

Premio Nobel de Medicina a inmunólogos: Células dendríticas y el renacimiento de la inmunidad innata

El 3 de octubre del corriente año la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska otorgó el Premio Nobel de Medicina 2011 a Ralph M. Steinman, Bruce A. Beutler y Jules A. Hoffman. El 50% del premio fue concedido a Ralph M. Steinman por el descubrimiento de las células dendríticas y la caracterización de su papel en la inmunidad adaptativa. El 50% restante fue otorgado a los dos últimos, en reconocimiento a sus descubrimientos relativos a la activación de la inmunidad innata (Fig.1). Los aportes de los premiados iniciaron un camino que condujo al replanteo de aspectos esenciales de la respuesta inmune.

Ralph Steinman, inmunólogo canadiense, nació un 14 de enero de 1943 y falleció el pasado 30 de septiembre de 2011, tres días antes del anuncio del Premio Nobel¹. En 1973, en un elegante trabajo publicado en la revista *Journal of Experimental Medicine (Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice)* Ralph Steinman identificó, mientras realizaba su trabajo postdoctoral en el laboratorio de Zandvil Cohn en la Universidad Rockefeller en New York, células con morfología y funcionalidad diferente a otras poblaciones celulares de bazo de ratón, a las cuales bautizó con el nombre de "células dendríticas"¹. Steinman realizó sus estudios de grado en la Universidad McGill de Montreal, recibió su Doctorado en Medicina en 1968 en la Universidad de Harvard y completó su formación médica como residente interno del Hospital General de Massachusetts. Recibió numerosos galardones a lo largo de su vida por sus investigaciones sobre células dendríticas, tales como el Premio Albert Lasker para la Investigación Médica Básica (2007) y fue designado miembro de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos en el año 2001.

Hoy sabemos, gracias al aporte de Ralph Steinman y sus colaboradores, que las células dendríticas son las responsables, no sólo de activar linfocitos T vírgenes sino también de orquestar la respuesta adaptativa hacia microbios, tumores y antígenos propios e imponer un perfil determinado de respuesta T efectora². En efecto, las células dendríticas son capaces de sentir señales de peligro en tejidos periféricos, migrar hacia órganos linfáticos secundarios (ganglios linfáticos, bazo) y activar linfocitos T. A su vez, estas células son responsables de cambiar el curso de la respuesta inmune adaptativa, merced a su capacidad de liberar citoquinas que inducen la diferenciación de células T CD4 hacia perfiles T efectores particulares². Cada uno de estos perfiles inmunológicos pone en juego diversos mecanismos inmunitarios frente al desafío con diferentes patógenos (virus, bacterias, parásitos y hongos) y al desarrollo de tumores. En este contexto, no es exagerado asumir que las células dendríticas, aun cuando pertenecen a la inmunidad innata, constituyen el "motor" y "cerebro" de la inmunidad adaptativa².

Las células dendríticas no constituyen una población homogénea. Se localizan estratégicamente en los tejidos periféricos a fin de capturar antígenos microbianos que ingresan al organismo y aquellos liberados por tumores, presentando una gran capacidad de *endocitar* y procesar antígenos. A medida que migran hacia los órganos linfáticos periféricos se diferencian a células dendríticas maduras capaces de presentar antígenos a linfocitos T vírgenes y promover su activación y diferenciación². Sin embargo, evidencias recientes, apoyadas por el grupo de Steinman, indican que las células dendríticas, no sólo ponen en marcha la respuesta inmune sino que son capaces también de silenciarla, promoviendo tolerancia inmunológica de acuerdo al microambiente predominante y los estímulos a los cuales sean expuestas. Esta marcada plasticidad, permite que células dendríticas convencionales, aun cuando presenten un fenotipo maduro puedan comportarse como células dendríticas "regulatorias o tolerogénicas" al ser expuestas a estímulos inmunosupresores³. Este perfil celular es frecuente en microambientes tumorales contribuyendo a

fenómenos de escape en cáncer, en focos infecciosos, favoreciendo infecciones crónicas persistentes y durante la resolución de procesos inflamatorios y autoinmunes^{3,4}.

De este modo, el descubrimiento de Steinman logró cautivar a inmunólogos y biólogos celulares y revolucionar el mundo de la Medicina en su totalidad por el increíble potencial terapéutico de las células dendríticas en el diseño de nuevos protocolos de vacunación frente a agentes infecciosos y en la implementación de nuevas estrategias terapéuticas frente a tumores, rechazo de trasplante de órganos y enfermedades autoinmunes⁵. El fundamento de estos tratamientos, que subyace actualmente a numerosos ensayos clínicos, radica en la capacidad intrínseca de las células dendríticas de activar o silenciar una respuesta inmune de acuerdo al microambiente o estímulo percibido. Uno de estos ensayos clínicos ha sido recientemente aprobado para el tratamiento del cáncer de próstata en EE.UU.

En realidad, Ralph Steinman tenía tal confianza en la capacidad inmunomoduladora de estas células que decidió utilizarlas como tratamiento frente al cáncer de páncreas que él padecía desde hace 4 años. Una compañía farmacéutica, *Argos Therapeutics* en Durham, Carolina del Norte, había comenzado ensayos clínicos en pacientes con carcinoma renal y logró adaptar dicha vacuna para el tratamiento de Steinman. Por otro lado, colegas del *Baylor College* en Texas personalizaron también su protocolo de melanoma para ser aplicado al tumor que padecía Steinman. Finalmente, también intentó una terapia con la droga GVAX, la cual permite reclutar células dendríticas hacia los tejidos periféricos (<http://scim.ag/Steinman>). Aun cuando el reglamento indica que el Nobel no debe entregarse en forma *post-mortem*, al enterarse del fallecimiento de Steinman, el Comité Nobel en Estocolmo decidió que la concesión del galardón se mantendría en este caso de manera excepcional.

Existe una conexión íntima y notable entre los estudios de Steinman y los de Hoffman y Beutler. Las experiencias desarrolladas por Beutler y Hoffman permitieron definir “cómo” reconocen las células de la inmunidad innata, entre ellas las células dendríticas, a los patógenos. En otras palabras, qué receptores emplean y qué mecanismos y funciones se ponen en marcha como consecuencia de su activación. A partir de estos aportes, la noción de la inmunidad innata como un sistema de reconocimiento “inespecífico” comenzó a transitar sus horas finales.

Jules A. Hoffmann nació en Luxemburgo en el año 1941. Se graduó en Biología obteniendo su Doctorado en la Universidad de Estrasburgo, en el año 1969. Desarrolló una estadía post-Doctoral en la Universidad de Marburgo en Alemania, regresando a Francia donde se desempeñó como Investigador del *Centre National de la Recherche Scientifique* (CNRS). Alcanzó la Dirección del Instituto de Biología Celular y Molecular de Estrasburgo (período 2007-2008) y la presidencia de la Academia Nacional de Ciencias de Francia. El aporte realizado por Hoffman y también el realizado por Beutler, nos conduce a un único motivo de estudio: los genes “Toll”.

Fue Christiane Nusslein-Volhard, junto a Eric Wieschaus y Edward B. Lewis, trabajando en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* quienes observaron, en el año 1985, que mutaciones en ciertos genes, denominados por ellos Toll, perturbaban dramáticamente el proceso de embriogénesis, particularmente el establecimiento del eje dorso-ventral⁶. Estas observaciones les valieron el otorgamiento del Premio Nobel de Medicina en el año 1995. De hecho, el nombre de esta familia de genes deviene de la expresión manifestada por Christiane Nusslein-Volhard al observar las alteraciones embriológicas observadas en la mosca de la fruta portadora de mutaciones en los genes Toll; “*Das ist ja toll*”, expresión que podría traducirse como “Esto es impresionante”.

¿Cómo se relaciona Jules Hoffman con esta historia? Contrariando la opinión de muchos de sus colegas que consideraban de dudosa utilidad el estudio del sistema inmune de los insectos, Hoffman centró sus estudios en este campo. A diferencia de los vertebrados, donde encontramos mecanismos propios a la inmunidad innata y también a la adaptativa, los insectos sólo expresan un sistema inmune innato. En el año 1996, trabajando con la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, Hoffman descubrió sorpresivamente que los genes Toll, los mismos que habían sido previamente involucrados en la embriogénesis,

jugaban un papel crítico en la inmunidad de la mosca de la fruta. En efecto, observó que mutaciones en los genes Toll impedían el desarrollo de una respuesta inmune efectiva contra el hongo *Aspergillus fumigatus*, imponiendo a la infección un curso fatal. Estas observaciones fueron descritas en un artículo publicado en la revista *Cell* en el año 1996, bajo el título *The dorsolventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults*⁷. Ellas representan el aporte fundacional de Hoffman a los mecanismos de reconocimiento propios a la inmunidad innata, que le valieran el otorgamiento del Premio Nobel de Medicina en el corriente año. Las observaciones de Hoffman motorizaron inmediatamente estudios dirigidos a establecer la expresión y funcionalidad de los genes Toll en mamíferos. En este marco se desarrollaron los estudios realizados por Beutler.

Bruce A. Beutler nació en la ciudad de Chicago, en EE.UU., en el año 1957. Recibió su título de médico en el año 1981 en la Universidad de California, trasladándose a la Universidad de Texas donde completó su residencia médica en neurología. Luego de permanecer tres años en la Universidad de Rockefeller, en la ciudad de New York, retornó a la Universidad de Texas como Investigador del Instituto Howard Hughes y Profesor Asistente de Medicina Interna. Allí desarrolló sus investigaciones que lo condujeron a la obtención del premio Nobel. Su artículo "Nobel" fue sin lugar a dudas el publicado en la revista *Science*, en el año 1998, bajo el título *Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutation in TLR4 gene*⁸. En este artículo, en el marco de estudios dirigidos a establecer la etiopatogenia del *shock* séptico, Beutler y su equipo centraron su atención en el análisis de las cepas de ratones C3H/HeJ y C57BL/10ScCr, cepas que muestran una fuerte resistencia al *shock* séptico inducido por lipopolisacáridos (LPS) bacterianos. Ya era conocido que la patogenia del *shock* séptico involucraba, en primer lugar, la activación de macrófagos en respuesta al LPS y la consecuente producción de mediadores inflamatorios. El artículo mencionado demostró que el receptor Toll de tipo 4 (TLR4) era el responsable de reconocer al LPS y, posiblemente, de transducir las señales intracelulares conducentes a la activación del macrófago. Este receptor se encontraba mutado en los ratones C3H/HeJ y C57BL/10ScCr, explicándose así no sólo su resistencia al *shock* séptico sino también su permisibilidad a las infecciones por bacterias Gram negativas. Concluía Beutler, por lo tanto, que los receptores Toll jugaban un papel crucial, no sólo en la respuesta inmune de los insectos, sino también en la respuesta inmune de los mamíferos.

Han pasado apenas 15 años desde las observaciones originales de Hoffman y Beutler. Hoy sabemos que la capacidad del TLR4 de reconocer al LPS ilustra el modo general a través del cual la inmunidad innata reconoce componentes propios a los microorganismos (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) y/o señales indicativas de estrés o daño tisular (*damage-associated molecular patterns*, DAMPs). A tal efecto, la inmunidad innata emplea cinco familias de receptores de reconocimiento de patrones (RRP): los receptores Toll (TLR), los receptores lectina tipo C, los receptores de tipo NOD, los receptores de tipo RIG-1 y los receptores "scavengers". Estas distintas familias de receptores difieren en la calidad de los ligandos que reconocen, en su localización celular, en los mecanismos transduccionales que ponen en marcha al activarse y en las funciones que median^{9, 10}. Comparten, sin embargo, una estrategia general: reconocen un conjunto discreto de motivos propios o indicativos de un proceso infeccioso o lesivo para el huésped. Definen, por lo tanto, una estrategia opuesta, y a la vez complementaria respecto de los mecanismos de reconocimientos propios a la inmunidad adaptativa, basada en el reconocimiento de lo particular (epitope) por un universo inmenso de receptores antigénicos, expresados por células B y T.

El otorgamiento del premio Nobel de Medicina 2011 no ha estado exento de controversias. Una corriente de opinión entre los científicos dedicados al estudio de la inmunidad innata cuestiona que no han sido contemplados de modo adecuado los aportes realizados por Ruslan Medzhitov, investigador de la Universidad de Yale, de la mano de su mentor, Charles Janeway, quien fuera considerado por muchos como el padre de la inmunidad innata. Merece destacarse que ya en el año 1989, sobre la base de sólidas consideraciones teóricas, Janeway había predicho la existencia de receptores de reconocimiento de patrones en las células de la inmunidad innata. Más aún, en el año 1997, antes de que Beutler publicara

su magnífico artículo “Nobel”, Janeway publicó junto a Medzhitov el artículo titulado *A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity* en la prestigiosa revista *Nature*¹¹. Aun cuando no definiesen en este artículo la naturaleza de los ligandos reconocidos por los receptores Toll, su participación en la respuesta inmune en el hombre resultaba claramente establecida.

Desde sus comienzos, la entrega de Premios Nobel ha sido motivo de inexplicables sorpresas, elucubraciones, suspicacias y controversias. Desde el rechazo de Jean Paul Sartre al Premio Nobel de Literatura en 1964 hasta la espera infructuosa del Premio Nobel en Literatura para Jorge Luis Borges y el sorpresivo otorgamiento del Premio Nobel de la Paz para Barack Obama, estos ejemplos ilustran la polémica que despierta esta esperada distinción. El Premio Nobel en Medicina 2011 no está exento de estos condimentos. La trágica muerte de Ralph Steinman tres días antes de recibir la noticia de este honor y las intrigas y controversias asociadas al descubrimiento y caracterización de los receptores Toll han teñido este honor tan apreciado de un color inesperado, amalgamado de admiración y tristeza.

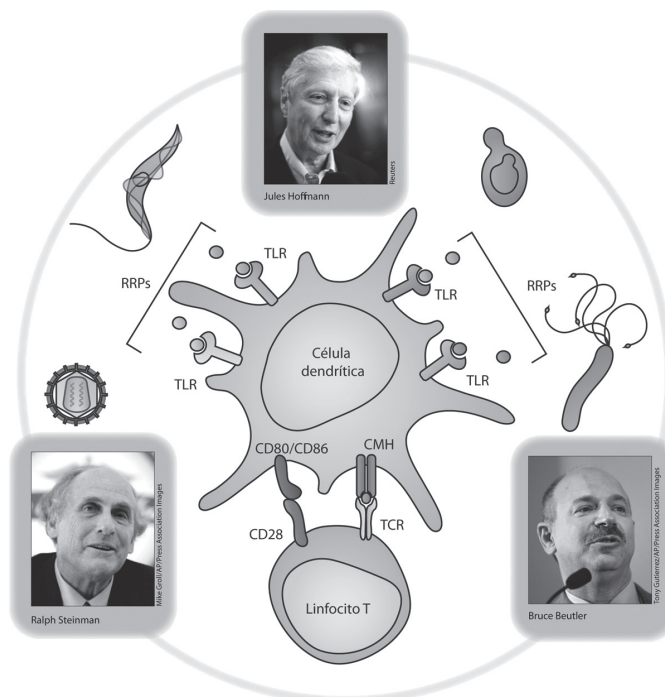


Fig 1.– Premio Nobel de Medicina 2011 a Ralph Steinman (izquierda), Jules Hoffmann (centro) y Bruce Beutler (derecha) por el descubrimiento de las células dendríticas y los receptores de reconocimiento de patrones. El circuito describe el reconocimiento de microbios por RRP (particularmente receptores Toll) en células dendríticas y la activación posterior de linfocitos T vírgenes (para detalles remitirse al texto). CD80 y CD86 son moléculas co-estimuladoras expresadas en células dendríticas que median una segunda señal de activación en el linfocito T virgen, al interactuar con la molécula CD28. Abreviaturas: TLR: Toll-like receptor; TCR: Receptor de células T; RRP: receptores de reconocimiento de patrones; CMH: complejo mayor de histocompatibilidad.

Gabriel A. Rabinovich^{1, 2}, Jorge R. Geffner^{3, 4}

¹Laboratorio de Inmunopatología, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME), CONICET, Buenos Aires, ²Laboratorio de Glicómica Funcional, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, ³Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, ⁴Centro Nacional de Referencia para el SIDA, Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

e-mail: gabyrabi@gmail.com

1. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 1973; 137: 1142-62.
2. Steinman RM. Linking innate to adaptive immunity through dendritic cells. *Novartis Found Symp* 2006; 279: 101-9.
3. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 685-711.
4. Ilarregui JM, Croci DO, Toscano MA, Bianco GA, Salatino M, Rabinovich GA. Integrating the universe of regulatory cells in cancer: a major hurdle for successful immunotherapy. *Medicina (B Aires)* 2007; 67: 25-31.
5. Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature* 2007; 449: 419-26.
6. Anderson KV, Jurgens G, Nusslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell* 1985; 42: 779-89.
7. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 1996; 86: 973-83.
8. Poltorak A, He X, Smirnova, Liu MY, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science* 1998; 282: 2085-8.
9. Barton GM, Kagan JC. A cell biological view of Toll-like receptor function regulation through compartmentalization. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 535-42.
10. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140: 805-20.
11. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997; 388: 394-7.