

**INSTITUTO DE ESPAÑA
REAL ACADEMIA DE FARMACIA**

**SUPERVIVENCIA E INDIVIDUALIDAD
EN BIOLOGÍA**

**DISCURSO
LEÍDO EN LA SOLEMNE SESIÓN INAUGURAL DEL CURSO
EL 18 DE ENERO DE 2001**

por el
EXCMO. SR. D. ANTONIO PORTOLÉS ALONSO
ACADÉMICO DE NÚMERO



MADRID - 2001

SUMARIO

	<i>Págs.</i>
PRESENTACIÓN	5
SUPERVIVENCIA E INDIVIDUALIDAD EN BIOLOGÍA	7
Inmunidad Innata: Clave del individualismo biológico	7
Evolución e individualismo inmunitario	9
Diversidad en la discriminación biológica entre propio y extraño: plantas, artrópodos, vertebrados	14
La defensa natural mediante péptidos antimicrobianos	18
Lenguaje molecular del individualismo biológico	25
Mecanismos de evasión frente a la Inmunidad Innata	35
Modificaciones de la inmuno respuesta innata por envejecimiento	36
Inmunodefensa del individualismo durante la gestación	43
Relaciones entre defensa innata del individualismo y la inmuno respuesta adaptativa	45
Consecuencias patológicas por alteraciones de la Inmunidad Innata	50
Aspectos terapéuticos relacionados con la Inmunidad Innata.	52
Aplicaciones industriales de la Inmunidad Innata	53
A modo de Epílogo: Algunas consideraciones sobre Individualismo, Comportamiento y Sociedad	54
REFERENCIAS	59

*Excmo. Sr. Director,
Excmos. Sras. y Sres. Académicos,
Ilmos. Señores,
Señoras y Señores:*

El tiempo, en su acompasado transcurrir, ha establecido que por turno de antigüedad y no por personal merecimiento me cupiera el honor de pronunciar hoy el protocolario discurso de apertura en este primer año del nuevo milenio que alborea. Al aceptar este encargo de la Junta Directiva, varios temas acudieron a mi mente. De todos ellos, me pareció el de mayor interés, aquel que se refiere al protagonismo de un sistema biológico encargado de mantener la individualidad del ser, al mismo tiempo que defiende su supervivencia frente a la invasión de tantos agentes nocivos como existen en el medio que nos rodea.

En la antigüedad, situaciones pandémicas de alto riesgo para la Humanidad, llevaron al convencimiento de que existía una resistencia natural o de que se creaba una situación de privilegio en aquellos individuos enfermos que sobrevivían cuando, posteriormente, se repetía la aparición de dicha «pestilente enfermedad». Este estado de resistencia, con carácter específico para cada situación, fue conocido como INMUNIDAD, y sin duda, tiene un valor inapreciable para la supervivencia de la especie, tanto en su modalidad natural, innata o «constitutiva» como en la adquirida o «adaptativa». Las bases por las que tan sólo sobrevivían los individuos más resistentes, han ido siendo conocidas por la Ciencia Biomédica y en ello tiene una particular participación la investigación inmunobiológica.

Una prueba del interés despertado por la investigación en esta rama de la Ciencia y su decisiva influencia en la solución de muchos problemas importantes en Biología y Medicina es la concesión del Premio Nobel, en el pasado siglo XX, a más de una veintena de inmunólogos por temas que van desde la Inmunoterapia pasiva (von BEHRING, 1901) hasta el descubrimiento de las bases genéticas de la diversidad de los anticuerpos (TONEGAWA, 1987). Estas consideraciones y la circunstancia de que nuestra vida profesional transcu-

ANTONIO PORTOLÉS ALONSO

rriera por caminos científicos relacionados con la Inmunobiología, ha hecho que este tema sobre SUPERVIVENCIA E INDIVIDUALIDAD EN BIOLOGIA fuera el preferido. Mucho es lo que se ha avanzado últimamente en conocimientos relativos a Inmunobiología y, particularmente, en relación con la inmunidad innata, ya sea como base del individualismo biológico o por su papel instructor sobre la aparición y evolución de la inmunidad adquirida. Por ello, espero y deseo que el trabajo con que hoy ocupo su atención pueda estar a la altura que a este acto académico corresponde.

SUPERVIVENCIA E INDIVIDUALIDAD EN BIOLOGÍA

La constancia del «medio interno» es la condición de una libre e independiente existencia.

CLAUDE BERNARD.

Inmunidad Innata: Clave del individualismo biológico

Durante millones de años los seres menos desarrollados, pese a no disponer de un sistema inmune adaptativo con un nivel clonal de reconocimientos específicos frente a epitópos simples, hubieron de sobrevivir en medio ambientes plenos, no sólo de grandes animales y predadores, sino también de numerosos patógenos tales como virus, bacterias y hongos. Los mecanismos involucrados en la superación de este problema constituyen la inmunidad natural o innata, defensora de cada individuo. Por tanto, desde el punto de vista conceptual, esta inmunidad innata está considerada como una primera línea de defensa del huésped para mantener su individualismo; no requiere expansión clonal y por ello proporciona una rápida respuesta, aunque incompleta, a las pocas horas de una infección por microorganismos, dando tiempo así al desarrollo de la inmuno respuesta adquirida, que es más lenta y definitiva.

Este sistema de inmunidad natural depende de receptores invariables que reconocen rasgos comunes en microorganismos patóge-

nos, pero no confiere protección frente a otros nuevos por carecer de células de memoria inmunológica. Sus mecanismos efectores son variables y, según los casos, incluyen fenómenos de quimiotáxis, fagocitosis, citotoxicidad natural y producción de mediadores solubles.

En la pasada década, esta defensa innata del individualismo ha despertado un gran interés en los laboratorios de investigación inmunobiológica; especialmente, desde que se ha comprobado que tiene una especificidad y un grado de complejidad bastante mayor de lo que se suponía. Se ha descubierto la existencia de mecanismos moleculares que son comunes para la defensa de este individualismo en plantas, insectos y animales. Tal similitud, pese a la gran diversidad entre especies, se pone de manifiesto en la utilización de los mismos principios básicos de defensa que incluyen, tanto a receptores que reconocen dianas moleculares en la superficie de los microorganismos, como a las señales de transducción activadoras de genes específicos de resistencia y a la producción de análogos efectores antimicrobianos. Todo ello ha puesto de manifiesto una relación ancestral común para este tipo de defensa del individualismo.

Durante mucho tiempo las respuestas inmunitarias innata y adaptativa se han considerado como entidades totalmente separadas y, dentro de la jerarquía de las funciones inmunes, se había atribuido una menor importancia a la primera de ellas, capacitada para detectar moléculas que tan solo existen en organismos infecciosos. Sin embargo, actualmente, se considera que la inmunidad innata, no es meramente un vestigio de remotos sistemas de defensa antimicrobianos en la fase temprana de defensa del individuo, sino que además de participar en la evolución de éstos, interviene directamente en la inmunidad adaptativa de los mamíferos, estimulando la subsiguiente respuesta clonal antígeno-específica, determinando los antígenos a que ha de responder el sistema y cuál ha de ser la naturaleza de esta inmuno respuesta.

Por tanto, en esta ocasión, revisaremos los conocimientos que se tienen sobre la inmunidad innata, su diversidad, sus mecanismos moleculares y alteraciones patológicas, al tiempo que trataremos de algunas relaciones entre los dos tipos de respuesta —natural y ad-

quirida— frente a una infección. El conocimiento de las moléculas y rutas bioquímicas involucradas en esta inmuno respuesta pueden proporcionar nuevas opciones terapéuticas para ciertas enfermedades infecciosas y autoinmunitarias.

Evolución e individualismo inmunitario

La creciente complejidad de lo viviente se inició hace unos 3.700 millones de años como una alucinante alquimia vital; en ella, a partir de moléculas autorreplicativas, englobadas por otras de carácter hidrófilo e hidrófobo e influidas por factores de anfotericidad, volumen molecular y la constante pK de los grupos moleculares reaccionantes, se originó la precisa arquitectura del individualismo procarionte. Estas estructuras fueron capaces de crear una especie de «inteligencia química» que permitía distinguir entre distintas señales de identidad molecular con posibilidades de ser utilizadas en el rechazo frente a lo ajeno; así, en agrupaciones coloniales marinas, se han observado típicas señales de reconocimiento de lo propio. Esto resultaba imprescindible para la aceptación de elementos análogos que irían a integrar diversas asociaciones que, más tarde, darían lugar a organismos pluricelulares.

Por otra parte, la resistencia al medio exterior y las posibilidades de diversificación de lo viviente, marcan los orígenes de una imparable evolución biológica; la cual, está sometida a procesos de selección natural, que han de entenderse en términos de información y comunicación mediante el protagonismo de proteínas y de un código genético que habría de dar lugar a las primeras células. Así, partiendo de protocélulas para las que el cianhídrico no era tóxico y de arqueobacterias estrictamente anaerobias, fueron surgiendo a lo largo de milenios positivas diferenciaciones celulares que irían dando lugar a especies más complejas cada vez.

Dada la gran homología que existe entre los componentes encargados de las estrategias defensivas de las plantas y los insectos, es lógico admitir que los mecanismos de señalización especializados en estas defensas naturales del huésped, aparecieran temprana-

namente en la evolución de los organismos pluricelulares. Por esta misma razón, es posible encontrar receptores estructural y funcionalmente homólogos en organismos tan distintos como una mosca *Drosophila* y un ser humano, que poseen una nada exigua porción de analogía en su material genético. Estos receptores, que aparecieron al comienzo de las especies, han podido ser conservados a través de millones de años de evolución. No deja de ser sorprendente que durante esta evolución se hayan ido seleccionando, como dianas de reconocimiento para ejercer esta defensa innata del individualismo biológico, los lipopolisacáridos, mananos, ácidos lipoteicóicos u otras moléculas que, siendo esenciales para las estructuras periféricas de microorganismos, no se encuentran en el huésped pluricelular. De este modo se evitaba la generación de «mutantes esquivos» que pudieran librarse de la acción defensiva del huésped.

El patrimonio genético de los seres pluricelulares, susceptible de mutaciones que son fuente de diversificaciones al azar, ha ido permitiendo la aparición de otros niveles de organización con nuevos caracteres de especiación; los cuales, fueron ocupando los distintos espacios ecológicos posibles, tanto aéreos, como terrestres o marinos. Si consideramos el patrimonio genético de aquellas primitivas poblaciones, en relación con la inmunidad innata, también cabría suponer que cuando el tamaño de su genoma empezara a aumentar se producirían ventajas y desventajas para el microorganismo agresor. Según BOMAN (1) el aumento de ADN requiere un incremento de reacciones bioquímicas que, a su vez, precisan de una mayor disponibilidad de nutrientes y se hace más largo el tiempo de replicación de este material genético. A este aumento en el tiempo de replicación debieron corresponder variaciones producidas durante la evolución en las que, apareciendo nuevos mecanismos de defensa, fueron convirtiendo al huésped en resistente o «inmune».

Según FRANCESCHI y cols. (2), estas ancestrales y básicas respuestas de defensa inmunitaria se han conservado o perfeccionado a través de la evolución del reino animal. Así, estos autores, han estudiado cómo surgieron las reacciones de citotoxicidad en células NK de caracoles de agua dulce pertenecientes a la especie *Planorbarius corneus*. También, según citaba COOPER en sus estudios sobre

evolución de la inmunidad (3), ha sido posible detectar entre algunas especies de la era precámbrica, hace unos 800 millones de años, una capacidad rudimentaria de respuesta o rechazo. De acuerdo con las teorías de SCHUSTER (4), ya se pensaba hace unos años que la evolución del sistema de reconocimiento inmunitario estuvo precedida por una crisis de identificación e incompatibilidad, en la fase en que empieza a aparecer una organización animal mediante agregaciones celulares específicas. A ésta fase siguió otra de reconocimiento del material ajeno en esponjas y corales, hasta la aparición de fenómenos de inmunidad mediada por células primordiales en la que, dependiendo de la especie considerada, según se tratara de gusanos, moluscos, artrópodos, equinodermos o tunicados, parecía observarse la existencia de una memoria inmunológica variable así como la de algunas células linfocitarias diferenciadas.

Investigaciones más recientes han permitido conocer la resistencia innata de organismos inferiores en los que hasta ahora no se habían encontrado datos relativos a esta inmunidad natural. Así, el estudio completo del genoma de un pequeño gusano, el *Caenorhabditis elegans*, ha permitido explicar que este nematodo pueda vivir sobre un medio fuertemente contaminado con *Escherichia coli* (5). Cabe pensar que si las bacterias existían 2000 millones de años antes que los progenitores del primer nematodo, entonces, debió producirse una competición temprana por el alimento. Lo más probable es que esta competencia se diera entre grandes y pequeñas moléculas de algunas especies que puede que no existan actualmente.

En estos casos, es probable que la solución más sencilla de acoplamiento para la supervivencia fuese la de alimentarse de competidores más pequeños; lo que requiere adquirir una especial capacidad intestinal para matar y digerir. Sin embargo, durante esta competición también podrían coexistir bacterias resistentes que hubieran empezado a parasitar a los nematodos. Esta competencia individualista pudo también originarse por medio de un mecanismo de defensa que neutralizara a los patógenos potenciales o porque lograran vivir en hábitat aislados donde el microorganismo antagonista no pudiera prosperar. Según BLAXTER (6), los genes del nematodo *C. elegans* han experimentado una evolución molecular acelerada en relación con otros muchos animales de su entorno.

Tal como aparece en alguna de las publicaciones consultadas, es posible que los primeros protagonistas de una resistencia innata, encargados de proteger la individualidad en diferentes grupos de animales y plantas fueran moléculas peptídicas con acción antimicrobiana (7, 8); aunque también se ha encontrado otra molécula distinta, como la escualamina de los tiburones (9), que con una estructura de aminosterol tiene asimismo una marcada actividad antibiótica. Existen numerosos ejemplos de defensa de este individualismo en el que lo primero que se aprecia es la protección a nivel de superficie, ya sea dentro o fuera de las células epiteliales; y es probable que, evolutivamente, este mecanismo fuera el iniciador de las respuestas inmunitarias, tal como aparece en los sistemas modelo de algunos nematodos y también, en el hipocampo (10), o en la interacción del *Aeromonas hydrophila* frente a ranas (11) o del *A. veronii* frente a la sanguijuela medicinal (12), usado como modelo de simbiosis en tracto digestivo.

A lo largo de la evolución y a nivel de organismos superiores, es posible encontrar otros modelos de inmunidad natural mediante péptidos frente a una microflora normal en el intestino de cerdos (13); y también, entre los animales superiores, en especies tan distintas como los hipopótamos y las ranas. Ambas especies viven en ríos, charcas y lugares pantanosos, donde están inmersos en una suspensión de su propia flora intestinal; en estas condiciones de hábitat, la evolución los ha dotado de mecanismos inmunes adecuados mediante la secreción de estos factores antimicrobianos. De hecho, también habrá de tenerse en cuenta que inmunizaciones diarias con la microflora natural han podido ser capaces de inducir una protección activa contra infecciones que pudieran resultar perjudiciales para el huésped.

En cuanto a las ranas, que viven tanto en charcas como en suelos muy contaminados por microbios, también tienen eficientes mecanismos de defensa mediante las secreciones de la piel, conteniendo de 30 a 40 péptidos antibióticos, además de inmunoglobulinas G y M en su sangre, antígenos de histocompatibilidad de las clases I y II, e inclusive un sistema del complemento. Otro de los mecanismos implicados en la defensa natural y que se ha conservado durante la evolución, son las reacciones citotóxicas por activación de cé-

lulas NK en algunos gasterópodos (2). Igualmente, se han encontrado péptidos citotóxicos y antimicrobianos del tipo de las defensinas en células fagocíticas de mamíferos (14).

Todas estas moléculas están codificadas por genes y, mediante los correspondientes ARN, son leídas por ribosomas para su expresión final. Desde el punto de vista evolutivo, cabe pensar que fuera más fácil partir de algunos genes preexistentes y duplicar este ADN; o que se produjera una transferencia horizontal de genes, como se ha visto recientemente con un transposón de *Drosophila* (15).

Considerando la evolución a nivel molecular, en el último lustro se ha descubierto la existencia de unas proteínas TOLL y TOLL-relacionadas que juegan un importantísimo papel en la inmunidad innata de insectos, plantas y mamíferos. Asimismo se ha demostrado, mediante un cuidadoso análisis filogenético (16), que los animales vertebrados y los invertebrados mantienen conservada, desde el origen, una misma ruta común a través de la evolución y en ella participan proteínas transmembranales pertenecientes al grupo de genes TOLL-relacionados y a la familia del receptor de IL-1.

Ahora, que tan de actualidad se encuentran los estudios de identificación del genoma humano, llama la atención el que, pese a que el ADN de la especie humana comparte un 98 % de homología con el de los gorilas; éstos, tengan un sistema inmunitario con apreciables diferencias en cuanto a protección del individualismo a nivel de superficies corporales y mucosas. Ello puede ser consecuencia de las diferencias de hábitat, y convierte a estos primates en seres muy vulnerables a las infecciones humanas.

En esta evolución de la inmunidad natural o innata en vertebrados y seres inferiores, no se ha encontrado analogía alguna de implantación frente a las infecciones bacterianas comparadas con las virales. Esto es lógico si se tiene en cuenta que los viriones, para su replicación, precisan de los ribosomas e incluso de otras partes de la maquinaria biosintética del huésped. Ello conduce a un fenómeno de «coevolución» a nivel de receptores que personalizan, tanto al virus como al sistema inmunitario del huésped. De aquí, que los

virus también puedan participar en la evolución, cumpliendo un papel importante y positivo al ser capaces de transferir genes de un individuo a otro; lo que puede provocar que, ocasionalmente, se atraviesen barreras específicas de la especie.

En relación con las infecciones virales en insectos, es probable que evolutivamente, estas especies, no hayan tenido necesidad de un mecanismo específico de inmunidad natural, debido a que su índice de reproducción es extraordinariamente elevado. En vertebrados, sin embargo, la inmunidad antiviral innata precisa de la ausencia de alguno de los receptores del huésped para la adsorción del virus y, ello, le permite quedar como un individuo resistente.

Diversidad en la discriminación biológica entre propio y extraño: plantas, artrópodos, vertebrados

Este concepto de discriminación entre propio y extraño, con referencia a una actividad inmunológica, resulta inapropiado para algunos autores cuando se tienen en cuenta las reacciones autoinmunes. Por ello PODULSKY y TAUBER, en su libro de «Generación de la Diversidad» (17), propugnan sustituir el término de extraño o ajeno por el de agresivo, peligroso o dañino, como señal de alerta para una activación de la respuesta inmunitaria.

En los organismos pluricelulares, esta capacidad de defensa natural, colectivamente llamada inmunidad innata, es capaz de discriminar entre elementos propios y ajenos o agresivos, consiguiendo el reconocimiento, inactivación y muerte de los agentes infecciosos inmediatamente después de tomar contacto con ellos o de su penetración en el huésped. Estos procesos «inespecíficos», actúan frente a un amplio espectro de patógenos microbianos. Su acción se corresponde con funciones de barrera a nivel de la superficie corporal y de los epitelios mucosos de los tractos respiratorio, gastrointestinal y reproductor. Los mecanismos efectores de esta respuesta innata incluyen, tanto la producción de péptidos antimicrobianos como la actividad de células fagocitarias y la puesta en marcha de la ruta alternativa del complemento.

Según revisan HOFFMAN y cols. (18), en un intervalo corto de tiempo, y a partir del momento en que se inicia una sepsis en *Drosophila*, por ejemplo, se pueden poner en funcionamiento los siguientes mecanismos que constituyen la base de la resistencia innata de esta especie: a) una acción fagocítica de ciertas células sanguíneas sobre el microorganismo agresor; b) una serie de cascadas proteolíticas que conducen a coagulaciones sanguíneas en puntos localizados, formación de melanina y opsonización; y c) una síntesis transitoria de péptidos inducibles y con una potente actividad antimicrobiana.

Es posible que la síntesis transitoria de péptidos antimicrobianos a nivel de superficies sea la inmuno respuesta innata más difundida en la naturaleza, ya que se han encontrado más de cuatro centenares de estas activas moléculas en la defensa del individualismo de insectos y otros muchos organismos pluricelulares incluyendo animales y plantas.

El hecho de que en algunas superficies del huésped exista una flora microbiana natural, obliga a que estos péptidos sean capaces de distinguir entre los gérmenes patógenos y los saprofitos, con el fin de mantener a estos últimos en un estado estacionario para utilidad del propio huésped. Existen otros péptidos cuya localización particular está programada para determinados momentos y funciones, como es el caso de machos adultos de *Drosophila*, en cuyos órganos reproductores se produce una andropina, mediante un gen ligado al grupo de la cecropina y que es inducido en el apareamiento pero no por una infección determinada (19); también en las glándulas accesorias de las hembras reproductoras del díptero *Ceratitis capitata*, se encuentran ceratoxinas para defender la individualidad en situaciones especiales (20); en tanto que, en el exoesqueleto de larvas de *Bombyx*, se producen unos péptidos del grupo de las cecropinas como respuesta a mínimas dosis infectivas de microorganismos (21).

Además de estas respuestas mediante moléculas efectoras, existe una manifiesta versatilidad en el tipo de respuesta protegiendo la individualidad de cada ser, aunque en todos los casos hayan de cumplirse las fases de reconocimiento de la infección, activación de

señales de transducción, que van seguidas de los mecanismos de activación transcripcional, y producción de los efectores antimicrobianos. De ello han tratado distintos autores en el *Simposium* de Benzam sobre «Molecular Mechanisms of Innate Immunity» y del que informaron cumplidamente BORREGAARD y cols. (22). En dicha reunión se informa de que en plantas, por ejemplo, la presencia de algunas bacterias se detecta por la excreción de una proteína no virulenta que interactúa con una proteína citosólica específica del huésped y que funciona como receptor. La interacción entre ambas moléculas induce la autofosforilación del receptor, que va seguida de una señal de transducción quinasa-dependiente y que, a su vez, conduce a la activación de los genes de resistencia. Sin embargo, cuando las células de la planta no llevan este receptor citosólico, no se activan los genes de resistencia y la infección prospera produciendo la enfermedad.

En esta defensa innata del organismo para matener su individualidad, también es posible encontrar mecanismos inmunitarios que no resultan de la activación de proteínas preformadas, sino que requieren una inducción transcripcional y/o una síntesis de proteínas de «novo»; lo que hace que no sean funcionales en el mismo momento de establecerse la infección. Estas situaciones pueden producirse en los siguientes casos: *a)* por regulación del metabolismo del hierro en macrófagos, mediante la privación de éste en los fagosomas debido a la regulación positiva de la ferritina citosólica o a la regulación negativa de los receptores de transferrina (23); *o, b)* por depleción del L-triptófano a través de la indoleamina-2,3-dioxigenasa (24); *y, c)* también mediante la producción del más pequeño de los mediadores biológicos, tanto para la inmuno respuesta innata como para la adaptativa, como es el caso del óxido nítrico producido por NO-sintasas (iNOS o NOS2) (25, 26).

Pese a que el NO es crítico para el control de numerosas infecciones por patógenos microbianos (27), la expresión y funciones de la NOS2 durante la fase innata de la inmuno respuesta, tan sólo resultan efectivas frente a unos pocos microorganismos, dentro de los dos primeros días de la infección.

Un buen ejemplo de este último caso, es la generación de grandes cantidades de NO por la enzima NOS2 en los macrófagos infectados por *Leishmania*, previa liberación de interferón (IFN- α/β). Estos fenómenos son críticos y para su puesta en marcha utilizan una señal de transducción durante las infecciones frente a distintas especies de *Leishmania*, según se pudo demostrar mediante aplicación de inhibidores selectivos de NOS (28, 29).

En un modelo de ratones genéticamente resistentes para la expresión de NOS2, sometidos a una infección cutánea por *Leishmania major* (30), se ha podido comprobar que el primer día de la infección ya existía un cierto número de macrófagos localizados en las zonas dérmicas infectadas (31) y que éstos, eran NOS2-positivos además de presentar liberación de IFN- α o de IFN- β . Por el contrario, cuando los macrófagos pertenecían a animales con una delección en el gen NOS2, eran incapaces de destruir intracelularmente a los parásitos, aunque se acudiera a una activación con IFN- γ más TNF α o LPS (31).

En opinión de BOGDAN (32), el hecho de que el IFN- γ sea una citoquina clave para la inducción de la enzima NOS2 en macrófagos y un producto específico de las células Th1 cooperadoras (33), sugiere que los altos niveles de expresión de NOS2 pudieran considerarse como restringidos a la fase adaptativa de la inmuno respuesta.

En las infecciones por *Leishmania*, las células NK no parecen ser totalmente indispensables para la curación definitiva de la infección (34); sin embargo, dichas células NK sí son requeridas para la producción temprana del IFN- γ , que es capaz de estimular la actividad quimiostática y los mecanismos de lisis, así como la aparición de moléculas efectoras (35); lo que permite actuar a éstas células en el control innato de dichas infecciones por este protozoo parásito (36). DIEFFENBACH y cols. (31), han encontrado que el NO derivado de la NOS2, es imprescindible para la maduración funcional de las células NK *in vivo*, pero no para su desarrollo fenotípico; el NO exógeno, liberado por los macrófagos, es suficiente para la maduración funcional de las células NK y su correspondencia con la IL-12 en la inmunidad innata (37).

Además de la intervención de cantidades apreciables de NO en la respuesta inmune frente a la infección, se ha sugerido que mínimas cantidades de este NO, derivadas de la NOS2, son indispensables para la señal de transducción en la fase innata de la respuesta inmune frente a protozoos parásitos. Y, según parece, no existen razones para descartar que efectos similares del NO puedan producirse también durante la fase adaptativa de la respuesta inmune frente a infecciones por virus, bacterias y hongos, aunque todavía queden varios interrogantes por resolver en relación con este efecto estimulador.

La defensa natural mediante péptidos antimicrobianos

Desde que BOMAN y cols. en 1981 (38) descubrieran algunos péptidos antimicrobianos inducibles en la boca de *Hyalophora cecropia*, se han encontrado unos 400 péptidos capaces de participar en la inmuno respuesta innata de insectos y en muchos otros organismos pluricelulares, incluyendo humanos y plantas. Todas estas sustancias son constitutivamente activas, dependen del genoma, pueden activarse en segundos o escasos minutos y tienen como misión principal la defensa natural del huésped.

Este sistema de inmunidad innata ha ido evolucionando bajo la tremenda presión selectiva impuesta por los gérmenes patógenos; por ello los organismos pluricelulares tuvieron que desarrollar una especial capacidad para reconocerlos y eliminarlos sin causarse perjuicio a sí mismos; pero, además, estos péptidos han de estar presentes en los sitios de interacción con los microorganismos agresores y han de cumplir unos principios biológicos de ventaja que se han mantenido y perfeccionado durante la evolución de las especies.

En cuanto a la capacidad de reconocimiento, han de tenerse en cuenta los problemas que plantea la enorme heterogeneidad molecular a la que habría de enfrentarse el huésped, agravada por la elevada razón de mutación característica de los microorganismos. Además, también cabe pensar que, previamente al desarrollo de los mecanismos somáticos generadores de esta diversidad en el repertorio de reconocimientos, habrían de establecerse los límites de las

moléculas a reconocer según la capacidad codificadora del genoma del huésped. De aquí que se tuvieran que cumplir ciertos requerimientos a nivel de las dianas moleculares a reconocer. Entre ellos, según MEDZHITOV y JANEWAY (39), estos requerimientos son: a) que representen patrones moleculares más que estructurales y que, éstos, sean compartidos por grandes grupos de patógenos; b) que sean esenciales para la supervivencia y patogeneidad del microorganismo y no estén sometidos a variabilidad antigénica; y c) que sean completamente distintos de cualquier molécula propia del huésped, permitiendo así una fácil distinción.

De una forma resumida, las características y condiciones a cumplir por estas sustancias peptídicas son:

1) Una elevada especificidad que evite la autodestrucción del huésped y que, acompañada de un perfecto sistema de memoria cuyas bases científicas no son bien conocidas, consiga evitar las reinfecciones.

2) Esta especificidad ha de estar basada en mecanismos sencillos, ya sea mediante una especial compartimentación celular o bien por afinidad hacia una diana molecular del parásito que es inexistente en el huésped. Estos mecanismos conllevan también una cierta selectividad, permitiendo un estado estacionario o de equilibrio con la flora normal del huésped existente en la piel, boca e intestinos.

3) Han de tener una capacidad de funcionamiento autónomo, que no precise de otras funciones más complicadas de especificidad.

4) Ha de mantenerse una marcada economía biológica para que la síntesis de estas moléculas efectoras, pese a su pequeño tamaño, tenga un amplio espectro de acción y una capacidad que permita eliminar a dos o más agentes infecciosos al mismo tiempo; lo cual resulta una ventaja sobre el empleo de moléculas efectoras de mayor tamaño y muy específicas para cada uno de los microorganismos invasores.

El hecho de que las bacterias tengan, por lo regular, cargas negativas sobre su superficie justifica que los primeros péptidos anti-

bacterianos encontrados estuvieran integrados en proteínas catiónicas con fuertes cargas positivas; y que éstos, al insertarse en las bicapas lipídicas del microorganismo puedan producir algunos poros de lisis, aunque sin llegar a ser citotóxicos para el propio huésped a las concentraciones que son efectivas para el agente infeccioso. Entre los péptidos de este tipo encontrados recientemente podemos mencionar la parapsina, originada a partir de una histona del pez gato (40) y un péptido semejante a la cecropina, derivado de la proteína ribosomal L1 del *Helicobacter pylori*. Algunas otras cecropinas antibacterianas se han encontrado en un sistema modélico de inmunidad innata en *Drosophila*, en *Sarcophaga* (41) y en otros insectos (42, 43). Todas ellas tienen la misma secuencia terminal que la del *H. pylori* y con patrones análogos de carga y localización de regiones hidrófilas e hidrófobas típicas de estructuras anfipáticas en α -hélice (44).

Se han publicado algunas revisiones sobre estas moléculas efectoras de la inmunidad innata (1, 8, 9) en las que se discute su alta especificidad para evitar lesionar al propio huésped, pese a su amplio espectro de acción frente a diferentes especies microbianas y frente a células infectadas del huésped, a las que induce a un estado de apoptosis para provocar su destrucción. Estos péptidos, muchos de ellos descubiertos al final de los años ochenta, fueron aislados y estudiados a partir de la hemolinfa de insectos (45) y de extractos obtenidos de vacuolas procedentes de células fagocíticas de mamíferos. En los dípteros, por ejemplo, se producen primariamente en el cuerpo graso, que es el equivalente funcional del hígado de los mamíferos, siendo después secretados a la sangre. También se han encontrado péptidos cuyo sitio de producción está en las barreras epiteliales (46).

Los péptidos antimicrobianos han sido clasificados en cinco grupos, de acuerdo con su estructura molecular, sus similitudes funcionales y su estructura tridimensional. Tal como propone BOMAN (1), hay que tener en cuenta que deben ser moléculas lineales con o sin cisteína, tengan uno o dos enlaces disulfuro, o se trate de moléculas polipéptidicas más grandes en las que existan otras funciones desconocidas. Esto es posible debido a que durante la evolución, una fuerte presión de selección ha permitido conservar las secuencias de

aminoácidos, como sucede por ejemplo con el grupo de las cecropinas. Según esto, los péptidos, se pueden diferenciar en los grupos siguientes:

Grupo A.—Entre los péptidos lineales, la mayoría helicoidales y sin cisteína, se encuentran las cecropinas de insectos, diferenciables según los tipos A, B, D y P1, de gran especificidad antibacteriana e inocuas frente a insectos y células de mamífero (45); también están las magaininas existentes en el estómago del *Xenopus laevis* (47) que, como las anteriores, contienen tan sólo α -hélices y la molécula helicoidal anfipática denominada LL-37.

Grupo B.—Son péptidos semejantes a los anteriores, también sin cisteína, pero con mayor cantidad de ciertos aminoácidos (como Trip, His o Gly, o bien el par Pro-Arg); entre ellos se encuentran indolicidinas (con Ind mayoritario), histatinas (con His mayoritaria), las bactericinas y drosocinas y también la molécula PR-39, además de otros con mayor número de residuos de Gly como las attacinas, dipterocinas y gloverinas.

Grupo C.—Péptidos conteniendo enlaces disulfuro y que presentan una estructura en asa con una o dos colas terminales, entre los que se encuentran algunos dodecapéptidos de origen bovino, breveninas, esculentinas y otros péptidos procentes de ranas, que todavía no están bien estudiados.

Grupo D.—Péptidos resistentes a las proteasas, con dos o más enlaces disulfuro y que, de preferencia o exclusivamente, presentan una estructura laminar β . Entre ellos se encuentra el amplio y compacto grupo de las defensinas (3 a 5 kD), que aparece dividido en cuatro subgrupos según procedan de plantas o insectos (con una hélice corta en lo alto de las láminas β) o bien de mamíferos (clases α y β con tres enlaces S-S).

Recientemente, TANG (48) informa sobre el aislamiento y caracterización de una nueva defensina cíclica, existente en neutrófilos y monocitos de *Macacus rhesus* que no es inhibida por fuertes concentraciones de sal. Esta rhesus theta defensina 1 (RTD-1) es producto de dos genes homólogos que generan dos propéptidos muy

similares y que son cortados proteolíticamente, para unirse de cabeza a cola y formar una estructura cíclica en los gránulos de leucocitos PMN.

En este gran grupo se encuentran también las taquiplesinas y protegrinas, con dos enlaces S-S, que tienen una actividad de amplio espectro frente a bacterias, hongos y virus encapsulados. Las cathelicidinas de 11 kD, existentes en neutrófilos de caballo, contienen un segmento N-terminal codificado por tres exones (e1, e2, e3) y el término C, variable, codificado por otro exón (e4); estas sustancias pueden intervenir en la cicatrización de las heridas.

Grupo E.—Moléculas derivadas de péptidos de mayor entidad y con otras funciones, además de las antimicrobianas; entre ellas, se encuentran las lactoferricinas y un inhibidor de la unión bacteri-célula derivado del diazepam (DBI), así como la parapsina derivada de la histona H2A y un péptido análogo a la cecropina procedente de la proteína ribosómica L-1 del *Helicobacter*.

Todas estas sustancias tienen actividades de amplio espectro frente a bacterias (cecropinas, diptericina, drosocina, attacina, defensina y metchnikowina), frente a hongos (drosomicina) y frente a algunos virus (49, 50). Su inducción requiere la participación de varias rutas adicionales dependientes de genes aún no bien caracterizados (51), como el gen IMD (para inmunodeficiencias) y el gen IRD (para inmuno respuestas deficientes). Este comportamiento es bastante similar en mamíferos, donde la activación de genes para respuestas de fase aguda depende del factor nuclear NF- κ B.

Para admitir la existencia de una inmunidad innata, es de gran interés el hecho de que en el género *Drosophila*, donde no existe posibilidad de inmunidad adaptativa, se encuentren genes activadores del tipo TOLL capaces de inducir péptidos antimicrobianos diferentes que, no sólo detectan la presencia de una infección sino que también son capaces de discriminar entre los distintos tipos del patógeno invasor (52).

Asimismo, se han encontrado péptidos responsables de este tipo de inmunidad natural en cerdos (53) y en algunas líneas celulares humanas (54, 55). En todos los casos, la respuesta al LPS requiere

la existencia de células CD14+, y una proteína soluble para la unión de este LPS, llamada (LBP), que actúa como proteína coseñal, así como también un receptor tipo TOLL. Este complejo dispara unas reacciones en cascada que permiten controlar la transcripción de los genes inmunes y, mediante las últimas señales, desencadenar la translocación al núcleo del factor nuclear NF- κ B y la síntesis de moléculas efectoras. Se ha comprobado que bastan seis minutos desde la adición de IL-1 al cultivo para que moléculas de LPS induzcan una respuesta de defensa innata (56) y también, se ha observado que la cortisona es capaz de bloquear los mecanismos efectores de esta inmunidad antimicrobiana (57, 58).

Los procesos biológicos inducidos por este tipo de defensa inmunitaria natural son muy variados, pudiendo producirse una liberación de mediadores solubles o de péptidos antimicrobianos en la superficie de células epiteliales y en fluidos de excreción como lágrimas y saliva; o inclusive una liberación de enzimas líticas y de intermediarios oxígeno-reactivos. Por otra parte, pueden producirse también respuestas quimiotácticas y fagocitarias de bacterias y protozoos, así como respuestas de citotoxicidad natural mediante células NK, interacciones célula-célula y de célula-matriz, e inclusive se puede activar el sistema complemento si ello fuere necesario.

Un interesante ejemplo de defensa natural, es el estudiado por DIAMOND y cols. (59), en humanos; incluye una coordinación de efectos, y tiene relación con la inmuno respuesta innata del epitelio respiratorio, donde se mantiene un medio ambiente antimicrobiano para evitar la colonización por microorganismos agresores del aire inspirado. Sus mecanismos, además de disponer de péptidos antimicrobianos y proteínas en el *mucus*, se complementan con la eliminación física de los patógenos mediante aclaramiento ciliar y tos, seguido por el reclutamiento de células fagocíticas junto a una respuesta inflamatoria que detiene la infección. Las células epiteliales reconocen los patrones patógeno-asociados sobre los microorganismos mediante los receptores CD14 y los de tipo TOLL para, después de una señal de transducción, producir una transcripción incrementada de los genes que intervienen en esta respuesta innata.

También, hace tres años, GARCÍA OLMEDO y cols. (60) identificaron en plantas ocho familias de péptidos antimicrobianos; los cuales tenían una estructura compacta estabilizada por 2 a 6 puentes disulfuro y un tamaño molecular entre 2 y 9 kD. Estas thioninas, defensinas y otras moléculas semejantes a la heveína y knottina, constituyen unas barreras defensivas permanentes e inducibles en algunas especies vegetales.

Más recientemente, también GARCÍA OLMEDO y su equipo (61), aislaron de tubérculos de patata un nuevo tipo de péptido antimicrobiano, la snakina-1 (SN1), que es activo frente a patógenos bacterianos y fúngicos a concentraciones inferiores a 10 μ M. Este péptido, sin aparente relación con ningún otro de los hasta ahora conocidos, tiene 63 residuos de aminoácidos, doce de los cuales son cisteínas. Sus niveles de expresión en pétalos y carpelos de flores completamente desarrolladas fueron mucho más elevados que en sépalos y estambres. Además el patrón de expresión del gen StSN1 sugiere que la proteína SN1 puede ser un componente constitutivo de barreras defensivas en órganos reproductores y de almacenamiento, especialmente en ciertas especies de plantas.

Al llegar a este punto, considero de justicia señalar que la primera noticia sobre un fenómeno de bacteriostasis en tubérculos germinados de *Solanum tuberosum*, infectados por *Erwinia carotovora*, la tuve en una reunión científica de la Sociedad Española de Microbiología en una época navideña hace aproximadamente medio siglo. Nuestro compañero de Corporación, el Dr. ROMÁN DE VICENTE informaba sobre un fenómeno de paralización de la podredumbre de tubérculos de patata durante su periodo de germinación. A este trabajo (62) siguieron varias publicaciones, muchas de ellas referidas en su discurso de ingreso en nuestra Academia (63). A la vista de los datos hoy existentes, este fenómeno, explicado por su autor como un mecanismo singular definido como citoarjesis, parece deberse a una manifestación de la defensa innata de un organismo vivo, que protege su individualidad frente a los microorganismos agresores del medio ambiente por un mecanismo ancestral con base en los genes que intervienen en su regulación.

Lenguaje molecular del individualismo biológico

Los mecanismos moleculares responsables de la defensa innata del huésped no son totalmente conocidos, aunque sí se sabe que dichos mecanismos pueden dar origen a una aparición transitoria de estructuras canaloides formadoras de poros en las membranas de los parásitos (64). Al igual que en los casos de inmunidad adaptativa, la defensa natural de esta individualidad orgánica actúa como una respuesta inducida frente a una infección y, por consiguiente, su activación —tanto en insectos como en mamíferos— requiere un reconocimiento específico previo en el que intervienen: a) las dianas moleculares del agresor que han de ser detectadas por el sistema inmunitario natural del huésped; b) los receptores encargados de reconocer esta dianas; y c) las rutas bioquímicas, subsiguientes a la señal de activación desencadenada por el contacto entre diana y receptor específico, que han de disparar la intervención de los genes codificadores. En este extenso y variado repertorio de receptores, marcadores y antígenos, integrados en las membranas de células inmunocompetentes, se encuentran los verdaderos interlocutores del lenguaje inmunológico.

Las **dianas** principales de reconocimiento en esta inmunidad innata son patrones moleculares patógeno asociados (PMPAs) que resultan ser esenciales, únicamente, para la supervivencia de los microorganismos patógenos pero no para el organismo huésped. Éste es el caso de las moléculas de peptidoglicano, lipopolisacárido, ácidos lipoteicoicos, lipoarabinomananos y mananos. Todos ellos constituyen señales inequívocas de la existencia de un patógeno gram-negativo, gram-positivo, micobacteria u hongo; lo que significa que estos patrones (PMPAs), no sólo señalan la existencia de infección sino que también discriminan entre agentes patógenos de distinta naturaleza.

En el caso de los virus, dado el peculiar mecanismo invasor del virión, este tipo de estrategia no resulta funcional; sin embargo, la existencia de protein-quinasas dependientes de RNA bicatenarios (dsRNA) ya puede constituir una posibilidad de reconocimiento molecular.

También existen otras estrategias de reconocimiento, como pueden ser la ausencia de una molécula característica del propio individuo, o la identificación de una alteración en el huésped. Entre ellas se pueden mencionar algunas alteraciones producidas en los patrones de glicosilación de glicoproteínas existentes en la superficie celular; o bien, cambios en la composición fosfolipídica de las membranas.

En cuanto a los **receptores** de «patrones moleculares» involucrados en estos procesos de inmunidad natural, están formados por proteínas estructural y funcionalmente distintas (39) dependiendo del tipo de intervención. Los sitios de unión de los receptores antigénicos surgen por mecanismos genéticos aleatorios y pueden reaccionar no sólo frente a patógenos, sino también frente a antígenos medio ambientales e incluso del propio individuo, dando lugar a enfermedades alérgicas y autoinmunes; tal como ha sido demostrado, recientemente, el sistema innato tiene también un papel importante en estas situaciones.

Entre los receptores, se pueden distinguir tres tipos de funcionamiento: a) como activadores de las rutas de lectina para activación del complemento (65) o también como opsoninas que favorecen la fagocitosis de bacterias y virus; b) como captadores de microorganismos patógenos por fagocitos y células dendríticas; y c) como moléculas iniciadoras de la señal de activación de genes requeridos para la producción de péptidos antimicrobianos y citoquinas.

Un buen ejemplo de la homología de estos receptores en organismos tan diferentes como la mosca del vinagre y los seres humanos, y que se ha conservado a lo largo de la evolución, es la familia de los receptores tipo TOLL en mamíferos («mammalian TOLL-like receptor family») (TLR) (66, 67), que juegan un papel esencial en la activación de la inmuno respuesta y son semejantes a otros receptores homólogos del género *Drosophila* (68) al participar en el control de una potente respuesta antifúngica. Estos receptores «basurero», en situación transmembranal, contienen unos dominios ricos en cisteína y leucina (LRR) y un dominio citoplásmico de señalización que es homólogo del dominio citoplásmico del receptor de interleuquina-1 (IL-1R) y, por tanto, es conocido como el dominio TOLL/IL-1R (TIR).

La proteína activada por el gen TOLL de *Drosophila* actúa como un potente antifúngico; hasta el punto de que aquellas moscas que llevan una mutación de pérdida de función en este gen TOLL, rápidamente sucumben a una infección por hongos al no ser capaces de inducir la expresión de síntesis de drosomicina (68), que es un péptido muy importante en el reconocimiento y defensa frente a estas infecciones fúngicas, aunque sí sean capaces de resistir una infección por bacterias. Por otra parte, también existe un fenotipo complementario de moscas *Drosophila* que llevan una mutación TLR, la «18-wheeler» (18W), que afecta a su capacidad para reconocer bacterias gram-negativas y excretar un péptido frente a este tipo de microorganismos: la attacina (69). Esto parece demostrar la existencia, en *Drosophila*, de diversos miembros de la familia TOLL especializados en el reconocimiento de diferentes clases de patógenos, dependiendo de la diana molecular (PMPAs) que estuviera asociada a dicho germen patógeno.

Igual que las rutas TOLL de señalamiento juegan un importante papel en la respuesta de larvas y adultos de *Drosophila* frente a infecciones microbianas, se ha demostrado la existencia de receptores del grupo TOLL-like en mamíferos, como el TLR4 en ratón, que también reconocen algunos componentes lipoproteínicos de paredes celulares y traducen las señales activadas por lipopolisacáridos en casos de infecciones microbianas (70, 71). Falta aún por ver si todos los dominios de receptores tipo TLRs de mamíferos han conservado la capacidad de discriminar entre diferentes clases de patógenos. Desde luego, existe una clara evidencia positiva de ello en algunos ejemplos muy recientes en ratón, como sucede en el caso de la proteína TLR4, relacionada con el gen LPS, que aparece mutado en la estirpe CBH/HeJ de ratones con bajas respuestas a LPS; y por ello, con una susceptibilidad incrementada a bacterias gram-negativas (72, 73) en las que interviene el LPS como diana molecular característica de las mismas. También es posible encontrar otra proteína receptora, la TLR2, existente en células de mamífero, inducida por los genes TOLL y que interviene en el reconocimiento y defensa frente a bacterias gram-positivas, cuyas dianas específicas en la pared celular son estructuras moleculares de peptidoglicano y ácido lipoteicoico (74, 75). Es probable que otros miembros de la familia TLR puedan encontrarse en ratones, que portan delecciones de genes

TLR individuales y característicos de otros PMPAs específicos para otras clases de patógenos, ya sean fúngicos (mananos y glucanos) o micobacterianos (lipoarabinomananos o muramildipéptidos).

Datos recientes han demostrado una gran similitud entre los mecanismos de defensa innata en plantas, insectos y mamíferos, en lo que se refiere al reconocimiento de patógenos, a las rutas de señalamiento y a los mecanismos efectores. Todo ello parece apuntar a la existencia de un ancestro común a partir del cual han surgido genes reguladores que, durante la evolución, se han conservado mejor que los genes que controlan actualmente las moléculas efectoras. Se ha comprobado en *Drosophila* que el dominio «rel-like» está codificado por un gen estrechamente ligado al locus «dorsal» que controla el eje dorsoventral del cuerpo durante el desarrollo embrionario.

En cuanto a las **rutas**, que es el verdadero lenguaje molecular del individualismo biológico, son diversos los estudios bioquímicos y genéticos efectuados en **insectos**; mediante ellos se ha demostrado la existencia de una cascada de señales que involucran a once genes de expresión maternal. Estos genes controlan si la proteína DORSAL es retenida en el citoplasma por la proteína CACTUS —un inhibidor proteinoide del tipo kappa- β (I- $\kappa\beta$)—, o si, por el contrario, es translocada al núcleo para actuar como un factor de transcripción. En la parte extracelular de esta cascada intervienen secuencialmente cuatro serin-proteasas para romper la proteína SPAETZLE, con el fin de transformarla en un ligando que se une a los receptores transmembrana TOLL con dos dominios, LRR extracitoplásmico (rico en leucina) y TIR intracitoplásmico (TOLL/IL-2) conocido como dominio de homología.

La activación de la ruta TOLL conduce a una cascada de acontecimientos citoplásmicos en los que se implican la proteína TUBE y la serín-treonina-quinasa PELLE, y que culmina en la fosforilación y subsiguiente degradación de CACTUS, liberando a DORSAL mediante traslocación en el núcleo (83).

LEMAITRE y cols. (76) encontraron que el conjunto de genes SPAETZLE-TOLL-CACTUS se expresan también en las células del

cuerpo graso de *Drosophila* y que esta expresión se dispara por una agresión al sistema inmune producida por una sepsis microbiana, como sucede en el caso de la síntesis peptídica de drosomicina frente a una infección por hongos (76). Dicha síntesis no resulta afectada por mutaciones en los dos extremos de la cascada señaladora dorsoventral.

Todos estos primitivos mecanismos de defensa innata, inducida en el huésped, están mediados por la activación transcripcional de genes de inmuno respuesta. En *Drosophila* (77, 78) y después en otros insectos (76) fue donde primero se descubrió el papel de los receptores TOLL y un factor de transcripción «rel-containing» para la inmunidad (79). Entre los distintos factores de transcripción, existe una familia, heterodimérica, que es la correspondiente al grupo kappa (Rel/NF- κ) y que es un sistema muy antiguo que participa activamente en las señales intracelulares de defensa innata del huésped, tanto en *Drosophila* como en mamíferos (80). No están totalmente definidos todos los mecanismos que intervienen en la activación de los receptores TOLL, aunque se sabe que la respuesta parte de la unión de un adaptador proteico (AP) al complejo del receptor (81).

En **humanos**, la activación de los receptores TOLL, se produce mediante la reunión de una proteína adaptadora (AP), la MyD88, al complejo del receptor. Esta MyD88 consta de un dominio de muerte N-terminal (DD) y un dominio C-terminal (TIR). Dicho dominio TIR condiciona una interacción homofílica con los dominios TIR de uno de los receptores de la familia TOLL, el TLR4 y el IL-1R, mientras que el dominio N-terminal interactúa con el «death domain» (DD) de la quinasa asociado al receptor IL-1 (IRAK); que es una serín-treonin-proteína-quinasa homóloga a la protein-quinasa PELLE, un factor que participa en la ruta TOLL en *Drosophila*. Por otra parte, también hay que señalar que el receptor TLR4 tiene un dominio rico en leucina (LRR) y otro dominio de homología TOLL/IL-1R (TIR).

En esta secuencia de reacciones, la proteína adaptadora MyD88 une la proteína IRAK al complejo del receptor, con lo que se activa por un mecanismo aún desconocido y se produce una autofosforilación. Una vez alcanzado el estado de IRAK autofosforilado, este factor, se disocia del MyD88 y se asocia con otra proteína adaptadora, la

TRAF6, que es un miembro del grupo conocido como factores asociados al receptor del factor necrosante de tumores (TNF) y de aquí su nombre (TRAF). Todavía no se conoce bien su mecanismo de acción, excepto que se asocia con varios miembros de la protein-quinasa-quinasa activada por mitógeno (MAP3K), y se conocen familiarmente como quinasa inductora de NF- κ B (NIK), quinasa estimulante de apoptosis (ASK-1) y quinasa del factor β -activador del crecimiento transformante. La TRAF también puede asociarse y activar a otros miembros de la familia MAP3K, como es la protein-quinasa regulada por señales extracelulares tres quinasa (MEKK-1). No se sabe con certeza cómo las MAP3Ks están específicamente involucradas en la activación del factor nuclear NF- κ B por el sistema TOLL, pero se ha establecido que las proteínas NIK y MEKK-1, en esta cascada de reacciones fosforilantes, pueden activar las I κ B kinasas (IKK) e IKK2 que, a su vez, pueden fosforilar la proteína I κ B induciendo su degradación y la translocación del NF- κ B al núcleo, activando así los genes de la inmuno respuesta innata.

En **insectos** y entre ellos, en *Drosophila*, se ha observado que para la activación del receptor TOLL en respuesta a una infección, también se induce la ruta de señalamiento NF- κ B; en ella, aunque no se conoce al completo, se ha identificado la proteína más próxima al receptor, conocida como proteína adaptadora TUBE que, por su dominio terminal DD, recluta a la serin-treonin-protein quinasa PELLE uniéndola al complejo del receptor en una interacción semejante a la que se produce en humanos con las proteínas MyD88 e IRAK. Seguidamente, mediante una cascada de reacciones no bien conocidas, se estimula la familia de factores de transcripción Rel/NF- κ B, tal como el factor DORSAL.

Abreviaturas:

Lipopolisacáridos (LPS); proteínas permeabilizantes de adhesión a PMPAs (LBP ó BPI, SPAETZLE), receptores de membrana (TLR4 y TOLL); dominios citoplásmicos de señalización (LRR, TIR, DD); proteínas adaptadoras al complejo del receptor (MyD88, TUBE); serin-treonin-protein-quinasas asociadas al receptor (IRAK, PELLE); proteína adaptadora (TRAF6); quinasa inductora de NF- κ B (NIK); proteínas fosforilantes (IKK, IKK2); factor inhibidor de la translocación al núcleo inductor de inmuno-respuesta (I κ B); inhibidor proteicoide I- κ B (CACTUS); factor de transcripción en la cascada citoplásmica (DORSAL); factor dorsal inmunorelacionado (DIF); factor inductor nuclear de la familia kappa (NF- κ B); membrana celular (MC); membrana nuclear (MN).

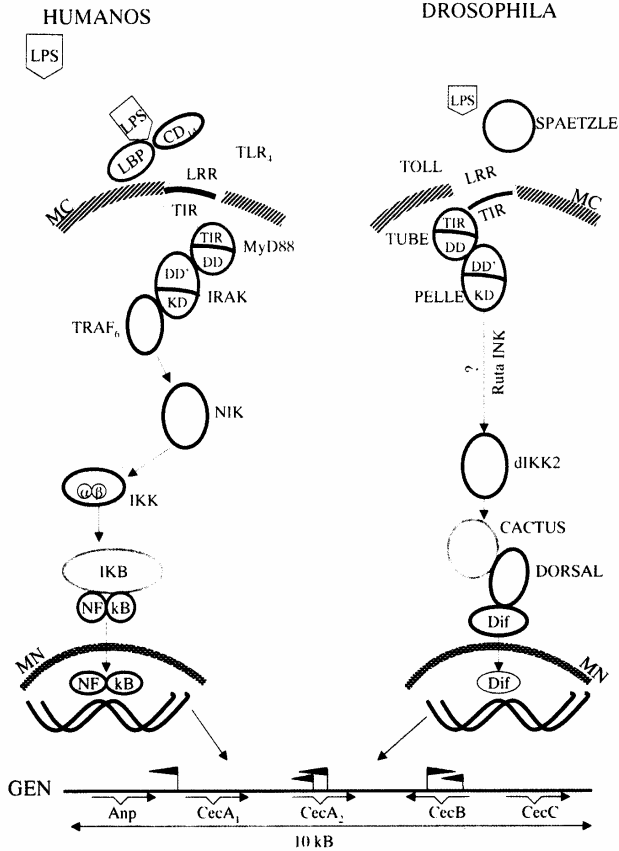


Figura 1. Similitud de rutas bioquímicas de señalamiento, iniciadas por contacto entre un patrón molecular patógeno-asociado (LPs) y los receptores TLR4 (humanos) y TOLL (insectos) para activación de genes reguladores de inmunorrespuesta sintetizadores de péptidos. En el ejemplo: andropina (Anp), cecropinas (Cec), dipterocinas u otros; según datos de Hoffman y col. (18) y Boman (7).

MEDZHITOV y JANEWAY (82) han identificado en *Drosophila* dos proteínas TRAF, las dTRAF1 y dTRAF6; la primera de ellas (dTRAF1), como la TRAF1 humana, carece de dominio «RING finger», mientras que la secuencia de la segunda (dTRAF6) resulta ser la más parecida a las proteínas TRAF6 humana y de ratón. Esta familia de protein-quinasas activan la ruta de señalamiento dJNK en la que existe una dIKK2 similar a la IKK humana, que fosforila e induce la degradación del factor CACTUS —homólogo del I κ B humano— y que, por sobreexpresión o mediante un mutante constitutivo activado, el dIKK(T197E), produce la activación de un conjunto dependiente del factor NF- κ B en una línea celular de *Drosophila* que, ya antes, era conocido por varios autores como un factor heterodimérico de transcripción, el «dorsal-related immunity factor» (DIF) que está ligado a su respectivo inhibidor y estrechamente relacionado con DORSAL.

La figura 1 da una idea resumida de la similitud de rutas bioquímicas para la activación transcripcional de genes reguladores de inmuno respuesta innata con producción de péptidos, tanto en humanos como en insectos.

Como se puede ver las serin-treonin-protein-quinasas IRAK (en humanos) y PELLE (en insectos) señalando las rutas TOLL, parecen pertenecer a una subfamilia de protein-quinasas especializadas que actúan en las rutas de defensa del huésped. Por ello, es de gran interés la existencia de una subfamilia múltiple de protein-quinasas que se han identificado también en plantas como productos de genes de resistencia a infecciones por fitoparásitos. La mayoría de los miembros de esta subfamilia, identificados hasta la fecha, son componentes de varias rutas de defensa del huésped en plantas y animales y son agrupadas bajo la denominación de serin-treonin-quinasas de inmunidad innata (SIKs) (83). El hecho de que muestren un extraordinario grado de conservación funcional y el uso de modelos relativos a otras quinazas de origen vegetal, como FEN, Pti, y Pto. Ha permitido identificar otras varias quinazas relacionadas con la defensa innata del individualismo biológico.

Por otra parte, MARTIN, en el «46 Benzam Symposium» sobre mecanismos moleculares de inmuno respuestas (22), también detalla una regulación de la defensa innata en **plantas** a través de la ruta Pto-

Avr-Pto, en la que la proteína Pto codifica una serin/treonin-proteína-quinasa que parece ser activada por una proteína avirulenta de la bacteria para, a continuación, interactuar con tres supuestos factores de transcripción (Pti4, Pti5 y Pti6) que, a su vez, interactúan con elementos presentes en promotores de varios genes de la secuencia 5'-AGCCGCC-3' y que están involucrados en la defensa antimicrobiana mediante proteínas relacionadas con la patogénesis de vegetales.

En cuanto a la transducción de señales en el reino vegetal, en cuyas estructuras no se encuentran células movilizables, las señales de inmuno respuesta para inducir el estado resistente en la planta entera, se producen a través de diversas rutas de activación de genes capaces de producir péptidos antibacterianos. Según BROEKAERT (22), en el género *Arabidopsis* existen, al menos, tres diferentes sistemas de transducción para inducir inmuno resistencia en plantas frente a distintos grupos de patógenos. Así, moléculas de etileno y jasmonato activan un gen para producir varias defensinas, que son las moléculas efectoras antimicrobianas con mayor difusión entre las plantas; otros genes activan quitinasa y una molécula semejante a la heveína; mientras que la ruta salicilato-dependiente es importante para poner en funcionamiento genes capaces de codificar la síntesis de proteínas antimicrobianas como la PR-1, la β -1,3-glucanasa y otra semejante a la thaumatina. Existe también una ruta capaz de inducir la síntesis de otra sustancia antimicrobiana, la camalexina, en la que participan compuestos intermediarios oxígeno reactivos.

También, según han comprobado GARCÍA OLMEDO y cols. (60), la sobreexpresión transgénica de los genes reguladores de péptidos tipo thioninas, defensinas y otros semejantes a heveínas y knottinas, encontrados por ellos en plantas, conduce una tolerancia incrementada frente a patógenos y a una reducción de la virulencia en mutantes patógenos péptido-sensibles. En cuanto a la snakina-1 (SN1), el péptido recientemente descubierto por este grupo investigador (61), se ha demostrado mediante sonda de cDNA la expresión del gen StSN1 en tubérculos, tallos, y yemas axilares, así como en yemas florales jóvenes.

Una vez más la similitud encontrada en las rutas de activación transcripcional que operan en plantas, insectos y mamíferos seña-

lando los mecanismos especializados que controlan la defensa innata del huésped mediante factores del tipo REL/NF- κ B, hace pensar que estos mecanismos de inmuno respuesta aparecieron muy tempranamente en la evolución como defensa del individualismo biológico y se han conservado durante millones de años.

En cuanto a la estructura e intervención de los elementos genéticos en la producción de péptidos antimicrobianos, BOMAN señala en su última revisión (1) que los genes de cecropina y defensiva están divididos y separados por un intrón y son más sencillos que los genes que codifican la cathelicidina, cuya estructura consta de tres exones (e1, e2, e3), altamente conservados, y de otro exon (e4) que constituye la parte variable; la cual, codifica para efectos totalmente diferentes en humanos, cerdos, vacas, conejos, ratones y corderos. En humanos se ha encontrado tan sólo un gen que codifica para cathelicidina, mientras que en las otras especies citadas existen varios genes capaces de sintetizar este péptido. También en humanos y en cerdos, el intrón e3 aparece sorprendentemente bien conservado y hay motivos para pensar que, en el fenómeno, potencialmente, podría estar involucrado un barajamiento («shuffling») de exones (84). La región promotora de este gen tiene sitios de unión para los factores NF- κ B, NF-IL6 y también para un factor de respuesta de fase aguda (APRF). En la Fig. 2, a modo de ejemplo, se representa esquemáticamente un gen codificador de la producción de péptidos antimicrobianos.

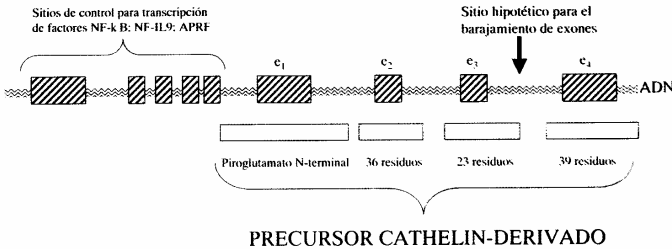


Figura 2. Ejemplo esquemático de un gen regulador de inmuno-respuestas sintetizador de péptidos antimicrobianos tipo cathelinas.

Mecanismos de evasión frente a la Inmunidad Innata

Frente a los mecanismos efectores de la inmunodefensa innata, los diferentes microorganismos agresores son capaces de desarrollar estrategias diversas con el fin de evitar o neutralizar estos procesos que protegen al huésped. Por lo general, esta acción evasora corre a cargo de diferentes enzimas y así, por ejemplo, en el reino vegetal se encuentra una gran variedad de β -1-3 glucanasas y quitinasas, capaces de degradar en pocos segundos a una cantidad de biopolímeros con acción antimicrobiana. De aquí que, mutantes de plantas de tabaco deficientes en β -1-3 glucanasa muestren una marcada susceptibilidad a infecciones por virus del mosaico del tabaco y también frente al virus necrosante del tabaco. Ello es debido, probablemente, a una degradación reducida del «callo» de la planta, que normalmente funciona como una barrera física frente a la difusión del virus.

Por otra parte, en monocitos humanos, también han sido identificadas recientemente algunas quitinasas que parecen actuar como un mecanismo evasor de la acción antimicrobiana en mamíferos.

En el «46 Benzam Symposium» celebrado en Copenhague en agosto del 99, científicos de diversas disciplinas se ocuparon ampliamente de los mecanismos moleculares de la inmunidad innata (22). Así el americano PLOEGH describió cómo algunos virus eran capaces de burlar los sistemas de reconocimiento para la defensa del huésped, como es el caso de diferentes productos de un gen de citomegalovirus que es capaz de interferir la presentación del antígeno por el sistema MHC a las células T citotóxicas.

GROISMAN (22), en el Simposium anteriormente citado, también presentó datos sobre posibles mecanismos de resistencia dinámica en bacterias Gram-negativas y demuestra que la sensibilidad o resistencia de algunos de estos microorganismos depende de la estructura específica de los fosfolípidos que integran su membrana. Dicha composición estructural puede ser modificada por la activación de unos genes de resistencia junto con la participación del Mg^{2+} . En estos casos, los péptidos catiónicos desplazan el Mg^{2+} desde el LPS y lo insertan en su propia membrana bacteriana. Los sensores de dos componentes (phpP/PhoQ y PmrA/PmrB), presentes en la

membrana de algunos patógenos Gram-negativos, llegan a poder ser fosforilados cuando los niveles de Mg^{2+} están bajos en dicha membrana. Esta situación conduce a la activación de los genes de resistencia y a la modificación de la estructura fosfolipídica del microorganismo, generando una mayor resistencia a los péptidos antibióticos. Por otra parte, también existen adaptaciones bacterianas frente a respuestas innatas que son producidas por ciertos factores de virulencia con capacidad para interferir en algunas rutas de transducción de señales proinflamatorias (85).

Asimismo, en la defensa inmunológica antitumoral, se han encontrado clones de linfocitos T citotóxicos (CTLs) que presentan una tolerancia o anergia para ciertos antígenos silentes que es posible encontrar en huéspedes con tumores. La existencia de estos antígenos silentes, responsables de la evasión de tumores por ignorancia inmunológica (86), es debida al origen clonal y a una serie de modificaciones genéticas en el desarrollo del cáncer, que condiciona el que una simple célula cancerosa pueda expresar múltiples proteínas celulares (antígenos) que proceden cuali o cuantitativamente de la célula parental. La evidencia de que muchos epitopos CTL silentes, presentados por células tumorales, no sean capaces de inducir respuestas en estos linfocitos T citotóxicos, suministra una prueba de que existen respuestas CTL inadecuadas en humanos y en animales experimentales que explican la posibilidad de evasión de ciertos tumores frente a la defensa inmunitaria del huésped.

Modificaciones de la inmuno respuesta innata por envejecimiento

La integridad somática del individuo depende de una serie de mecanismos de defensa celular en continua actividad. Por tanto, el envejecimiento no puede considerarse como una simple consecuencia de modificaciones moleculares y celulares en el organismo, sino que es un fenómeno complejo que depende tanto de factores individuales y socio culturales como del fallo de tres sistemas orgánicos integrados en un complejo neuro-inmuno-endocrino que va evolucionando como un todo.

Para algunos autores, revisados por COSSARIZZA y cols. (87), los conceptos de inmunodeterioro e inmunosenectud son sinónimos. Suponen que todo el sistema inmunitario sufre un colapso con la edad y se producen cambios que se consideran paradigmas de una inmuno respuesta defectuosa. Estas alteraciones que, en general, afectan al mecanismo de regulación de la inmunidad y a las interrelaciones con otros sistemas del organismo, pueden producir un aumento de cuadros tumorales y de infecciones, una disminución en la producción de anticuerpos frente a agresores extraños y un posible incremento en los niveles de autoanticuerpos. Asimismo, también pueden aparecer una deficiente actividad en células NK y alguna disminución en la proliferación de linfocitos T. Dichas alteraciones se reflejan claramente, tanto en la funcionalidad de las células NK y los granulocitos como en la de las citoquinas y las moléculas de adhesión.

En la amplia bibliografía consultada hemos observado una gran disparidad de criterios en relación con la influencia de la edad sobre el sistema inmunitario, tal como revisan GINALDI y cols. (88). Para algunos autores, la inmuno respuesta innata resulta afectada, tanto en los fenómenos de quimiotaxis, fagocitosis y citotoxicidad natural como en la producción de mediadores solubles, ya sea en las funciones de las moléculas de adhesión o en la producción de citoquinas. Sin embargo, para otros, en poblaciones envejecidas de roedores y de humanos, tan solo aparecen escasos y anecdóticos cuadros de inmunodeficiencias, como los que se observan en personas sanas de 80 a 85 años.

Por ello, el examen de las funciones fagocitarias, como mecanismo primario en la eliminación de la mayoría de los organismos patógenos extracelulares, tiene un gran interés en inmunogerontología. Algunos estudios sobre la función granulocítica en personas ancianas han llevado a conclusiones no concordantes, aunque generalmente hacen pensar que existe una cierta disminución en sus actividades funcionales (89). Estas alteraciones pueden llegar a afectar a las distintas fases de actividad granulocítica de las células PMN, ya sea en la quimiotaxis, fagocitosis propiamente dicha, degranulación, etc. tal como se observa en las pruebas de reducción del azul de tetrazolio y en estudios mediante citometría de flujo (90).

Las investigaciones mediante citometría de flujo en relación con el análisis fenotípico de las células y la funcionalidad mitocondrial, así como sobre la proliferación celular y apoptosis, han permitido describir la evolución de algunas funciones fisiológicas durante el envejecimiento y longevidad. Se ha comprobado que con la edad aumentan algunos parámetros, en tanto que otros disminuyen y a la vez, otros, pueden permanecer invariables, dando lugar a una continua remodelación del sistema inmunitario, en un intento de buscar la adaptación dinámica continuada entre las condiciones vitales y el medio ambiente exterior.

En relación con la respuesta innata, activa defensora del individualismo biológico, se ha comprobado que sus mecanismos son plenamente capaces de preservar la integridad del cuerpo en ausencia de una inmunidad adaptativa (91, 92, 93) que, por ser más sofisticada, resulta más lábil y por tanto más propensa a alteraciones condicionadas por envejecimiento del organismo. Esta ancestral inmunidad innata, que siendo más sencilla resulta ser la más resistente a cambios relacionados con la prolongación de la edad, ha conseguido sobrevivir durante los avatares de la evolución debido, precisamente, a sus características de economía biológica y a sus propiedades conservadoras. Así, COSSARIZZA y cols. (87), estudiando las variaciones en el fenotipo de las células NK de sangre periférica de ancianos sanos (incluso centenarios), encontraron aumentos de células NK con elevada actividad (CD16+, CD57-); en tanto que en las de capacidad intermedia (CD16+, CD57+) y en las de baja capacidad (CD57+, CD16-), tan solo encontraron modificaciones menores.

La diversidad de resultados que hemos encontrado en los diferentes autores consultados se corresponden, lógicamente, con los distintos criterios de inclusión o exclusión para los grupos de edad seleccionados, ya fueran centenarios, de mediana edad (50-68 años) o jóvenes (19-36 años). Las células NK procedentes de centenarios sanos, demostraron una gran actividad frente a células diana así como una capacidad migratoria, respondiendo a estímulos quimiotácticos, que eran superiores a los encontrados en individuos más jóvenes (87). La frecuente aparición de cuadros infecciosos, que puede observarse, es debido a cambios patológicos u otras alteracio-

nes del sistema inmune como sucede en casos de síndrome de Down, en los que existe un envejecimiento precoz; en estos casos, se observa un fenómeno de expansión de células NK (94) con una capacidad funcional altamente disminuida (95).

LEVY y cols (96) opinan que una disminución persistente en la actividad NK por envejecimiento o estrés es un pronóstico de morbilidad infecciosa. Por el contrario, una bien conservada actividad de las células NK, puede ayudar a alcanzar la edad de centenario. En personas ancianas, el incremento de células con marcadores NK y linfocitos no MHC restringidos, podría interpretarse como un mecanismo compensador frente a una disminución en número de células T (97). Esto nos lleva a plantearnos una disyuntiva de difícil contestación: o bien la inmuno respuesta innata permanece bien conservada y eficiente sin sufrir un deterioro significativo por la edad; o resulta que solamente llegan a centenarios aquella minoría que siempre tuvo bien sus mecanismos de defensa innata.

Por otra parte, se ha visto que el envejecimiento puede ir acompañado de alteraciones en la expresión de moléculas de superficie celular, como en las células CD56 y en otras relacionadas con receptores de IL-2 o de adhesión neural como las N-CAM; así, durante la senectud, pueden producirse variaciones modificadoras de afinidad capaces de perturbar la disponibilidad de la IL-2 o la sensibilidad a esta citoquina (98).

Como quiera que la función fagocitaria es uno de los mecanismos primarios de la defensa natural o innata para eliminar patógenos extracelulares, su estudio es de gran importancia clínica. Efectuando este estudio en sujetos que cumplieran unas condiciones determinadas de salud, establecidas en el protocolo SENIEUR para estudios inmunogerontológicos, se ha comprobado que la edad no afecta a la respuesta fagocitaria frente a bacterias y levaduras, tanto en su frecuencia e índice de actividad como en la producción de superóxidos (99, 100). Sin embargo, las respuestas quimiotácticas derivadas del complemento, pueden aparecer significativamente disminuidas en individuos sanos por efecto de la edad y por factores nutricionales, mientras que la adherencia de neutrófilos resulta ser normal o incluso mas elevada (101, 102, 103).

ESPARZA y cols. (90), mediante análisis citométricos, realizaron interesantes estudios sobre la expresión de marcadores de superficie en linfocitos polimorfonucleares (PMN) y encontraron un alto nivel de células CD15 y CD11b, pero no de CD11a ni de CD11c entre los neutrófilos de ancianos. Las células CD15 intervienen positivamente en la adhesión de los neutrófilos a células endoteliales y plaquetas, mientras que las células con receptores del grupo integrina β -2, como son las CD11a, b, c, están involucradas en la adhesión célula-sustrato y en la transducción de señales desde la matriz celular para regular tanto el crecimiento como la expresión de genes, la diferenciación celular, y su tamaño y motilidad, así como también la arquitectura del citoesqueleto.

Estos mismos autores (90), en personas sanas, observaron una combustión respiratoria normal coincidente con una actividad fagocitaria disminuida; lo que suponen es debido a una disfunción en los mecanismos de activación intracelular producido por los receptores C3bc (CD11b). También han podido observar una capacidad fagocitaria mediada por receptores Fc, que aparece disminuida en neutrófilos activados y con una combustión oxidativa incrementada. Toda esta descoordinación entre la capacidad fagocitaria y el grado de combustión respiratoria de la células, puede ser debida a algunas modificaciones en las rutas de activación y en los marcadores que posean ligandos de E-selectina y de β 2-integrinas (104).

En cuanto a las interacciones célula-célula, mediadas por moléculas de adhesión (CAM), con el paso de los años parece observarse un aumento en la expresión de estas proteínas ligadas a membrana y, consecuentemente, un aumento también en los procesos de adherencia celular (88) que van acompañados de incrementos en la densidad de expresión de las integrinas sobre las células CD4+ y CD8+ (105), así como en la expresión de CD11 en individuos sexagenarios (106).

En ocasiones, también se producen desequilibrios o disfunciones en moléculas de adhesión celular, que pueden afectar a poblaciones de monocitos involucrados en respuestas proliferativas localizadas en sitios de infección o inflamación, en cuyo caso pueden disminuir las subpoblaciones de monocitos CD11/CD18 con antígeno (LFA-1) asociado a la función linfocitaria (107, 108).

Algunos autores (109) han comprobado que para que los linfocitos T puedan responder en condiciones óptimas a la IL-2, requieren en la interacción LFA-1/ICAM-1, una molécula de adhesión intercelular CD54; la cual, tiene un papel crucial para producir señales de transducción durante el contacto célula-célula al incrementar la expresión de receptores IL-2 de alta afinidad. Esta interacción, en personas de edad, puede producir una expresión menor en los receptores IL-2 de alta afinidad en células T activadas (110).

Por último, en cuanto a las citoquinas y su papel en la diferenciación, proliferación y supervivencia de células linfoides, también se ha comprobado que durante el proceso de envejecimiento del individuo puede existir una alteración que afecte al equilibrio entre estas moléculas, aumentando unas y disminuyendo otras, para dar lugar a desplazamientos en la polarización de citoquinas predominantes en las células T (111). Este fenómeno es de gran interés a la luz de otros recientes hallazgos en relación con la diferente mortalidad en células Th1 y Th2 con la implicación del fenómeno de apoptosis (112). El incremento de la producción de citoquinas proinflamatorias por células mononucleadas de sujetos sanos de la tercera edad puede ser relevante para ciertos cuadros patológicos asociados con el envejecimiento, incluyendo aterosclerosis, osteoporosis, fibrosis y demencia; lo cual puede explicar parcialmente la existencia de moléculas de adhesión (CAM), cuya expresión está aumentada anormalmente.

El hecho de que, en ocasiones, no aparezcan estos cuadros en individuos centenarios sanos (87) lleva a pensar que la relación citoquinas-enfermedad puede ser debida a anomalías intrínsecas de las células o a cambios en el microambiente al que están expuestas. Estas anomalías por envejecimiento en la excreción de citoquinas, no solamente son «citoquina-específicas» sino también «estímulo-específicas».

Infecciones inaparentes en personas ancianas podrían causar activación de monocitos y liberación de antagonistas de citoquinas que reducen la producción de IL-2 y la capacidad de las células T para proliferar; lo cual da lugar a una inhibición de la inmuno respuesta (113).

Del mismo modo pueden producirse cambios relacionados con la edad que se traducen en una disminución de la producción de IFN- γ . Esta reducción puede ser consecuencia de una inhibición en el crecimiento de la población CD45RO+ productora de IFN- γ que resulta lógica a causa de la disminución de la población CD8+; o también por aumentos en las concentraciones de IL-10 que inhibe la concentración de este IFN (114). Cuando estas modificaciones se producen a nivel tisular, se aumentan los cuadros de hipersensibilidad retardada y disminuyen las defensas del huésped frente a una infección.

Resumiendo, y de acuerdo con la teoría de FRANCESCHI (115) relativa al remodelado biológico que ocurre en la senectud, los datos comentados revelan un complejo escenario donde la inmunidad clonotípica se deteriora mientras que la inmunidad innata, preservadora ancestral del individuo, es ampliamente conservada o incluso regulada con la edad. Bajo una perspectiva evolutiva, los antígenos son la causa de un persistente estrés antigénico de larga duración, responsable de la acumulación de células T efectoras CD8+/CD28-, de la disminución de células vírgenes (CD95-) y de la acusada merma en el repertorio de células T con la edad. Coincidiendo con esto, la citotoxicidad NK, quimiotaxis, fagocitosis y actividades del complemento permanecen invariables o débilmente afectadas en relación con la inmunidad clonotípica. Por tanto, la inmunosenectud no es un fenómeno de deterioro aleatorio sino que, por el contrario, parece recapitular sobre un patrón evolutivo. En conjunto, la inmunosenectud puede ser considerada como el resultado del desafío continuo por la inevitable exposición a una gran variedad de antígenos potenciales (virus, bacterias, hongos, alimentos y moléculas propias). Desde esta perspectiva, los antígenos no son otra cosa que un tipo particular de agresores y la inmunosenectud parece ser el precio pagado a la memoria inmunológica junto con la involución típica y disminución del recambio de linfocitos T, ya que con la edad se produce un vaciado de células T vírgenes y el organismo queda predispuesto a enfermedades infecciosas y no infecciosas.

Inmunodefensa del individualismo durante la gestación

Durante mucho tiempo se ha especulado sobre el problema de cómo el feto es capaz de evitar el rechazo inmune materno sin comprometer a su huésped y realizarlo a partir de un mecanismo simple. El hecho de que se haya demostrado que la inmunidad innata tiene un papel regulador crítico en la instrucción de la subsiguiente inmuno respuesta adquirida (116), hace pensar en su intervención en este intrigante fenómeno. De aquí que EKERFELT y cols. (117) estudiaran cómo y por qué ocurría esta modulación de la respuesta inmune específica durante el embarazo.

Según parece, el sistema inmune materno, probablemente, podría ser modulado como un todo por varias rutas durante el curso del embarazo; bien sea a través de la expresión del HLA-G del trofoblasto, o mediante la supresión de la actividad celular NK, o incluso utilizando una respuesta orientada al fenotipo Th2 en la madre; y también, es posible que varias adaptaciones a la nueva situación pudieran operar en paralelo. Por el mencionado trabajo de EKERFELT y cols., se tiene una evidencia clara de que el embarazo está asociado con un cierto grado de respuesta orientada al fenotipo Th2 en la madre, aunque no es seguro si esto es un fenómeno generalizado o tan sólo ocurre específicamente para antígenos fetales. Se ha demostrado que los linfocitos de sangre periférica materna han suprimido las respuestas Th1 a estímulos mitogénicos, mientras que los leucocitos parentales incrementan selectivamente la secreción de IL-4 en sangre periférica de mujeres que están en proceso de gestación normal (117). Esta IL-4, en neonatos, produce una regulación diferencial de las respuestas antígeno-independientes de las células T (118) y también puede modular la activación LPS-inducida de células B inmaduras, cuando éstas son inhibidas por anticuerpos anti- μ y anti- δ (119).

Todo esto parece estar de acuerdo con los conceptos actuales acerca de la función de las células T durante la gestación (120), aunque resaltando la interacción rectora de la inmunidad innata hacia la inmunidad específica con participación de muchos de los componentes de la primera (incluyendo los monocitos) que resultan activados durante el embarazo. Dicha activación puede producirse

en la forma de expresión de antígenos de superficie, mediante producción de IL-12, o por un efecto metabólico del catabolismo del triptófano (121).

Queda por ver cómo surge la inmunodefensa de la individualidad en el neonato cuando se produce la transición de un estado de parasitismo intrauterino a otro de autosuficiencia extrauterina. Este nacer a la vida constituye el mayor acontecimiento fisiológico: cuando el sistema inmune se enfrenta al desafío de abandonar un medio ambiente estéril, en el que no precisa de ninguna respuesta, a un mundo plagado de microorganismos donde la protección resulta vital. MARSHALL-CLARKE y cols. (122), preocupados por la escasa atención prestada por los científicos a tan importante problema, se han ocupado de investigar sobre el desarrollo de esta inmunocompetencia del neonato frente a las infecciones.

El hecho de que puedan generarse inmuno respuestas en neonatos, e incluso en la vida fetal y el que linfocitos neonatales sean especialmente susceptibles a la inducción de tolerancia (123), hace pensar en la existencia de una inmunidad innata consustancial con el ser, que se encargará de proteger e instruir al sistema inmunitario del recién nacido. Así, algunos antígenos de polisacárido pueden activar la cascada del complemento por la vía alternativa, estimulando la inmunogenicidad en células B o en células presentadoras de antígeno (APCs) existentes en la zona marginal; o también, aumentar las respuestas de las células B permitiendo la coligación de sus receptores (BCR) y CD21 sobre dichas células B. Es importante conocer bien el sistema inmune neonatal y su capacidad de respuesta frente a la gran diversidad de antígenos para poder conseguir una buena protección en la vida temprana del nuevo ser. Según RIDGE y cols. (123), ha quedado demostrado que la tolerancia neonatal se debe a que la naturaleza de las células presentadoras de antígeno determina si el resultado ha de ser tolerancia neonatal o inmunización.

Recientemente, LEVY y cols. (124), estudiando la inmuno respuesta innata en extractos de neutrófilos de recién nacidos y comparando los datos con los obtenidos en extractos procedentes de personas adultas, han encontrado que los primeros contenían al menos tres a cuatro veces menos de la proteína bactericida incre-

mentadora de la permeabilidad (BPI). Esta deficiencia no parece atribuible a una degranulación relacionada con el estrés perinatal porque los neutrófilos de recién nacidos y adultos contenían casi idénticas cantidades de los dos constituyentes microbicidas derivados de los gránulos azurófilos (defensinas y mieloperoxidasa); mientras que los niveles plasmáticos de BPI, en neonatos, son equivalentes al 2 % del contenido celular de esta BPI. Según estos datos, los autores concluyen que los neutrófilos de neonatos son selectivamente deficientes en BPI, que actúa como efector central de actividad frente a bacterias Gram negativas y ello contribuye a que se produzca una mayor frecuencia de sepsis bacterianas en estos casos.

Relaciones entre la defensa innata del individualismo y la inmuno respuesta adaptativa

Ya hemos visto que la defensa innata o inespecífica, que abarca desde plantas a animales de distintos niveles de organización, se corresponde con una protección rápida, de fase aguda pero incompleta, del ser frente a distintos agentes infecciosos que han ido apareciendo durante la evolución. A su vez, esta respuesta temprana suministra las rutas o «pistas» para que el organismo huésped pueda desarrollar una respuesta más lenta, más perfecta, específica y definitiva y que ha de constituir la inmunidad adaptativa o adquirida, tanto celular como humoral.

Lo que caracteriza básicamente a la respuesta adaptativa es la expansión clonal de los linfocitos efectores para asegurar la cantidad y diversidad de receptores en sus células T y B frente a las muy diferentes moléculas antigénicas; pero, al tardar 3 a 5 días en llevarla a efecto permite una más fácil entrada del patógeno que puede actuar perjudicando al huésped hasta que, una vez desarrollada la actividad inmunitaria, permita establecer una protección duradera. Sin embargo, los mecanismos efectores de la respuesta innata son de acción inmediata y controlan rápidamente la replicación del germen infeccioso. Por tanto, la función principal de esta respuesta es contener la agresión microbiana hasta que puedan actuar los linfocitos.

Al descubrirse este tipo de respuesta defensiva natural del huésped, se produjeron algunas discrepancias entre los conceptos de inmunidad innata e inmunidad adaptativa. Sin embargo, parece lógico que las especies para sobrevivir tuvieran que crear un sistema de respuesta inmediata a una infección, para, de este modo, dar tiempo a la posterior aparición de la inmunidad adaptativa, más completa y elaborada, y con mucha mayor efectividad. De aquí, que en el sistema innato, a diferencia del adaptativo, se estableciera una capacidad de reconocimiento mediante receptores genéticamente predeterminados y, a su vez, relacionados con procesos de selección natural, permitiendo así disponer de especificidades muy definidas con capacidad para reconocer unas pocas estructuras altamente conservadas y que no existen en el huésped. De hecho, en experimentos con ratones libres de gérmenes («germ-free») se ha demostrado la presencia en su intestino de un conjunto de factores constitutivos de naturaleza peptídica que pertenecen al grupo de las defensinas (125, 126); éstas son capaces de protegerles frente a infecciones por *Aeromonas hydrophila* y su acción antibacteriana resulta modificada por tratamientos previos con cortisona.

Según AGARWAL y cols. (127), el sistema inmune adaptativo apareció hace unos 450 millones de años, cuando en el proceso evolutivo del genoma un transposón que portaba los precursores de unos genes activadores de la recombinasa RAG-1 y RAG-2 se insertó en una línea germinal de los primitivos vertebrados mandibulados. El establecimiento de esta inmunidad adaptativa, permitió a los organismos recordar a los patógenos que habían encontrado en situaciones anteriores y, entonces, la selección natural fue convirtiendo a esta inmuno respuesta en una característica universal de los vertebrados, sin que ello significara eliminar los mecanismos precedentes de la respuesta defensiva innata. Sin duda esta forma primitiva ha quedado incluida como una función auxiliar, que permite estimular y orientar a la respuesta primaria adaptativa, mediante la expresión de moléculas coestimuladoras.

De estos dos tipos de inmuno defensa, el primero, es filogenéticamente más antiguo y de alguna forma puede estar presente, presumiblemente, en todos los organismos pluricelulares. Sin embargo,

la segunda, se encuentra tan sólo en peces cartilaginosos y óseos, anfibios, reptiles, aves y mamíferos (128).

Durante el largo e imparable proceso evolutivo, en los seres más desarrollados de la escala animal, se ha ido perfeccionando esta defensa del individualismo y junto al establecimiento de una inmunidad adaptativa surgió la aparición del sistema mayor de histocompatibilidad, que es capaz de mantener un individualismo biológico a ultranza, reconociendo, diferenciando y rechazando injertos de tejidos que, incluso a veces, pertenecen a individuos familiarmente próximos.

Existe la hipótesis de que la aparición del sistema adaptativo está relacionado con la existencia de algunas regiones particulares del tracto gastrointestinal de los primitivos peces mandibulados (placodermos) (129). Ello sugiere una relación evolutiva entre este tipo de respuesta más perfeccionada y la estructura mandibular condicionada por nuevos hábitos alimenticios y otros estilos predatorios de vida. No obstante, estudios sobre el género *Hippocampus* —avanzado teleósteo perteneciente al superorden *Percomorpha*— indican que los tejidos inmunes asociados al intestino pueden estar ausentes en esta especie marina, mientras que en los modernos peces mandibulados como los ciclóstomos, esta inmunidad específica aparece más compleja y perfeccionada (129). También existen vertebrados de sangre fría (algunos saurios, lagartos de Egipto y otros) que desarrollan una inmunidad adaptativa que es inefectiva por carecer del tejido linfoide asociado al intestino (GALT), aunque son capaces de rechazar injertos con producción de débiles cantidades de anticuerpos (130). En los mamíferos, este tejido linfoide (GALT), es un tejido primario y puede tener elementos de un sistema temprano de inmunidad adaptativa.

Esta maravillosa maquinaria de la inmunidad adaptativa está presente tan solo en los vertebrados (131), mientras que en los invertebrados la capacidad de inmunodefensa se debe únicamente a la respuesta innata, que es capaz de proteger al huésped mediante una batería de células y moléculas tales como células fagocíticas, células NK, lisozima, complemento, lectinas o péptidos antimicrobianos (132). Los vertebrados también son capaces de desencadenar

una reacción de inmunidad innata que interviene principalmente en respuestas inflamatorias (133).

Al estudiar la filogenia de las proteínas inmunitarias (134), se abre una discontinuidad radical entre los sistemas inmunitarios de artrópodos y vertebrados. Así, la existencia de lisozima o la carencia de C3 del complemento, tanto en vertebrados como en invertebrados, parece indicar que el sistema innato evolucionó más tempranamente. También, el hecho de que algunos componentes clave del sistema específico, como son las inmunoglobulinas, el receptor de las células T y el complejo mayor de histocompatibilidad, no existan en invertebrados hace pensar que los complejos mecanismos adaptativos surgieron de forma súbita en la evolución de los vertebrados (135).

Se supone que la respuesta adaptativa en áreas gastrointestinales de peces primitivos apareció como defensa de esa localizada región frente a lesiones e infecciones primariamente causadas por un recién adquirido estilo de vida depredatorio, que se desarrolló en estos peces como consecuencia de la evolución hacia una boca mandibulada (136).

Se sabe que primitivos ciclóstomos se alimentaban de placton y de pequeños invertebrados de cuerpo blando por una acción succionadora de la boca abierta, mientras que los primitivos peces mandibulados extendieron su objetivo de captura de animales presa consiguiendo una ventaja selectiva sobre las especies agnatas, aunque también empezaron a ser atacados por una alta proporción de infecciones ocasionadas por microbios y parásitos alojados en su tracto gastrointestinal.

Otras causas que interrelacionan la inmunidad innata con la adaptativa, pueden ser las nuevas relaciones depredador-presa, que llegarían a generar nuevas cadenas alimenticias a través de las cuales los microbios, e incluso virus, podrían haberse difundido a otras poblaciones a través de especies barrera. El hecho de que muchas de estas bacterias puedan constituir una flora comensal que se considere benéfica para el huésped obliga, tanto a la defensa innata como a la adquirida, a poseer una capacidad que mantenga el equilibrio en estas relaciones huésped-parásito.

La aparición, en los vertebrados, de este sistema perfeccionado para la defensa del huésped no llevó a descartar la forma previa de la inmunidad innata (132); ya que, sin duda, esta forma más temprana de defensa del individuo ha sido elegida para servir de segunda función, estimulando y orientando a la inmuno respuesta adaptativa mediante el control de la expresión de moléculas coestimuladoras.

El hecho de que el sistema innato sea capaz de distinguir entre propio y extraño, sirve de modelo para que en el procesado de antígenos que se lleva a cabo por las células presentadoras de éstos en el sistema adaptativo, siempre resulten moléculas que son reconocidas por los receptores de las células competentes específicas y que son expresadas clonalmente por los linfocitos B y T. De este modo, los linfocitos circulantes del organismo, pueden identificar a los patógenos agresores, para después iniciar y amplificar las respuestas y, eventualmente, eliminar a los invasores en colaboración con otras células y moléculas.

La diferencia esencial entre ambos sistemas, innato y adquirido radica en los mecanismos de reconocimiento de microorganismos o de agentes potencialmente patógenos para el huésped. El sistema de inmunidad innata es relativamente inflexible y reconoce usualmente estructuras de carbohidratos que, al señalar la presencia de la infección, estimulan la síntesis de péptidos antimicrobianos y de otras substancias que pueden inducir respuestas inflamatorias de fase aguda.

Según una reciente revisión de MEDZHITOV y JANEWAY (137) sobre reconocimientos en inmunidad innata, será interesante conocer el cuándo y el cómo son detectados una clase de patógenos por proteínas receptoras tipo TLRs en células de mamífero; y cómo éstas son convertidas a una inducción de respuestas efectoras apropiadas al sistema de inmunidad adaptativa, puesto que éste requiere un periodo de latencia para efectuar la expansión clonal antes de que proliferen los linfocitos maduros.

Los PMPAs que funcionan en la defensa inmunitaria innata también intervienen en la inmunidad adaptativa distinguiendo inequívocamente las estructuras ajenas de los patógenos asociados. Esta

propiedad para la discriminación propio/extraño también se tiene en cuenta en el sistema adaptativo de los vertebrados.

Asimismo, la interrelación entre las inmuno respuestas innata y adaptativa condiciona fenómenos de selección negativa de linfocitos B (71). En ocasiones, la interrupción de este mecanismo natural produce autoanticuerpos frente a antígenos nucleares del huésped altamente conservados, como pueden ser proteínas ribosomales y ADN. Esto, según GOMMERMAN y CARROL (71), predispone a la aparición de enfermedades autoinmunes y a la activación de la ruta clásica del complemento (C1g, C4) con el consiguiente riesgo de aparición de cuadros de lupus eritematoso sistémico (LES). También se admite que deficiencias en componentes del complemento y en proteínas clave para reconocimientos en inmunidad natural sean factores que intervienen en la tolerancia de células B a antígenos de lupus (71a).

Las células dendríticas (DC) y macrófagos, que participan en la inmunidad natural, pueden intervenir también en reacciones de hipersensibilidad de contacto frente a sencillas moléculas químicas mediante la expresión de varias moléculas coestimuladoras y producción de citoquinas (71b). Estas respuestas alérgicas van acompañadas de activación y apoptosis de las DC sin que todavía se conozca bien cómo se produce este fenómeno.

Consecuencias patológicas por alteraciones de la Inmunidad Innata

Los patrones que rigen los procesos de reconocimiento en la inmunidad innata, protegiendo la individualidad del ser, se han conservado desde las primitivas formas vivientes hasta los humanos. Cualquier alteración en el funcionamiento de este tipo de inmuno respuesta se traducirá en un cuadro patológico o infeccioso como sucede, por ejemplo, en los casos: a) de quemaduras graves en las que el daño se intensifica no solo por la destrucción de la piel como simple barrera protectora sino porque ésta es además fuente de péptidos antimicrobianos y primera línea efectora de células tipo macrófagos; b) de fibrosis quística, por alteraciones en la salinidad

del fluido bronquial, que modifica la función de los péptidos antimicrobianos en el epitelio respiratorio permitiendo la colonización infecciosa de distintos microorganismos (138); y c) por mutaciones en genes que codifican las proteínas del complemento y de la proteína de unión a la manosa (MBP); las cuales, pueden conducir a infecciones recurrentes (139).

MEDZHITOV y JANEWAY (140), señalan que las disfunciones en el sistema innato pueden desencadenar distintos procesos patológicos relacionados con diversos mecanismos de regulación de la inmunidad. Así, por mutaciones que afecten a los receptores y moléculas de señalamiento capaces de modificar la comunicación entre distintos elementos inmunitarios, pueden producir inmunodeficiencias y alteraciones relacionadas con procesos inflamatorios, tales como cuadros asmáticos y alérgicos, artritis y enfermedades autoinmunes. También, en humanos y ratones, las mutaciones en los receptores de macrófagos para manosa y «manan-binding lectin», ocasionan una mayor susceptibilidad a infecciones; en tanto que polimorfismos de genes TLR, alterando las rutas de señalamiento del receptor TOLL-IL-1, dan lugar a procesos inflamatorios con participación de un componente todavía desconocido.

Una clara consecuencia patológica de la inmunidad natural alterada (141) son las interrupciones de comunicación entre los sistemas innato y adquirido, ocasionadas por virus patológicos que afectan a genes de células del sistema innato que intervienen en la producción de citoquinas. Así mismo existen otros virus capaces de modificar el funcionamiento del sistema complemento y con ello aumenta la infectividad. Tal es el caso del virus del sarampión y de otros como el Epstein-Barr, que utilizan dos proteínas de membrana del sistema complemento, la CD21 (142) y la CD46 (143), respectivamente, como receptores celulares de unión. De un modo análogo, el virus vacunal, que codifica una proteína a la que corresponde una estructura y función dentro del grupo de proteínas que regulan la actividad del complemento, puede modificar las inmuno respuestas (144). Por otra parte, también los helmintos son capaces de sintetizar proteínas que evitan la activación del complemento (145). Estas y otras deficiencias hereditarias sobre las proteínas del complemento se relacionan con la imposibilidad de defensa contra infecciones microbianas.

Aspectos terapéuticos relacionados con la Inmunidad Innata

Un buen conocimiento de los mecanismos de la inmunidad innata puede proporcionar nuevos instrumentos terapéuticos. Los datos que actualmente se tienen en relación con el funcionamiento de la ruta TOLL-LBP-CD14 ponen de manifiesto la existencia de nuevas dianas, de tal manera que compuestos capaces de modificar esta ruta pueden resultar efectivos en el tratamiento del *shock* séptico. Además, la capacidad para producir grandes cantidades de péptidos antimicrobianos de insectos y de mamíferos puede también proporcionar otras nuevas clases de moléculas antibióticas.

En ciertos casos, la administración de antígenos, junto con IL-12, produce fuertes respuestas de Th1 capaces de desencadenar una efectiva inmunidad protectora (146). La capacidad de la IL-12 para suprimir actividades mediadas por IL-4 se ha utilizado como vacuna «anti-patológica» para bloquear síndromes fibrosos o alérgicos (147). Moléculas procedentes de patógenos que ocasionan la liberación de IL-12 a partir de macrófagos o células dendríticas, pueden servir como potentes coadyuvantes para inducir respuestas Th1 (148). Del mismo modo, otras aproximaciones adicionales semejantes podrían modificar el bloqueo preferente de señales coestimuladoras derivadas de células que expresan B7,1 o B7,2 (149) y también, el uso de drogas formadoras de bases de Schiff podría potenciar las respuestas Th1 (150).

Algunas proteínas que los microorganismos utilizan para subvertir la inmunidad innata, tales como algunos receptores de citoquinas solubles e inhibidores del complemento, pueden servir de dianas potenciales para respuestas de inmunidad adquirida. Así mismo, pueden desarrollarse vacunas efectivas mediante la unión de C3d o carbohidratos a estos antígenos frente a determinadas dianas y fijarlas a receptores sobre células B, macrófagos y células dendríticas; con ello se pueden potenciar las respuestas de inmunidad adaptativa.

El rechazo de xenotransplantes es un proceso complejo no totalmente comprendido. Sin embargo, FOX y cols. (151) han demostrado que los xenoinjertos actúan sobre la respuesta innata, en la que es preciso el reclutamiento de monocitos para el subsiguiente reclu-

tamiento de células T y, a su vez, estas células T son necesarias para la activación de macrófagos. Por consiguiente, estas inmuno respuestas naturales podrían resultar buenas metas para actuaciones terapéuticas.

La gran biodiversidad de insectos ha generado últimamente varios estudios sobre las respuestas inmunitarias de mosquitos y de insectos transmisores de malaria (152); y éstos han suministrado una abundante información sobre sistemas modelo complementarios con los que se logran aportaciones de interés, tanto para la inmunidad innata de vertebrados como para el desarrollo de vacunas. Estos datos confirman el extraordinario interés de la conservación evolutiva a nivel de las rutas de señalamiento; las cuales, son capaces de mediar estas respuestas en especies tan distantes en la escala animal, favoreciendo las respuestas epiteliales frente a una invasión por parásitos.

El hecho de que esta inmunidad natural no sólo intervenga en la lucha frente a patógenos del medio, sino que también juegue un papel importante en dirigir y «perfilar» la inmuno respuesta adaptativa ha presentado evidencia de que los injertos, especialmente los xenotransplantes, son capaces de activar ciertas respuestas innatas requeridas por la inmunidad adaptativa, particularmente para la movilización de células T; lo cual, podría ser un importante objetivo para intervenciones terapéuticas (153).

Aplicaciones industriales de la Inmunidad Innata

Además de lo anteriormente citado sobre aplicaciones terapéuticas mediante el diseño de vacunas y coadyuvantes, es preciso mencionar aquí otras aplicaciones derivadas del enorme desarrollo alcanzado por la acuicultura en los últimos años. La necesidad de prevención y control de enfermedades en las especies marinas cultivadas, ha hecho que se desarrolle el conocimiento no sólo de la inmunidad innata y adaptativa en algunas especies marinas de mayor interés sino también la aplicación de estos conocimientos a la prevención de enfermedades. Según es sabido, en el conjunto acuícola,

los cambios hormonales tanto estacionales como por estrés, constituyen factores que afectan a la inmunidad de un modo relevante. Esta es la razón por la que se están haciendo grandes esfuerzos para mejorar los análisis funcionales de la inmunidad en estas especies, estudiando los marcadores de leucocitos y de líneas celulares B, T y macrófagos; todas ellas, espontáneamente transformadas a partir del pez gato, con el fin de utilizarlas como modelo en diferentes estudios inmunitarios. En este aspecto, PARTULA y cols (154, 155) han desarrollado interesantes técnicas con PCR aplicándolas al clonado de receptores de células T (TCR) en peces y anfibios, como han hecho con los linfocitos citotóxicos del pez gato y las células NCC, que se suponen equivalentes a las células NK de mamíferos. En la actualidad, se dispone también de genes correspondientes a marcadores moleculares de inmunoglobulinas con los que es posible una diferenciación de leucocitos.

En uno de los últimos simposios celebrados por la Organización Europea de Cooperación y Desarrollo, orientado hacia la acuicultura, se ha tratado ampliamente de temas relacionados con inmunología práctica de peces y desarrollo de vacunas; allí también se consideró el empleo potencial de genes MHC de peces, como marcadores de resistencia a las enfermedades, así como la utilización de citoquinas de ciertas especies marinas para inducir inmuno respuestas efectivas.

* * * *

A modo de Epílogo: Algunas consideraciones sobre Individualismo, Comportamiento y Sociedad.

...las conductas, como las enfermedades, se contagian de unos a otros.

FRANCIS BACON

Después de tratar sobre conocimientos actuales relativos a la inmuno respuesta innata, aparecida tempranamente en la evolución

y defensora de la individualidad biológica en plantas, artrópodos y vertebrados, parece oportuno que desde la perspectiva académica de nuestra Sección 5ª, nos preguntemos adónde nos puede conducir el individualismo en una sociedad como la actual.

El hecho de que exista una clara interrelación entre el sistema inmune y otros sistemas que afectan a la conducta, nos lleva a extrapolar desde el individualismo biológico (involuntario) al individualismo psicológico (voluntario), por constituir el comportamiento «identificador» frente a los demás, y cuyos resultados van a influir sin duda en la convivencia social.

Como en el sistema inmune, también en estos comportamientos del individuo frente a la sociedad cabe distinguir dos tipos: el **innato**, y el **adquirido**. El primero depende del genoma, mientras que el segundo es producto de la educación y del referente cultural en el que el individuo está inmerso; es decir, de las propias circunstancias personales y sociales; así como también, en mayor o menor medida, de la capacidad de autodominio sobre las propias tendencias afectivas o caprichosas. Esta rígida clasificación, innata-adquirida, tan simplista para lo biológico, no se produce a ultranza puesto que incluso en los insectos es posible encontrar una mezcla de comportamientos innato y adquirido.

A medida que se avanza en la escala animal, la fracción de comportamiento adquirido va aumentando notablemente, de pájaros a mamíferos y primates, hasta llegar al hombre en el que el comportamiento adquirido resulta ser esencial y predominante aunque exista una cierta «predisposición» a lo innato; ésta se manifiesta en el niño que, semejante a las aves, presenta una cierta proporción de tendencias innatas que orientan su aprendizaje hacia algunas directrices privilegiadas como son, en el recién nacido, los sentimientos de succión, aprehensión y llanto como solicitud de una respuesta. Esto irá seguido, a los pocos meses, del desarrollo de sentimientos de deseo, posesión o frustración, que le inician en una diversidad de comportamientos dependientes del aprendizaje en el que ya empieza a intervenir la educación; lo cual, da paso a una fase de comportamiento innato-adquirido en el que empieza a producirse la reafirmación de la personalidad infantil.

El análisis de los comportamientos derivados del individualismo, nos permite distinguir entre inteligencia específica e inteligencia individual. La primera está constituida por el conjunto de comportamientos innatos, con una capacidad de reacción semejante al instinto y es perfectamente disociable del patrimonio genético. Por el contrario, la inteligencia individual, depende de la educación y la experiencia, proporcionando una gran flexibilidad en la conducta es la que hace que, ante una misma situación, cada individuo reaccione de distinta forma dependiendo de la personalidad y del enorme repertorio de sentimientos que modulan al ser adulto.

Este desarrollo del psiquismo, mediante una conciencia reflexiva y una inteligencia individual, ha constituido la meta evolutiva que caracteriza la hominización; con ella, como en otros animales superiores, aparece la noción de pasado (memoria) y de presente (percepción) pero también, en este caso, se adquiere la de futuro; lo que ya permite a los humanos percibir, analizar, archivar e integrar la información para reutilizarla lógicamente. El aumento de la inteligencia es, en definitiva, la adquisición más original de la raza humana y lo que nos ha permitido superar a los otros homínidos estableciendo, además, sociedades bien organizadas y jerarquizadas en las que resultan mejor valorados los factores culturales y técnicos; los cuales van a conferir un mayor poder y posibilidades. Estas sociedades humanas, basadas esencialmente en relaciones culturales, constituyen un factor selectivo que ha permitido a los individuos vencer las dificultades de naturaleza psicosocial e integrarse en sistemas de convivencia; en ellos se dispone de una masa de conocimientos, tradiciones, reglas y mitos que orientan los comportamientos y hacen posible esta convivencia en grandes poblaciones. Si la adaptación al medio hace que el ser se vaya perfeccionando en su evolución, también los cambios sociales producen una adaptación de conducta y unos hábitos de comportamiento que permiten definir a las distintas sociedades que han soportado el desafío permanente de la Historia.

Así hemos llegado a esta sociedad desarrollada, de tecnología galopante, en la que los seres humanos han de someterse a una formación continuada, reciclando sus conocimientos, para no quedar desfasados y ello puede constituir un reto asumible o un estrés insalvable: expertos de la OMS han llamado la atención sobre la

grave epidemia de trastornos psiquiátricos que se expande por todos los países en diversas formas de depresión nerviosa, estrés o cansancio crónico.

Al considerar a este individualismo psicológico como «*primum movens*» responsable de los aconteceres de la sociedad humana, desde el presente y con perspectiva de futuro, deberíamos empezar por admitir que el finalizado siglo XX será recordado, en sus aspectos positivos relacionados con la convivencia y calidad de vida, por la mejora de la estructura moral del comportamiento social con la implantación de hábitos democráticos y de derechos civiles; pero sobre todo, y en particular, por sus extraordinarios avances en ciencia y tecnología. Es de desear que la utilización ambivalente que puede llevar todo descubrimiento científico no se incline hacia lo nocivo, que nos conduciría a la autodestrucción y al desequilibrio en la biodiversidad del planeta.

Si admitimos la existencia de una línea continua que relacione individualismo, educación, comunicación y convivencia, es de desear que en el siglo XXI se acompasen los adelantos científicos actuales con otros avances paralelos en el terreno de la cultura y humanismo: lo que en palabras de nuestro compañero el Prof. MAYOR ZARAGOZA equivale a pasar de la era de la información a la del conocimiento. De aquí que la humanidad esté obligada a superar un más allá mental y social que haga posible una convivencia equilibrada y positiva. Esto obliga a utilizar métodos que estimulen la reflexión y planes de estudio en los que estén muy presentes las humanidades. Todo ello, conjuntamente, proporcionará criterio y contenido a los valores culturales potenciando la creatividad. Al mismo tiempo permitirá enfrentarnos con éxito a esa civilización del ocio que se nos avecina: no olvidemos que, según BERTAND RUSSELL, «se capaz de ocupar inteligentemente los ocios es el último producto de la civilización».

Si tenemos en cuenta que los comportamientos, tanto el individual como el colectivo, resultan inevitablemente condicionados por la educación y por la influencia del contexto cultural en que vivimos, podemos preguntarnos qué pasará con las sucesivas generaciones en el tercer milenio que acabamos de iniciar.

Hemos de reconocer que pertenecemos a una sociedad eminentemente consumista, en la que los etólogos ya han detectado una tercera generación siguiente a la de los que protagonizaron el «desarrollismo», en la que muchos de sus componentes se preocupan más de la estética que de la ética; es la generación que practica «footing» para mantener la figura y descargar la tensión y en la que, para muchos de ellos, los principales valores son la autonomía individual, la propia autoestima personal, la fuerza y la velocidad. Han caído en un individualismo escéptico en el que tan solo cuenta el futuro personal, en la creencia de que la sociedad funciona por sí sola eternamente; en su código de comportamiento, la diversión ocupa un lugar preponderante y la religión no es rechazada pero tampoco tenida en cuenta como norma de conducta.

Así mismo es característica de nuestra época el fácil manejo y transmisión de la información, lo que permite descartar demorados ritos de memoria que antes se consideraba el motor de la sabiduría. El enorme desarrollo alcanzado en el campo de la informática, permitirá en un futuro próximo que la máquina, dependiendo de la cantidad de información almacenada, aprenda de sus propias experiencias, las analice y tome decisiones concordantes. Sin embargo, resulta lamentable que en esta era de la comunicación en la que mediante Internet estamos a punto de rebasar las fronteras terrestres para alcanzar dimensiones cósmicas mediante servidores orbitales provistos de radiofrecuencia, existan problemas de comunicación social entre humanos. Hay personas que parecen no tener tiempo para escucharse entre ellas y los hábitos del aislamiento musical tras sus personales auriculares, o de soliloquios frente al ordenador con CD-ROM, están más extendidos cada día. Todo ello crea, en muchas personas, sensación de soledad y propicia la fragilidad de relaciones: Cada vez se lee menos y si no administramos bien la utilización de Internet y TV volveremos, según frase de un periodista, a una educación iconográfica, típica de siglos anteriores a Jesucristo. También, hay que tener en cuenta que los medios audiovisuales según se programen, pueden inducir a irritabilidad, a violencia y a una relajación de costumbres. Por otra parte, la nueva tecnología comunicativa ha hecho aflorar una generación de ciberdelincuentes obsesionados por su propia destreza con el ordenador, creando un nuevo capítulo de delincuencia tecnológica.

Y para terminar, debemos tener en cuenta que, en esta aldea global que es el mundo en que vivimos, los adelantos y bienestar que la ciencia y la tecnología ponen hoy a nuestra disposición pueden producir resultados negativos si el individuo no hace uso de una inteligencia personal ordenada, racional y abierta a una buena convivencia. Cabe esperar que al igual que la inmunidad innata ha protegido al individuo frente al medio ambiente desde la oscura noche de los tiempos y a la vez ha regulado y orientado a la inmunidad adaptativa para su mejor inmunodefensa; también, el comportamiento innato y el adquirido, que está modulado por la educación y la cultura, puedan preservar a nuestra sociedad; y que el colectivo humano, es decir la suma de los individualismos volitivos, no sólo se limite a subsistir sino que la preocupación por el futuro le obliguen a enfrentarse con sus propias equivocaciones procurando corregirlas: vivimos una existencia incierta, teñida de variables tonos grises, y de nosotros depende ir decayendo hacia los tonos violáceos de un agotado crepúsculo o alcanzar las alegres luminarias de un prometedor amanecer.

Gracias por su atención.

REFERENCIAS

- (1) BOMAN, H. G. (2000): Innate Immunity and the normal microflora. *Immunol. Rev.* 173; 5-16.
- (2) FRANCESCHI, C.; COSSARIZZA, A.; MONTI, D. y OTTAVIANI, E. (1991): Cytotoxicity and immunocyte markers in cells from the freshwater snail *Planorbarius corneus* (L.). *Eur. J. Immunol.* 21; 489-493.
- (3) COOPER, E. L. (1979): L'evolution de l'immunité. *La Recherche* 103; 824-833.
- (4) SCHUSTER, P. (1984): Evolution between Chemistry and Biology. *Origins of Life* 14; 3-14.
- (5) NEWS (1998): The *C. elegans* consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigative biology. *Science* 282; 2012-2018.

- (6) BLAXTER, M. (1998): *Caernohabditis elegans* is a nematode. *Science* 282; 2041-2046.
- (7) BOMAN, H. G. (1995): Peptide antibiotics and their role in Innate Immunity. *Ann. Rev. Immunol.* 13; 61-92.
- (8) GOODE, J. (1994): Antimicrobial Peptides. CIBA Foundation Symposium N° 186; Ed. Chichester. Wiley, pp. 1-272.
- (9) MOORE, K. S.; WEHRLI, S.; RODER, H.; ROGERS, M.; FORREST, J. M.; Mc CRIMON, D. y ZASLOFF, M. (1993): Squalamine. An aminosterol antibiotic from the shark. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90; 1354-1358.
- (10) MATSUNAGA, T. y RAHMAN, A. (1998): What brought the adaptative immune system to vertebrates? The jaw hypothesis and the sea-horse. *Immunol. Rev.* 166; 177-186.
- (11) SIMMACO, M.; MANGONI, M. L.; BOMAN, A.; BARR, D. y BOMAN, H.G. (1998): Experimental infections in *Rana esculenta* with *Aeromonas hydrophila*: A molecular mechanism for the control of the natural flora. *Scand. J. Immunol.* 48; 357-363.
- (12) GRAF, J. (1999): Symbiosis of *Aeromonas veronii*, *Biovar sorbia* and *Hirudo medicinalis*, the medicinal leech: a novel model for digestive tract associations. *Infect. Immun.* 67; 1-7.
- (13) LEE, J.-Y.; BOMAN, A.; CHUANXIN, S.; ANDERSSON, M.; JÖRN-VALL, H.; MUTT, V. y BOMAN, H. G. (1989): Antibacterial peptides from pig intestine: Isolation of a mammalian cecropin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86; 9159-9162.
- (14) LEHRER, R. I.; LICHTENSTE, A. K. y GANZ, T. (1993): Defensins antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells. *Ann. Rev. Immunol.* 11; 105-128.
- (15) COATES, C. J.; JASINSKIENE, N.; MIYASHIRO, L. y JAMES, A. A. (1998): Transposition and transformation of the yellow fever mosquito to *Aedes aegypti*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95; 3748-3751.
- (16) LUO, CH. y ZHENG, L. (2000): Independent evolution of TOLL and related genes in insects and mammals. *Immunogenetics* 51; 92-98.
- (17) PODULSKY, S. H. y TAUBER, A. I. (1997): The Generation of Diversity. Clonal Selection Theory and the rise of Molecular Immunology. Ed. Harvard University Press, Cambridge MA.
- (18) HOFFMAN, J. A.; KAFATOS, F. C.; JANEWAY, CH. A. Jr. y EZEKOWITZ, R. A. B. (1999): Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science* 284; 1313-1318.
- (19) SAMAKOVLIS, C.; KYLSTEN, P.; KIMBRELL, D. A.; ENGSTRÖM, A. y HULTMARK, D. (1991): The andropin gene and its product, a male-specific antibacterial peptide in *Drosophila melanogaster*. *EMBO J.* 10; 163-169.

- (20) MARCHINI, D.; GIORDANO, P. C.; AMONS, R.; BERNINI, L. F. y DALLAI, R. (1993): Purification and primary structure of ceratoxin-a and ceratoxin-b, 2 antibacterial peptides from the female reproductive accessory glands of the medfly *Ceratitis capitata*. *Insect. Biochem. Molec. Biol.* 23; 591-598.
- (21) BREY, B. T.; LEE, W. J.; YAMAKAWA, M.; KOIZUMI, Y.; PERROT, S.; FRANCOIS, M. y ASHIDA, M. (1993): Role of the integument in insect immunity - Epicuticular abrasion and induction of cecropin synthesis in cuticular epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90; 6275-6279.
- (22) BORREGAARD, N.; ELSBACH, P.; GANZ, T.; GARRED, P. y SVEJGAARD, A. (2000): Innate immunity: from plants to human. *Immunol Today* 21; 68-70.
- (23) WEISS, G.; BOGDAN, C. y HENTZE, M. W. (1997): Pathways for the regulation of macrophage iron metabolism by the anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-3. *J. Immunol.* 158; 420-425.
- (24) TAYLOR, M. W. y FENG, G. (1991). Relationship between interferon, indoleamine 2, 3-dioxygenase, and tryptophan catabolism. *FASEB J.* 5; 2516-2522.
- (25) NATHAN, C. (1997): Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make? *J. Clin. Invest.* 100; 2417-2423.
- (26) NATHAN, C. (1992): Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.* 6; 3051-3064.
- (27) BOGDAN, C. (1997): Of microbes, macrophages and NO. *BEHRING Inst. Res. Commun.* 99; 58-77.
- (28) LIEW, F. Y.; MILLOTT, S.; PARKINSON, C.; PALMER, M. J. y MONCADA, S. (1990): Macrophage killing of leishmania parasite *in vivo* is mediated by nitric oxide from L-arginine. *J. Immunol.* 144; 4794-4797.
- (29) EVANS, T. G.; THAI, L.; GRANGER, D. L. y HIBBS, J. B. Jr. (1993): Effect of *in vivo* inhibition of nitric oxide production in murine leishmaniasis. *J. Immunol.* 151; 907-915.
- (30) LAUNOIS, P.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; HUMMERLICH, H.; PARRALÓPEZ, C.; TACCHINI-COTTIER, F. y LOUIS, J. A. (1998): Setting in motion the immune mechanisms underlying genetically determined resistance and susceptibility to infection with *Leishmania major*. *Parasite Immunol.* 20; 223-230.
- (31) DIEFFENBACH, A.; SCHINDLER, H.; DONHAUSER, N.; LORENTZ, E.; LASKAY, M.; MICKING, J.; RÖLLINGHOFF, M.; GRESSER, I. y BOGDAN, C. H. (1998). Type 1 interferon (IFN- α/β) and type 2 nitric synthase regulate the innate immune response to a protozoan parasite. *Immunity* 8; 77-87.

- (32) BOGDAN, CH.; RÖLLINGHOFF, M. y DIEFENBACH, A. (2000): The role of nitric oxide in innate immunity. *Immunol. Rev.* 173; 17-26.
- (33) MOSMANN, T. R.; SCHUMACHER, J. H.; STREET, N. F.; BUDD, R.; O'GARRA, A.; FONG, T. A.; BOND, M. W.; MOORE, K. W.; SHER, A. y FIORENTINO, D. F. (1991). Diversity of cytokine synthesis and function of mouse CD4+ T cells. *Immunol. Rev.* 123; 209-229.
- (34) SATOSKAR, A. R.; STAMM, L. M.; ZHANG, X.; SATOSKAR, A. A.; OKANO, M.; TERHORST, C.; DAVID, J. R. y WANG, B. (1999): Mice lacking NK cells develop an efficient Th1 response and control cutaneous *Leishmania major* infection. *J. Immunol.* 162; 6747-6754.
- (35) RESNICK, M.; ROGUEL, N.; BERCOVIER, H.; ENK, C.; FRANKENBURG, S. y KEDAR, E. (1988): Lysis of murine macrophages infected with intracellular pathogens by interleukin-2 activated killer (LAK) cells in vitro. *Cell Immunol.* 113; 214-219.
- (36) LASKAY, T.; RÖLLINGHOFF, M. y SOLBACH, W. (1993): Natural killer cells participate in the early defense against *Leishmania major* infection in mice. *Eur. J. Immunol.* 23; 2237-2241.
- (37) DIEFENBACH, A.; SCHINDLER, H.; RÖLLINGHOFF, M.; YOKOYAMA, W. y BOGDAN, C. (1999): Requirement for type 2 NO-synthase for IL-2 responsiveness in innate immunity. *Science* 284; 951-955.
- (38) STEINER, H.; HULTMARK, D.; ENGSTRÖM, A.; BENNICH, H. y BOMAN, H. G. (1981): Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature* 292; 246-
- (39) MEDZHITOV, R. y JANEWAY, CH. A. Jr. (1997): Innate Immunity: impact on the adaptive immune response. *Current Opinion in Immunology* 9; 4-9.
- (40) PARK, I. Y.; PARK, C. B.; KIM, M. S.; KIM, S. C. y PARISIN, I. (1998): An antimicrobial peptide derived from histone H2A in the catfish *Parasilurus asotus*. *FEBS Lett.* 437; 258-262.
- (41) MATSUMOTO, N.; OKADA, M.; TAKAHASHI, H.; MING, Q. X.; NAKAJIMA, Y.; NAKANISHI, Y.; KOMANO, H. y NATORI, S. (1986): Molecular cloning of a cDNA and assignment of the C-terminal of sarcotoxin IA, a potent antibacterial protein of *Sarcophaga peregrina*. *Biochem. J.* 239; 717-722.
- (42) BOMAN, H. G. y HULTMARK, D. (1987): Cell-free immunity in insects. *Ann. Rev. Microbiol.* 41; 103-126.
- (43) HULTMARK, D. (1993): Immune reactions in *Drosophila* and other insect. A model for innate immunity. *Trends Genet.* 9; 178-183.
- (44) PÜTSEP, K.; NORMARK, S. y BOMAN, H. G. (1999): The origin of cecropins; implications from synthetic peptides derived from ribosomal protein L1. *FEBS Lett.* 451; 249-252.

- (45) STEINER, H.; HULTMARK, D.; ENGSTRÖM, A.; BENNICHT, H. y BOMAN, H. G. (1981): Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature* 292; 246-248.
- (46) FERRANDON, D.; JUNG, A. C.; CRIQUI, M.-C.; LEMAITRE, B.; UT-TENWEILER, S.; MICHAUT, L.; REICHHART, J.-M. y HOFFMANN, J. A. (1998): A drosomycin-GFP reporter transgene reveals a local immune response in *Drosophila* that is not dependent on the TOLL pathway. *EMBO J.* 17; 1217-1227.
- (47) MOORE, K. S.; BEVINS, C. L.; BRASSEUR, M. M.; TOMASSINI, N.; TURNER, K.; ECK, H. y ZASLOFF, M. (1991): Antimicrobial peptides in the stomach of *Xenopus laevis*. *J. Biol. Chem.* 266; 19851-19857.
- (48) TANG, Y.-Q. (1999): A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the ligation of two truncated alpha-defensines. *Science*, 286; 498-502.
- (49) GANZ, T. y LEHRER, R. I. (1998). Antimicrobial peptides of vertebrates. *Curr. Opin. Immunol.* 10; 41-44.
- (50) ZANETTI, M.; GENNARO, R. y ROMEO, D. (1997): The cathelicidin family of antimicrobial peptide precursors: a component of the oxygen-independent defense mechanisms of neutrophils. *An. N. Y. Acad. Sci.* 832; 147-162.
- (51) WU, L. y ANDERSON, K. V. (1998): Regulated nuclear import of REL proteins in the *Drosophila* immune response. *Nature* 392; 93.
- (52) LEMAITRE, B.; REICHHART, J. M. y HOFFMANN, J. A. (1997): *Drosophila* host defense: differential induction of antimicrobial peptide genes after infecting by various classes of microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94; 14614-14619
- (53) DIAMOND, G.; RUSSELL, J. P. y BEVINS, C. L. (1996): Inducible expression of an antibiotic peptide gene in lipopolysaccharide-challenged tracheal epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93; 5156-5160.
- (54) KIRSCHNING, C. J.; WESCHE, H. y AYRES, T. M. (1998): Human TOLL-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide. *J. Exp. Med.* 188; 2091-2097.
- (55) JANEWAY, CH. A. Jr. (1998): The road less travelled by: the role of innate immunity in the adaptive immune response. *J. Immunol.* 161; 539-544.
- (56) NINOMIYA-TSUJI, J.; KISHIMOTO, J.; HIYAMA, A.; INOUE J.-I.; CAO, Z. y MATSUMOTO, K. (1999): The kinase TAK 1 can activate the NF κ B as well as the MAP kinase cascade in the IL-1 signaling pathway. *Nature* 398; 252-256.
- (57) AUPAN, N.; DIDONATO, J. A.; ROSETTE, C.; HELMBERG, A. y KARIN, M. (1995): Immunosuppression by glucocorticoids: inhibi-

- tion of NF κ B through induction of I κ B synthesis. *Science* 270; 286-290.
- (58) SCHEINMAN, R. I.; COGSWELL, P. C.; LOFQUIST, A. K. y BALDWIN, A. S. (1995): Role of transcriptional activation of I κ B α in mediators of immunosuppression by glucocorticoids. *Science* 270; 283-286.
- (59) DIAMOND, G.; LEGARDA, D. y RYAN, L. K. (2000): The innate immune response of the respiratory epithelium. *Immunol. Rev.* 173; 27-38.
- (60) GARCÍA OLMEDO, F.; MOLINA, A.; ALAMILLO, J. M. y RODRÍGUEZ-PALENZUELA, P. (1998): Plant defense peptides. *Biopolymers* 47; 479-491.
- (61) SEGURA, A.; MORENO, M.; MADUEÑO, F.; MOLINA, A. y GARCÍA OLMEDO, F. (1999): Snakin-1, a peptide from potato that is active against plant pathogens. *Molec. Plant Micro. Interac.* 12; 16-23.
- (62) DE VICENTE JORDANA, R. (1954): Paralización de la podredumbre del tubérculo de patata durante su periodo de germinación. *Anal. Edaf. Fisiol. Veg.* 13; 9-10, 705-723.
- (63) DE VICENTE JORDANA, R. (1986): Reflexiones sobre la biogénesis del ONTOS (ser) y del ONCOS (tumor) en la unidad de función citoarjé. *Discurso Real. Acad. Farm. Madrid*, 3-90.
- (64) MATSUZAKI, K. (1998): Magainins as paradigm for the mode of action of pore forming polypeptides. *Biochim. Biophys. Acta* 1376; 391-400.
- (65) FRASER, I. F.; KOZIEL, H. y EZEKOWITZ, R. A. (1998): The serum mannose-binding protein and the macrophage mannose receptor are pattern recognition molecules that link innate and adaptive immunity. *Semin. Immunol.* 10; 363-372.
- (66) MEDZHITOV, R.; PRESTON-HURLBURT, P. y JANEWAY, CH. A. Jr. (1997): A human homologue of the *Drosophila* TOLL protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 388; 394-397.
- (67) ROCK, F. L.; HARDIMAN, G.; TIMANS, J. C.; KASTELEIN, R. A. y BAZAN, J. F. (1998): A family of human receptors structurally related to *Drosophila* TOLL. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95; 588-593.
- (68) LEMAITRE, B.; NICOLAS, E.; MICHAUT, L.; REICHHART, J. M. y HOFFMANN, J. A. (1996): The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/TOLL/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 86; 973-979.
- (69) WILLIAMS, M. J.; RODRIGUEZ, A.; KIMBRELL, D. A. y ELTON, E. D. (1997): The 18-wheeler mutation reveals complex antibacterial gene regulation in *Drosophila* host defense. *EMBO J.* 16; 6120-6130.
- (70) JANEWAY, CH. A. Jr Y MEDZHITOV, R. (1999): Innate immunity: Lipoproteins take their TOLL on the host. *Current Biology* 9; R879-R882.

- (71) GOMMERMAN, J. L. y CARROLL, M. C. (2000): Negative selection of B lymphocytes: a novel role for innate immunity. *Immunol. Rev.* 173; 120-130.
- (71a) CARROLL, M. C. (2000): A protective role for innate immunity in autoimmune diseases. *Clinical Immunol.* 95; P-2, S30-S38.
- (71b) AIBA, S. y TAGAMI, H. (1999): Dendritic cells play a crucial role in innate immunity to simple chemicals. *J. Invest. Dermatol.* 4; 158-163.
- (72) POLTORAK, A.; HE, X. L.; SMIRNOVA, I.; LIU, M. Y.; VAN HUFFEL, C.; DU, X.; BIRDWELL, D.; ALEJOS, E.; SILVA, M.; GALANOS, C.; FREUDENBERG, M.; RICARDI, P.; LAYTON, B. y BEUTLER, B. (1999): Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in Tl34 gene. *Science* 282; 2085-2088.
- (73) QURESHI, S. T.; LARIVIER, L.; LEVEQUE, G.; CLERMONT, S.; MOORE, K. J.; GROS, PH. y MALO, D. (1999): Endotoxin-tolerant mice have mutations in TOLL like receptor 4 (Tlr4): *J. Exp. Med.* 189; 615-625.
- (74) YOSHIMURA, A.; LIEN, E.; INGALLS, R. R.; TUOMANEN, E.; DZIARSKI, R. y GOLENBOCK, D. (1999): Recognition of Gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via TOLL-like receptor 2. *J. Immunol.* 163; 1-5.
- (75) ROTHE, M. y KIRSCHNING, C. J. (1999): Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by TOLL-like receptor 2. *J. Biol. Chem.* 274; 17406-17409.
- (76) LEMAITRE, B.; NICOLAS, E.; MICHAUT, L.; REICHAUT, J. M. y HOFFMAN, J. A. (1996): The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/TOLL/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 86; 975-983.
- (77) HULTMARK, D. (1994): Macrophage differentiation marker Myd88 is a member of the TOLL/IL-1 receptor family. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 199; 144-146.
- (78) BELVIN, M. P. y ANDERSON, K. V. (1996): A conserved signaling pathway: The *Drosophila* TOLL-dorsal pathway. *Ann. Rev. Cel. Dev. Biol.* 12; 393-316.
- (79) HAN, Z. S. y IP, Y. T. (1999): Interaction and especificity of Rel-related proteins in regulating *Drosophila* immunity gene expression. *J. Biol. Chem.* 274; 21355-21361.
- (80) MEDZHITOV, R. y JANEWAY, CH. A. Jr. (1998): An ancient system of host defense. *Curr. Opin. Immunol.* 10; 12-15.
- (81) MEDZHITOV, R.; PRESTON, P.; KOPP, E.; STADLEN, A.; CHEN, CH.; GHOSH, S. y JANEWAY JR.; CH. A. (1998): MyD88 is an adaptor protein in the TOLL/IL-1 receptor family signaling pathways. *Mol. Cell* 2; 253-258.

- (82) MEDZHITOV, R. y JANEWAY JR, CH. A. (2000): Innate immune recognition mechanisms and pathways. *Immunol. Rev.* 173; 89-97.
- (83) BELVIN, M. P. y ANDERSON, K. V. (1996): A conserved signaling pathway: the *Drosophila* TOLL-dorsal pathway. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 12; 393-416.
- (84) GILBERT, W.; DE SOUZA, S. J. y LONG, M. (1997): The origin genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94; 7698-7703.
- (85) RHEN, M. ERIKSON, S. y PETTERSSON, S. (2000): Bacterial adaptation to host innate immunity responses. *Current Opinion Microbiol.* 3; 60-64.
- (86) CHIEN, L. (1998): Immunological ignorance of silent antigens as an explanation of tumor evasion. *Immunol. Today* 19; 27-30.
- (87) COSSARIZZA, A.; ORTOLAN, C.; MONTI, D. y FRANCESCHI, C. (1997): Cytometric analysis of immunosenescence. *Cytometry* 27; 297-313.
- (88) GINALDI, L.; DE MARTINIS, M.; D'OSTILIO, A.; MARINI, L.; LORETO, M. F. y QUAGLINO, D. (1999): The Immune System in the elderly. III. Innate Immunity. *Immunol. Res.* 20; 117-126.
- (89) QUAGLINO, D.; GINALDI, L.; FURIA, N. y DE MARTINS, M. (1996): The effect of age on hemopoiesis. *Aging Clin. Exp. Res.* 8; 1-12.
- (90) ESPARZA, B.; SÁNCHEZ, H.; RUIZ, M.; BARRANQUERO, M.; SABINO, E. y MERINO, F. (1996): Neutrophil function in elderly persons assessed by flow cytometry. *Immunol. Invest.* 25; 185-190.
- (91) COOPER, E. L.; COSSARIZZA, A.; SUZUKI, M. M.; SALVIOLI, S.; CAPRI, M. QUAGLINO, D. y FRANCESCHI, C. (1995): Autogenic but not allogenic earthworm effector coelomocytes kill the mammalian tumor cell target K562. *Cell Immunol.* 166; 113-122.
- (92) FRANCESCHI, C.; COSSARIZZA, A.; MONTI, D. y OTTAVIANI, E. (1991). Cytotoxicity and immunocyte markers in cells from the freshwater snail *Planorbarius corneus* (L.) (*Gastropodo pulmonata*): implications for the evolution of natural killer cells. *Eur. J. Immunol.* 21; 849-893.
- (93) FRANCESCHI, C.; COSSARIZZA, A.; ORTOLANI, C.; MONTI, D. y OTTAVIANI, E. (1991): Natural cytotoxicity in a mollusc: An unorthodox comparative approach. *Adv. Neuroimmunol.* 1; 99-113.
- (94) COSSARIZZA, A.; MONTI, D.; MONTAGNANI, G.; ORTOLANI, C.; MASI, M.; ZANNOTTI, M. y FRANCESCHI, C. (1990): Precocious aging of the immune system in Down's syndrome: alterations of B-lymphocytes, T-lymphocyte subset and of cells with NK markers. *Am. J. Med. Gen.* 7; 213-218.
- (95) COSSARIZZA A.; ORTOLANI, C.; FORTI, E.; MONTAGNANI, G.; PAGANELLI, R.; ZANNOTTI, M.; MARINI, M.; MONTI, D. y

- FRANCESCHI, C. (1991): Age related expansion of functionally inefficient cells with markers of NK activity in Down's syndrome. *Blood* 77; 1263-1270.
- (96) LEVY, S. M.; HERBERMAN, R. B.; LEE, I.; WHITESIDE, T.; BEADLE, M.; HEIDEN, L. y SIMONS, S. (1991): Persistently low natural killer cell activity, age and environmental stress as predictors of infectious morbidity. *Natl. Immunol. Cell Growth Regul.* 10; 289-307.
- (97) FRANCESCHI, C.; MONTI, D.; SANSONI, P. y COSSARIZZA, A. (1995): The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians. *Immunol. Today* 16; 12-16.
- (98) KRISHNARAJ, R. (1997): Senescence and cytokines modulate the NK cell expression. *Mech. Aging Dev.* 96; 89-101.
- (99) LIGTHART, G. J.; CORBERAND, J. X.; FOURNIER, C.; GARANAUD, P.; HIJMANS, W.; KENNES, B.; MULLER, H. K.; y STEINMANN, G. G. (1984): Admission criteria for immunogerontological studies in man: the SENIEUR protocol. *Mech. Aging Dev.* 28; 47-55.
- (100) LIGTHART, G. J.; CORBERAND, J. X.; GEERTZEN, H. G. M.; MEINDERS, A. E.; KNOOK, D. L. y HIJMANS, W. (1990): Necessity of the assessment of health status in human immunogerontological studies: evaluation of the SENIEUR protocol. *Mech. Aging Dev.* 55; 89-105.
- (101) WIKBY, A.; JOHANSSON, B.; FERGUSON, F. y OLSSON, J. (1994): Age-related changes in immune parameters in a very old population of swedish people: a longitudinal study. *Esp. Gerontol.* 29; 531-541.
- (102) BROSCHE, T. y PLATT, D. (1995): Nutritional factors and age-associated changes in cellular immunity and phagocytosis: a mini-review. *Aging Immunol. Infect. Dis.* 6; 31-42.
- (103) BIERER, B. E. y BURASKOFF, S. J. (1988): T cell adhesion molecules. *FASEB J.* 2; 2584-2590.
- (104) KANE, D. J.; SARAFIAN, T. A.; ANTON, R.; HAHN, H.; GRALLA, E. B.; VALENTINE, J. S.; ÖRD, T. y BREDESEN, D. E. (1993): Bcl-2 inhibition of cell death: Decreased generation of reactive oxygen species. *Science* 262; 1274-1277.
- (105) NEUBERT, R.; DELGADO, I.; ABRAHAM, K.; SCHUSTER, C. y HELGE, H. (1998): Evaluation of the age-dependent development of lymphocyte surface receptors in children. *Life Sci.* 62; 1099-1100.
- (106) OKAMURA, M.; FUJII, Y.; TAKEUCHI, Y.; INADA, K.; MAKAHARA, K. y MATSUDA, H. (1993): Age-related accumulation of LFA-1 cells in CD8+CD4RA T cell population. *Eur. J. Immunol.* 23; 1057-1063.
- (107) CHIRICOLO, M.; MORINI, M. C.; MANCINI, R.; BELTRANDI, E.; BELLETI D. y CONTE, R. (1995): cell adhesion molecules CD11 and CD18 in blood monocytes in old age and the consequences for immunological disfunction. *Gerontology* 41; 227-234.

- (108) OWEN, C. A.; CAMPBELL, E. J. y STOCKLEY, R. A. (1992): Monocyte adherence to fibronectine: role of CD11/CD18 integrins and relationship to other monocyte functions. *J. Leukocyte Biol.* 51; 400-408.
- (109) VYTH-DREESE, F. A.; DELLEMIJN, T. A. M.; FRIJHOFF, A.; VAN KOOYK, Y. y FIGDOR, C. G. (1993): Role of LFA-1/CAM-1 in interleukin-2-stimulated lymphocyte proliferation. *Eur. J. Immunol.* 23; 3292-3299.
- (110) SCHWAB, R.; PFEFFER, L. M.; SZABO, P.; GAMBLE, G.; SCHNURR, C. M. y WEKSLER, M. E. (1990): Defective expression of high affinity IL-2 receptors on activated T cells from aged humans. *Int. Immunol.* 2; 239-246.
- (111) SHEARER, G. M. (1997): Th1/Th2 changes in aging. *Mech. Aging Dev.* 94; 1-5.
- (112) MOUNTS, J. D.; WU, J.; ZHOU, T. H. y HSU, H. C. (1997): Cell death and longevity: implications in Fas-mediated apoptosis in T-cell senescence. *Immunol. Rev.* 160; 19-30.
- (113) CATANIA, A.; AIRAGHI, L.; MOTTA, P.; MANFREDI, M. G.; ANNONI, G.; PETTENATI, C.; BRAMBILLA, F. y LIPTON, J. M. (1997): Cytokine antagonists in aged subjects and their relation with cellular immunity. *J. Gerontol.* 52A; B93-97.
- (114) CAKMAN, I.; ROHWER, J.; SCHUTZ, R. M.; KIRCHNER, H. y RINK, L. (1996): Dysregulation between Th1 and Th2 T cell subpopulations in the elderly. *Mech. Aging Dev.* 87; 197-209.
- (115) FRANCESCHI, C. BONAFE, M. y VALENSIN, S. (2000): Human immunosenescence: the prevailing of innate immunity, the failing of clonotypic immunity, and the filling of immunological space. *Vaccine* 18; 1717-1720.
- (116) FEARON, D. y LOCKSLEY, R. (1996): The instruction role of innate immunity in the acquired immune response. *Science* 272; 50-53.
- (117) EKERFELT, C.; MATTHIESEN, L.; BERG, G. y ERNERVOH, J. (1997): Paternal leucocytes selectively increase secretion of IL-4 in peripheral blood during normal pregnancies: demonstrated by a novel one-way MLC measuring cytokine secretion. *Am. J. Reprod. Immunol.* 38; 320-326.
- (118) EARLY, E. y REEN, D. J. (1996): Antigen-independent responsiveness to interleukin-4 demonstrates differential regulation of newborn human T cells. *Eur. J. Immunol.* 26; 2885-2889.
- (119) BRINES, R. D. y KLAUS, G. G. (1992): Inhibition of lipopolysaccharide-induced activation of immature B cells by anti- μ and anti- δ antibodies and its modulation by interleukin 4. *Int. Immunol.* 4; 765-771.

- (120) SACKS, G.; SARGENT, I. y REDMAN, C. (1999): An innate view of human pregnancy. *Immunol. Today* 20; 114-116.
- (121) MUNN, D. H.; ZHOU, M.; ATTWOOD, J. T.; BONDAREV, I.; CONWAY, S. J.; MARSHALL, B.; BROWN, C. y MELLOR, L. (1998): Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science* 281; 1191-1193.
- (122) MARSHALL-CLARKE, S.; REEN, D.; TASKER, L. y HASSAN, J. (2000): Neonatal immunity: how well has it grown up? *Immunol. Today* 21; 35-40.
- (123) RIDGE, J. P.; FUCHS, E. J. y MATZINGER, P. (1996): Neonatal tolerance revisited: turning on newborn T cells with dendritic cells. *Science* 271; 1723-1726.
- (124) LEVY, O. MARTIN, S. EICHENWALD, E. GANZ, T. VALORE, E. CARROLL, S. F. LEE, K. GOLDMANN, D. y THORNE, G. M. (1999): Impaired innate immunity in the newborn neutrophils are deficient in bacterial permeability increasing protein. *Pediatrics* 104; 1327-1333.
- (125) OUELLETTE, A. J. (1998): Peptide mediators of innate immunity in the small intestine. *J. Med. Microbiol.* 47; 941-942.
- (126) SELSTED, M. E. y OUELLETTE, A. J. (1995): Defensins in granules and non-phagocytic cells. *Trends Cell Biol.* 5; 114-119.
- (127) AGARWAL, A.; EASTMAN, Q. M. y SCHATZ, D. G. (1998): Transposition mediated by RAG1 and RAG2 and its implications for the evolution of the immune system. *Nature* 394; 744-747.
- (128) THOMPSON, C. B. (1995): New insights into V(D)J recombination and its role in the evolution of the immune system. *Immunity* 3; 531-540.
- (129) MATSUNAGA, T. y RAHMAN, A. (1998): What brought the adaptive immune system to vertebrates? The jaw hypothesis and the seahorse. *Immunol. Rev.* 166; 177-186.
- (130) EL RIDI, R.; EL DEEB, S. y ZADA, S. (1981): The gut-associated lymphoepithelial tissues (GALT) of lizards and snakes. Ref. en SOLOMON, J. B. ed «Aspects of developmental and comparative immunology». Oxford: Pergamon Press, pp. 233-239.
- (131) DU PASQUIER, L. (1993): Evolution of the immune system. *Fundamental Immunology*. Ed. Paul W. E. N. Y. Pavern Press, pp. 199-233.
- (132) BECK, G.; HABICHT, G. S.; COOPER, E. L. y MARCHALONIS, J. J. (1994): Primordial immunity: foundations for the vertebrate immune system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 712; 1-376.
- (133) BOMAN, H. G. (1996): Peptide antibiotics: holy or heretic grails of innate immunity. *Scan. J. Immunol.* 43; 475-482.
- (134) HUGHES, A. L. (1998): Protein phylogenies provide evidence of a radical discontinuity between arthropod and vertebrate immune system. *Immunogenetics* 47; 283-296.

- (135) MARCHALONIS, J. J. y SCHULTER, S. F. (1990): On the relevance of vertebrate recognition and defence mechanisms to the emergence of the immune response of vertebrates. *Scand. J. Immunol.* 32; 13-20.
- (136) HANLEY, P. S.; HOOK, J. W.; RAFTOS, D. A. y GOOLEY, A. A. (1992): Hagfish humoral defence protein exhibits structural and functional homology with mammalian complement components. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89; 7910-7914.
- (137) MEDZHITOV, R. y JANEWAY JR, CH. (2000): Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol. Rev.* 173; 89-97.
- (138) GOLDMAN, M.; ANDERSON, G. M.; STOLZENBERG, E. D.; KARI, U. P.; ZASLOFF, M. y WILSON, J. M. (1997): Human β -defensin-1 is a salt-sensitive antibiotic in lung that is inactivated in cystic fibrosis. *Cell* 88; 553-560.
- (139) SUMMERFIELD, J. A.; SUMIYA, M.; LEVIN, M. y TURNER, M. W. (1997): Associations of mutations in mannose binding protein gene with childhood infection in consecutive hospital series. *Br. Med. J.* 314; 1229-1232.
- (140) MEDZHITOV, R. y JANEWAY, CH, A, Jr. (2000): Innate Immunity. *New Engl. J. Med.* 5; 338-343.
- (141) GOODING, L. R. (1992): Virus protein that counteract host immune defenses. *Cell* 71; 5-7.
- (142) FEARON, D. T. y CARTER, R. H. (1995): The CD19/CR2/TAPA-1 complex of B lymphocytes: Linking natural to acquired immunity. *Ann. Rev. Immunol.* 13; 127-149.
- (143) DORIG, R. E.; MARCIL, A.; CHOPRA, A. y RICHARDSON, C. D. (1993): The human CD46 molecule is a receptor for measles virus (Edmonston strain): *Cell* 75; 295-305.
- (144) KOTWAL, G. J. y MOSS, B. (1988): Vaccinia virus encodes a secretory polypeptide structurally related to complement control proteins. *Nature* 335; 176
- (145) PARIZADE, M.; AMON, R.; LACHMANN, P. J. y FISHELSON, Z. E. (1994): Functional and antigenic similarities between a 94-kD protein of *Schistosoma mansoni* (SCIP-1) and human CD59. *J. Exp. Med.* 179; 1625-1263.
- (146) MOUGNEAU, E.; ALTARE, F.; WAKIL, A. D.; ZHENG, S.; COPPOLA, T.; WANG, Z-E.; WALDMANN, R.; LOCKSLEY, R. M. y GLAICHENHAUS, N. (1995): Expressin cloning of a protective Leishmania antigen. *Science* 268; 563
- (147) WYNN, T. A.; CHEEVER, A. W.; JANKOVIC, D.; POINDEXTER, R. W.; CASPAR, P.; LEWIS, F. A. y SHER, A. (1995): An IL-12 based vaccination method for preventing fibrosis induced by schistosome infection. *Nature* 376; 594

- (148) SKEIKY, Y. A. W.; GUDERIAN, J. A.; BENSON, D. R.; BACELAR, O.; CARVALHO, E. M.; KUBIN, M.; BADARO, R.; TRINCHIERI, G. y REED, S. G. (1995) A recombinant Leishmania antigen that stimulates human peripheral blood mononuclear cells to express a Th1-type cytokine profile and to produce interleukin 12. *J. Exp. Med.* 181; 1527-1537.
- (149) KUCHROO, V. K.; DAS, M. P.; BROWN, J. A.; RANGER, A. M.; ZAMVIL, S. S.; SOBEL, R. A.; WEINER, H. L.; NABAVI, N. y GLIMCHER, L. H. (1995): B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways: Application to autoimmune disease therapy. *Cell* 80; 707-718.
- (150) RHODES, J.; CHEN, H.; HALL, S. R.; BEESLEY, J. E.; JENKINS, D. C.; COLLINS, P. y ZHENG, b. (1995): Therapeutic potentiation of the immune system by costimulatory Schiff-base-forming drugs. *Nature* 377; 71
- (151) FOX, A. MOUNTFORD, J.; BRAAKHUIS, A. y HARRISON, L. C. (2000): Innate immunity and xenograft rejection. *Immunologist* 8; 37-39.
- (152) BARILLAS-MURY, C.; WIZEL, B. y HAN, Y. S. (2000): Mosquito immune responses and malaria transmission: lessons from insect model systems and implications for vertebrate immunity and vaccine development. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 30; 429-442.
- (153) FOX, A. y HARRISON, L. C. (2000): Innate immunity and graft rejection. *Immunol. Rev.* 173; 141-147.
- (154) PARTULA, S.; DE GUERRA, A.; FELLACH, J. S. y CHARLEMAGNE, J. (1995): Structure and diversity of T cell antigen receptor β -chain in a teleost fish 1. *J. Immunol.* 155; 699-706.
- (155) PARTULA, S.; De GUERRA, A.; FELLACH, J.S. y CHARLEMAGNE, J. (1996): Structure and diversity of the TCR α -chain in a teleost fish 1, 2. *J. Immunol.* 157; 207-212.