

# Disertación del beneficiario del Premio Dr. Ricardo A. Margni

## Agradecimientos:

Autoridades de la Academia, invitados, colegas, amigos:

Quiero en primer término agradecer profundamente, por intermedio de sus autoridades, a la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria por el premio que acaba de otorgarme, lo que me hace sentir muy feliz, sobre todo por provenir de una institución que se ha caracterizado por el apoyo a todo aquello que esté relacionado con el progreso de las ciencias. Pero quiero agradecer muy especialmente a la Fundación Manzullo, patrocinante del premio; y cuando digo Fundación Manzullo estoy diciendo Dr Alfredo Manzullo. Lo conocí hace muchos años, allá por 1946/47 cuando estaba realizando mi tesis doctoral en el Instituto Malbrán. Terminada ésta pasé a formar parte del personal estable del Instituto, trabajando en la Sección Vacunas Microbianas, ocupando finalmente el cargo de Jefe de esa Sección. Durante toda mi permanencia en el Malbrán tuve oportunidad de tener contactos con el Dr. Manzullo quien por ese entonces trabajaba en la Sección Sueros y tomar conocimiento de su dedicación a la investigación científica y de sus numerosos aportes en el campo de la inmunoprofilaxis.

Con la moderna metodología molecular, hoy resulta fácil hacer un diagnóstico rápido y preciso de una infección diftérica, pero en la década de los 40, esa metodología no se conocía. En ese entonces Manzullo, que se desempeñaba en la Sección Diagnóstico, elaboró un método de análisis presuntivo, seguido del de certeza, para

la identificación del Corynebacterium diphtheriae. Utilizaba como reactivo indicador telurito de potasio, el que al ser reducido por el microorganismo permitía ver en el material de hisopado manchas negras a las 6-8 horas, que al ser repicadas en agar con telurito mostraban 24 horas después colonias ennegrecidas si el microorganismo era el bacilo diftérico. Este método de diagnóstico permitió el uso correcto de la antitoxina diftérica en los casos de presunta infección por este microorganismo.

Todos estos antecedentes fueron los que determinaron que el Dr. Manzullo fuera designado Profesor Titular de Sueros y Vacunas en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de La Plata y con posterioridad Director del Instituto Biológico de la Provincia de Buenos Aires. Es por todo ello que me siento orgulloso de recibir un premio que lleva el nombre de alguien que tanto ha hecho por el progreso del conocimiento en nuestro país.

Para hacer investigación se necesita, además de tranquilidad en el lugar de trabajo, tranquilidad espiritual. Y ello se logra cuando en la intimidad del hogar hay comprensión, apoyo, estímulo, respeto. Yo he tenido la fortuna de tener todo eso por parte de mi esposa durante mis largos años de matrimonio, y es por ello, mi querida Gretel, que este premio quiero compartirlo con vos.

Después de estos agradecimientos, voy a ocuparme del tema específico de mi disertación.

## Los anticuerpos asimétricos: estructura y función

Nosotros y todos los vertebrados, vivimos rodeados de microorganismos patógenos que nos agreden permanentemente. No obstante ello normalmente no nos enfermamos porque disponemos de diferentes mecanismos para lucha contra esa agresión siendo uno de los más importantes el de la defensa inmune, el que, a diferencia de los otros, es específico para el agente agresor. Participan en el mismo célula, -los linfocitos T-, que a través de receptores de membrana interactúan con los antígenos promoviendo su destrucción y eliminación, y los anticuerpos, -secretados por linfocitos B-, moléculas proteicas pertenecientes a la Familia de las *inmunoglobulinas (Ig)*, de las que existen diferentes clases (cinco en el hombre). En una respuesta inmune que evoluciona la más representativa es la IgG, que constituye aproximadamente el 80% de la población total de anticuerpos que se sintetizan. Esta molécula está formada por dos hemimoléculas, compuesta cada una de ellas por una cadena liviana (L) y una cadena pesada (H). En esta cadena, en la parte C-Terminal, se encuentran insertados restos hidrocarbonados en los que predominan galactosa y ácido siálico. En la *Figura 1-A* puede verse la estructura de una IgG y la nomenclatura con que se identifica a los diferentes fragmentos. Dado que las dos hemimoléculas que componen la molécula entera son idénticas, la IgG es simétrica. Estas moléculas de IgG, por tener dos sitios de combinación o paratopes, precipitan con el antígeno, fijan el complemento, facilitan la depuración antigénica y ponen en marcha los diferentes mecanismos biológicos que llevan a la degradación y eliminación del antígeno.

Hace algo más de 25 años. analizando sueros de conejos inoculados con seroalbúmina bovina, pudimos demostrar que el 10-15% de las moléculas de IgG que se sintetizan, no obstante unirse al antígeno no lo precipitan, no fijan el complemento ni son capaces de mediar ninguno de los mecanismos de defensa que ponen en marcha los anticuerpos precipitantes. Estos estudios fueron ampliados luego a otras especies animales utilizando diferentes inmunógenos y se demostró que afectan a las diferentes clases y subclases de IgG que el animal sintetiza. Cuando esos anticuerpos son neutralizantes de toxinas, como la tetánica, la capacidad neutralizante de los anticuerpos precipitantes es 6-7 veces superior a la de los no precipitantes.

Como consecuencia, a diferencia de los anticuerpos precipitantes, los no precipitantes son protectores del agente agresor y este efecto puede ser beneficioso o perjudicial según que la especificidad sea para antígenos "propios" o "no propios" (*Figura 2*).

Cuando se realizaron ensayos de competición por el antígeno pudimos demostrar que si en la mezcla la relación anticuerpo no precipitante/ anticuerpo precipitante no era superior a 20:80, el anticuerpo no precipitante no interfería en la actividad del anticuerpo precipitante, pero sí comenzaba a competir con éste cuando esa proporción se incrementaba, llegando a inhibirla cuando llegaba a 80:20. Dado que los dos anticuerpos tienen la misma especificidad, esta competición es por masa de anticuerpo, lo que hace que la funcionalidad de un suero que contiene los dos anticuerpos dependerá de la proporción en que ambos se encuentren. Estos ensayos de competición fueron hechos con varios sistemas: fijación del complemento, depuración

antigénica del torrente sanguíneo y neutralización de toxina.

Los estudios realizados en diferentes especies animales, inoculadas con antígenos distintos (seroalbúmina bovina, ovoalbúmina, gammaglobulina, toxina, proteínas hapténadas, etc) mostraban que todos ellos sintetizaban un 10-15% de anticuerpos no precipitantes, y los ensayos realizados para tratar de encontrar diferencias en la estructura proteica como mapas peptídicos, mapas diagonales, análisis inmunoquímicos, absorciones cruzadas de inmunoseros obtenidos por inoculación de conejos usado como antígenos anticuerpo IgG precipitante y no precipitante, no aportaban elementos de juicio que permitieran establecer diferencias entre ambas inmunoglobulinas.

Se analizaron varios hechos como causas posibles de la no precipitación:

a- Que los anticuerpos no precipitantes fueran hemimoléculas: ello fue descartado al demostrarse que los pesos y volúmenes moleculares de ambos anticuerpos eran similares.

b- Que existiera en los anticuerpos no precipitantes un puente disulfuro extra, el que crearía rigidez entre los dos Fab y como consecuencia cuando uno de ellos interaccionara con un antígeno, el sitio de combinación ubicado en el otro Fab estéricamente se vería impedido de interactuar. Ello no es cierto porque si los anticuerpos precipitantes y no precipitantes son reducidos con ditioneitol en medio neutro y se bloquean con iodoacetamida los grupos sulfidrilos liberados, los anticuerpos precipitantes no modifican su comportamiento frente al antígeno y los anticuerpos no precipitantes no adquieren capacidad precipitante.

c- Que los anticuerpos no precipitantes

tuvieran en su Fc grupos cargados positivamente y que si bien interactúan con el antígeno, los complejos iniciales formados no podrían agregarse como consecuencia de fenómenos de repulsión. Esta no es la causa de la no precipitación, pues los fragmentos F(ab)<sub>2</sub> de los anticuerpos precipitantes y no precipitantes siguen manteniendo frente al antígeno el mismo comportamiento que el anticuerpo entero.

d- Podría suponerse que los anticuerpos precipitantes están dirigidos contra un epitopo que se encuentra en alta densidad en el antígeno y que los no precipitantes son específicos para epitopos de densidad baja la misma molécula. Los estudios hechos con proteínas hapténadas (DNP= dinitrofenol) mostraron que los anticuerpos anti-DNP precipitantes precipitan a antígenos con alta y baja densidad de epitopos por molécula, y que los anticuerpos no precipitantes no precipitan con ninguno de los dos antígenos.

El primer elemento de juicio para dilucidar el porqué de la no precipitación del antígeno por los anticuerpos no precipitantes surgió cuando se iniciaron estudios de interacción primaria Ag-Ac usando como ligandos moléculas grandes (antígenos) y moléculas pequeñas (haptenos). Las graficaciones de Scatchard (Figura 3-A) muestran que cuando un antígeno interacciona con anticuerpo precipitante se obtienen curvas con pendientes normales y se necesitan dos moléculas de antígeno para saturar una molécula de anticuerpo ( $r=2$ ), o sea que este anticuerpo tiene dos sitios de combinación o paratopos con capacidad para unirse al antígeno. El anticuerpo no precipitante sólo puede fijar una molécula de antígeno ( $r=1$ ), lo que indica que posee sólo un sitio efectivo. Cuando la interacción tiene lugar con ligandos pequeños, los

anticuerpos precipitantes muestran un comportamiento similar al observado con antígeno, saturándose con dos moléculas de hapteno. Los anticuerpos no precipitantes dan curvas bimodales y la proyección de esas pendientes cortan a  $r=1$  y  $r=2$  respectivamente, indicando que la molécula tiene un sitio de combinación de alta afinidad y otro de afinidad baja (*Figura 3-B*). Los fragmentos F(ab)<sub>2</sub> de anticuerpo precipitante y no precipitante tienen un comportamiento similar al de la correspondiente molécula entera del anticuerpo. Cuando el fragmento F(ab)<sub>2</sub> es reducido, se obtienen los correspondientes fragmentos Fab, y si se los pasa por columna de inmunoabsorbente, todo el Fab de anticuerpo precipitante se fija a éste, en tanto que en el caso de los Fab de anticuerpo no precipitante sólo el 50% de ellos son retenidos. Al medir la constante de asociación de los fragmentos Fab retenidos y no retenidos, los primeros muestran un valor similar al Fab de anticuerpo precipitante, en tanto que el no retenido es de muy baja afinidad (*Figura 3-C*). Ello explica el particular comportamiento de estos anticuerpos: se fijan al antígeno pero no pueden formar agregados porque sólo uno de los sitios de combinación puede hacerlo eficientemente y como consecuencia son bloqueantes del antígeno, al que protegen de otros mecanismos que pudieran actuar sobre el mismo (*Figura 2*).

Si bien los estudios anteriores permitieron demostrar que la funcionalidad de uno de los sitios de combinación del anticuerpo no precipitante es anormal, ello no encontraba una explicación lógica con todo lo efectuado sobre estructura de anticuerpo precipitante y no precipitante. Fue en ese entonces que tratamos de investigar si la parte hidrocarbonada de la molécula no estaría comprometida en la funcionalidad de

los anticuerpos no precipitantes. Los primeros estudios mostraron que éstos anticuerpos tienen un resto hidrocarbonado del tipo "high mannose" no compartido con los anticuerpos precipitantes. Este resto, que se fija a la lecitina concanavalina A, está localizado en el fragmento Fd del Fab que contiene el paratope de baja afinidad. Cuando los anticuerpos no precipitantes son tratados con la enzima endo- $\beta$ -N-acetilglucosaminidasa H, que rompe la unión del resto oligosacárido a la molécula proteica, los anticuerpos no precipitantes se transforman en precipitantes. El tratamiento del Fab de baja afinidad con dicha enzima lo transforma en un Fab de alta afinidad. Es decir que el hidrato de carbono localizado en uno de los sitios de combinación de la molécula de anticuerpo le crea a éste un impedimento estérico que hace que no pueda interaccionar con la molécula de antígeno, por lo que no forma los agregados indispensables para que la mayor parte de las reacciones biológicas del huésped para degradar y eliminar al antígeno puedan ponerse en marcha.

Teniendo en cuenta que el oligosacárido rico en manosa que poseen estos anticuerpos está localizado en sólo uno de los Fab de la molécula, y que las dos hemimoléculas que forman parte de la molécula entera no son iguales, originándose por tanto una asimetría, hemos propuesto para estos anticuerpos no precipitantes el nombre de *anticuerpos IgG asimétricos* para su correcta identificación y ese es el nombre con que actualmente se los conoce en la literatura (*Figura 1-B*).

Las moléculas de IgG asimétricas se fijan a Con A; esto permitió demostrar que en los sueros no inmunes, también el 10-15% de las moléculas son asimétricas.

Utilizando este método demostramos que hibridomas productores de anticuerpos monoclonales sintetizan simultáneamente moléculas de IgG simétricas y asimétricas, exactamente iguales, las que sólo se diferencian por el contenido y ubicación del resto hidrocarbonado rico en manosa. Ello prueba que ambas moléculas son producidas por el mismo clon celular, que su síntesis tiene el mismo origen genético, y que la diferenciación es postraduccional. Cuando las cadenas H sintetizadas son transportadas a través del retículo-endoplásmico, probablemente con la participación de chaperoninas, la velocidad de plegado de algunas cadenas puede retardarse, y secuencias existentes en el fragmento Fd, que normalmente se ocultan durante el plegado, quedan expuestas y tienen posibilidades de glucosilarse. Si hay activación del "set" de glucosiltransferasas que regulan la unión a proteínas de restos ricos en manosa, se explica que haya moléculas de IgG que se glucosilan en un Fab con incorporación de estos restos y que la proporción de esas moléculas pueda incrementarse en determinadas circunstancias.

Un hecho que nos había llamado la atención fue que cuando hacíamos hemaglutinaciones pasivas usando eritrocitos de carnero sensibilizados con el antígeno, los anticuerpos IgG asimétricos, al igual que los precipitantes tenían capacidad aglutinante. Ello era poco comprensible si se tiene en cuenta que los principios fisicoquímicos que regulan la precipitación y la aglutinación son los mismos. Este comportamiento lo observamos con eritrocitos de una gran cantidad de vertebrados, y con los únicos glóbulos rojos con los que no daban aglutinación pasiva eran los humanos. Estos estudios se profundizaron y permitieron demostrar que los eritrocitos de los vertebrados, excepto los

humanos, poseen un receptor para el fragmento Gc de IgG activada. Como consecuencia, los IgG asimétricos dan aglutinación mediante una reacción mixta en la que el Fab de alta afinidad interacciona con su correspondiente epitopo, y el Fc de la misma molécula se une a otro hematíe por interacción con el correspondiente receptor. Los glóbulos rojos humanos, por no poseer receptor para Fc, no pueden ser aglutinados. Que la reacción de hemaglutinación obedece al mecanismo indicado puede demostrarse haciendo interaccionar con los glóbulos rojos sensibilizados el fragmento F(ab)<sub>2</sub> del anticuerpo específico. Si este fragmento proviene de un anticuerpo precipitante, la hemaglutinación es positiva, en tanto que es negativa si es obtenido de un anticuerpo IgG asimétrico.

El conocimiento de este hecho es importante porque desde el punto de vista diagnóstico se usan con frecuencia las reacciones de hemaglutinación pasiva, y por comodidad, los glóbulos rojos que se emplean son los humanos. Si se usan glóbulos rojos de carnero, pollo y otros todos los anticuerpos IgG de la muestra van a aglutinar los eritrocitos, en tanto que sin eritrocitos humanos sólo lo harán los anticuerpos precipitantes. El empleo simultáneo de ambas reacciones permite hacer una apreciación del contenido de anticuerpos IgG simétricos de asimétricos de un suero, ya que con los glóbulos rojos de carnero se medirán los anticuerpos totales y con los humanos los precipitantes. La diferencia de título entre ambas reacciones indicará el contenido de anticuerpos IgG asimétricos. Ello es muy importante dado que los anticuerpos precipitantes son protectores del huésped, mientras que los IgG asimétricos son protectores del antígeno o agente agresor.

Otro hecho que nos preocupó fue conocer cual era la evolución de la respuesta inmune en el tiempo según la calidad del antígeno usado como inmunógeno: soluble o particulado. Pudimos demostrar que si el antígeno es una solución y se lo inocula a repetición por periodos de hasta un año, los anticuerpos IgG asimétricos constituyen el 10-15% de los anticuerpos sintetizados durante todo el experimento. Si en cambio los antígenos son particulados (una bacteria, una proteína agregada), los anticuerpos IgG asimétricos se incrementan con el tiempo y la proporción en la mezcla supera a la de los anticuerpos precipitantes, por lo que estos sueros son bloqueantes, protectores del antígeno. En estudios efectuados en conejos inoculados cada 15 días con *Salmonella typhi*, en muestras tomadas entre los 6 y 9 meses de iniciada la inmunización, hemos obtenido títulos de aglutinación directa de la bacteria entre 1/50 y 1/100 y de 1/3.500 y 1/5.000 para los mismos sueros valorados por ELISA. Esta es una reacción de interacción primaria que mide anticuerpos totales, en tanto que la aglutinación directa sólo mide anticuerpos precipitantes.

Las infecciones crónicas son experimentos de la naturaleza que responden a las características antes descritas: estimulaciones repetidas y prolongadas con antígenos particulados (bacterias, parásitos). Estudios efectuados en bovinos crónicamente infectados con *Brucella abortus* mostraron que con la cronicidad se incrementa la proporción de anticuerpos IgG asimétricos, llegando muchas veces a predominar. Algo similar se observó en humanos con infección crónica de Chagas. Pacientes en los que el título de anticuerpos *anti-T. cruzi* dosado por fijación del complemento era de 1/16-

1/32, mostraron títulos de 1/1.240-1/2.480 medidos por ELISA e IFI.

Estos resultados son de gran significación porque demuestran que en las infecciones crónicas, el predominio de estos anticuerpos bloqueantes, protectores del antígeno, potencian la cronicidad, por lo que desde el punto de vista diagnóstico no sólo importa determinar si un infectado tiene anticuerpos, sino también la calidad de los mismos.

Un interrogante que se nos planteaba era si todo reconocimiento de lo "no propio" tendría que ser perjudicial para el huésped o si existiría la posibilidad de que en algún caso eso no fuera así. Es bien sabido que una mujer que rechaza un trasplante de piel proveniente de un hombre puede gestar un hijo del mismo individuo. ¿Cual es la causa por la que la mujer elabora una respuesta normal contra los aloantígenos de la piel y la rechaza y en cambio mantiene en su vientre un feto en el que el 50% de sus antígenos constitutivos son de origen paternal y en su mayoría se expresan en la placenta?. Si en este caso la respuesta inmune humoral fuera con producción de anticuerpos IgG asimétricos, los mismos podrían actuar como protectores de los antígenos "extraños" y participar por lo tanto en los mecanismos biológicos de protección del feto, asegurando su permanencia en el útero materno.

Las primeras investigaciones se efectuaron dosando la cantidad de moléculas IgG asimétricas en el suero de mujer gestantes y no gestantes. Demostramos que mientras que en estas últimas ese porcentaje era del 12-14%, en las gestantes se elevaba al 28-32%. Cuando placentas humanas, de rata y de ratón, fueron fragmentadas y lavadas para eliminar toda contaminación con sangre materna y luego se las trató con CIK 3M, disociante de uniones Ag-Ac, demostramos que se liberaba

IgG, que no menos del 60% de esas moléculas eran asimétricas, y que el 80% de ellas tenían especificidad para los antígenos paternos, determinada por interacción con linfocitos de esa procedencia.

¿Cual es el mecanismo por el que durante la gestación hay un aumento de la glucosilación de las moléculas de IgG?. El único órgano que existe en la mujer gestante y que no está presente en la no embarazada es la placenta, por lo que tratamos de investigar si ésta elabora algún factor capaz de modular la calidad de la respuesta inmune humoral y hacerla beneficiosa para el feto. Se seleccionaron fragmentos de placenta, los que previa tripsinización para enriquecerlos en trofoblastos fueron sembrados en medios de cultivo apropiados. Se separaron los sobrenadantes y para determinar si en ellos había algún factor placentario responsable del fenómeno se efectuaron estudios *in vitro* e *in vivo*. Los estudios *in vitro* se hicieron sobre hibridomas de los que previamente se conocía que porcentaje de moléculas IgG asimétricas sintetizaban y a los que se les añadió diferentes cantidades del sobrenadante del cultivo de placenta. Pudimos observar que la adición del 5-10% incrementase la producción de anticuerpos asimétricos entre el 70% y el 95% sobre el valor básico, dependiendo ello del hibridoma analizado. Los estudios *in vivo* se efectuaron determinando la influencia que esos sobrenadantes ejercían en cruces de ratones hembra abortadoras (cruza CBAj x DBA2), los que presentan marcada resorción fetal. Se demostró un marcado efecto beneficioso, con disminución de las resorciones fetal. Se demostró un marcado efecto beneficioso, con disminución de las resorciones y aumento de la síntesis de IgG asimétrica. Ratones hembra Balb/c y CBA no

preñadas, inoculados con los sobrenadantes placentarios mostraron un marcado incremento de IgG asimétrica sérica.

La duda que persistía era si la modulación de la respuesta inmune humoral con predominio de anticuerpos IgG asimétricos era específica para los antígenos paternos o constituía un fenómeno general. Los ensayos se hicieron inoculando con ovoalbúmina (OVA) ratones Balb/c vírgenes, lotes similares inoculados simultáneamente con sobrenadante de placenta y ratones hembra Balb/c preñadas por cruce con machos CBA. Los resultados mostraron que los ratones vírgenes respondían con la formación de 12-14% de anticuerpos anti-OVA IgG asimétricos, y que en las gestantes y la vírgenes que habían recibido sobrenadantes de cultivos de placenta incrementaban esa proporción (32-35%). Ello indicaba que el cambio que se observa en la respuesta inmune durante la preñez no es específico para los antígenos aportados por el feto, sino que es un fenómeno general modulador para cualquier antígeno que pueda inducir una respuesta.

Con el objeto de identificar al factor secretado por la placenta, responsable de la modulación de la respuesta inmune, se realizaron una serie de estudios. Se pudo aislar, por filtración por Sephacryl-200 (FPLC), una proteína de 23 kDa. Dado que la IL-6 es una proteína de ese peso molecular, la que asociada con la modulación de glucosiltransferasas induce un aumento en la glucosilación de diversas moléculas, entre ellas proteínas de fase aguda, se realizaron ensayos a efectos de establecer si había alguna relación entre ambas. El añadido del factor de 23 kDa o de IL-6 recombinante a un cultivo de hibridoma incrementa la proporción de moléculas IgG asimétricas, efecto que se ve inhibido con la incorporación

simultánea al medio de cultivo de anticuerpo anti-IL-6. Por otra parte el factor de 23 kDa favorece el crecimiento de una línea celular dependiente de IL-6 (hibridoma 7TD1), efecto que es inhibido por anti-IL-6. Toda esta información indica que la IL-6 secretada por los trofoblastos placentarios es el principal regulador de la calidad de la respuesta inmune inducida por la madre, cuya finalidad es asegurar la sobrevivencia del feto en el útero materno.

Otra información muy interesante fue la que se obtuvo cuando se inmunizaron ratas Fischer en forma repetida, durante 3 meses previo al apareamiento con machos Buffalo, con células de bazo enteras y con lisados celulares procedentes de los machos a aparear. Durante la preñez se investigó la cantidad y especificidad de las moléculas de IgG asimétricas sintetizadas, así como la evolución del proceso. Las ratas inoculadas con antígenos particulados incrementaron los anticuerpos asimétricos durante el período previo al apareamiento, no así las inoculadas con antígenos solubles. Además, en los animales del primer grupo la fecundidad fue del 100% y el peso de los fetos y placentas fue superior al observado en las ratas inoculadas con antígeno soluble. Estos resultados avalarían lo observado en mujeres abortadoras a repetición que presentan anticuerpos anti-paternales fijadores del complemento (precipitantes), en las que se logró revertir el hecho inoculándoles, previo al embarazo, suspensiones de linfocitos del esposo. Estos modularían una respuesta de anticuerpos IgG asimétricos, protectora del feto. Algo similar podría lograrse por inoculaciones con factores placentarios o IL-6.

Considerando que los anticuerpos IgG asimétricos son bloqueantes, protectores del antígeno, la inducción de una respuesta de este

tipo, ya sea mediante la transferencia pasiva de factores placentarios, IL-6 o por la inoculación de esos antígenos al estado particulado, podrían resultar muy útiles en el tratamiento de algunas enfermedades autoinmunes y en los trasplantes de tejidos. En nuestros laboratorios se están estudiando esas posibilidades, en un modelo experimental en ratas de artritis por autoagresión mediada por colágeno tipo II, y en trasplantes de piel alogeneica en ratones. Los resultados logrados hasta el momento resultan muy alentadores.

Los anticuerpos IgG asimétricos bloquean los antígenos y no pueden poner en marcha las reacciones biológicas responsables del daño antigénico. Durante la preñez hay una síntesis preferencial de estos anticuerpos por parte de la madre, cualquiera sea la especificidad del antígeno inoculado. En consecuencia, la vacunación rutinaria durante la preñez es cuestionable, porque los anticuerpos que la madre transfiere al feto son predominantemente del tipo IgG asimétricos, los que habrán de proteger al agente agresor con el que se enfrentará el neonato inmediatamente después de su nacimiento.

He procurado hacer un breve resumen de los principales hechos que nos llevaron conocimiento de la estructura y función de los anticuerpos IgG asimétricos. Estos trabajos los inicié en Francia, en la Cátedra de Medicina Experimental del College de France, junto al Dr. Ruben Binaghi y a mi regreso a la Argentina continuaron en la Cátedra de Inmunología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica y en el IDEHU- Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral que nos creara el CONICET, tomando como base el grupo humano que se había reunido para desarrollar su actividad sobre diferentes aspectos relacionados con estos anticuerpos. En



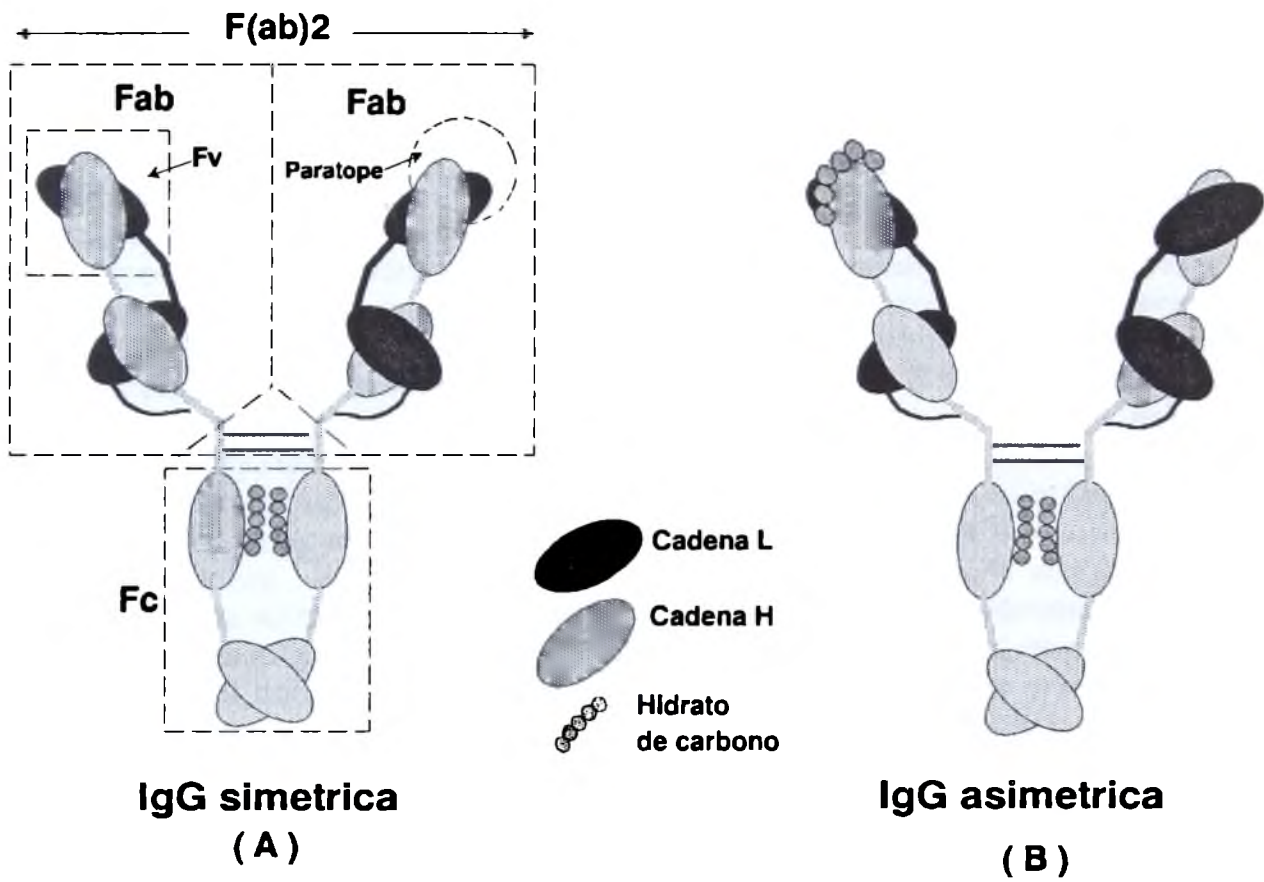
estos estudios han participado prácticamente todos sus miembros, muchos de los cuales permanecen aún; otros están en el exterior (Francia, Suiza, Inglaterra, USA) y en centros de investigación del interior del país y algunos becarios latinoamericanos que han vuelto a su país de origen. Yo quiero agradecer profundamente a todos los que participaron en estos estudios, pues si no hubiese sido por ellos yo no hubiese recibido este premio.

Me siento intimamente muy feliz porque durante los casi 50 años de trabajo en el laboratorio he formado

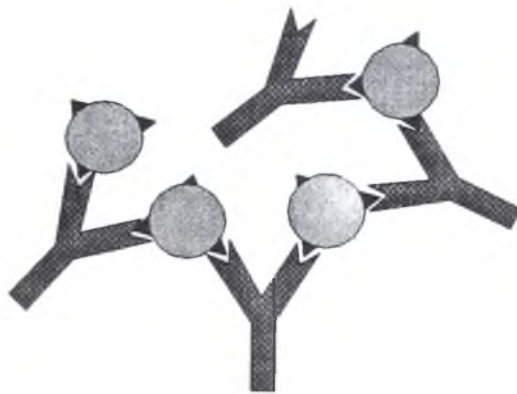
muchos discípulos , pero esa felicidad se magnífica porque creo haber cumplido con lo postulado por Marañón: "el maestro no es aquel que sólo transmite diariamente sus conocimientos a sus discípulos, sino además, que procura darles alas cuando están en condiciones de volar" y mi satisfacción es grande porque he ayudado a todos los que se sintieron en condiciones de levantar vuelo, y hoy son muchos los que están volando y algunos, por cierto lo están haciendo muy alto. Para todos ellos mi reconocimiento y mi afecto.

Muchas gracias.

**Figura 1:** Estructura esquemática de la molécula de IgG simétrica (A) y asimétrica (B).



**Figura 2:** Los anticuerpos IgG precipitantes, por tener dos paratopes, pueden formar agregados con el antígeno. Los anticuerpos IgG asimétricos solo tienen un paratope funcional, por lo que no forman agregados y bloquean al antígeno, inhibiendo la puesta en marcha de los mecanismos biológicos que llevan a su degradación y eliminación.



IgG simet.(ppte) + Ag  
(formacion de agregados)



IgG asimet.(no ppte) + Ag  
(bloqueo del Ag)

**Figura 3:** Interacción de IgG precipitante y no precipitante con un antígeno (A) y con un hapteno (B). En (C) se indican las interacciones de los fragmentos Fab de ambos anticuerpos cuando interaccionan con un hapteno.

