

Una primera versión de este artículo fue publicado en Médico Interamericano, publicación oficial del Colegio Interamericano de Médicos y Cirujanos con sede en Nueva York, en un número monográfico dedicado a científicos notables de habla hispana, en diciembre de 2000. Una segunda versión en P. Lorenzano, T. Molina (eds.) Filosofía e historia de la ciencia en el Cono Sur, Universidad Nacional de Quilmes, 2002, pp. 499-511.

Se incluye una copia de la carta que el Dr. Milstein me hizo llegar comentando el artículo, y su aprobación del mismo.

## **CESAR MILSTEIN, PREMIO NOBEL DE MEDICINA 1984**

Autor: Dr. César Lorenzano

Profesor Titular de la Universidad de Buenos Aires

Coordinador de la Cátedra de Metodología de la Investigación

Director de la Maestría y Doctorado en Epistemología e Historia de la Ciencia de la Universidad Nacional de Tres de Febrero

### ***Introducción***

---

El Dr. César Milstein obtiene en 1984 el Premio Nobel de Medicina, junto con su cercano colaborador, el Dr. George J. F. Köhler, por “el descubrimiento del principio que rige la producción de anticuerpos monoclonales”, y con el Dr. Niels Jerne, autor de al menos tres teorías fundamentales en inmunología, “que conciernen a la especificidad en el desarrollo y el control del sistema inmune”.<sup>1</sup>

Un currículum abreviado que muestre los principales hitos de su carrera hasta la fecha en que realiza el descubrimiento que le vale el Premio Nobel, nos dice que:

- i. nace en Bahía Blanca, Argentina, el 8 de agosto de 1927;
- ii. en 1944 completa sus estudios de Bachiller en Bahía Blanca;

---

<sup>1</sup>Los párrafos entrecorriados corresponden a la presentación de los Premios que hace la Fundación Nobel. El Dr. Köhler nace en la República Federal de Alemania en 1946, y llega a trabajar en el laboratorio de Milstein desde el Instituto de Inmunología de Basel, en Suiza, muriendo tempranamente en 1995. El Dr. Jerne, originario de Dinamarca, donde nace en 1911, realizó su obra principalmente en el Instituto de Inmunología de Basel. Muere en 1994. Su teoría acerca de la selección natural aplicada a la formación de anticuerpos indica que los individuos poseen anticuerpos para todos los antígenos hacia los cuales puede responder; cuando un antígeno entra al organismo, selecciona el anticuerpo correspondiente, uniéndose a él, lo que estimula su producción específica. Este punto de vista, que rompe con la visión anterior de que antígenos hacen que se produzcan los anticuerpos correspondientes, es el inicio de la moderna inmunología celular. Su segunda teoría nos muestra cómo el sistema inmunológico madura bajo la influencia de los antígenos endógenos, y cómo la rápida multiplicación de las células linfáticas lleva a acumular mutaciones que dan cuenta de nuevas especificidades inmunológicas. La tercera teoría predice cómo la respuesta inmune se encuentra regulada por una compleja red de anticuerpos y anti anticuerpos. Véase: *Press Release: The 1984 Nobel Prize in Physiology or Medicine*. Nobelförsamlingen Karolinska Institute. The Nobel Assembly at the Karolinska Institute Octubre de 1984.

- iii. en 1945 ingresa a la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad de Buenos Aires, obteniendo en 1952 el título de Licenciado en Ciencias Químicas;
- iv. en 1952 comienza a investigar en el Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Buenos Aires, y culmina esta etapa de su vida con el grado académico de Doctor en Química en 1957;
- v. ese año entra como miembro del grupo de investigadores del Instituto Nacional de Microbiología Dr. Malbrán, del que se ausenta en 1958 para ir al Departamento de Bioquímica de la Universidad de Cambridge, gracias a una beca del British Council;
- vi. en 1960 obtiene el Doctorado de la Universidad de Cambridge, donde permanece un año más como investigador del Departamento de Bioquímica;
- vii. en 1961, regresa como Jefe de la División de Biología Molecular al Instituto Nacional de Microbiología de Buenos Aires, donde permanece hasta 1963;
- viii. ese año, regresa a Cambridge como miembro del equipo de investigación del Laboratorio de Biología Molecular, en el que realiza sus investigaciones mayores;
- ix. en 1975 publica, junto con Köhler, las investigaciones que lo llevaron a obtener el Premio Nobel.<sup>2</sup>

En esta apretada síntesis no encuentra su lugar aquello que caracteriza a Milstein como hombre y como investigador: sus orígenes, sus sueños, sus hallazgos y sus tropiezos.

En las páginas que siguen trataremos de dar una visión de su trayectoria personal e intelectual, desde sus comienzos hasta la obtención del Premio Nobel.

### *Milstein, el hombre*<sup>3</sup>

El padre de Milstein era un inmigrante judío de origen ruso, que llega -solo- a Argentina con quince años recién cumplidos, a realizar el viejo sueño que compartieron millones de inmigrantes de diferentes orígenes, de vivir y progresar en una tierra nueva. Se casa hacia 1923 con una muchacha que había nacido en las colonias judías agrarias de Entre Ríos, Argentina. Viajante de comercio el padre, maestra de escuela la madre, compartían ideales socialistas y libertarios, y desarrollaban actividades culturales en medios judíos y laicos. Tuvieron tres hijos -César era el segundo-, a los que con grandes sacrificios enviaron a la Universidad.

Milstein reniega de su vida de pueblo chico en Bahía Blanca durante largos años, al cabo de los cuales, retrospectivamente, comienza a apreciar recordando sus lecturas en la Biblioteca Nacional, bien provista, y generosamente abierta, sus inicios como integrante de un coro, que continúa en Buenos Aires en el Collegium Musicum, y que hizo de la música parte de su vida. Y sobre todo, las clases de su profesor de química inorgánica en cuarto año del bachillerato, que le revelaron la belleza de la química y de las fórmulas que expresan su estructura.

---

<sup>2</sup> Milstein, César. *Curriculum Vitae*. Manuscrito. 1989.

<sup>3</sup> Milstein, César, Autobiography, en: *Press Release*. op. cit. 1984.

Milstein, César, *Entrevista*, en: Barón, A., del Carril, Mario y Gómez A. *Por qué se fueron*. EMECE. Buenos Aires. 1995

Es posible que este sea el motivo por el cual, en su currículum vitae de 1989, incluya entre los premios, las distinciones, las membresías a las más altas sociedades internacionales, el ser nombrado en 1985 miembro honorario de las modestas Sociedad de Medicina Interna y Asociación Médica de su lejana Bahía Blanca natal.

A los 18 años se incorpora a la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad de Buenos Aires, una institución sólida y con buenos profesores. Insiste Milstein en que no era un estudiante brillante; sin embargo, las clases prácticas intensivas para pocos alumnos que caracterizaban a la Facultad, lo formaron sólidamente aunque concentraba los períodos de estudio únicamente en las épocas de exámenes. Como muchos de su generación, se encontraba profundamente interesado en la sociedad, y en la posibilidad de cambiarla. La Reforma Universitaria de 1918, ese intenso movimiento estudiantil que cambió de raíz a la universidad argentina, y que extendió su ideario generoso por toda América, estaba viva en los estudiantes que la reivindicaban. Entre ellos se cuenta Milstein, que milita en el Centro de Estudiantes, llegando a ser su Presidente. El idealismo libertario de aquellos días persiste en su ausencia de ambición de poder, y en el trato igualitario que lo caracteriza. En algún momento expresó que si decidió ser científico, es porque la ciencia no da poder. Es probable que detrás del científico maduro que logra uno de los hallazgos con mayores consecuencias tecnológicas, y sin embargo deja que sea utilizado por todos aquellos que lo necesiten, sin trabas legales ni patentes excluyentes -renunciando a las riquezas que implica- se encuentren, intactas sus convicciones de juventud.

Una vez recibido, comienza a trabajar en la Facultad de Medicina con el Dr. Andrés Stoppani, un brillante bioquímico que lo acoge a su lado -por otra parte, el único científico argentino que cita en su Autobiografía Nobel-, en las consabidas precarias condiciones de los laboratorios argentinos de entonces, y que pese a ser el único profesor de dedicación exclusiva, bordeaba la pobreza. La modestia era un sello de marca de los científicos argentinos: cuenta Milstein que cuando quiso comenzar a investigar, fue a entrevistarse con el Dr. Federico Luis Leloir, quien años después obtendría el Premio Nobel de Química; al llegar al laboratorio, no reconoce al científico renombrado en ese individuo delgado, de guardapolvo gris, al que interpela como si fuera el encargado del edificio -en un estado lamentable, por otra parte-.

Se casa en 1953 con Celia, una compañera de estudios con la que comparte en las épocas de estudiante interminables caminatas en los legendarios -entre los universitarios argentinos- campamentos de Bariloche organizados por el Centro de Estudiantes de Química, o las remadas por los riachos de Tigre. Realizan con muy pocos recursos un viaje -iniciático- a Europa, viviendo en albergues de estudiantes, en casas de amigos, con la mochila y la carpa a cuestas, hasta llegar a Israel, donde trabajan en un kibutz.

Sin ningún apoyo económico -trabajando él y su esposa en un laboratorio de análisis clínico para subsistir- prepara su tesis de doctorado sobre cinética de enzimas, a raíz de la cual publica varios trabajos, uno de ellos en una revista del exterior.

Casi simultáneamente luego de doctorarse, gana un concurso en el Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Malbrán" y una beca del British Council. Le guardan el puesto en el Instituto -incluso pagándole el sueldo- mientras permanece en Cambridge.

Una vez en Inglaterra, un suceso inesperado cambia su perspectiva de la ciencia. El supervisor que tenía asignado, Malcom Dixon, le propone muy vagamente un tema de investigación, mas no lo supervisa en su trabajo. Milstein comienza a investigar los mecanismos de la activación por metales de la enzima fosfoglucomutasa (no es ocioso recordar que las minuciosas investigaciones acerca una coenzima para la fosfoglucomutasa inician la secuencia de trabajos que condujeron al Dr. Leloir al

premio Nobel). Esto hace que entre en contacto con un joven premio Nobel, Frederick Sanger, quien trabaja en enzimas proteolíticas, el que le insiste que repita un experimento, aunque ya estuviera hecho, y su preparación tardara largos quince días. La insistencia de Sanger hace que invente un método por el cual los resultados se obtienen en un solamente un día, en vez de quince. Dice Milstein que en este momento abandona la cinética y se dedicó a la química de proteínas. En corto tiempo termina su tesis de doctorado, a la que añade sus nuevos hallazgos. Sus trabajos tienen repercusión internacional, publicando sus resultados en seis o siete artículos en revistas de primera línea, dos de ellos en colaboración con Sanger<sup>4</sup>.

Varios motivos inciden para que decida en 1961 volver a radicarse en la Argentina. Al compromiso moral que tenía con el Instituto se une al hecho de que luego de 1955 se funda el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología -CONICET- bajo la presidencia del Dr. Bernardo Houssay, el gran investigador argentino, iniciándose una etapa de un fuerte impulso para la investigación científica.

Además, el Instituto Nacional de Microbiología le ofrece la oportunidad de encabezar su propio grupo de investigación como Jefe de División de Biología Molecular. Tiene 33 años, y trae al país una intensa experiencia, y un incipiente, pero sólido prestigio científico.

Ya en el Instituto Malbrán realiza con su equipo trabajos de primer nivel; tanto, que Fritz Lippman, un premio Nobel, que investiga dentro del mismo campo de estudios, le escribe desde los Estados Unidos que quería ver lo que hacían en el laboratorio, pues estaban obteniendo resultados que sobrepasaban los suyos. Cuando en 1963 llega Lippman a Buenos Aires a dar un seminario en el Instituto, éste se encuentra intervenido, un comité de investigaciones persigue a su director, el Dr. Pirotski, y había gente dejada cesante. Milstein niega toda autoridad a quienes interrogan inquisitorialmente a los investigadores, y renuncia cuando dejan cesante a cuatro miembros de su equipo. Pese a contar con todo el apoyo de Houssay y Leloir, la renuncia no tuvo ningún efecto sobre las autoridades. Es bueno recordar -para su vergüenza- que el Dr. Tuburcio Padilla, Ministro de Salud Pública del gobierno civil controlado por los militares del Dr. José María Guido, hace esperar más de cuarenta minutos en su antesala al Dr. Leloir cuando lo visita para pedirle que no dejara ir a Milstein, pues si no se desarmaba un importantísimo equipo de investigaciones. El ministro solo contesta -obtusamente- “que pase lo que tenga que pasar”. Antes de eso, en una visita al Instituto, sugirió que los investigadores se fueran del país, ya que “acá no se puede hacer nada”.

Milstein, que no tenía “la piel de elefante que hay que tener para aguantar lo que viniera en esa universidad, en ese país” -como se lo dijo el eminente científico Dr. De Robertis<sup>5</sup>- y conservaba la dignidad de sus épocas de militante estudiantil, regresó a Cambridge, donde se reencuentra con Frederick Sanger, quien había sido nombrado Jefe de División de Química de las Proteínas en el recién formado Laboratorio de Biología Molecular del Consejo de Investigaciones Médicas. El reencuentro es crucial, pues lo pone en la línea de investigación que lo lleva al premio Nobel, abandonando el campo de la bioquímica para adentrarse en la inmunología.

---

<sup>4</sup>Milstein, C., Sanger, F. The amino acid sequence around the serine phosphate in phosphoglucomutase. *Biochim. Biophys* 1960. Acta 42. 173-174.

Milstein, C., Sanger, F. an amino acid sequence in the active center of phosphoglucomutase. *Biochem. J.* 1961; 79: 456-469.

<sup>5</sup> La cita es textual, y se encuentra en Milstein, C. “Entrevista”. op. cit. 1995.

A partir de ese momento, el Milstein hombre se identifica con el Milstein científico. Esta etapa de su vida es la que vamos a narrar a continuación. Ya un científico maduro, la estabilidad académica de Cambridge le brinda una tranquilidad por la cual, pasados los años mozos, su existencia transcurre sin sobresaltos.

Puede, por fin, dedicarse exclusivamente a investigar en Inglaterra, donde en su juventud supuso se hacía la mejor ciencia del mundo. El lugar por el que transitaron antes que él quien fue el primero en enseñarle lo que es la ciencia, el Dr. Stoppani, y el Dr. Leloir, que trajeron consigo la manera inglesa de hacer ciencia, que tan bien se adapta a las austeras condiciones argentinas, y que consiste en profundizar en un puñado de temas elegidos, con pocas herramientas técnicas -en contraste con tradiciones que privilegian el ataque de los problemas con una inversión grande en tecnología-. Leloir, además, recomendaba eludir los temas que se hubieran trabajado extensamente, donde para avanzar era necesario dominar una literatura inmensa, y buscar aquellos problemas sobre los que no se había escrito mucho, y en los cuales se pudiera trabajar directamente.

Con todo, no olvida a ese país en el que transcurrió su juventud, en el que “aprendió las canciones de cuna”<sup>6</sup>; ese país que maltrata y expulsa a sus científicos; que los forma aunque restrinja luego sus oportunidades de investigar, y vuelve, una y otra vez, a brindar su consejo y su apoyo cada vez que es convocado por sus amigos, sus colegas o un gobierno democrático.

### Los anticuerpos monoclonales

Para el Instituto Karolinska de Suecia, en su sucinta presentación de los Premios Nobel de 1984, el reconocimiento a la obra de Milstein y Köhler se debe a, como mencionáramos, “el descubrimiento del principio que rige la producción de anticuerpos monoclonales”, que se concreta en la “técnica del hibridoma, que representa el avance metodológico más importante en el campo de la biomedicina durante los setentas”, con importantes consecuencias tecnológicas para el tratamiento y el diagnóstico.

Sin embargo, el lenguaje técnico con el cual se refieren a las investigaciones de Milstein no puede opacar el deslumbramiento que produce un hallazgo que entronca con al menos dos de las líneas de investigación más caras dentro de la historia de la biología en general, y de la inmunología en particular. Tampoco ocultar que se realiza en el seno de investigaciones básicas relevantes y originales, y que a su vez revierte sobre los temas más básicos de la ciencia. No es una simple herramienta tecnológica, ni una manera de hacer más fácilmente lo que la naturaleza hace por sí sola, sino que es un resultado inscripto en conocimientos básicos avanzados, que redundan en un dispositivo tecnológico -artificial, como toda tecnología- que a su vez hace avanzar aún más las investigaciones.

A fin de presentarlas, voy a relatar primeramente el problema teórico que se intentaba resolver, y para cuya solución se crean esos instrumentos técnicos que son los anticuerpos monoclonales y su producción; a continuación, mostraré en qué consiste dicho hallazgo y cuáles son sus consecuencias tecnológicas y científicas, para concluir indicando las grandes tradiciones de investigación a las que continúa, y que despertaron

---

<sup>6</sup> La frase la pronuncia Milstein en la entrevista publicada en el libro *Los que se fueron*, refiriéndose a que nunca conocerá las canciones de cuna inglesas, en respuesta a la pregunta sobre su sentimiento de pertenencia a Inglaterra, luego de tantos años de residencia en Cambridge.

la adhesión de sus colegas, al coincidir con problemas hondamente sentidos por la comunidad de investigadores biomédicos.<sup>7</sup>

### Los anticuerpos y su producción natural

Es sabido desde el principio de las investigaciones inmunológicas que los animales reconocen un cuerpo extraño –antígeno-, sea una bacteria, un virus o una sustancia aislada, y lo neutralizan o lo destruyen con sus anticuerpos. Se sabe asimismo que esta respuesta es específica para cada sustancia, y que la misma es elaborada por los linfocitos, esas células blancas de la sangre, bazo, timo y ganglios, también de manera específica. Dado que los antígenos son numerosos –a decir verdad, millones de sustancias pueden comportarse como tales-, los anticuerpos son igualmente numerosos, y por lo tanto, hay millones de linfocitos que difieren sólo en el anticuerpo que producen. Cuando una sustancia ingresa al organismo, aquellos linfocitos que se encuentran capacitado para producir el o los anticuerpos que la neutralizan, comienzan a reproducirse y a producir cantidades cada vez mayores del anticuerpo específico. Puesto que todas son hijas idénticas de un mismo linfocito –pertenecen a una misma línea de linfocitos- se denominan *clones*, y el anticuerpo, producido por una única variedad de clones, *monoclonal*.

La forma natural de reaccionar que tiene un organismo ante la invasión de una sustancia extraña, es reproduciendo la estirpe específica de linfocitos, a fin de que produzcan *anticuerpos monoclonales*.

¿Cómo es posible que en el organismo exista tal diversidad de linfocitos, preparados para responder a sustancias frente a las cuales el organismo nunca se enfrentó anteriormente? Una respuesta posible consiste en decir se encuentra predeterminado por el código genético, y que en consecuencia, existen numerosísimos segmentos de ADN destinados a darles origen, quizás tantos como el número de los linfocitos que difieren por su secreción de anticuerpos.

Cuando Milstein comienza a investigar, esta respuesta no es viable, puesto que se conoce que los anticuerpos poseen una *porción constante* para todos los anticuerpos, y una *porción variable* –formada por dos cadenas de sustancias, una liviana y otra pesada- unidas por puentes de disulfuro. Al menos la porción constante provendría de una única secuencia de ADN.<sup>8</sup>

Ahora bien. Hacia 1970, Milstein pensó que si existía una porción constante, y las porciones variables o hipervariables podían ser reducidas a unas pocas familias o grupos de secuencias<sup>9</sup>, provenientes de un número relativamente pequeño de genes individuales, la respuesta correcta a la diversidad de los anticuerpos debía consistir en mutaciones *somáticas*, ocurridas durante el proceso mediante el cual se generan los linfocitos. A fin de investigar esta hipótesis, decide estudiar la posibilidad de

---

<sup>7</sup> Se tomaron como referencia para elaborar esta síntesis de la labor de Milstein básicamente los siguientes trabajos:

Milstein, César. “From Antibody Structure to Immunological Diversification of Immune Response”, en: *Science*. 14 March 1986. Vol. 231: 1261-1268.

Milstein, César. *Main points of my research in Immunology*. Manuscrito 1989.

Milstein, César. “Monoclonal antibodies”, en: *Scientific American*. 1980. 243. No. 4: 56-64.

<sup>8</sup> La sugerencia de que la unión los elementos de las porciones que forman un anticuerpo lo hacía moléculas de disulfuro fue la primera intuición de Milstein en este campo. Véase: Frangione, B., Milstein, C., y Pink, J.R.L., “Structural studies of immunoglobulin G”, en: *Nature* 1969; 221: 145-148. En este artículo se establece la estructura de los puentes de disulfuro.

<sup>9</sup> Milstein, C. “Linked groups of residues in immunoglobulin chains”, en: *Nature* 1967; 216: 330-332. En este artículo se establece la existencia de familias básicas o subgrupos en la región variable e hipervariable.

mutaciones en un cultivo de *células de mieloma*, un tumor cuyas células poseen la particularidad de producir una proteína, una inmunoglobulina, que aunque posee la *estructura* de un anticuerpo, no actúa frente a ningún antígeno. Precisamente esta cualidad hizo que fueran elegidas para los estudios, una vez que fueron excluidos los propios linfocitos como célula experimental por su conocida incapacidad de mantenerse y reproducirse en un medio de cultivo el tiempo necesario para encontrar en la sucesión de las generaciones a las supuestas mutaciones.

Sin embargo, a partir de este momento aparece un interesante problema metodológico, que puede ser planteado de la siguiente manera. La forma de saber si se ha producido una mutación, es detectando cambios en la proteína que producen los mielomas. Pero la complejidad de su estructura química hace inviable su análisis detallado, por lo que la respuesta no podía provenir únicamente de la química de proteínas. Tampoco podía estudiarse su acción como anticuerpo, pues no la poseen.

Dadas estas condiciones, se imponía la necesidad de contar con una línea de células que segregue una inmunoglobulina que exhiba una actividad de anticuerpo, y que ésta sea fácilmente detectada, a fin de investigar las mutaciones en su sector variable. Era evidente que no existía tal línea de células.

Si recapitulamos, la preocupación teórica esencial consiste en averiguar cómo es posible la diversidad de la respuesta inmunológica, a cargo de anticuerpos específicos y cómo se generan los linfocitos que los producen. El camino para probar la existencia de mutaciones que den cuenta de la variabilidad inmunológica, llevó, inesperadamente, a plantear la necesidad de un método de detección de los mutantes que no fuera el análisis químico de los anticuerpos que producen. Este método fue el de los *hibridomas*, y la consecuente producción de *anticuerpos monoclonales* a voluntad.

### **Hibridomas y anticuerpos monoclonales**

La propia lógica de la investigación de mutantes en cultivos de células mielomatosas, cuyo paso posterior fue fusionar dos tipos de células de mieloma y mostrar que el híbrido resultante produce inmunoglobulinas de ambas células progenitoras<sup>10</sup>, lleva gradualmente a su mayor descubrimiento.

Corre el año 1973, cuando al conocer estos resultados, George Köhler se incorpora como becario al equipo de Milstein. El camino que finalmente encuentran para proseguir las investigaciones, es el de producir ellos mismos la línea de células que buscan. Una tarde en que Milstein y Köhler conversan acerca de unas experiencias en las cuales diversos virus infectan a los linfocitos, transformándolos en células tumorales, pensaron si no fuese posible que una fusión entre un linfocito y una célula tumoral diera por resultado esa célula que necesitaban.

Esa misma noche Köhler, siguiendo las indicaciones de Milstein, puso en marcha el experimento. A la mañana siguiente, comprueba que se había producido un híbrido de mieloma y de linfocito, un *hibridoma* –como se denomina al híbrido de mieloma- que elabora anticuerpos.<sup>11</sup>

El hibridoma toma del mieloma la posibilidad de reproducirse indefinidamente en un medio de cultivo, y del linfocito, la de producir anticuerpos.

---

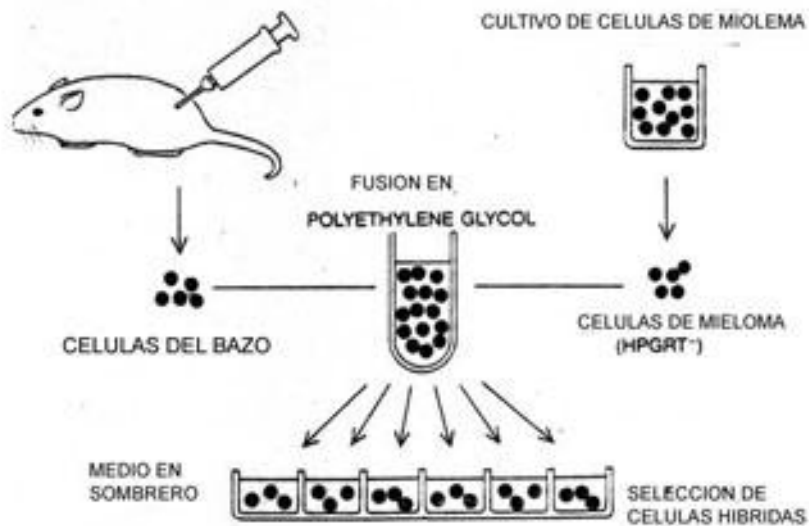
<sup>10</sup> Cotton, R.G.H., Milstein, C. "Fusion of two immunoglobulin-producing myeloma cells", en: *Nature* 1973, 197; 3: 244: 42-43. En este artículo se presenta la primera hibridación exitosa de células de mieloma.

<sup>11</sup> Los resultados fueron comunicados en: Köhler, G., Milstein, C., "Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumour lines by cell fusion", en: *European Journal of Immunology* 1976; 6: 511-519.

Se abre la posibilidad de producir anticuerpos a voluntad, y en cantidades considerables, si se parte de la hibridación con una línea de linfocitos dada, puesto que la capacidad de producir anticuerpos la comparte toda su descendencia *monoclonal*.

El procedimiento, a grandes rasgos, es el siguiente: se inmuniza a un ratón con un antígeno dado. Se toman a continuación de su bazo los linfocitos que producen los anticuerpos correspondientes, y se los fusiona con células mielomatosas, para originar un conjunto de *hibridomas*, que se cultivan en adelante de manera indefinida.

Fig. Primera Fase del procedimiento



Pero todavía no es un conjunto *monoclonal*. Esto es así, puesto que un agente antigénico dado -sea simple o complejo- provoca la producción de diversos anticuerpos dirigidos contra él. Como cada uno de estos anticuerpos es segregado por una línea diferente de linfocitos, el primer cultivo de hibridomas resulta una mezcla de líneas diversas.

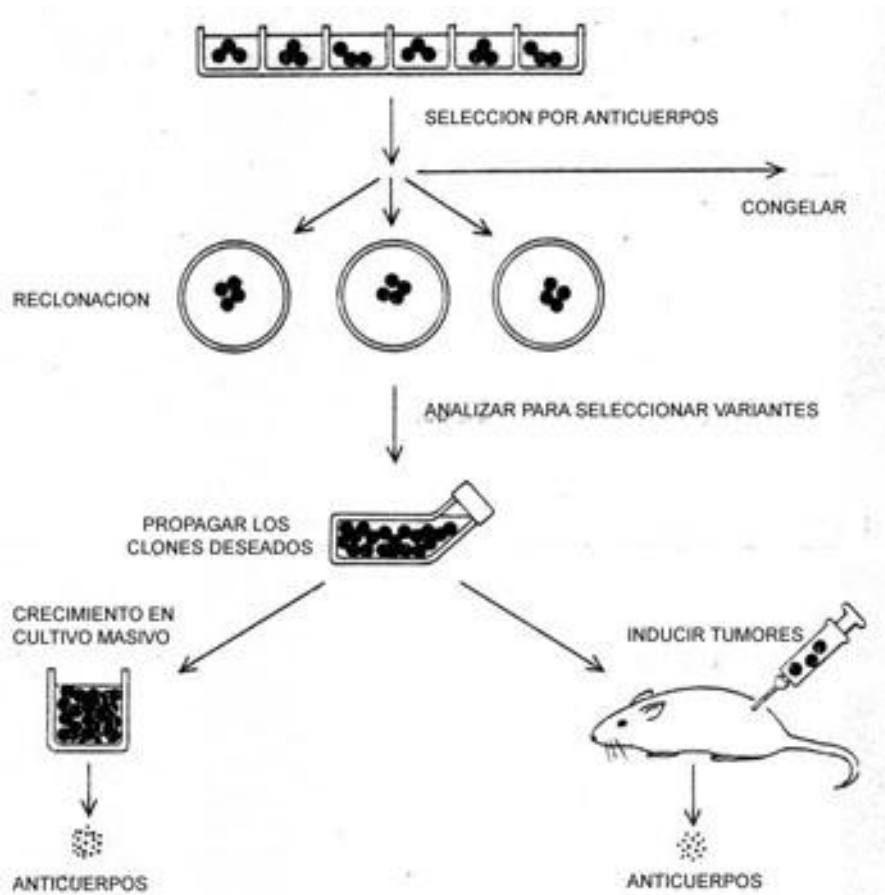
El siguiente paso consiste en aislar híbrido por híbrido -detectándolos por sus anticuerpos- y cultivarlos separadamente. La estirpe que resulta de cada uno de ellos, es efectivamente *monoclonal*, y produce un sólo tipo de anticuerpo, que puede recolectarse en el medio de cultivo. Si el clon se inyecta a un ratón, éste desarrolla un tumor que produce cantidades grandes de anticuerpo, susceptible de ser aislado del suero del animal, o del líquido de ascitis.

Sorprendentemente, el resultado que se obtiene mejora las condiciones en las que se desenvuelve la anterior selección natural, pues mientras que sólo el uno por ciento de los linfocitos que se usan en la fusión segregan anticuerpos, cerca del diez por ciento de los hibridomas lo hacen, mejorando notablemente su selección.

Si bien es cierto que se seleccionan híbridos que fabrican anticuerpos de ciertas propiedades deseadas, si el animal del que se obtienen los linfocitos no los produce aunque se lo haya inmunizado previamente, no hay forma de immortalizar su elaboración. Afortunadamente, puntualiza Milstein, se puede ir más allá. La ingeniería genética permite modificar los anticuerpos, y fabricar nuevas variaciones que son, a su vez, elaborados por los hibridomas, construyéndolos a medida de los antígenos que se desea neutralizar.

Fig. 2. Segunda Fase del procedimiento





Finalmente habían obtenido una línea de células que producía un anticuerpo específico, y podían utilizarla para explorar los mutantes de la región hipervariable de los anticuerpos. Sin embargo, la lógica propia del descubrimiento llevaría rápidamente a explorar otros horizontes.

### Las consecuencias tecnológicas y científicas

Casi inmediatamente fue evidente que la capacidad de producir anticuerpos a voluntad podía utilizarse para fines diagnósticos, de purificación de sustancias, terapéuticos, o de investigación básica.

El primero de los caminos explorados por Milstein, tiene que ver con la producción de reactivos estándar tales como los antígenos para anti-histocompatibilidad y para grupos sanguíneos.<sup>12</sup> Luego se desarrollarían técnicas adecuadas para diagnosticar diversas enfermedades virales, bacterianas, parasitarias, inmunológicas, etc.

Otra particularidad de la técnica consiste en que hace posible desentrañar la composición exacta de una mezcla “sucia” de elementos, aislando cada uno de ellos. Una de las pruebas más exigentes a las que se la sometió fue el aislamiento y purificación de *interferón*, una sustancia de difícil identificación con medios

<sup>12</sup> Galfre, G., Howe, S. C., Milstein, C., Butcher, C.W., Howard, J.C. “Antibodies to major histocompatibility antigens produced by hybrid cell lines”, en: *Nature* 187; 266: 550-552. Voak, D., Sacks, S., Anderson, T., Takei, F., Lennox, E.S., Jarvis, J.M., Milstein, C., Darnborough, J., “Monoclonal anti-A from a hybrid myeloma: Evaluation as a blood grouping reagent”, en: *Vox. Sang.* 1980; 39: 134-140.

convencionales, y que luego fue utilizada en gran escala por la industria biofarmacéutica.

En cuanto a las posibilidades terapéuticas que se abren a partir de las investigaciones de Milstein, cabe mencionar las que hacen al tratamiento de tumores, y a los problemas de rechazo observados en transplantes.

Es posible, sin embargo, que pese a las enormes consecuencias “tecnológicas”, utilitarias, de la máquina biológica de producir anticuerpos monoclonales, una de sus mayores contribuciones sea para la investigación básica.

Podríamos citar la posibilidad de establecer la estructura de las membranas celulares; de arrojar nueva luz sobre la teoría de cómo los anticuerpos se ligan a los antígenos y originan un precipitado en los tubos de ensayo, así como nuevas interpretaciones acerca de la reacción antígeno-anticuerpo; de utilizarlos en estudios embriológicos, de receptores para hormonas, o de neurotransmisores.<sup>13</sup>

### **En el camino de las mejores tradiciones**

Es probable que en la visión del jurado de la Academia de Ciencias que otorgó el premio Nobel a Milstein y a Köhler hubiera algo más que el reconocimiento al descubrimiento de la producción de anticuerpos monoclonales, de indudables valores intrínsecos. El mismo lenguaje con el que se describe la técnica, o se encabeza su descripción general –empleando términos por otra parte ya utilizados por el propio Milstein en sus artículos- es altamente sugestivo de un valor simbólico adicional. Se lee, así que “ellos *inmortalizaron* células que producen anticuerpos fusionándolas con células tumorales”, o que el hibridoma es “una técnica para la *eterna* producción de anticuerpos monoclonales en células cultivadas”. Milstein en reiteradas ocasiones menciona los términos *inmortal*, *inmortalizar* o *inmortalidad* para referirse a los anticuerpos o a los hibridomas, en expresiones tales como: “inmortalizar las células del ratón”, “inmortalizar la expresión de las células plasmáticas”, “aparentemente estábamos consiguiendo selectividad junto con inmortalidad”, “el híbrido resultante era una célula inmortal capaz de expresar la actividad de producir anticuerpos de la célula paterna, y la inmortalidad adquirida del mieloma”, “inmortalizamos el anticuerpo en forma de un híbrido de mieloma”, etc.<sup>14</sup>

Para la biología, la ciencia de la vida, su perduración no es un asunto trivial. Ya Alexis Carrel, premio Nobel de medicina en 1912 por sus avances técnicos en cirugía vascular, había sorprendido al mundo científico manteniendo en cultivo por tiempo indefinido un tejido embrionario de pollo. La posibilidad de inmortalizar la capacidad de producir anticuerpos entronca con esta tradición de investigación biológica, que abreva además en terrenos preparados por mitologías ancestrales.

La segunda tradición que continúa Milstein se encuentra en los orígenes de la inmunología, expuesta posiblemente por vez primera por Paul Ehrlich, cuando expresa que “las sustancias inmunes, a la manera de balas mágicas, buscan al enemigo”. La asombrosa capacidad de la técnica de anticuerpos monoclonales para identificar y producir todo tipo de anticuerpos, lleva consigo el viejo sueño de la “bala mágica”, la búsqueda interminable del remedio preciso que da en el blanco de la enfermedad, dejándola fuera de combate, pero que al mismo tiempo respeta los componentes sanos del organismo, a su más alto nivel.

---

<sup>13</sup> Cuello, A.C., Galfre G., Milstein, C., “Detection of substance P in the central nervous system by monoclonal antibody”, en: Proc. Natl. Acad. Science 1979, USA; 76: 3532-3536.

<sup>14</sup> Estas expresiones figuran en: Milstein, C. (1980), Milstein, C. (1986), y Karolinska I. (1984)

Cuando Ehrlich habla de esta manera, no se refiere únicamente a la especificidad de los anticuerpos, que la recién fundada teoría inmunológica explica tan bien. Se refiere asimismo a esa “bala mágica” que es la quimioterapia, de quien fue el iniciador, cuando utiliza la afinidad que tienen los colorantes con las diversas estructuras celulares, una propiedad que posibilita su tinción en los preparados histológicos, distinguiéndolas, para buscar sustancias –asimismo colorantes en un comienzo- que posean la misma selectividad con respecto a los microorganismos y a sus toxinas. Así se descubrieron el rojo Trypan, destinado a destruir al tripanosoma de la enfermedad del sueño, o el Salvarsán, para la sífilis: utilizando sistemáticamente las afinidades de los colorantes químicos para fabricar artificialmente sustancias que actúan como antígenos, hasta llegar al Prontosil, la primera de las sulfamidas.

Comenta agudamente George Canguilhem que “una nueva técnica sustituye la *extracción* de sustancias por la *producción* de productos: no hay quimioterapia sin una sociedad científica, sin una sociedad industrial”, y a su vez cita a Bachelard, quien dice que “quien fabrica la anilina (el colorante por antonomasia de entonces) conoce la realidad y la racionalidad de los colores”.<sup>15</sup> Ya Pasteur habría conocido la modificación experimental de los productos naturales como un recurso teórico de análisis de lo real, con los problemas técnicos que involucra.

Canguilhem nos muestra dos hechos que subyacen al descubrimiento de la quimioterapia. En primer lugar, las estrechas relaciones entre el desarrollo de la sociedad, y el descubrimiento científico. La sociedad industrial lleva en su lógica a la producción de las anilinas, y de allí –utilizándolas- a la producción artificial de antitoxinas. Sin las condiciones de posibilidad que le brinda, esto es imposible. En segundo lugar, y de manera más provocativa, que para desentrañar los secretos de un fenómeno natural, es central reproducirlo artificialmente, mediante estructuras que no existen en la naturaleza.

De la misma manera, es a través de una estirpe artificial de células monoclonales que fabrican anticuerpos a pedido, como se posee la clave para comprender la complejidad de los anticuerpos, y de las estructuras antigénicas que la genera.

En este sentido, más profundo que el de la metafórica bala mágica, la obra de Milstein continúa, por otros medios, la tradición de los fundadores de la inmunología. En su Conferencia Nobel, expresa acorde con la misma: “Mientras que la selección es la estrategia de la respuesta de anticuerpos de un animal, la inmunoquímica del futuro volverá a una clase de aproximación similar a la de la teoría de la instrucción (la que decía que el anticuerpo era fabricado a medida del antígeno) en la que el antígeno nos dirá cuál es la estructura del anticuerpo que construiremos”<sup>16</sup>.

Son palabras en las que se trasparenta un viejo anhelo que proviene de los albores de la inmunología.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

---

<sup>15</sup> Canguilhem, George (1986), pp. 70-71.

Bachelard, Gaston (1953) p. 202.

Véase asimismo: Silverstein, A. (1989)

<sup>16</sup> Milstein, C. (1986) op. cit. p. 126.

- Bachelard, Gaston, (1953), *Le matérialisme rationnel*, PUF. Paris.
- Canguilhem, George (1986), “L’effet de la bacteriologie dans la fin de “Théories Médicales” u XIXe siècle”, en Canguilhem G., *Ideologies scientifiques et medicales*, PUF, Paris.
- Cotton, R.G.H., Milstein, C. (1973), “Fusion of two immunoglobulin-producing myeloma cells”, *Nature*, 197, 3, pp. 244: 42-43.
- Cuello, A.C., Galfre G., Milstein, C. (1979), “Detection of substance P in the central nervous system by monoclonal antibody”, *Proc. Natl. Acad. Science*, 76, pp. 3532-3536.
- Frangione, B., Milstein, C., y Pink, J.R.L. (1969), “Structural studies of immunoglobulin G”, *Nature*, 221, pp. 145-148.
- Galfre, G., Howe, S. C., Milstein, C., Butcher, C.W., Howard, J.C. (1977), “Antibodies to major histocompatibility antigens produces by hybrid cell lines”, *Nature*, 266, pp. 550-552.
- Köhler, G., Milstein, C., “Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumour lines by cell fusion”, en: *European Journal of Immunology* 1976; 6: 511-519.
- Milstein, C. (1967), “Linked groups of residues in immunoglobulin chains”, *Nature*, 216, pp. 330-332.
- Milstein, C. (1980) “Monoclonal antibodies”, *Scientific America*, 243, No. 4, pp. 56-64.
- Milstein, C. (1984), “Autobiography”, *Press Release*, op. cit.
- Milstein, C. (1989), *Main points of my research in Immunology*, manuscrito.
- Milstein, C. (1995), “Entrevista”, en Barón, A., del Carril, Mario y Gómez A., *Por qué se fueron*, Buenos Aires, EMECE.
- Milstein, C. (14 March 1986), “From Antibody Structure to Immunological Diversification of Immune Response”, *Science*, vol. 231, pp. 1261-1268.
- Milstein, C., Sanger, F. (1960), “The amino acid sequence around the serine phosphate in phosphoglucomutase”, *Biochimistry. Biophys. Acta* 42, pp. 173-174.
- Milstein, C., Sanger, F. (1961) “An amino acid sequence in the active center of phosphoglucomutase”, *Biochemistry Journal*, 79, pp. 456-469.
- Nobelförsamlingen Karolinska Institute. The Nobel Assembly at the Karolinska Institute (Octubre 1984), “*Press Release: The 1984 Nobel Prize in Physiology or Medicin*”.
- Silverstein, A. (1989), “Magic Bullets and Poisoned Arrows: The Uses of Antibody”, en: Silverstein A. *A History of Immunology*. Academic Press. San Diego. 1989.
- Voak, D., Sacks, S., Anderson, T., Takei, F., Lennox, E.S., Jarvis, J.M., Milstein, C., Darnborough, J. (1980), “Monoclonal anti-A from a hybrid mieloma: Evaluation as a blood grouping reagent”, *Vox Sang.*, 39, pp. 134-140.

---

*From: Dr César Milstein CH, FRS*

26 October 1999

Dr César Lorenzano  
4863-5333  
Rivadavia 3033 4º 34  
Buenos Aires  
ARGENTINIA

Estimado Dr Lorenzano:

Gracias por su amabilidad de mandarme lo que escribió sobre mi. Ha hecho un trabajo serio y por lo tanto practicamente no tiene errores.

Pagina 3 linea 4 desde abajo: "quien trabajaba en la misma enzima" es incorrecto. En esa epoca Sanger trabajaba en enzimas proteoliticas y nunca habia trabajado en fosfoglucomutasa. Dos lineas mas abajo Ud usa la palabra "descubra". Mas correcto es inventa.

Pag. 4 comienzo de paragrafo 4 es Fritz Lipmann no Francis Lippman.

Lo saluda cordialmente



César Milstein