIN, E. y ZAK, F. G. (1960) *Pneumocystis carinii pneumonia in the adult*. *New Engl. J. Med.* **262**, 1315.
828. RUBINSTEIN, A., SICKLICK, M., MEHRA, V., ROSEN, F.s. y LEVEY, R. H. (1981) *Anti-helper T cell autoantibody in acquired agammaglobulinemia*. *J. Clin. Invest.* **67**, 42-50.
829. RUBIO, N. y PORTOLES, A. (1972) *Immunosuppressive activity of the Pseudomonas aeruginosa endotoxin on a lysozyme anti-lysozyme system*. *Ztl. Bakt. Parast.* **127**, 313-317.
830. RUEBUSH, M. J. y HANSON, W. L. (1980) *Transfer of immunity to Babesia microti of human origin using T lymphocytes in mice*. *Cell. Immunol.* **52**, 255-265.
831. RUSSELL, J. H. (1983) *Internal disintegration model of cytotoxic lymphocyte-induced target damage*. *Immunol. Rev.* **72**, 97-118.
832. SACKS, D. L., KELSOE, G. H. y SACHS, D. H. (1983) *Induction of immune responses with anti-idiotypic antibodies: Implications for the induction of protective immunity*. *Springer Semin. Immunopathol.* **6**, 79-97.

833. SAKANO, H., MAKI, R., JUROSAWAY, Y., ROEDER, W. y TONEGAWA, S. (1980) *Two types of somatic recombination are necessary for the generation of complete immunoglobulin heavy chain genes*. *Nature* **286**, 676-683.
834. SANDFORD, K. K. (1976) *Gene expression and regulation in cultured cells*. 3rd Decenn. Rev. Conf. Cell, Tiss. and Org. Cult. Nat. Cancer Inst. Monographs. Bethesda. Md.
835. St. GEORGIEV, C. (1983) «*Georgiev survey of drug research in immunological disease*». S. Karger, A. G. Basilea. Tomos I al VI.
836. SATO, K., CHANG, M. P. y MAKINODAN, T. (1984) *Influence of age on the ability of thymic adherent cells to produce factorsh in vitro wich modulate immune responses of thymocytes*. *Cell. Immunol.* **87**, 473-484.
837. SAXON, A., STEVENS, R. H. y GOLDE, D. W. (1979) *Helper and suppressor T-lymphocyte leukemia in ataxia telangiectasia*. *New Engl. J. Med.* **300**, 700-704.
838. SCOLLAY, R. y SHORTMAN, K. (1983) *Thymocyte subpopulations: an experimental review, including flow-cytometric cross-corelations between the major murine thymocyte markers*. *Thymus* **5**, 245-296.
839. SCOTT, D. W. (1984) *Mechanism in immune tolerance*. *CRC Critical Rev. Immunol.* **5**, 1-25.
840. SCOTT, M. G., NAHAM, M. H. (1984) *Mitogen-induced human Ig subclass expression*. *J. Immunol.* **135**, 2454-2460.
841. SCOTT ROOT-BERSTEIN, R. (1984) *Molecular sandwiches as a basis for structural and functional similarities of interferons, MSH, ACTH, LHRH, myelin basic protein, and albumins*. *FEBS* **168**, 208-212.
842. SCHALM, O. W., JAIN, N. C. y CARROLL, N. C. (1975) «*Veterinary Hematology*». Lea & Febiger. Filadelfia.
843. SCHAUMANN, W., BICKER, V. y HAAS, V. (1983) *Optimizing the lymphocyte transformation test in whole blood. II. Kinetics of thymidine incorporation*. *J. Immunopharmacol.* **5**, 13-30.
844. SCHLESINGER, D. H. y GOLDSTEIN, G. (1975) *The amino acid sequence of thymopoietin II*. *Cell* **5**, 361-365.
845. SCHLESINGER, D. H., GOLDSTEIN, G. y NIALL, H. D. (1975) *The complete amino acid sequence of ubiquitin, and adenylate cyclase stimulating polypeptide probably universal in living cells*. *Biochemistry* **14**, 2214-2218.
846. SCHNEIDER, H., VOGT, A. y BROSS, K. (1984) *Identification of proliferating lymphocyte subpopulations in microcultures by surface marker and autoradiography*. *Immunol Comm.* **13**, 553-561.
847. SCHNEWEIS, K. E., GRUBER, J., HILFENHAUS, J., MÖSLEIN, A., KAYSER, M. y WOLFF, M. H. (1981) *The influence of different modes of immunization on the experimental genital herpes simplex virus infection of mice*. *Med. Microbiol. Immunol.* **169**, 269-279.
848. SCHNITKER, J. (1983) *Statistical procedures in clinical pharmacology: decision-theoretic foundations*. *Meth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol.* **5**, 505-510.
849. SCHROIT, A. J., GALLIGIONI, E. y FILDLER, I. J. (1983) *Factors in-*

- fluencing the in situ activation of macrophages by liposomes containing muramyl dipeptide. Biol. Cell. 47, 87-94.*
850. SCHULTZ, W. H. (1910) *Physiological studies in anaphylaxis. I. The reaction of smooth muscle of the guinea pig sensitized with horse serum. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1, 549-567.*
851. SCHUSTER, P. (1984) *Evolution between chemistry and biology. Origins of Life 14, 3-14.*
852. SCHWARTZ, R. H. (1978) *A clonal deletion model for Ir gene control of immune response. Scand. J. Immunol. 7, 3-9.*
853. SCHWARTZ, A., ASKENASE, P. W. y GERSHON, R. K. (1978) *Regulation of delayed type hypersensitivity reactions by cyclophosphamide sensitive T cells. J. Immunol. 121, 1573-1577.*
854. SCHWARTZ, S. A., CHOI, Y. S., SHOU, L. y GODD, R. A. (1977) *Modulatory effects of immunoglobulin synthesis and secretion by lymphocytes from immunodeficient patients. J. Clin. Invest. 59, 1176-1187.*
855. SCHWARTZ, R. H., YANO, A y PAUL W. E. (1978) *Interaction between antigen-presenting cells and primed T lymphocytes. Immunol. Rev. 40, 153-180.*
856. SEDLACEK, H. H. (1984) *Test systems for immunomodulators. How to find out immunomodulators. Behring Inst. Mitt. 74, 122-131.*
857. SEGAL, S., TZEHOVAL, E., FRIDKIN, M. y FELDMAN, M. (1980) *What signals macrophages to signal lymphocytes? Behring Inst. Mitt 65. 87-93.*
858. SEILER, F. R. y SCHWICK, H. G. (1980) *«Activation and regulation in the immune response». Symposium at the Max-Planck-Institute for Immunobiology. Behring Institute Mitteilungen. Freiburg.*
859. SEN, L. y MORELLA, L. (1975) *Clinical importance of lymphocytes with T markers in childhood. N. Engl. J. Med. 292, 828-832.*
860. SERROU, B., CUISSOL, D., FAVIER, F. y FAVIER, C. (1982) *Clinical characterization of biological response modifiers. En «Current Concepts in Human Immunology and Cancer Immunomodulation». Eds. B. Serrou, C. Rosenfeld, J. C. Daniels y J. P. Saunders. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam. p. 449-454.*
861. SERROU, B., ROSENFELD, C., DANIELS, J. C. y SAUNDERS, J. P. (1982). *Current concepts in human immunology and cancer immunomodulation. Proceed Intern. Symp. in Montpellier. Francia. Elsevier Biomed. Press. Amsterdam.*
862. SHALL, S. y STEIN, W. D. (1979) *A mortalization theory for the control of cell proliferation and for the origin of immortal cell lines. J. Theor. Bio. 76, 219-231.*
863. SHARON, N. (1983) *Lectin receptors as lymphocyte surface markers. Adv. Immunol. 34, 213-298.*
864. SHARON, N. (1984) *Surface carbohydrates and surface lectins are recognition determinants in phagocytosis. Immunol. Today 5, 143-147.*
865. SHASKAN, E. G., BALLOW, M., LEDERMAN, M., MARGOLES, S. L. y MELCHREIT, R. (1984) *Spiroperidol binding sites on mouse lymphoid cells. Effects of ascorbic acid and psychotropic drugs. J. Neuroimmunology 6, 59-66.*

866. SHAVIT, Y., LEWIS, J. W., TERMAN, G. W., GALE, R. P. y LIEBESKIND, J. C. (1984) *Opioid peptides mediate the suppressive effects of stress on natural killer cell cytotoxicity*. *Science* **223**, 188-190.
867. SHAVIT, Y., TERMAN, G. W., MARTIN, F. C., LEWIS, J. W., LIEBESKIND, J. C. y GALE, R. P. (1985) *Stress, opioid peptides, the immune system, and cancer*. *J. Immunol.* **135**, 834s-837s.
868. SHEARER, G. M. y CUDKOWICZ, G. (1975) *Induction of F<sub>1</sub> hybrid anti-parent cytotoxic effector cells: an in vitro model of hemopoietic histoincompatibility*. *Science* **190**, 890-893.
869. SHEN, F. W., BOYSE, F. A. y CANTOR, H. (1975) *Preparation and use of Ly antisera*. *Immunogenetics* **2**, 591-595.
870. SHEN, D. F., HUANG, A. y HUANG, L. (1982) *An improved method for covalent attachment of antibody to liposomes*. *Biochim. Biophys. Acta* **689**, 31.
871. SHIKU, H., TAKAHASHI, T., BEAN, M. A., OLD, L. J. y OETTGEN, H. F. (1976) *Ly pheno-type of citotoxic T cells for syngeneic tumor*. *J. Exp. med.* **144**, 1116-1120.
872. SHINNICK, T. M., SUTCLIFFE, J. G., GREEN, N. y LERNER, R. A. (1983) *Synthetic peptide immunogens as vaccines*. *Ann. Rev. Microbiol.* **37**, 425-446.
873. SHOCKMAN, G. D. y WICKEN, A. J. (1981) «*Chemistry and biological activities of bacterial surface amphiphiles*». *Papers at a Workshops in New Orleans*. Acad. Press. New York.
874. SHORE, P. A., BURKHALTER, A. y COHN, C. H. (1959) *A method for the fluorometric assay of histamine in tissues*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **127**, 182-186.
875. SHOU, L., SCHWARTZ, S. A. y GOOD R. A. (1976) *Suppressor cell activity after concanavalin A treatment of lymphocytes from normal donors*. *J. Exp. Med.* **143**, 1100-1110.
876. SIDELL, N., RIEBER, P. y GOLUB, S. H. (1984) *Immunological aspects of retinoids in human. I. Analysis of retinoic acid enhancement of thymocyte responses to PHA*. *Cell. Immunol.* **87**, 118-125.
877. SIDMAN, Ch. L., MARSHALL, J. D., SHUTZ, L. D., GRAY, P. W. y JOHNSON, H. M. (1984) *γ-Interferon is one several direct B cell-maturing lymphokines*. *Nature* **309**, 801-803.
878. SIEGAL, F. P., SIEGAL, M. y GOOD, R. A. (1976) *Suppression of B-cell differentiation by leukocytes from hypogammaglobulinemic patients*. *J. Clin. Invest.* **58**, 109-122.
879. SIEGEL, R. L., ISSEKUTZ, T., SCHWABER, J., ROSEN, F. S. y GEHA, R. S. (1981) *Deficiency of T helper cells in transient hypogammaglobulinemia of infancy*. *New Engl. J. Med.* **305**, 1307-1312.
880. SIEGEL, M. I., McCONNELL, R. T., PORTER, N. A. y CUATRECASAS, P. (1980) *Arachidonate metabolism via lipoxygenase and 12 L hydroperoxy-5, 8, 10, 14-icosatetraenoic acid peroxidase sensitive to anti-inflammatory drugs*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **77**, 308-312.
881. SIITERI, P. K. y STETES, B. P. (1982) *Immunologic and endocrine interrelationships in pregnancy*. *Biol. Reprod.* **26**, 1-4.

882. SILVERSTEIN, S. C. (1981) *The militant macrophage*. The Sciences 21, 18-22.
883. SIMON, P. L., FARRAR, J. J. v KIND, P. D. (1979) *Biochemical relationship between murine immune interferon and a killer cell helper factor*. J. Immunol. 122, 127-132.
884. SIMIONESCU N., HELTIANU, C., ANTOHE, F. v SIMIONESCU, M. (1982) *Endothelial cell receptors for histamine*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 401, 132-149.
885. SIMONSEN, M. (1967) *The clonal selection hypothesis evaluated by grafted cells reacting against their hosts*. Cold. Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 32, 517-523.
886. SIMONSEN, M. (1984) *Mav T3 protect us all*. Immunol Today 5, 314-315.
887. SIMONSEN, M. v OLSSON, L. (1983) *Possible roles of compound membrane receptors in the immune system*. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) 134 D, 85-92.
888. SINGER, A. v HODES, R. J. (1983) *Mechanisms of T cell B cell interaction*. Ann. Rev. Immunol. 1, 211-241.
889. SINGER, S. J. v NICOLSON, G. L. (1972) *The fluid mosaic model of the structure of cell membranes*. Science 175, 720-731.
890. SIRCAR, J. C. v SCHWENDER, C. F. (1983) *Antipsoriatic drugs as inhibitors of soybean lipoxygenase. A possible mode of action*. Prostagl. Leukotr. Med. 11, 373-380.
891. SIREN, A. L. y KARPPANEN, H. (1980) *Influence of analgesic antipyretics on the central cardiovascular effects of clonidine in rats*. Prostaglandins 20, 285-296.
892. SJÖBERG, O., MÖLLER, G. y ANDERSSON, J. (1973) *Reconstitution of immunocompetence in B cells by addition of concanavalin A or concanavalin A treated thymus cells*. Clin. Exp. Immunol. 13, 213-224.
893. SKEHAN, P. y FRIEDMAN, S. J. (1984) *Non-exponential growth by mammalian cells in culture*. Cell. Tissue Kinet. 17, 335-343.
894. SLAVIN, S., FUKS, Z., KAPLAN, H. S. y STROBER, S. (1978) *Transplantation of allogeneic bone marrow without graft-versus-host disease using total lymphoid irradiation*. J. Exp. Med. 147, 963-972.
895. SLUITER, W., HULSING-HESELINK, E., ELZENGA-CLAASEN, I. y VAN-FURTH, R. (1985) *Method to select mice in the steady state for biological studies*. J. Immunol. Method. 760, 135-143.
896. SMITH, J. L., CLEIN, G. P., BARKER, C. R. y COLLINS, R. D. (1973) *Characterization of malignant mediastinal lymphoid neoplasma (Sternberg sarcoma) as thymic in origin*. Lancet 1, 74-77.
897. SMOLEN, J. J., MENZEL, E. J., SCHERAK, O., KOJER, M., KOLARZ, G., STEFFEN, C. y MAYR, W. R. (1980) *Lymphocyte transformation to denatured type I collagen and B lymphocyte alloantigens in rheumatoid arthritis*. Arth. Rheum. 23, 422-432.
898. SNELL, G. D. (1968) *The H-2 locus of the mouse: observations and speculations concerning its comparative genetics and its polymorphism*. Folia Biol. 14, 335-358.

899. SNELL, G. D. (1980) *The major histocompatibility complex: its evolution and involvement in cellular immunity*. Harvey Lect. 74, 49-81.
900. SNODGRASS, R., HAAS, W. y Von BOEHMER, H. (1983) *Ontogeny of T cell receptors within the thymus*. Basel Inst. Immunol. Ann. Rep. p. 71.
901. SNOW, E. C., FELDBUSH, T. L. y OAKS, J. A. (1981) *The effect of growth hormone and insulin upon MLC responses and the generation of cytotoxic lymphocytes*. J. Immunol. 126, 161-164.
902. SNYDER, F. (1985) *Chemical and biochemical aspects of platelet activating factor: A novel class of acetylated ether-linked choline-phospholipids*. Med. Res. Rev. 5, 107-140.
903. SNYDER, D. S., LU, C. Y. y UNANUE, E. R. (1982) *Control of macrophage Ia expression in neonatal mice - Role of splenic suppressor cell*. J. Immunol. 128, 1458-1465.
904. SNYDERMAN, R. y PIKE, M. C. (1984) *Chemoattractant receptors on phagocytic cells*. Ann. Rev. Immunol. 2, 257-281.
905. SOLOMON, J. B. (1971) *Ontogeny of defined immunity in mammals*. En: «*Foetal and Neonatal Immunology*». North Holland Publ. Co. Amsterdam p. 234.
906. SOMOGY, A., ROHNER, H. G. y GUGGLER, P. (1980) *Pharmacokinetic and bioavailability of cimetidine in gastric and duodenal ulcer patients*. Clin. Pharmacokinet. 5, 84-94.
907. SORKIN, E. (1968) *The immune response and its suppression*. Intern. Symposium at the Forschungsinstitut Davos. S. Karger. Basel.
908. SOULIER, J. P. (1983) *Immunoglobulines hyperimmunes*. La Press Médicale 12, 2603-2607.
909. SOYKA, L. F. (1981) *Immunostimulants and hepatic drug metabolism*. En: «*Advances in Immunopharmacology*». Eds. J. Hadden, L. Chedid, P. Mullen y F. Spreafico. Pergamon Press, Oxford, p. 11-15.
910. SPITLER, L. E., LEVIN, A. S., STITES, D. P., FUDENBERG, H. H. y HUBER, H. (1975) *The Wiscott-Aldrich syndrome: Immunologic studies*. Cell Immunol. 19, 201-218.
911. SPITZY, K. H. y KARRER, K. (1983) *Immunomodulators*. Proc. 13th Intern. Congr. Chemoteraphy PS3. 1/1 (91) 1-54.
912. SPORN, M. B. y TODARO, G. J. (1980) *Autocrine secretion and malignant transformation of cells*. N. Engl. J. Med. 303, 878-880.
913. SPREAFICO, F. (1986) *A general introduction to non-specific immunomodulatory drugs*. Proc. Symp. «*Nuevos Avances en Inmunología*». Inst. Ciencias del Hombre. Madrid (en prensa).
914. SPREAFICO, F., VECCHI, A., CONTI, G. y SIRONI, M. (1981) *On the heterogeneity of immunotherapeutic agents*. En: «*Advances in Immunopharmacology*». Eds. J. Hadden, L. Chedid, P. Mullen y F. Spreafico. Pergamon Press. Oxford. p. 51-63.
915. STAUDTE, R. G., GUIGUET, M. y D'OOGHE, M. C. (1984) *Additive models for dependent cell populations*. J. Theor. Biol. 109, 127-146.
916. STEENSGAARD, J. y FRICH, J. R. (1979) *A theoretical approach to*

- precipitin reactions: insight from computer simulation.* Immunol. **36**, 279-292.
917. STEENSGAARD, J., JOHANSEN, H. K. W. y MOLLER, N. P. H. (1975) *Computer simulation of immunochemical interactions.* Immunology **29**, 571-579.
918. STEIN, M., KELLER, S. E. y SCHLEIFER, S. J. (1985) *Stress and immunomodulation: the role of depression and neuroendocrine function.* J. Immunol. **135**, 827-833s.
919. STEIN, M., SCHIAVI, R. C. y CAMERINO, M. (1976) *Influence of brain and behaviour on the immune system.* Science **191**, 435-440.
920. STELL, S., SKALETSY, E., HOLDBROOK, R., LINTHICUM, D. S. y RAFFEL, S. (1980) *Alternative hypotesis of lymphocyte surface immunoglobulin expression B lymphocyte activation and B lymphocyte differentiation.* Immunol. Rev. **52**, 141-179.
921. STENSON, W. F. y PARKER, Ch. W. (1982) *Prostaglandins. En: «Immunopharmacology».* Eds. P. Sirois y M. Rola-Pleszczynski. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam p. 75-112.
922. STEVENSON, G. T. y STEVENSON, F. K. (1983) *Treatment of lymphoid tumors with anti-idiotypic antibodies.* Springer Semin. Immunopathol. **6**, 99-115.
923. STEWARD, M. W. y LEW, A. M. (1985) *The importance of antibody affinity in the performance of immunoassays for antibody.* J. Immunol. Meth. **78**, 173-190.
924. STEWART-TULL, D. E. S. (1985) *Immunopotentiating conjugates.* Vaccine **3**, 40-44.
925. STITES, D. P. (1978) *Ontogeny of T lymphocytes. En: «Clinical Laboratory Science Sect. Immunology» I (1).* Eds. Baumgarten, A. y Richards, F. F. CRC Press. Inc. Fla.
926. STOBO, J. D. y LOEHNEN, C. P. (1976) *Immunoregulation and autoimmunity.* Mayo Clin. Proc. **51**, 479-483.
927. STOBO, J. D., PAUL, S., VAN SOCY, R. E. y HERMANS, P. E. (1976) *Suppressor thymus-derived lymphocyte fungal infection.* J. Clin. Invest. **57**, 319-328.
928. STOERK, H. C., BIELINSKI, T. C. y BUDZILOVICH, T. (1954) *Chronic polyarthritis in rats injected with spleen in adjuvants.* Am. J. Path. **30**, 616.
929. STORRIE, B., GOLDSTEIN, G., BOYSE, E. A. y HÄMMERLING, U. (1976) *Differentiation of thymocytes: evidence that induction of the surface phenotype requires transcription and translation.* J. Immunol. **116**, 1358-1362.
930. STREICHER, H. Z., BERKOWER, I. J., BUSCH, M., GURD, F. R. N. y BERZOFOSKY, J. A. (1984) *Antigen conformation determines processing requirements for T-cell activation.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **81**, 6831-6835.



931. STRELKAUSKAS, A. J., CALLERY, R. T., McDOWELL, J., BOREL, Y. y SCHLOSSMAN, S. F. (1978) *Direct evidence for loss of human suppressor cells during active autoimmune disease*. Proc. Natl. Acad. Sci. **75**, 5150-5154.
932. STROBER, S. (1984) *Natural suppressor (NS) cells, neonatal tolerance, and total lymphoid irradiation*. Ann. Rev. Immunol. **2**, 219-237.
933. STROBER, S., GOTTLIEB, M., SLAVIN, S., KING, D. P., HOPPE, R. T., FUKS, Z., BIEBER, C. P. y KAPLAN, H. S. (1980) *Immunosuppression and tolerance after total lymphoid irradiation (TLI)*. Transplant Proc. **12**, 477-481.
934. STROBER, S., SLAVIN, S., GOTTLIEB, M., ZAN-BAR, I., KING, D. P., HOPPE, R. T., FUKS, Z., GRUMET, F. C. y KAPLAN, H. S. (1979) *Allograft tolerance after total lymphoid irradiation (TLI)*. Immunol. Rev. **46**, 87-112.
935. STROM, T. B. y CARPENTER, C. B. (1977) *Regulation of alloimmunity by cyclic nucleotides*. En: «*Immunopharmacology*». Eds. J. W. Hadden, R. G. Coffey, F. Spreafico. Plenum Medical Book Co. N. Y. p. 47-59.
936. STROM, T. B., LUNDIN III, A. P. y CARPENTER, C. B. (1977) *The role of cyclic nucleotides in lymphocyte activation and junction*. Progr. Clin. Immunol. **3**, 115-151.
937. STROM, T. B., SYTKOWSKI, A. J., CARPENTER, C. B. y MERRILL, J. P. (1974) *Cholinergic augmentation of lymphocyte mediated cytotoxicity: A study of the cholinergic receptor of cytotoxic lymphocytes*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA **71**, 1330-1333.
938. STUART, J. M., POSTLETHWAITE, A. E., KANG, A. H. y TOWNES, A. S. (1980) *Cell-mediated immunity to collagen in rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases*. Am. J. Med. **69**, 13-18.
939. STROBERG, A. D., COURAUD, P. O., DELAVIER-KLUTCHKO, C., DORIEU-TRAUTMANN, O., SCHMUTZ, A. y LU, B. S. (1982) *Immunologie des récepteurs  $\beta$ -adrenérgiques: un modèle d'étude d'une image interne hormomimetique*. Ann. Immunol. (I. Pasteur). **133** D, 191-197.
940. SUBBARAO, B. y MOSIER, D. E. (1982) *Lymph antigens and their role in B lymphocyte activation*. Immunol. Rev. **69**, 81-97.
941. SUBIRA, M. L., OEHLING, A., DIEGUEZ, I. y MARTIN-GIL, D. (1982) *Immunotherapy with bacterial ribosomal antigens in bronchial asthma. II. Immunological study*. Allergol. Immunopathol. **10**, 53-60.
942. SUH, O. y WEISS, L. (1984) *The development of a technique for the morphometric analysis of invasion in cancer*. J. Theor. Biol. **107**, 547-561.
943. SUNDERLAN, C. A., REDMAN, C. W. G. y STIRRAT, G. M. (1981) *HLA-A,B,C antigens are expressed on non-villous trophoblast of the early human placenta*. J. Immunol. **127**, 2614-2615.
944. STUCLIFFE, J. G., SHINNICK, T. M., GREEN, N., LIU, F. T. NIMAN, H. L. y LERNER, R. A. (1980) *Chemical synthesis of a polypeptide predicted from nucleotide sequence allows detection of a new retroviral gene product*. Nature **287**, 801-805.

945. SUEJGAARD, A., PLATZ, P. y RYDER, L. P. (1983) *HLA and disease 1982-A survey*. Immunol. Rev. **70**, 193-218.
946. SWAIN, S. L., DENNERT, G., WARNER, J. F. y DUTTON, R. W. (1981) *Culture supernatants of a stimulated E-cell line have helper activity that acts synergistically with interleukin 2 in the response of B cells to antigen*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **78**, 2517-2521.
947. SWINGLE, K. F. (1974) *Evaluation for anti-inflammatory activity*. En: «*Anti-inflammatory Agents Chemistry and Pharmacology* vol. II, pp. 33-122 Eds. Scherrer & Whitehouse. Acad. Press. N. Y.
948. SZENBERG, A. (1976) *Ontogenesis of the immune system in birds*. En: «*Comparative Immunology*» Ed. J. J. Marchalonis. Blackwell Sci. Publ. Oxford. p. 419-431.
949. TADA, T. (1983) *Level II Immunoregulation, a Commentary on discrimination of 2 types of suppressor T cells by cell surface phenotype and by function: The ability to regulate the contrasuppressor circuit*. J. Mol. Cell. Immunol. **1**, 29-30.
950. TADA, T. y TAKEMORI, T. (1974) *Selective roles of thymus-derived lymphocytes in the antibody response. I. Differential suppressive effect of carrier-primed T cells on hapten specific IgM and IgG antibody responses*. J. Exp. Med. **140**, 239-252.
951. TALMADGE, J. E., FIDLER, I. J. y OLDHAM, R. K. (1983) *Screening models for biological response modifiers. Symp. Biological Response Modifiers* Ed. R. B. Herberman, M. Micksche y R. D. Smalley. SY64 (203) 19-34. Viena.
952. TALMADGE, J. E., OLDHAM, R. K. y FIDLER, I. J. (1984) *Practical considerations for the establishment of a screening procedure for the assessment of biological response modifiers*. J. Biol. Resp. Modif. **3**, 88-109.
953. TAM, M. R., REDDY, A. L., KARP, R. D. y HILDEMANN, W. H. (1976) *Phylogeny of cellular immunity among vertebrates*. En: «*Comparative Immunology*» Ed. J. J. Marchalonis. Blackwell Sci. Publ. Oxford, p. 98-119.
954. TANIGUCHI, T., MATSUI, H., FUJITA, T., TAKAOKA, Ch., KASHIMA, N., YOSHIMOTO, R. y HAMURO, J. (1983) *Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2*. Nature **302**, 305-310.
955. TANNOCK, G. A., PAUL, J. A., y BARRY, R. D. (1983) *Immunization against influenza by the ocular route*. Arch. Virol. **78**, 133-136.
956. TAUBMAN, M. A., EBERSOLE, J. L., SMITH, D. J. y STACK, W. (1983) *Adjuvants for secretory immune responses*. Ann. N. Y. Acad. Sci. **409**, 637-649.
957. TAURIS, P. (1984) *Plaque-forming cell response of frozen human lymphocytes stimulated with pokeweed mitogen. II. Results obtained in cultures of irradiated T and untreated B lymphocytes*. J. Immunol. Meth. **72**, 497-500.

958. TAUSSIG, M. J., MUNRO, A. J. y LUZZATI, A. L. (1976) *I-region gene products in cell cooperation*. En: «*The role of the products of the histocompatibility gene complex in immune response*». Eds. D. H. Katz & B. Benacerraf. Acad. Press. N. Y.
959. TAVADIA, H. B., GOUDIE, R. B. y NICOLL, W. D. (1974) *Inhibition of normal lymphocyte transformation by plasma and lymphocyte factors in chronic lymphatic leukemia*. Clin. Exp. Immunol. 16, 177-182.
960. TAYLOR, R. B. (1982) *Regulation of antibody responses by antibody towards the immunogen*. Immunol. Today 3, 47-51.
961. TAYLOR, G. R. y DARDANO, J. R. (1983) *Human cellular immune responsiveness following space flight*. Aviation Space Environment. Med. 54, 555-559.
962. TAYLOR, R. B., DUFFUS, P. H., RAFF, M. C. y PETRIS, S. de (1971) *Redistribution and pinocytosis of lymphocyte surface immunoglobulin molecules induced by anti-immunoglobulin antibody*. Nature New Biol. 233, 225-229.
963. TAYLOR, C. y FAULK, W. P. (1981) *Prevention of recurrent abortions with leucocyte transfusions*. Lancet 2, 68-69.
964. TAYLOR, F. B. Jr. y MULLER-EBERHARD, H. S. (1970) *Qualitative description of factors involved in the retraction and lysis of dilute whole blood clots and in the aggregation and retraction of platelets*. J. Clin. Inv. 49, 2068-2073.
965. TAYLOR-PAPADIMITRIOU, J. (1980) *Effects of interferon on cell growth and function*. Interferon 2, 13-46.
966. TEMMINK, J. H. M. (1979) *Application of cytochemical methods to electron microscope investigations of cell surface receptors*. Biol. Cellulaire 35, 227-236.
967. TEODORCZYK-INJEYAN, J. A., FALK, J. A., MAKOWKA, L., FILION, L. y FALK, R. E. (1984) NED 137. *A low molecular weight polycarboxylate with immunostimulatory activity*. En «*Immune Modulation Agents and their Mechanisms*». Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Deker. Inc. N. Y. p. 267-286.
968. TEPPERMAN, K., FINER, R., BONOVAN, S., ELDER, R. C., DOI, J., RATLIFF, D. y KIN, Ng. (1984) *Interleukin 2 regulates expression of its receptor and synthesis of gamma interferon by human T lymphocytes*. Science 225, 429-432.
969. TERASAKI, P. I., MICKEY, M. R., YAMAZAKI, J. N. y VREDEVOE, D. (1970) *Maternal fetal incompatibility. I. Incidence of HLA-A antibodies and possible association with congenital anomalies*. Transplantation 9, 538-543.
970. TEWARI, R. P., LYNN, M., BIRNBAUM, A. J. y SOLOTOROVSKY, M. (1978) *Characterization of the immunoprotective antigen of ribosomal preparations from Haemophilus influenzae*. Infect. Immun. 19, 58-65.

971. THEOFILOPOULOS, A. N. y DIXON, F. J. (1979) *The biology and detection of immune complexes*. Adv. Immunol. **28**, 89-220.
972. THOENES, G. H. y HILDEMANN, W. H. (1970) *Immunological responses of Pacific hagfish. II. Serum antibody production to soluble antigen*. En: «Developing aspects of antibody formation and structure. Czech. Acad. Sci. Praga. p. 711-722.
973. THORNE, K. J. I. y FRANKS, D. (1984) *Surface proteins of the human eosinophil. I. Isolation of eosinophil IgG binding proteins*. Clin. Exp. Immunol. **56**, 464-472.
974. TILL, J. E. y McCULLOCH, E. A. (1961) *A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells*. Radiat. Res. **14**, 213-218.
975. TISELIUS, A. y KABAT, E. A. (1939) *An electrophoretic study of immune sera and purified antibody preparations*. J. Exp. Med. **69**, 119.
976. TODER, V., NEBEL, L. y GLEICHER, N. (1984) *Studies of natural killer cells in pregnancy. I. Analysis at the single cell level*. J. Clin. Lab. Immunol. **14**, 123-127.
977. TODER, V., NEBEL, L., ELRAD, H., BLANK, M., DURDANA, A. y GLEICHER, N. (1984) *Studies of natural killer cells in pregnancy. II. The immunoregulatory effect of pregnancy substances*. J. Clin. Lab. Immunol. **14**, 129-133.
978. TOMASI, T. B., BARR, W. G., CHALLACOMBE, S. J. y CURRAN, G. (1983) *Oral tolerance and accessory cell function of Peyer's patches*. Ann. N. Y. Acad. Sci. **409**, 145-163.
979. TOURAINE, J. L. (1983) *Bone-marrow and fetal-liver transplantation in immunodeficiencies and in born errors of metabolism: Lack of significant restriction of T-cell function in long-term chimeras despite HLA-mismatch*. Immunological Rev. **71**, 103-119.
980. TRENTHAM, D. E., DUNESIUS, R. A., ROCKLIN, R. E. y DAVID, J. R. (1978) *Cellular sensitivity to collagen in rheumatoid arthritis*. New Engl. J. Med. **299**, 327-332.
981. TRENTHAM, D. E., TOWNES, A. S. y KANG, A. H. (1977) *Autoimmunity to type II collagen: an experimental model of arthritis*. J. Exp. Med. **146**, 857-868.
982. TRENTHAM, D. E., TOWNES, A. S., KANG, A. H. y DAVID, J. R. (1978) *Humoral and cellular sensitivity to collagen in type II collagen-induced arthritis in rats*. J. Clin. Invest. **61**, 89-96.
983. TSANG, K. Y., FUNDENBERG, H. H., HOEHLER, F. K. y HADDEN, J. W. (1984) *Immunostimulating compounds. Isoprinosine and NPT-15396*. En: «Immune Modulation Agents and their Mechanisms. Eds. R. L. Fenichel & M. A. Chirigos. Marcel Deker. Inc. N. Y. p. 79-95.
984. TSIEN, R. Y., POZZAN, T. y RINK, T. J. (1982) *T-cell mitogens cause early changes in cytoplasmic free Ca<sup>2+</sup> and membrane potential in lymphocytes*. Nature (London) **295**, 68-70.

985. TUCKER, P. W., LIU, C. P., MUSHINSKI, J. F. y BLATTNER, F. R. (1980) *Mouse immunoglobulin D. Messenger RNA and genomic DNA sequences.* Science **209**, 1353-1360.
986. TURK, J. L. (1981) *Macrophages and allergy.* Behring Inst. Mitt. **68**, 134-148.
987. TURK, J. L. y PARKER, D. (1982) *Effect of cyclophosphamide on immunological control mechanisms.* Inimmunol. Rev. **65**, 99-113.
988. UFKES, J. G. R. y OTTENHOF, M. (1984) *Characterization of various antiallergic agents using a new method for inducing systemic anaphylaxis in the rat.* J. Pharmacol. Meth. **11**, 219-226.
989. UMEZAWA, H. (1984) *Studies on low molecular weight immunomodifiers, Bestatin, etc. Discovery and actions.* Drugs. Exptl. Clin. Res. **10**, 519-531.
990. UNANUE, E. R. (1984) *Antigen-presenting function of the macrophage.* Ann. Rev. Immunol. **2**, 395-428.
991. URDAL, D. L., MARCH, C. J., GILLIS, S., LARSEN, A. y DOWER, S. K. (1984) *Purification and chemical characterization of the receptor for interleukin 2 from activated T lymphocytes and from a human T cell lymphoma line.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **81**, 6481-6485.
992. UVNÄS, B. (1984) *From physiologist to pharmacologist promotion or degradation? fifty years in retrospect.* Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. **24**, 1-18.
993. VALDIMARSSON, H., AGNARSDOTTIR, G. y LACHMANN, P. J. (1975) *Measles virus receptor on human T lymphocytes.* Nature **255**, 554-556.
994. VALEMBOIS, P., ROCH, Ph., LASSEGUES, M., DAVANT, N. y VAILLIER, J. (1983) *Resistance naturelle et défense antibactérienne chez un ver de terre, Eisenia fetida.* Bull. Inst. Pasteur **81**, 265-271.
995. VALENTIJJN, R. M., Van ES, L. A., WESTEDT, M. L. y DAHA M. R. (1984) *The detection of circulating immune complexes containing immunoglobulin G.* J. Clin. Lab. Immunol. **14**, 73-79.
996. VALENTIJJN, R. M., Van ES, L. A. y DAHA, M. R. (1984) *The specific detection of IgG, IgA and the complement components C3 and C4 in circulating immune complexes.* J. Clin. Lab. Immunol. **14**, 81-86.
997. VAN FURTH, R., SCHIT, R. E. y HIJMANS, W. (1965) *The immunological development of the human fetus.* J. Exp. Med. **122**, 1173-1187.
998. VANHOUTTE, P. M. (1983) *5-Hydroxytryptamine and vascular disease.* Fed. Proc. **42**, 233-237.
999. VAN ROOD, J. J., EERNISSE, J. G. y VAN LEEUWEN, A. (1985) *Leucocyte antibodies in sera from pregnant women.* Nature (London) **181**, 1735-1736.
1000. VILLARRUBIA, V. (comunicación personal).
1001. VILLARRUBIA, V. y MARTINEZ, A. (1983) *Movilizaciones celulares*

*hacia focos inflamatorios inespecíficos inducidos por AM3.* Proc. II Congr. Int. Cienc. Farmacéuticas. Barcelona.

1002. VITETTA, E. S., MELCHER, J., McWILLIAMS, M., LAMM, M. E., PHILIPS-QUAGLIATA, J. M. y UHR, J. W. (1975) *Cell surface immunoglobulin. XI. The appearance of and IgD-like molecule on murine lymphoid cells during ontogeny.* J. Exp. Med. **141**, 206-215.
1003. VOISIN, G. A. (1971) *Immunity and tolerance: A unified concept.* Cell. Immunol. **2**, 670-679.
1004. VOISIN, G. A. (1980) *Role of antibody classes in the regulatory facilitation reaction.* Immunol. Rev. **49**, 3-59.
1005. VOISIN, G. A. (1983) *Réflexions sur l'immunologie comparée.* Bull. Inst. Pasteur **81**, 277-279.
1006. VON BOEHMER, H., HUDSON, L. y SPREN, J. (1975) *Collaboration of histocompatible T and B lymphocytes using cell from tetraparental bone marrow chimeras.* J. Exp. Med. **142**, 989-997.
1007. VOSS, E. W. Jr. (1984) *Prolonged weightlessness and humoral immunity* Science **225**, 214-215.
1008. VROMAN, L. (1983) *Possible relationships and interactions among events in clotting, platelet adhesion, immune surface reactions and granulocyte adhesion.* J. Theor. Biol. **105**, 541-543.
1009. WAGNER, H., FELDMANN, M., BOYLE, W. y SCHRADER, J. W. (1972) *Cell-mediated immune response in vitro. III. Requirement for macrophages in cytotoxic reactions against cell-bound and subcellular alloantigens.* J. Exp. Med. **136**, 331-343.
1010. WAGNER, H., HARRIS, A. W. y FELDMANN, M. (1972) *Cell-mediated immune response in vitro: II. The role of thymus and thymus-derived lymphocytes.* Cell. Immunol. **4**, 39-50.
1011. WAGNER, C. R., VETTO, R. M. y BURGER, D. R. (1984) *The mechanism of antigen presentation by endothelial cells.* Immunobiol. **168**, 453-469.
1012. WAHL, S. M., WAHL, L. M., McCARTHY, J. B., CHEDID, L. Y MergenHAGEN, S. E. (1979) *Macrophage activation by mycobacterial water soluble components and synthetic muramyl dipeptide.* J. Immunol. **122**, 2226-2231.
1023. WAKSMAN, B. H. y OZER, H. (1976) *Specialized amplification elements in the immune system.* Prog. Allergy **1**, 1-114.
1014. WALDMANN, T. A., DURM, M., BRODER, S., BLACKMAN, M., BLAISE, R. M. y STROBER, W. (1974) *Role of suppressor T cells in pathogenesis of common variable hipogammaglobulinaemia.* Lancet **2**, 609-613.
1015. WALDMANN, T., GOLDMAN, C. K., ROBB, R. J., DEPPE, J. M., LEONARD, W. J., SHARROW, S. O., BONGIOVANNI, K. F., FORSMAYER, S. J. y GREEN, W. C. (1984) *Expression of interleukin 2 receptors on activated human B cells.* J. Exp. Med. **160**, 1450-1466.

1016. WALDMANN, H. y LEFKOVITS, I. (1984) *Limiting dilution analysis of cells of the immune system. II. What can be learnt?* Immunol. Today 5, 295-298.
1017. WALDMAN, R. H., STONE, J., LAZZELL, V. A., BERGMANN, K. C., KHAKOO, R., JACKNOWITZ, A. I., HOWARD, S. A. y ROSE C. (1983) *Regulation of the immune response to orally administered antigens. En: «Regulation of the Immune Response».* Eds. P. L. Ogra y D. M. Jacobs. S. Karger. N. Y. p. 186-194.
1018. WALKENSTEIN, S. A., DUBB, J. W., RANDOLPH, W. C., WESTLAKE, W. J., STOTE, R. M. e INTOCCIA, A. J. (1978) *Bioavailability of cimetidine in man.* Gastroenterology 74, 360-365.
1019. WALTER, R. J. y MARASCO, W. A. (1984) *Localization of chemotactic peptide receptors on rabbit neutrophils.* Exp. Cell. Res. 154, 613-618.
1020. WALZER, P. D., PERL, D. P., KROGSTAD, D. J., RAWSON, P. G. y SHULTZ, M. G. (1974) *Pneumocystis carinii pneumonia in the United States.* Ann. Inter. Med. 80, 83-93.
1021. WALZER, P. D., SCHNELLE, V., ARMSTRONG, D. y ROSEN, P. P. (1977) *Nude mouse: A new experimental model for Pneumocystis carinii infection.* Science 197, 177-179.
1022. WANDS, J. R., PERROTTO, J. LL., ALPERT, E. e ISSELBACHER, K. J. (1975) *Cell-mediated immunity in acute and chronic hepatitis.* J. Clin. Invest. 55, 921-929.
1023. WANG, T., MARQUARDT, C. y FOKER, J. (1976) *Aerobic glycolysis during lymphocyte transformation.* Nature (London) 261, 702-705.
1024. WARD, P. A. (1972) *Biological activities of the complement system.* Ann Allergy 30, 307-311.
1025. WARD, R. E. y KÖHLER, H. (1983) *Regulation of immune response by idiotypic interactions. En: «Regulation of the Immune Response».* Eds. P. L. Orga y D. M. Jacobs. S. Karger, N. Y. p. 12-19.
1026. WARR, G. W., VASTA, G. R., MARCHALONIS, J. J., ALLEN, R. C. y ANDERSON, D. P. (1984) *Molecular analysis of the lymphocyte membrane.* Develop. Comp. Immunol. 8, 757-772.
1027. WATSON, J. (1977) *Involvement of cyclic nucleotides as intracellular mediators in the induction of antibody synthesis. En: «Immunopharmacology».* Eds. J. W. Hadden, R. G. Coffey y S. Spreafico. Plenum Medical Book Co. N. Y. p. 29-45.
1028. WATSON, J., EPSTEIN, R. y COHN, M. (1973) *Cyclic nucleotides as intracellular mediators of the expression of antigen-sensitive cells.* Nature 246, 405-409.
1029. WEBB, D. R., ROGERS, T. J. y NOWOWIEJSKI, I. (1979) *Endogenous prostaglandins synthesis and the control of lymphocyte function.* Ann. N. Y. Acad. Sci. 332, 262-270.
1030. WEBBER, R. H., De FELICE, R., FERGUSON, R. J. y POWELL, J. P.

- (1970) *Bone marrow response to stimulation of the sympathetic trunk in rats*. Acta Anat. **77**, 92-97.
1031. WEIGLE, W. O. (1971) *Recent observations and concepts in immunological unresponsiveness and autoimmunity*. Clin. Exp. Immunol. **9**, 437-445.
1032. WEIGLE, W. O. (1984) *Immunological unresponsiveness*. Immunol. Rev. **80**, 61-122.
1033. WEIGLE, W. O., GOODMAN, M. G., MORGAN, E. L. y HUGLI, T. E. (1983) *Regulation of immune response by components of the complement cascade and their activated fragments*. Springer Sem. Immunopathol. **6**, 173-194.
1034. WEINRYB, I. y SHROFF, J. R. (1979) *Metabolic and analytic considerations in the design of immunoassays*. Drug. metabolism reviews **10**, 271-283.
1035. WEISS, D. W. (1984) *Reflections on tumor origin, immunogenicity, and immunotherapy*. Cancer Immunol. Immunother. **18**, 1-4.
1036. WEISS, G. H. y ARON, J. L. (1983) *Note on the formulation of a stochastic model of superinfection*. Mathematical Biosciences **67**, 213-223.
1037. WEISS, A., IMBODEN, J., WISKOCIL, R. y STOBO, J. (1984) *The role of T<sup>3</sup> in the activation of human T cells*. J. Clin. Immunol. **4**, 165-173.
1038. WEKERLE, H., BORN, W., KYEWSKI, B. y PRESTER, M. (1980) *Cellular basis of immunological self tolerance: Cellular and humoral regulation*. Behring Inst. Mitt. **65**, 71-86.
1039. WELSH, Jr., R. M. (1978) *Mouse natural killer cells: Induction specificity and function*. J. Immunol. **121**, 1631-1635.
1040. WENGE, P. (1981) *The eosinophil granulocytes and its role in the inflammatory process*. En: «The inflammatory process. An introduction to the study of cellular and humoral mechanisms. Eds. Wenge & Lindbon. Almqvist & Wiksell. Stockholm. p. 305-327.
1041. WERNER, G. H. y FLOCH, F. (1978) «The Pharmacology of immunoregulation». Acad. Press. London. N. Y. San Francisco.
1042. WETTENHALL, R. E. H., SLOBBE, A. e HIGGINS, T. J. V. (1976) *Evidence for the presence of mRNA in the post ribosomal cytoplasm of sheep lymphocytes*. Biochim. Biophys. Acta **432**, 312-322.
1043. WETZEL, G. D. y KETTMAN, J. R. (1981) *Activation of murine B lymphocytes. III. Stimulation of B lymphocyte clonal growth with lipopolysaccharide and dextran sulphate*. J. Immunol. **126**, 723-728.
1044. WEXLER, H. (1966) *Accurate identification of experimental pulmonary metastasis*. J. Natl. Cancer Inst. **36**, 641-643.
1045. WIGZELL, H. y ANDERSON, B. (1968) *Cell separation on antigen-coated columns. Elimination of high rate antibody-forming cell and immunological memory cells*. J. Exp. Med. **6**, 23-26.



1046. WIKLER, M., DEMEUR, C., DEWASME, G. y URBAIN, J. (1980) *Immunoregulatory role of maternal idiotypes*. J. Exp. Med. **152**, 1024-1035.
1047. WILLIAMS, K. I. y DOWNING, I. (1977) *Prostaglandin and thromboxane production by rat-decidual microsomes*. Prostaglandins. **14**, 813-818.
1048. WILLIAMS, T. W., FRIEDLANDER, A. M., LYONS, J. M. y BRAUDE, A. I. (1976) *Cellular immunity in pyelonephritis: identification of suppressor cell activity of spleen cells in response to concanavalin A and inhibition for lymphocyte-mediated L cell cytotoxicity*. J. Immunol. **116**, 778-781.
1049. WILLIAMS, M. E. y WAUFFAN, C. A. (1980) *Transfer factor: a murine model*. Infect. Immun. **27**, 187-191.
1050. WILSON, R. M., GALVIN, A. M., ROBINS, R. A. y REEVES, W. G. (1985) *A flow cytometric method for the measurement of phagocytosis by polymorphonuclear leucocytes*. J. Immunol Meth. **76**, 247-253.
1051. WITZ, I. P. y MEYER, G. (1984) *Membrane antigens associated with infection transformation and tumorigenesis by polyoma virus*. Cancer Immunol. Immunother. **17**, 147-153.
1052. WONG, S., DEAN, J. H., NORBURY, K. C. y MUNSON, A. E. (1984) *Immunotoxicology symposium highlights*. J. Am. Coll. Toxicol. **3**, 115-120.
1053. WOODARD, L. F. y JASMAN, R. L. (1985) *Stable oil-in-water emulsion: preparation and use as vaccine vehicles for lipophilic adjuvants*. Vaccine **3**, 137-144.
1054. WURSTEMBERGER, B., de MICHELI, H., POMETTA, D., CARPENTIER, N. y GIRARD, J. P. (1981) *Analysis of immunological factors in atheromatosis and diabetes*. Allergol. Immunopathol. **9**, 187-198.
1055. WÜTHRICH, B. y MARTI-WYSS, S. (1982) *Total serum IgE determination: A comparison of solid and liquid phase radioimmunoassays (RIA) and enzymimmunoassays (EIA)*. Allergol. Immunopathol. **10**, 463-470.
1056. YAGAWA, K., KAKU, M., ICHINOSE, Y., NAGAO, S., TANAKA, A. y TOMODA, A. (1984) *Biphasic effects of muramyl-dipeptide or lipopolysaccharide on superoxide anion-generating activities of macrophages*. Infect. Immun. **45**, 83-86.
1057. YAKURA, H., SHEN, F. W., KAEMMER, M. y BOYSE, E. A. (1981) *Lyb-2 system of mouse B cells. Evidence for a role in the generation of antibody forming cells*. J. Exp. Med. **153**, 129-135.
1058. YODOI, J. e ISHIZAKA, K. (1980) *Induction of Fc-receptor bearing cells in vitro in human peripheral lymphocytes*. J. Immunol. **124**, 934-938.
1059. YOSHIKAI, Y., YANAGI, Y., SUCIU-FOCA, N. y MAK, T. W. (1984) *Presence of T-cell receptor mRNA in functionally distinct T cells and elevation during intrathymic differentiation*. Nature (London) **506**-509.
1060. YU, D. T. Y., McCUNE, J. M., FU, S. M., WINCHESTER, R. J. y KUNKEL, H. G. (1980) *Two types of Ia positive cell synthesis and exchange of Ia antigens* J. Exp. Med. **152**, 89s-98s.

1061. ZAN-BAR, I., BARZILAY, M., MOSCOVITCH, M. y SLAVIN, S. (1983) *Regulation of the immune response in experimental models of autoimmune disorders: resistance of (NZB x NZW) F<sub>1</sub> mice to tolerance induction in vivo.* Clin. Exp. Immunol. **51**, 558-564.
1062. ZAULI, D., FUSCONI, M., CRESPI, C., BIANCHI, F. B. y PISI, E. (1984) *A simple method for purifications of human monocytes and evaluation of IgG Fc-receptor-mediated phagocytosis.* La Ricerca Clin. Lab. **14**, 635-639.
1063. ZEMBALA, M., ASHERSON, G. L., NOWOROLSKI, I. y MAYHEW, B. (1976) *Contact sensitivity to picryl chloride: The occurrence of B suppressor cells in the lymph nodes and spleen of immunized mice.* Cell. Immunol. **25**, 266-278.
1064. ZHU, Y. X., HÖLLT, V. y LOH, H. (1983) *Immunoreactive peptides related to Dynorphin B (=Rimorphin) in the rat brain.* Peptides **4**, 871-874.
1065. ZINKERNAGEL, R. M. (1978) *Thymus and lymphohemopoietic cells: Their role in T cell maturation in selection on T cells H-2-restriction specificity and in H-2 linker Ir gene control.* Immunol. Rev. **42**, 224-270.
1066. ZINKERNAGEL, R. M., CALLAHAM, G. N., ALTHAGE, A., COOPER, S., KLEIN, P. A. y KLEIN, J. (1978) *On the thymus in the differentiation of H-2 self recognition by T cells: Evidence for dual recognition?* J. Exp. Med. **147**, 882-896.
1067. ZINKERNAGEL, R. M., CALLAHAM, G. N., ALTHAGE, A., COOPER, S., STREILEIN, J. W. y KLEIN, J. (1978) *The lymphoreticular system in triggering virus plus self-specific cytotoxic T-cells: Evidence for T-help.* J. Exp. Med. **147**, 897-911.
1068. ZOLA, H., KRISHNAN, R. y BRADLEY, J. (1985) *A simple technique for evaluation of methods of cell separation.* J. Immunol. Meth. **76**, 383-388.
1069. ZOLLINGER, W. D., MANDREL, R. E., ALTIERI, P., BERMAN, S., LOWENTHAL, J. y ARTENSTEIN, M. S. (1978) *Safety and immunogenicity of a Neisseria meningitidis type 2 protein vaccine in animals and humans.* J. Infect. Dis. **137**, 728-739.
1070. ZUBLER, R. H., LOWENTHAL, J. W., ERARD, F., HASHIMOTO, N., DEVOS, R. y McDONALD, H. R. (1984) *Activated B cell express receptors for, an proliferate in response to pure interleukin 2.* J. Exp. Med. **160**, 1170-1183.
1071. ZVAIFER, N. J. (1973) *The immunopathology of joint inflammation in rheumatoid arthritis.* Adv. Immunol. **16**, 265-336.

CONTESTACION AL DISCURSO DE INGRESO  
EN LA REAL ACADEMIA DE FARMACIA  
DEL EXCMO. SR. D. ANTONIO PORTOLES ALONSO

Por el Académico de Número  
Excmo. Sr. D. Alfredo Carrato Ibáñez

Excmo. Señor Presidente,  
Excmos. Señores Académicos,  
Señoras y Señores:

La Junta de Gobierno de esta docta Corporación acordó en su día designarme para dar en su nombre la bienvenida como académico de número al Excmo. Sr. D. Antonio Portolés Alonso. Reconozco, por supuesto, el honor que representa dicha designación, aunque al mismo tiempo no deje de darme cuenta de la responsabilidad que con ello asumo. Me une una sincera amistad con el Doctor Portolés, Profesor de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, y acepto con entusiasmo la empresa que se me encomienda; de lo que ya no estoy tan seguro es de que mi intervención en este acto logre alcanzar la calidad necesaria para reflejar en algunos minutos la ingente personalidad, humana y científica, de la persona que he de caracterizar en sus rasgos más sobresalientes. Con la ayuda de Dios y la indulgencia de mi querido amigo con el que tantas veces he dialogado acerca de múltiples problemas en nuestro entorno común y principalmente en el Centro de Investigaciones Biológicas, inicio inmediatamente mis comentarios.

Destaca el nuevo académico numerario, entre muchas otras cualidades positivas, por su tesón en el trabajo y su capacidad para encontrar siempre soluciones idóneas ante los no pocos problemas que ha tenido que resolver. En su brillante formación académica figuran dos licenciaturas con sus respectivos doctorados, en Farmacia y en Ciencias Biológicas. Tiene, además, titulación de Técnico Bromatólogo y de Oficial Sanitario, por la Escuela de Bromatología y por la Escuela Nacional de Sanidad, respectivamente. Recién terminados sus estudios en la Facultad de Farmacia ingresó, mediante la oposición reglamentaria, en el Cuerpo de Farmacia del Ejército del

Aire, en el que prestó sus servicios farmacéuticos hasta su incorporación, previa oposición, también, a la plantilla científica del C.S.I.C., como Colaborador Científico, adscrito al Instituto Jaime Ferrán de Microbiología, en 1954. Fue éste el destino definitivo que posibilitó su completa entrega a la investigación microbiológica, a la que ha dedicado todo su afán hasta nuestros días, con un rendimiento enorme y continuando actualmente en pleno vigor y lleno de perspectivas de futuro en su área científica.

Es tarea muy difícil resumir a vuela pluma el conjunto de actividades desarrolladas por el Profesor Portolés: docentes, de investigación, participación en comisiones científicas y en organismos científicos, nacionales y extranjeros, trabajos realizados bajo convenio con otros organismos o empresas, publicaciones, dirección de tesis doctorales y de trabajos de licenciatura, participación muy destacada en congresos, conferencias y seminarios de su especialidad, premios y distinciones, etc. Estamos ante un microbiólogo con muy amplia proyección en los medios científicos nacionales e internacionales y asombra de modo singular que desde 1954 hasta este momento haya podido participar activamente en nada menos que cincuenta reuniones internacionales y cuarenta y nueve nacionales.

En 1965, el Dr. Portolés fue promovido al nivel de Investigador Científico del C.S.I.C., y en 1971 accedió a la categoría de Profesor de Investigación, con dedicación exclusiva. La expansión del Instituto Jaime Ferrán fue el factor que principalmente determinó su división en dos institutos y, en 1976, el Profesor Portolés fue nombrado Director del Instituto de Inmunología y Biología Microbiana. En términos globales, el Profesor Portolés cuenta actualmente en su denso currículum con 81 trabajos publicados en revistas españolas y 73 en revistas extranjeras. Es una producción incesante y de muy positivo valor, que se mantiene viva como lo demuestra el tener actualmente en prensa varios trabajos de Inmunología.

Como es lógico, fueron los primeros trabajos de nuestro recipiendario publicados en revistas españolas, pero pronto se introdujo en la literatura científica extranjera. En relación con esto resulta muy aleccionador y ejemplar el hecho de que haya seguido publicando con simultaneidad en revistas de ambas condiciones, domésticas y foráneas, rompiendo con la costumbre de relegar al olvido nuestra propia casa cuando nos abren una rendija en la casa ajena. Sin recurrir a vanidad alguna hemos de reconocer que muchas de nuestras revistas han tenido y tienen un indudable prestigio, como puede comprobarse en este caso con tres de ellas, fundadas poco después de nuestra guerra civil, y en las que el Doctor Portolés ha fre-

cuentado su colaboración: la *Revista Clínica Española*, fundada por Jiménez Díaz; la *Revista Española de Fisiología*, fundada por la Universidad de Navarra, y *Microbiología Española*, esta última surgida precisamente del Instituto Jaime Ferrán y en buena parte del esfuerzo de su entonces Director y ahora miembro insigne de esta Real Academia de Farmacia, el Profesor Lorenzo Vilas.

Hay que lamentar en nuestra querida España la existencia de una injusta subestimación ante cualquier obra autóctona, junto a una reverencia sin límites cuando se trata de la producción extranjera. Con este criterio tan funesto se promociona el veto a lo publicado en casa, aplicando muchas veces baremos apriorísticos de valoración negativa, respecto a trabajos que se enjuician simplemente por el título en portada de la Revista, sin apenas molestarse en analizar el contenido del trabajo. Queda así muy penalizada la noble actitud de cualquier autor que quiera contribuir con su «grano de arena» al esfuerzo por mejorar nuestro crédito internacional. Afortunadamente, no se ha extinguido la estirpe desinteresada de científicos como el Doctor Portolés, quien, sin dejar de estar presente en las revistas extranjeras, no se olvida por ello de publicar trabajos del mayor rigor científico en las españolas.

El Profesor Portolés se acerca a su sillón en la Academia que nos reúne con la valiosísima ofrenda que supone su discurso de ingreso: una revisión exhaustiva, con inclusión de numerosos datos provenientes de su experiencia propia, en torno todo él, al apasionante capítulo de la Inmunofarmacología, ciencia apenas existente hace un par de décadas y hoy día llena de un contenido que aumenta en desarrollo exponencial. Es un trabajo de 279 páginas, con nada menos que 1.071 referencias completas. De las múltiples implicaciones de este tema sólo quiero resaltar la concerniente al entronque de los procesos inmunes con el sistema nervioso y principalmente el neuroendocrino.

Está demostrada experimentalmente en la rata blanca, la influencia del cerebro y de la conducta sobre el Sistema Inmune, y en la actual década de los ochenta se ha verificado la capacidad de la respuesta inmune para provocar cambios en la actividad de neuronas noradrenérgicas del cerebro, sobre todo por el grupo de Besedowsky y colaboradores. En el ratón se ha demostrado, por Renoux y su grupo, que el neocortex cerebral controla el Sistema Inmune y modifica su respuesta. Neurotransmisores, hormonas y nucleótidos cíclicos participan, según Goffey y Hadden, en la regulación de los linfocitos. Los linfocitos de mamíferos tienen receptores estereoespecíficos para la dopamina y el espiroperidol. Los linfoci-

tos del timo humano los tienen para la acetilcolina. Recientemente (1985) ha sido descrito por Blaloux y colaboradores un ciclo regulador entre los sistemas inmune y neuroendocrino.

Trabajos de Portolés y colaboradores han demostrado la influencia de varios neurolépticos sobre la respuesta blastogénica de los linfocitos esplénicos del ratón. También han demostrado la modulación *in vitro* de las respuestas linfoproliferativas a nivel de receptores para agonistas y antagonistas de la dopamina (trabajo actualmente en prensa, en *Inmunopharmacology*). En suma, el cerebro y el Sistema Inmune procesan informaciones de diversos estímulos externos que, de acuerdo con el Profesor Portolés, actúan a través de mensajeros inmuno-neuro-hormonales (incluyendo los interferones, según Dafny y cols.), propiciando respuestas psicosomáticas. Según Savit y colaboradores, el stress, los péptidos opioides, Sistema Inmune y cáncer están coordinados en el individuo. La inmunidad y la inflamación están moduladas por el AMP cíclico, según demostraron Bourne y colaboradores en 1974; y poco más tarde (1977), Benedowsky y Soskin comprobaron principalmente en los linfocitos T la existencia de receptores para diversos neurotransmisores y hormonas.

En estos párrafos que anteceden se ha recogido tan sólo una pequeña muestra significativa de la inmensa aportación que la literatura científica actual ha recogido en cuanto a la relación neurovegetativa y neuroendocrina con el Sistema Inmune se refiere. Tal pléyade de datos de información queda por desgracia bastante lejos del contenido actual del área anatómica y supone en consecuencia un desafío a la empresa de los anatomistas en cuanto se refiere a la demostración de vías y terminaciones nerviosas, estas últimas a nivel de los órganos hematopoyéticos, sustrato primordial del Sistema Inmune. El anatomista participa por definición de la incredulidad del apóstol Tomás con Jesucristo. La verdad entra por los sentidos y para el anatomista entra por la retina, una vez lograda la correcta visualización de las estructuras. Puesto que la evidencia experimental tampoco se puede rechazar por el hecho de su falta de demostración anatómica, es necesario, una vez que tanto se ha progresado en una faceta fisiológica normal e incluso fisiopatológica, enfocar el esfuerzo anatómico hacia un terreno nuevo para el conjunto de la Anatomía.

La inervación del sistema hematopoyético está planteada hace tiempo bajo el sello de una concurrencia muy pobre de los elementos nerviosos en este territorio. Se sigue apelando a referencias, no por antiguas menos importantes, que resuelven muy poco

en los problemas actuales que han sido aquí considerados. Especialmente Albertó Kuntz fue uno de los investigadores que con más garantía estudió la inervación de la médula ósea, timo, bazo y órganos linfoides. Puede decirse, en resumen, que las fibras nerviosas que llegan a estos tejidos lo hacen con haces delgados de fibras en gran parte amielínicas y escasamente mielínicas. Las primeras son casi siempre simpáticas postganglionares, eferentes y unidas a la pared de arteriolas, capilares y vénulas, sin dispositivos terminales notoriamente especializados; algunas de ellas se pierden en el conectivo capsular o, en el caso del bazo, entre los pequeños haces de musculatura lisa. Las fibras mielínicas son en cambio aferentes y por tanto sensitivas, teniendo su cuerpo celular en los ganglios raquídeos.

A pesar de esta ausencia de datos demostrativos de la terminación de las fibras en las células parenquimatosas de estos órganos es evidente que al menos el componente simpático periférico tiene decidida influencia en la regulación funcional del sistema hematopoyético, como está demostrado por varios autores en trabajos que han demostrado un transporte axoplásmico de noradrenalina en las fibras simpáticas que llegan al bazo (Livett y cols., 1968). Igualmente, es de gran interés la demostración por Webber y colaboradores de una respuesta de la médula ósea mediante estimulación del tronco simpático correspondiente. Por el momento es necesario aceptar provisionalmente que los neurotransmisores que actúan sobre células del Sistema Inmune (principalmente linfocitos) lo hacen indirectamente mediante dispositivos equivalentes a los neurohemales bien conocidos en la hipófisis.

La aportación del Profesor Portolés abre un campo de futuras aplicaciones realmente insospechado hasta ahora. El Sistema Inmune, debidamente controlado con las técnicas cada vez más depuradas, será capaz no sólo de luchar con éxito en las inmunodeficiencias y enfermedades autoinmunes; podrá enfrentarse también y ya existen atisbos muy esperanzadores de ello, con el control del cáncer y su adecuado tratamiento. Recuérdese que en día no muy pretérito del que hoy nos ha reunido aquí, tuvimos la fortuna de presenciar el ingreso del Profesor Espinós en esta Real Academia. Su discurso acerca de una nueva perspectiva científica de profilaxis del cáncer fue de un impacto también insospechado. Ahora, con el Profesor Portolés, acabamos de recibir información de primera mano sobre las perspectivas de tratamiento de este azote de la humanidad, tal como día a día se irán configurando dentro del capítulo de la Inmunofarmacología.



Esta Real Academia de Farmacia no puede menos de sentirse orgullosa ante la incorporación en su seno de un hombre como el Profesor Portolés, lleno de méritos en su haber e inquietud científica sobrada para proseguir en su colosal tarea investigadora. La alegría que esta incorporación pueda a él proporcionarle no es mayor que la que sentimos todos los que lo recibimos con el más cordial deseo de una vida fructífera dentro y fuera de esta Real Academia.

He dicho.