
EDITORIAL

Vigilancia Inmunológica contra los Tumores

En su forma original, y generalizada la teoría de la vigilancia inmunológica ha postulado que: a) las células tumorales se originan en el organismo normal con una "frecuencia enorme" y b) que son normalmente eliminadas por los mecanismos inmunes (1). De manera más o menos consciente gran parte de la experimentación reciente en inmunología tumoral se ha basado y sigue basándose en estos postulados. Como consecuencia, todos los intentos convergen de alguna manera hacia la demostración y caracterización de la "falla inmunológica," la cual se supone que es la principal responsable del desarrollo del tumor en el paciente canceroso.

Recientemente el concepto de vigilancia inmunológica ha sido criticado por numerosos autores. Un argumento que suele presentarse en su contra es la relativa rareza de los tumores primarios en los ratones atímicos; sin embargo, este argumento pasa por alto el hecho bien documentado de que el ratón atímico posee potentes mecanismos de vigilancia inmunológica no mediados por la célula T (2). Mas importante sería el hecho de la incapacidad demostrada de los tumores espontáneos para inmunizar huéspedes autóctonos o singenéticos y sin embargo este punto crucial no ha recibido la atención que se merece.

Para los propósitos de la discusión subsiguiente la palabra "espontáneo" será usada para designar tumores que surgen sin ninguna interferencia experimental en el laboratorio o en la naturaleza. El entrecruzamiento con selección de cepas que presenten una alta incidencia de tumores, debe considerarse una interferencia experimental muy seria. Evitaremos en lo posible considerar tumores de esta clase.

Dentro de esta definición restrictiva, Baldwin (3) fue el primero en experimentar con tumores espontáneos de la rata para analizar su capacidad de inmunizar huéspedes singenéticos, es decir de las mismas características genéticas, con transplantes viables de tumor. En contraste con las ratas que tenían tumores inducidos químicamente, las ratas previamente inmunizadas con este tipo de tumor no mostraron un rechazo cuando se hizo la comparación con los controles. Prehn (4,5) obtuvo resultados similares con fibrosarcomas espontáneos en ratones viejos. La significancia de estos datos negativos fue recalcada por las reacciones de rechazo paralelas y altamente positivas que lograron los mismos autores con tumores inducidos químicamente de origen genético e histológico similar. Mas recientemente Hewitt y col. (6) informaron su experiencia con 27 tumores espontáneos de varios

tipos histológicos que se presentan en ratones viejos de cepas con baja frecuencia de tumores. El crecimiento tumoral no pudo facilitarse haciendo una irradiación previa del huésped y tampoco prevenirse o ser inhibido por inmunizaciones repetidas con células tumorales letalmente irradiadas. Basados en estos hallazgos Hewitt y col. dirigieron un fuerte ataque contra la inmunología tumoral. Sugirieron que las reacciones de rechazo, demostradas en huéspedes singenéticos contra los tumores inducidos químicamente o por virus, eran esencialmente artefactos de experimentación de laboratorio. Pudieron demostrar en sus experimentos un cierto grado de resistencia contra algunos tumores en huéspedes híbridos semi-singenéticos F1 (primera generación), pero también descartaron ésto como un artefacto de transplante.

En nuestra opinión Hewitt y col. (6) probablemente tienen razón en su argumento acerca de la falta de rechazos demostrables de tumores espontáneos que se desarrollan en animales viejos. Sin embargo, como trataremos de demostrar en seguida, se exceden al descartar la resistencia del híbrido F1 y la vigilancia potente contra los tumores inducidos por virus bajo condiciones naturales.

Vigilancia
Inmunológica
contra los Tumores
inducidos por Virus.

En los tumores inducidos por virus se encuentra la mayor evidencia de inmunogenicidad, capacidad de rechazo y vigilancia inmunológica (7). La timectomía neonatal, el suero antilinfocítico, una variedad de agentes inmunosupresores, la irradiación corporal total y la atimia en ciertas cepas de ratones atímicos, facilitan la aparición de tumores tales como Polioma, Sarcoma SV40, Sarcoma de Rous (RSV) y otros más inducidos por virus, algunas veces en forma dramática. Este hecho es a menudo descartado en las polémicas que se suscitan contra la vigilancia inmunológica argumentando que reflejan meramente una inmunidad antiviral, lo cual no es cierto. En el sistema de los poliomas por ejemplo, se puede hacer una distinción muy clara entre la inmunidad antiviral y la reacción de rechazo dirigida contra antígenos de membrana celular (TSTA) no virales, pero inducidas viralmente (8).

La inmunidad antiviral no es ni necesaria, ni suficiente para inducir este tipo de rechazo, mientras que la inmunización con virus no productores de tumores inducidos, tipo polioma (singenéticos o alogénicos) protegen efectivamente los ratones contra el transplante de tumores ya establecidos de cepas de la misma especie y de las mismas características genéticas. En la enfermedad de Marek la vacunación-contra el virus tipo herpes de los pavos (HVT), no patógeno, puede proteger contra el desarrollo del tumor pero no contra la liberación de nuevas partículas virales (9). El sistema de los mamíferos (RSV) es completamente no permisivo y la inmunidad antiviral no tiene papel alguno en la protección relativamente fuerte observada (10), para mencionar solo pocos ejemplos.

La Tabla 1 resume algunos hechos importantes con respecto a los pocos virus oncogénicos que se presentan en la naturaleza. En los tres sistemas (el polioma en el ratón, el virus herpes Saimiri

en el mono ardilla y el virus de Epstein - Barr-EBV- en el humano) el adulto de la especie huésped natural, infectado por el virus pero inmunológicamente intacto, goza de protección contra el efecto oncogénico de poderosos agentes con capacidad de transformación maligna. Todos los tres virus son ubicuos, se encuentran en todas partes, por lo menos el EBV debe haber convivido con huéspedes humanos o primates por largo tiempo. El EBV o sus similares se encuentran en algunas primates no humanos del viejo mundo, pero no en el nuevo mundo (11).

Tabla 1 Datos sobre los virus oncogénicos naturales.

VIRUS	HUESPED NATURAL	DISTRIBUCION	SUSCEPTIBILIDAD	EFECTOR	GENETICA	INMUNOSUPRESION
Polioma	Ratón	Ubiquo	Resistencia completa normalmente	Dependiente de la célula T	Desconocida	El suero antilinfocítico, los rayos X, la deficiencia de la célula T y el estado neonatal pueden llevar a la formación tumoral.
Virus herpes saimiri	Mono Ardilla	Ubiquo	Resistencia completa (100% de susceptibilidad en huéspedes artificiales no expuestos previamente).	Desconocido	Desconocida	Desconocida
Epstein-Barr	Hombre	Ubiquo	Resistencia completa (excepto bajo circunstancias especiales)	Dependiente de la célula T ?	Desconocida	Hipotética
Leucemia felina	Gato	Enzoótica	Ca. 5% de leucemia	Anticuerpo ? ADLC ?	Desconocida	Desconocida
Enfermedad de Marek	Pollo	Esporádica, epizoótica	Alta	Dependiente de la célula T ?	Factor de resistencia ligado a MHC	Aumenta el riesgo la deficiencia de la célula T ?

La vigilancia inmunológica contra el poliovirus está mediada en alto grado por las células T (12) y lo mismo puede ser cierto para el EBV (13,14). No hay información correspondiente para el sistema HVS.

El virus de la leucemia felina (FeLV) es diferente, no se encuentra en todos los gatos callejeros y los casos de infección varían aunque se cita a menudo un índice aproximado del 1%. La probabilidad de que la leucemia se desarrolle en gatos infectados es aproximadamente del 5%. Es probable que un mecanismo no dependiente de las células T juegue un papel importante en la protección contra esta enfermedad de células T (15,16).

Sería posible especular sobre si la resistencia intermedia de los gatos al efecto leucemogénico del FeLV, es decir una resistencia inferior a la resistencia completa mencionada para los sistemas anteriores pero sin embargo protectora para la mayoría de los animales infectados, sea debida al impacto selectivo intermedio del virus, menos ubicuo en el espacio y/o menos prolongado en tiempo.

El extremo opuesto de susceptibilidad está representado por el virus de la enfermedad de Marek (MDV), que no es un contaminante normal de la mayoría de los criaderos de pollos. En caso de infección causa una enfermedad epizootica virulenta en la cual el efecto oncogénico del virus alcanza su máxima expresión, produciendo una alta mortalidad. Sin embargo el efecto protector de la vacunación con HVT (no sólo con un efecto antiviral como se mencionó antes) muestra que las aves responden a los antígenos asociados al tumor inducido por el virus. Incluso se han descrito algunas cepas de aves relativamente resistentes, y en ciertos cruces, la resistencia fue atribuida a un solo gen dominante. (9,17 - 20). La timectomía neonatal puede abolir tal resistencia. Recientemente (19, 20) se encontró una estrecha relación entre un gen de resistencia y el Complejo Mayor de Histocompatibilidad. Todo esto sugiere que los genes de respuesta inmune pueden contribuir a la resistencia genética.

En conclusión el conocimiento fragmentario acerca de la relación entre virus reconocidos como oncogénicos y sus especies huéspedes naturales sugiere lo siguiente:

- 1.- La resistencia contra el desarrollo de los tumores inducidos por virus resulta principalmente de una respuesta inmunitaria dirigida contra antígenos celulares determinados por el virus y no contra la multiplicación viral en sí.
- 2.- A menudo está mediada por mecanismos dependientes de las células T. Esto puede incluir una acción directa de las células T asesinas y/o los efectos indirectos dependientes de las células T, por ejemplo, los mediados por anticuerpos. El papel relativo de los mecanismos independientes de las células T no es claro aún, pero hay evidencias de que pueden desempeñar un papel importante en algunos sistemas (2, 12, 15, 16).
- 3.- Los virus ubíquos parecen haber preseleccionado sus especies huéspedes por la resistencia mediada inmunológicamente contra sus productos celulares preneoplásicos o francamente neoplásicos (transformados). Los virus enzoóticos pueden haber sido menos eficientes y la resistencia resulta ser sólo parcial. Los tumores epizooticos pueden ser inducidos por virus que infectan huéspedes susceptibles y no expuestos previamente durante largos períodos de tiempo.
- 4.- Es de particular importancia, como corolario de estas consideraciones, el que los cambios de membrana asociados con los tumores inducidos por virus pueden ser regularmente reconocidos como antigénicos independientemente de la producción de virus, es decir, aún en sistemas completamente no permisivos. Debemos tener en cuenta, sin embargo, que tal reconocimiento no es automático pero está fuertemente influenciado por las características genéticas del huésped.

Enseñanzas de
la progresión tumoral.

Por razones comprensibles, el investigador científico de laboratorio se inclina más por modelos virales con alta capacidad de

transformación y/o con alta eficiencia oncogénica y a menudo utiliza las variantes del laboratorio seleccionadas por su capacidad de transformación. Frecuentemente olvida que la oncogénesis in vivo por tales virus (para no hablar de la transformación in vitro) no se parece, ni aún remotamente, a la historia natural del cáncer. El admirable estudio de Foulds (21) hace ya casi 20 años nos ofrece un cuadro completamente distinto. Los cambios graduales múltiples, designados bajo el nombre general de "progresión tumoral", son responsables del desarrollo de la mayoría de los tumores naturales. Es discutible que un solo cambio gradual sea suficiente para que se desarrolle un tumor. Es interesante anotar que Dulbecco (22), discutiendo la capacidad oncogénica de algunos pequeños virus ADN, recalcó recientemente un punto similar.

En relación con los virus ARN, podemos considerar el caso extremo de entrecruzamiento en el laboratorio, con selección de cepas altamente susceptibles representadas por la cepa AKB, de alta frecuencia de leucemia murina. Hasta el presente se conocen como mínimo 4 sistemas genéticos diferentes que se han incorporado en el ratón AKR y que favorecen el desarrollo de la leucemia: el genoma viral integrado de Gross (23), el sistema amplificador Fv-1ⁿ (24), el alelo Rgv-1^s, ligado al complejo H-2 (25), probablemente análogo a la forma no respondedora de un gen de respuesta inmune, y la susceptibilidad genética a nivel celular del órgano blanco que favorece la transformación neoplásica. (26). No obstante toda esta susceptibilidad acumulada, la leucemia no se desarrolla inmediatamente, sino después de un período de latencia de varios meses. Cuando aparece, las células tumorales usualmente llevan uno o, mas raramente, varios cromosomas extras (27). Es probable por lo tanto que el virus conduzca a un estado preleucémico, requiriéndose una evolución citogenética posterior para alcanzar la malignidad total. También es conocido el hecho de que el timo de los ratones AKR es bastante anormal mucho antes de que se desarrolle la leucemia, conteniendo un gran número de células preleucémicas.

El linfoma de Burkitt asociado al EBV es otra entidad interesante en este sentido. Entre el 80 y el 90% de todos los tumores y líneas celulares derivadas que se analizaron, llevaban un marcador altamente característico, el 14q⁺, esto es, una banda extra en la parte distal del brazo largo de un cromosoma 14 (28-30). Los 10 a 20% restantes tenían otras anormalidades cromosómicas, ninguno de ellos era completamente diploide. En contraste, las líneas celulares transformadas por el EBV provenientes de individuos normales EBV positivos, de pacientes con mononucleosis infecciosa o de otras fuentes no malignas, a menudo eran diploides y no se encontró que llevaran el marcador 14q⁺. Aún si los linfocitos normales de sangre periférica de pacientes con linfoma de Burkitt que portaban el marcador 14q⁺ en el tumor, se transformaban in vitro, las líneas derivadas carecían de este marcador y eran diploides (30).

El genoma celular también ejerce una importante influencia en relación con la transformación aparentemente más directa in vitro inducida por pequeños virus ADN, tipo poliooma o SV-40 en cultivos monocapas sensitivos(22). Esto se ilustra por:

- 1.- La ocurrencia de mutantes fenotípicas portadoras del virus que mantienen integrado el ADN viral y el antígeno T, pero que presentan una constitución cromosómica cambiada (31).
- 2.- La demostración de que una mutación termosensible en una función celular puede controlar los fenotipos transformados sin ningún cambio en el genoma viral (32).
- 3.- La supresión del fenotipo maligno inducido viralmente por hibridización continua con células normales no obstante la expresión del antígeno viral (33).

La probabilidad de que los cambios cromosómicos asociados al tumor jueguen un papel importante en el proceso neoplásico, está sustentada por su naturaleza no aleatoria (34). Cambios cromosómicos específicos y reproducibles se asocian con ciertas formas de desarrollo tumoral, siendo diferentes para agentes etiológicos distintos.

El crecimiento tumoral fué definido por Foulds (21) como la evolución gradual de un tumor hacia una mayor autonomía mediante una serie de cambios graduales con múltiples características unitarias. Recalcó particularmente sobre la progresión independiente de varias características unitarias, es decir, su habilidad para reorganizarse en muchas combinaciones diferentes y concluyó que cada forma de neoplasia autónoma puede evolucionar a lo largo de una gran variedad de vías alternas.

Tabla 2.- *Características unitarias del desarrollo de los tumores.*

Clásica (in vivo)

Índice de crecimiento, invasión, "metastasizabilidad", forma ascítica de crecimiento, dependencia hormonal.

Moderna (in vitro)

Grado de inhibición de contacto, densidad de saturación, dependencia del suero dependencia de la fijación, clonabilidad (relación con la oncogenicidad in vivo?)

La Tabla 2 incluye algunas características unitarias importantes en la progresión de los tumores. Es interesante establecer un contraste entre los parámetros in vivo dados por Foulds (21) y los "más modernos" parámetros in vitro, basados en el comportamiento celular en medios de cultivo artificiales. En general in vitro la correlación del comportamiento neoplásico no refleja fielmente la oncogénesis in vivo, sin embargo ello puede representar una parte del todo. Cada parte parece ser intercambiable con las otras y ninguna es absolutamente necesaria. Esto se encuentra de acuerdo con las reglas de Foulds para la progresión in vivo.

Correlación lógica
entre la progresión
tumoral y el no
rechazo de los
tumores espontáneos.

La hibridización celular somática entre células transformadas in vitro y/o células oncogénicas y células normales mostraron, paradójicamente, dominancia del fenotipo transformado in vitro, pero con supresión de la oncogenicidad siempre y cuando los híbridos fueran relativamente completos desde el punto de vista cromosómico (35). La contradicción aparente puede resolverse, si se piensa que las varias características de transformación in vitro representan parte de un todo, esto es decir, la oncogenicidad. Si es así, el control negativo (represor) de solamente una característica parcial sería suficiente para concluir que la oncogenicidad in vivo como un todo, está también bajo control negativo.

Como se discutió en la introducción, la experimentación actual de la inmunología tumoral se basa a menudo en la noción de que la mayoría de los tumores son potencialmente rechazables en el huésped autólogo y que el crecimiento tumoral es por consiguiente una deficiencia en la respuesta de rechazo. Sin embargo, como ya se mencionó, la evidencia experimental sobre los tumores espontáneos no sustenta este concepto. Se puede aún hablar de una "falacia central" de la inmunología tumoral. Sus principios básicos y algunas posibles razones para su desarrollo se resumen tentativamente en la Tabla 3.

Tabla 3. *La falacia central de la inmunología tumoral*

Todos los tumores son potencialmente reconocibles por la respuesta inmune del huésped. Por consiguiente, el desarrollo de un tumor es siempre una alteración de esta respuesta. La terapia debe tratar de corregir esta alteración.

Posibles razones para el desarrollo de la falacia central.

El concepto de vigilancia generalizada presiona para lograr resultados prácticos, pensamientos esperanzados o dogmáticamente parcializados, y quizás aún una evaluación parcializada, sin tener en cuenta la producción difundida de citotoxicidad no selectiva.

Hay dos posibles explicaciones para la poca capacidad de rechazo a los tumores espontáneos.

1.- Durante la progresión tumoral, las restricciones inmunológicas son una entre muchas de las categorías de las fuerzas homeostáticas que controlan el crecimiento. La progresión tumoral representa una evolución gradual y muy probablemente clonal hacia la independencia de estas restricciones paso a paso, propiedad por propiedad. Este proceso probablemente implica una selección de la célula blanco para una menor inmunogenicidad y resistencia a los efectores inmunológicos.

2.- Se puede argüir que la especie huésped debería haber sido seleccionada en dirección opuesta, hacia un reconocimiento y un rechazo inmunológicos mejores. En contraste con lo mencionado antes para los sistemas de virus oncogénicos ubicuos, en los cuales tal selección ha ocurrido, los tumores espontáneos comunes se presentan a una edad relativamente avanzada y en un período en el cual la mayoría de los individuos afectados han pasado en parte o totalmente su período reproductivo.

Impresión errónea de una gran capacidad de defensa contra los tumores espontáneos: discrepancia entre las pruebas in vitro e in vivo.

Los mecanismos inmunológicos o de otro tipo que protejan a los individuos de edad avanzada contra los tumores (u otra característica nosológica impactante para su edad) no se fijarían por selección.

Después de haberse demostrado que las reacciones mediadas por células eran probablemente más importantes en el rechazo de los tumores que los anticuerpos humorales, y luego de la utilización exitosa de la lisis mediada por células en las pruebas del cultivo mixto de linfocitos en la inmunología del trasplante, se ha puesto mucho énfasis en las pruebas de linfocitotoxicidad en la inmunología tumoral. Se suponía que estas pruebas reflejarían con exactitud el rechazo potencial in vivo. A medida que se ha ido recogiendo más información y que los errores de investigadores individuales o grupos se han ido atenuando, esas suposiciones aparecen como prematuras y quizás en gran parte o por completo erróneas. Baldwin y Embleton (36,37) resumiendo la evidencia de muchos grupos, concluyeron recientemente que las pruebas de toxicidad in vitro no detectan las mismas interacciones entre el linfocito y la célula blanco que detectan las pruebas de rechazo in vivo. La explicación de Baldwin para esta discrepancia se centra en la ocurrencia de antígenos fetales asociados al tumor y que pueden servir como blanco de la linfocitotoxicidad in vitro, pero que no son el blanco de los procesos de rechazo in vivo. Aunque esto es bastante posible puede no ser la explicación completa.

Las "células asesinas naturales" pueden haber interferido con muchos de los primeros resultados y sobre ello se discutirá en la próxima sección.

Células asesinas naturales en el hombre y en el ratón.

Hay una evidencia cada vez más importante de la ocurrencia de células asesinas naturales o no selectivas en los sistemas tanto murino como humano. Para mencionar un solo ejemplo, las líneas linfoides humanas son susceptibles a la destrucción no específica por una célula que lleva receptor para el factor 3 del complemento y que se encuentra regularmente presente en la sangre periférica normal (38). En la mononucleosis infecciosa también aparece una célula T asesina específica para el EBV, es capaz de matar células blanco portadoras ADN-EBV, pero no células blanco que sean EBV negativas. Si se usan poblaciones de células linfoides no fraccionadas como células electoras, la capacidad asesina de las células T es oscurecida por la capacidad indiscriminada de las células asesinas no T. La remoción de este último tipo de células por formación de rosetas con eritrocitos de carnero, anticuerpos y complemento, permite la demostración de la destrucción específica mediada por las células T asesinas (39). Se han obtenido resultados análogos en un sistema de glioma de la rata inducido químicamente (40).

Trabajando con cultivos monocapa de origen humano, Kiuchi y Takasugi (41) demostraron la gran frecuencia de una célula citotóxica no selectiva en la sangre normal y en pacientes cancerosos. No es claro si esta célula es idéntica a la célula asesina no específica detectada con células blanco de tipo linfóide; en realidad existe evidencia de que pueden ser diferentes. La remoción de las células positivas para el receptor C'3 no suspende la

citotoxicidad no específica contra las células blanco que han constituido una monocapa; se observó que era más eficiente una combinación de paso a través de columna de nylon, seguida por remoción de células positivas para el receptor Fc y una posterior purificación de las células T por rosetas de eritrocitos de carnero (42).

Es concebible que existan varias células asesinas naturales, con diferentes funciones. Debe recalcarse que las propiedades del sistema asesino no selectivo descritas hasta el presente, son bastante diferentes de la linfocitotoxicidad dependiente de anticuerpos o la lisis mediada por las células asesinas.

Si bien la célula asesina no específica ha sido en gran parte perjudicial en los sistemas humanos, en los cuales se ha encontrado hasta ahora, esto no excluye la posibilidad de que juegue un papel fisiológico importante y quizá aún funciones de vigilancia inmunológica. Recientemente, Jondal (comunicación personal) demostró que una subpoblación de linfocitos periféricos normales, con receptores para el complemento, se adhiere a las células productoras de EBV, pero no a células portadoras del genoma EBV que no produzcan este virus. Este fenómeno parece que es parte de la demostrada adherencia altamente específica de los linfocitos B humanos positivos para el receptor EBV a los componentes de la envoltura del EBV, que se acumulan en la membrana de las células productoras de virus (43). El receptor EBV está relacionado, o es idéntico, al receptor C'3 de los linfocitos B humanos (44,45). Además, Jondal encontró que la adherencia es seguida por una rápida lisis de las células productoras del virus. Obviamente esto no puede servir como un mecanismo de protección contra las células transformadas (es decir proliferativas) portadoras del fenoma de EBV ya que estas células no son productoras de virus, no acumulan envoltura viral en su membrana y no son destruidas por esta reacción. Estas son, sin embargo, destruidas rápidamente por las células T asesinas específicas para el EBV, que aparecen durante la mononucleosis infecciosa.

Se pueden aislar células asesinas T específicas para el EBV, de los tumores y los ganglios periféricos de pacientes con neoplasias positivas para el genoma de EBV, como el linfoma de Burkitt y el carcinoma nasofaríngeo (46,47). Tales células asesinas siempre se encuentran en pequeña cantidad en los tumores o en los ganglios linfáticos pero nunca en sangre periférica. Se puede suponer que hayan "perdido la carrera" entre la proliferación tumoral y la movilización de una defensa específica contra el EBV. Debe recalcarse que las células T asesinas no están "bloqueadas" a pesar de su previa confrontación con un gran exceso de antígeno in vivo.

Tomado como un todo, el sistema EBV refleja una interesante interacción virus-célula-huésped. La infección primaria puede permanecer "silenciosa" o puede ir seguida de una linfoproliferación autolimitada expresada como mononucleosis infecciosa, particularmente si ocurre en adolescentes. La aparición de células blásticas B portadoras de EVB (48), se acompaña de una

rápida movilización de células T asesinas (39) y un subsecuente rechazo de las células B infectadas por el virus. Posteriormente el virus permanece latente y las células que portan el virus parecen ser mantenidas bajo un estricto control. La rápida destrucción de las células productoras del virus, por las células asesinas no T que llevan el receptor para el complemento y el receptor "no específico" para el EBV, puede ser responsable al menos en parte de las limitaciones impuestas a la producción del virus. Esto no excluye la posibilidad de que otros mecanismos operen en igual forma, en algo que debe ser un sistema muy bien controlado. Una historia bien diferente puede contarse acerca de las actividades de la célula asesina natural (NKC) descubierta en los ratones.

En nuestro laboratorio, Kiessling y otros (2, 49-54), han identificado un sistema celular asesino natural utilizando YAC, una línea de linfoma murino inducida por el virus de Moloney, como la principal célula blanco. Se encontró que linfocitos de bazo de algunas cepas de ratones mataban las células YAC con una alta eficiencia in vitro en 4 a 6 horas (en una prueba de liberación de cromio). La preinmunización no se requiere pero sí hay una fuerte dependencia de la edad: los efectos óptimos se obtuvieron con células efectoras de donantes de 3 a 8 semanas de edad. Un pequeño linfocito que carece de marcadores de células B y T parece ser el responsable de esta reacción. Su presencia y/o función está bajo un fuerte control genético. Algunas cepas de ratones, por ejemplo la A ó la 129, carecen o tienen muy poca actividad asesina natural mientras que otras, por ejemplo C57B1, C57, CBA, C3H y DBA/2, son altamente reactivas. En híbridos F1 entre cepas reactivas y no reactivas el efecto asesino fue siempre dominante. Las pruebas de entrecruzamiento regresivo sugieren que el efecto asesino está bajo control poligénico con un marcado componente asociado al complejo mayor de histocompatibilidad (H-2) (52,53).

Es particularmente importante que las pruebas realizadas con los F1 y con los de entrecruzamiento regresivo, mostraron una buena correlación entre la actividad asesina in vitro y la resistencia in vivo contra pequeños inóculos singenéticos de células YAC (103 células), lo cual saca este fenómeno de las esferas de los puros artefactos in vitro.

La naturaleza y especificidad del blanco antigénico es desconocida. En primera instancia, sospechamos que podría estar determinada por el virus de la leucemia de Moloney, pues estudios recientes mas extensos mostraron que no todos los linfomas de Moloney respondían en igual forma y que la sensibilidad no no estaba restringida a estos linfomas. Herberman y col. (55) describieron un fenómeno similar, posiblemente idéntico, y sugirieron que el blanco antigénico puede ser un producto de un virus murino endógeno tipo C. Es muy difícil comprobar o contradecir esta hipótesis puesto que no se conocen células murinas libres de virus tipo C. Es por consiguiente imposible

comparar la misma célula murina blanco para una sensibilidad hacia el asesino natural con o sin virus murino endógeno. Esto puede hacerse sin embargo en una célula blanco xenogénica (de otra especie animal) antes y después de la infección con virus murino tipo C xenotrópico (endógeno).

Recientemente hemos probado varias líneas linfoides humanas establecidas, antes de ser pasadas en ratones atímicos. Encontramos que el pasaje a través de este tipo de ratones resultaba en la adquisición regular de una sensibilidad citotóxica a un grupo de antisueños dirigidos contra varias proteínas murinas virales tipo C. Las líneas pasadas liberaban partículas virales murinas tipo C y sus sobrenadantes eran capaces de convertir las líneas no pasadas correspondientes, en líneas sensibles a la citotoxicidad dirigida contra componentes virales murinos tipo C.

A pesar de la adquisición regular del virus xenotrópico del ratón, las células no se volvieron más sensibles al efecto asesino natural. Podría objetarse que las líneas linfoides humanas pueden ser insensibles a la destrucción por asesinas naturales, pero ésto no es así. La sensibilidad de las diferentes líneas variaba enormemente; algunas eran sensibles y otras resistentes, pero la sensibilidad no se incrementó después de la adquisición del virus xenotrópico murino, después de hacerse el pasaje a través de ratones atímicos.

Aunque la determinación de la sensibilidad de la célula asesina natural a nivel de la célula blanco es completamente desconocida, el grado de sensibilidad o resistencia es una característica estable reproducible en cada línea celular, a pesar de las grandes variaciones existentes entre las diferentes líneas. Las células sensibles, pero no las resistentes, eran también competidores eficientes en una mezcla experimental de células marcadas y no marcadas (2,49). Recientemente se ha encontrado un paso de adherencia involucrado en la interacción efector-célula blanco (K.Kärre, R. Kiessling y B. Andersson; datos no publicados).

Otro aspecto interesante se refiere a la diferente sensibilidad de las líneas YAC y RBL (provenientes de un linfoma inducido por el virus de Rauscher de origen C57B1) a distintas células asesinas. El RBL comparte con el YAC el complejo antigénico FMR detectado serológicamente. Contrariamente al YAC, el RBL mostró una sensibilidad poco significativa a la célula asesina natural. Se ha encontrado que las poblaciones de células linfoides de los ratones inmunizados con MLV adquieren un potencial de destrucción contra los RBL. Este efecto era mediado por la célula T y mostraba una clara restricción del H-2, al contrario de la destrucción de YAC por la célula asesina natural (56). Este hallazgo plantea la interesante posibilidad de que diferentes tipos de células blanco, puedan no tener la misma sensibilidad a los diferentes componentes efectores de la misma población de células linfoides, aún en caso de que sean portadores de los mismos antígenos de superficie, inducidos por virus y detectados serológicamente.

Debido al fuerte "efecto de encubrimiento" de la célula asesina natural, no hemos podido todavía estudiar si el YAC es igualmente sensible al efecto destructivo de las células T inmunes. Sin embargo, en pruebas de rechazo in vivo algunos tipos de híbridos F1 (por ejemplo AxCBA, AxC57BI) podrían ser inmunizados contra el YAC, mientras que los ratones singenéticos A desarrollaban poco o ningún rechazo inmune. El sistema YAC/tumor cepa A/huésped parece particularmente adecuado para estudiar el problema de si la modificación antigénica puede superar la falta de respuesta del huésped. El acople de TNP puede inducir cierto grado de rechazo inmune y la formación de anticuerpos humorales en los ratones A de baja respuesta (57). Una respuesta de rechazo puede ser inducida también inmunizando las cepas del ratón A con algunos híbridos de células somáticas derivadas de una fusión de YAC con líneas alogénicas (H-2 incompatibles) de fibroblastos de ratón (58). La "xenogenización" inducida por virus podría ser otra posibilidad (59).

Mientras que la modificación de la célula blanco es uno de los enfoques importantes en relación a las combinaciones celulares huésped-tumor que no responden, la exploración de la genética de la respuesta del huésped constituye otro enfoque. El llamado efecto F1, es decir, la resistencia relativa de algunos huéspedes híbridos F1 a los injertos de tumor singenético en comparación con huéspedes homocigotos (60,61), es de particular interés en este contexto. Mientras que el mecanismo del efecto F1 no está claro, en el caso del linfoma YAC se puede relacionar claramente con la presencia o ausencia de la célula asesina natural. Existe la posibilidad de que los genes de respuesta inmune o genes similares desempeñen un papel importante ya que la resistencia estaba ligada al H-2 por lo menos en uno de los cruces F1. De ser así, la resistencia de los híbridos F1 puede depender del repertorio genético relativamente grande del huésped heterocigoto F1, comparado con el homocigoto.

En investigaciones con el carcinoma ascítico TA3 y los sarcomas MSWBS y MC57X inducidos por el metilcolantreno, hemos encontrado diferencias constantes y reproducibles para cada tumor, en la capacidad de los diferentes híbridos F1 de resistir a los pequeños inóculos. El mecanismo de esta resistencia se está investigando hoy en día en términos de mecanismos efectores, de correlaciones in vitro-in vivo y de la genética de la célula huésped, siguiendo el mismo modelo que para el sistema YAC.

George Klein

Dr. George Klein
Director del Departamento de Biología Tumoral, Instituto Karolinska,
Estocolmo, Suecia.

Conferencia dictada en el Simposio Internacional sobre nuevos conceptos en Inmunología del Cáncer, Bogotá, 18 y 19 de Noviembre de 1.977.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ehrlich, P.: Über den jetzigen Stand der Karzinomforschung. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 273, 1909.
- 2.- Kiessling, R., Klein, E. and Wigzell, H.: "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur. J. Immunol.* 5: 1-12, 1975.
- 3.- Baldwin, R.W.: Tumour-specific immunity against spontaneous rat tumours. *Int. J. Cancer* 1:257, 1966.
- 4.- Prehn, R. T.: The role of immune mechanisms in the biology of chemically and physically induced tumors, in: McCluskey R. (Ed). *Conceptual advances in immunology and oncology. Sixteenth Annual Symposium on Fundamental Cancer Research.* Houston. University of Texas Press, p.475, 1963.
- 5.- Prehn, R. T.: Tumor progression and homeostasis. *Adv. Cancer. Res.* 23:203, 1976.
- 6.- Hewitt, H. B., Blake, E. R. and Walder, A.S.: A critique of the evidence for active host defence against cancer, based on personal studies of 27 murine tumours of spontaneous origin. *Br. J. Cancer* 33: 241, 1976.
- 7.- Klein, K.: Immunological surveillance against neoplasia. *Harvey Lect.* 69:71, 1975.
- 8.- Sjögren, H.: Transplantation methods as a tool for detection of tumor specific antigens. *Prog. Exp. Tumor Res.* 6: 289, 1965.
- 9.- Nazerian, K.: Marek's disease: a neoplastic disease of chickens caused by a herpesvirus. *Ach. Cancer Res.* 17:279, 1973.
- 10.- Bauer, H.: Virion and tumor cell antigens of C-type RNA tumor viruses. *Adv. Cancer Res.* 20: 275, 1974.
- 11.- Deinhardt, F. W., Falk, L. A. and Wolfe, L. C. : Simian herpesviruses and neoplasia. *Adv. Cancer Res.* 19: 167, 1974.
- 12.- Stutman, O.: Immunodepression and malignancy. *Adv. Cancer Res.* 22: 261, 1975.
- 13.- Svedmyr, E. and Jondal, M.: Cytotoxic effector cells specific for B cell lines transformed by Epstein-Barr virus are present in patients with infectious mononucleosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72:1622, 1975.
- 14.- Jondal, M., Svedmyr, E., Klein, E. and Singh, S.: Killer T-cells in a Burkitt's lymphoma biopsy. *Nature* 255: 405, 1975.
- 15.- Essex, M.: Horizontally and vertically transmitted oncornaviruses of cats. *Adv. Cancer Res.* 21: 175, 1975.
- 16.- Essex, M., Sliski, A., Cotter, S. M., Jakowski, R. M. and Hardy, W.D. : Immunosurveillance of naturally occurring feline leukemia. *Science* 190: 790, 1975.
- 17.- Biggs, P. M.: Vaccination against oncogenic herpesviruses. A review, in: de Thé G. Epstein M. A. and zur Hausen H (Eds), *Herpesviruses and oncogenesis.* Lyon, IARC Scientific Publications p.317 1975.
- 18.- Payne, L. N.: Pathogenesis of Marek's disease. A review, in: de Thé G (Ed), *Oncogenesis and herpes-type viruses.* London, Cambridge University Press, p.21, 1972.
- 19.- Longenecker, B. M., Pazderka, F., Gavora, J. S. and Ruth, R. F. : Lymphoma induced by herpesvirus: Resistance associated with a major histocompatibility gene. *Fed. Proc.* 35: 827, 1976.
- 20.- Johnson, L.W., Bresler, R.N. and Moore, C.H.: B blood antigen alleles affecting resistance and susceptibility to gross lesions of Marek's disease in primary broiler breeder lines. *Poultry Sci.* 54: 1779, 1975.
- 21.- Foulds, L.: The natural history of cancer. *J. Chronic Dis.* 8: 2, 1958.
- 22.- Dulbecco, R. : From the molecular biology of oncogenic DNA viruses to cancer. *Science* 192: 437, 1976.
- 23.- Rowe, W. P.: Murine leukemia viruses. *Harvey Lect.* (in press).
- 24.- Rowe, W. P.: Genetic factors in the natural history of murine leukemia virus infection. GHA Clowes memorial lecture. *Cancer Res.* 33: 3061, 1973.
- 25.- Lilly, F. and Pincus, T.: Genetic control of murine viral leukemogenesis. *Adv. Cancer Res.* 17: 231, 1973.
- 26.- Law, L. W.: Genetic studies in experimental cancer. *Adv. Cancer Res.* 2: 281, 1954.

- 27.- Dofuku, R., Biedler, J. L., Spengler, B. A. and Old, L. J.: Trisomy of chromosome 15 in spontaneous leukemia of AKR mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72:1515, 1975.
- 28.- Manolov, G. and Manolova, Y.: Marker band in one chromosome 14 from Burkitt lymphomas. *Nature (Lond.)* 237: 33, 1972.
- 29.- Jarvis, J. E., Ball, G., Rickinson, A. B. and Epstein, M. A.: Cytogenetic studies on human lymphoblastoid cell lines from Burkitt's lymphomas and other sources. *Int. J. Cancer* 14: 716, 1974.
- 30.- Zech, L., Haglund, U., Nilsson, K. and Klein, G. Characteristics of chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *Int. J. Cancer* 17: 47, 1976.
- 31.- Hitotsumachi, S., Rabinowitz, Z. and Sachs, L.: Chromosomal control of reversion in transformed cells. *Nature (Lond.)* 231:511, 1971.
- 32.- Renger, H. and Basilico, C.: Mutation causing temperature-sensitive expression of cell transformation by a tumor virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69:109, 1972.
- 33.- Klein, G. and Harris, H.: Expression of polyoma induced transplantation antigen in hybrid cell lines. *Nature (New Biol.)* 237: 163, 1972.
- 34.- Mittelman, F., Mark, J., Levan, G. and Levan, A.: Tumor etiology and chromosome pattern. *Science* 176: 1340, 1972.
- 35.- Ozer, H. and Jha, K. K.: Malignancy and transformation: expression in somatic cell hybrids and variants. *Adv. Cancer Res.* 25:53, 1977.
- 36.- Baldwin, R. W.: Immunological aspects of chemical carcinogenesis. *Adv. Cancer Res.* 18: 1, 1973.
- 37.- Baldwin, R. W. and Embleton, M. J.: Assessment of cell-mediated immunity to human tumour associated antigens. *Int. Rev. Exp. Pathol.* (in press).
- 38.- Jondal, M. and Pross, H.: Surface markers on human B and T lymphocytes. VI Cytotoxicity against cell lines as a functional marker for lymphocyte subpopulations. *Int. J. Cancer* 15: 596, 1975.
- 39.- Svedmyr, E. and Jondal, M.: Cytotoxic effector cells specific for B cell lines transformed by Epstein-Barr virus are present in patients with infectious mononucleosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72:1622, 1975.
- 40.- Cornain, S., Carnaud, C., Silverman, D., Klein, E. and Rajewski, M. F.: Spleen-cell reactivity against transplanted neurogenic rat tumors induced by ethylnitrosourea: uncovering of tumor specificity after removal of complement-receptor-bearing lymphocytes. *Int. J. Cancer* 16: 301, 1975.
- 41.- Kiuchi, M. and Takasugi, M.: The nonselective cytotoxic cell (N cell). *J. Natl. Cancer Inst.* 56: 575, 1976.
- 42.- Bakacs, T., Gergely, P., Cornain, S. and Klein, E.: Characterization of human lymphocyte subpopulations for cytotoxicity against tumor-derived monolayer cultures. *Int. J. Cancer* 19: 441, 1977.
- 43.- Jondal, M. and Klein, G.: Surface markers on human B and T-lymphocytes. II. Presence of Epstein-Barr virus receptors on B lymphocytes. *J. Exp. Med.* 138: 1365, 1973.
- 44.- Jondal, M., Klein, G., Oldstone, M.B.A., Bokish, V. and Yefenof, E.: Surface markers on human B and T lymphocytes. VIII. Association between complement and Epstein-Barr virus receptors on human lymphoid cells. *Scand. J. Immunol.* 5: 401, 1976.
- 45.- Yefenof, E., Klein, G., Jondal, M. and Oldstone, M.B.A.: Surface markers on human B- and T- lymphocytes. IX. Two-colour immunofluorescence studies on the association between EBV receptors and complement receptors on the surface of lymphoid cell lines. *Int. J. Cancer* 17:693, 1976.
- 46.- Jondal, M., Svedmyr, E., Klein, E. and Singh, S.: Killer T-cells in a Burkitt's lymphoma biopsy. *Nature* 255: 405, 1975.
- 47.- Klein, E., Becker, S., Svedmyr, E., Jondal, M. and Vánky, F.: Tumor infiltrating lymphocytes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 276: 207, 1976.
- 48.- Klein, G., Svedmyr, E., Jondal, M. and Persson, P. O.: EBV-determined nuclear antigen (EBNA)-positive cells in the peripheral, blood of infectious mononucleosis patients. *Int. J. Cancer* 17:21, 1976.

- 49.- Kiessling, R., Klein, E., Pross, H. and Wigzell H.: "Natural" killer cells in the mouse II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur. J. Immunol.* 5: 117, 1975.
- 50.- Kiessling, R., Petranyi, G., Klein, G. and Wigzell, H.: Genetic variation of in vitro cytolytic activity and in vivo rejection potential of non-immunized semi-syngeneic mice against a mouse lymphoma line. *Int.J.Cancer* 15:933, 1975.
- 51.- Kiessling, R., Petranyi, G., Klein, G. and Wigzell, H.: Non-T-cell resistance against a mouse Moloney lymphoma. *Int. J. Cancer* 17: 275, 1976.
- 52.- Petranyi, G., Kiessling, R. and Klein, G.: Genetic control of "natural" killer lymphocytes in the mouse. *Immunogenetics* 2: 53, 1975.
- 53.- Petranyi, G., Kiessling, R., Povey, S., Klein, G., Herzenberg, L. and Wigzell, H.: The genetic control of natural killer cell activity and its association with in vivo resistance against a Moloney lymphoma isograft. *Immunogenetics* 3: 15, 1976.
- 54.- Kiessling, R., Petranyi, G., Kärre, K., Jondal, M., Tracey, D. and Wigzell, H.: Killer cells: a functional comparison between natural, immune T cell and antibody-dependent in vitro systems. *J. Exp. Med.* 143: 772, 1976.
- 55.- Herberman, R. B., Nunn, M.E. and Lavrin, D. H.: Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int. J. Cancer* 16: 216, 1975.
- 56.- Becker, S. and Klein, E.: Decreased "natural killer" -NK-effect in tumor bearing mice and its relation to the immunity against oncornavirus determined cell surface antigens. *Eur. J. Immunol.* 6:882, 1976.
- 57.- Galili, N., Naor, D., Asjö, B. and Klein, G.: Induction of immune responsiveness in a genetically low-responsive tumor-host combination by chemical modification of the immunogen. *Eur. J. Immunol.* 6: 473, 1976.
- 58 Klein, G. and Klein, E.: Immune surveillance against virus induced tumors and non-rejectability of spontaneous tumors: contrasting consequences of host versus tumor evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (in press).
- 59.- Kobayashi, H., Senda, F., Shirai, T., Kaji, H., Kodama, T. and Saito, H.: Modification in growth of transplantable rat tumors exposed to Friend virus. *J. Natl. Cancer Inst.* 42: 413, 1969.
- 60.- Oth, D. and Burg, C.: Strength of the tumour-specific antigens and of the "hybrid effect" of three chemically-induced sarcomas of the same inbred strain origin. *Folia Biologica* 16:374, 1970.
- 61.- Snell, G. D. and Stevens, L.C.: Histocompatibility genes of mice. III. H-1 and H-4, two histocompatibility loci in the first linkage group. *Immunology* 4: 366, 1961.