

Entretelones del invento de los anticuerpos monoclonales

*Laziness is the mother of good science,
creation comes from moments when
you don't have anything to do*

César Milstein (1927-2002)

Los investigadores viven en un mundo especial -el mundo del investigador-, en una especie de torre de marfil donde encuentran plena satisfacción formulando hipótesis de trabajo que deben confirmar o refutar mediante experimentos. Si bien son individualistas, trabajan en equipo y compiten entre sí. En cierta medida, son aventureros en busca de lo inesperado. El éxito, el descubrimiento o *breakthrough* –en inglés– significa el aporte de un nuevo conocimiento muchas veces sin aplicación práctica a la vista. Sin embargo esta circunstancia se da, y el descubrimiento del método de hibridoma para la producción de anticuerpos monoclonales es un ejemplo de un experimento con casi inmediata aplicación práctica para el inmunodiagnóstico en diversas enfermedades y una potencial terapia. Así lo cuenta detalladamente Klaus Eichmann en el libro que tituló *Köhler's Invention*¹ y que publicó *Birkhäuser Verlag* en Basilea en 2005. El autor es un renombrado inmunólogo, director del *Max-Planck-Institut für Immunobiologie* de Friburgo, Alemania, quien compartió la dirección de dicho Instituto con Georges Köhler después de que hubiera ganado el Premio Nobel en 1984 junto con César Milstein y Niels Jerne. El mismo título del libro sugiere complejos entretelones que van develándose a lo largo de sus 224 páginas, entrelazados con una minuciosa descripción del escenario de la inmunología del momento. Desde ya, hay que reconocer que Eichmann hizo un gran esfuerzo para ser equitativo en su apreciación de la relación entre Köhler, el becario, y Milstein, su director ¡porque de eso se trata!

Milstein conoció a Köhler en 1973 durante una visita al *Basel Institute of Immunobiology*; los dos congeniaron inmediatamente y en abril de 1974 Köhler llegó al *Laboratory of Molecular Biology of the Medical Research Council (MRC)* de la Universidad de Cambridge como becario posdoctoral bajo la dirección de Milstein. Este último prefería trabajar con un pequeño grupo de colaboradores –otro becario y una técnica– por más que se prestaba gustoso a discusiones con otros grupos del *MRC*. Durante dos años, Milstein y Köhler trabajaron muy bien juntos, compartiendo una actitud reflexiva –como reza la cita que encabeza este artículo–, con muchas discusiones de experimento a experimento, y se formó una sólida amistad extensiva a los dos matrimonios. Según Eichmann, el autor del libro: “*Milstein was basically an experimentalist who firmly believed only in solid experimental facts*”. Köhler opinaba que: “*One of the good things about Cesar is that he listens. If you come to him with a crazy idea, instead of dismissing it, he will try to find out the good thing about it*”. Por su lado, Fritz Melchers, director de tesis de Köhler, le atribuía “*a relaxed and lazy working attitude*”. Según otro colaborador, “*Georges could look at a scientific problem from an unusual angle, and could open your eyes to a point of view that you would never have seen yourself. He was a player, he played with science and for him science was a kind of game*”.

¿En qué consistió el invento de los anticuerpos monoclonales? Durante la elaboración de su tesis doctoral, en el *Basel Institute of Immunobiology*, Köhler había demostrado que un antígeno proteico tenía cinco regiones inmuno-dominantes contra las cuales se podían formar 1000 anticuerpos diferentes y había calculado que un ratón producía alrededor de 10 millones de anticuerpos diferentes. En ese momento se discutía si todos estos anticuerpos eran heredados o si solamente algunos genes lo eran,

mientras que los demás eran derivados de mutaciones somáticas en linfocitos B (como postulaba Jerne). Es con un proyecto titulado "Mutaciones somáticas de genes de anticuerpos" que Köhler fue al MRC. Milstein estaba estudiando este mismo problema en líneas celulares de mieloma, es decir de linfocitos B que crecen *in vitro* gracias a su carácter neoplásico; los linfocitos B normales cultivados *in vitro* se mueren a los pocos días. Sin embargo, al fusionar dos líneas de mieloma se obtenían tantos anticuerpos que era difícil seleccionar las mutaciones. Pero la idea crucial –el quid de la cuestión– fue tomar células esplénicas de un ratón inmunizado con un determinado antígeno, en este caso glóbulos rojos de carnero, y fusionarlas con células de una línea de mieloma de ratón. Se formaron hibridomas (mieloma-plasmocitos) en grandes cantidades gracias a que, al fusionarse, los linfocitos inmunizados se dividieron rápidamente, aumentando de 10 a 50 veces su cantidad, una observación inesperada que resultó crucial para la obtención de una cantidad importante de células híbridas productoras del clon específico, vale decir, de un anticuerpo anti-glóbulos rojos de carnero. Milstein escribió el trabajo que se publicó en febrero de 1975 en *Nature* con el título "*Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predetermined specificity*" donde las últimas frases decían: "*Such cells can be grown in vitro in massive cultures to provide specific antibody. Such cultures could be valuable for medical and industrial use.*"² (Which we thought too boasting, at the time!, se dijeron los autores). En aquel entonces, Köhler tenía 28 años y Milstein 48.

¿De quién fue la idea de fusionar los linfocitos inmunizados con las células de mieloma? Cuando un becario y su director trabajan al unísono, con muchas preguntas que van y vienen, es casi lógico que se les ocurra lo mismo a los dos. De hecho, Köhler recuerda que esa idea le ocurrió una noche al acostarse, lo que lo desveló, y a la mañana siguiente se lo contó a Milstein. Este último dice: "*I have a very clear memory, having this conversation in the morning (that same morning) next to the waterbath, which was in the corridor incidentally, I remember, I suddenly had this idea and I said something like: Bloody hell, if we can't get a myeloma with antibody activity we should make it. I have this sentence in my mind*". Más aún, Sydney Brenner (Premio Nobel, 2002) quien trabajaba en un laboratorio vecino y compartía muchas de las discusiones, dijo que esa idea se le había ocurrido a él.

Todo esto, que parecería insignificante, cobró mucha importancia por diversas razones. Primeramente, la técnica de hibridomas tuvo casi inmediata repercusión y surgieron patentes de diversas empresas farmacéuticas que hicieron miles de millones de dólares. Milstein había preguntado oficialmente a MRC si querían patentar la técnica y al no recibir respuesta había publicado el trabajo –en ese momento, las instituciones no solían patentar descubrimientos–. Con el éxito empresarial correspondiente, aparecieron los Premios que se otorgaron en rápida sucesión a Milstein, el director del proyecto, sin incluir al becario. En consecuencia, Nicholas Wade, un renombrado periodista científico, publicó en 1982 un artículo en *Science* titulado: *Hybridomas: the making of a revolution. Scientific Prize Committees sometimes skimp on their homework. The awards for the hybridoma technique may be a case in point*³. Wade cuenta la historia aportada por Köhler con lujo de detalles. Milstein, al recibir el *preprint* contestó: "*...I do not want to be drawn into any sort of public controversy of this matter. Not only do I have the highest regard for Georges, both as a scientist and as a friend, but I do not intend to cloud in any way the pleasant memories and intellectual excitement of our close interaction*". En octubre de 1980, en *Scientific American* Milstein había publicado una extensa revisión sobre *Monoclonal Antibodies* donde se limitaba a lo estrictamente científico⁴. Al poco tiempo del artículo de Wade, ambos investigadores recibieron el Premio Lasker y emitieron un documento que decía: "*We agree that both conception and execution of the work was the result of close collaboration between us. We are further convinced that the combined effect which resulted from such close collaboration was of synergistic nature. Synergistic effects taken to mean –as with monoclonal antibodies– effects that result from the combined action of two but cannot be produced by the two separately It was a collaborative work, it was a collaborative paper. We are happy to share this Lasker Award and we wish to make no further comments on this matter*". En el fondo, el real objetivo del artículo de Wade, compartido con las autoridades del *Basel Institute of Immunobiology*, era asegurar

que el previsible Premio Nobel fuera otorgado a director y becario. Y en 1984, conjuntamente, ganaron el Premio Nobel y, “sorpresivamente”, junto con Niels Jerne, ex-director de dicho instituto.

Para entonces, Köhler se encontraba trabajando en el *Basel Institute of Immunobiology*, donde había vuelto después de dos años con Milstein, pero ya tenía el nombramiento de co-director del *Max-Planck-Institut für Immunobiologie* en Friburgo junto con Klaus Eichman, el autor del libro comentado aquí. Los últimos capítulos –sin ya mencionar a Milstein– describen los proyectos científicos de Köhler en Friburgo, incluyendo amplios detalles sobre la historia de los Institutos Max Planck, a veces catalogados como el *Cambridge Alemán*. Köhler eventualmente pasó de la hipermutación somática de los linfocitos –tema relacionado con un segundo Premio Nobel 1987 a Susumi Tonegawa⁵, también del *Basel Institute of Immunobiology*– a la producción de ratones transgénicos y *knock-out*, hasta llegar a su temprana muerte por un infarto en 1995, a los 49 años. El libro finaliza con dos conferencias de Köhler después de recibir el Premio y una lista de sus trabajos.

El propósito de este Editorial fue comentar el libro de Eichmann con especial énfasis en la relación entre el becario y su director en el conflictivo “mundo del investigador”. El ejemplo Milstein-Köhler hace resaltar: 1) una estrecha colaboración durante los experimentos y formación de una firme amistad; 2) el disgregante efecto de todo lo relacionado con el dinero asociado a patentes en manos de otros; 3) el otorgamiento de premios a uno y no al otro; 4) la insistencia de los periodistas en pormenores innecesarios; 5) el *lobby* para el Premio Nobel.

En todo momento resalta el reconocimiento del autor por el sereno comportamiento de Milstein. Es entendible la angustia de Köhler al no verse incluido en Premios importantes, y también lo es la defensa de sus superiores para un eventual Premio Nobel para un compatriota.

¡Como tantas relaciones humanas, las de los investigadores distan de ser fáciles!

Para terminar, es apropiado mencionar lo que escribió Stoppani, director de tesis de Milstein, en ocasión del otorgamiento del Premio Nobel⁶:

“Parece razonable concluir que la realización de un descubrimiento científico de gran trascendencia no requiere una profunda especialización sino inteligencia creadora, habilidad técnica y buena formación, cualidades que Milstein posee en grado sumo. Si a todo eso se agrega un medio estimulante, es fácil comprender su éxito. Otro factor decisivo ha sido, sin duda, la vocación por la ciencia, llevada al extremo del sacrificio personal. En este sentido vale recordar que cuando Milstein se acercó a la Cátedra de Química Biológica de la Facultad de Medicina para realizar su tesis de química, lo único que pidió fue un tema y un lugar de trabajo.

Por último, “el episodio Malbrán”. Si es cierto que los designios del Señor son inescrutables, un optimista podría pensar que la voluntad divina quiso en 1963 poner a Milstein en el camino del Premio Nobel. Pero según opiniones más realistas, los acontecimientos humanos dependen de causas terrenales, a veces difíciles de explicar en términos racionales (o éticos). Por desgracia, la historia del Instituto Malbrán es, en ese sentido, un ejemplo poco edificante. Cualesquiera hayan sido las razones que determinaron la renuncia de Milstein al Malbrán y su partida, lo cierto es que la Argentina perdió a un científico sobresaliente y con él a un grupo de investigadores que hubiera mejorado una institución de la mayor importancia para la salud pública.”

Christiane Dosne Pasqualini

e-mail.: chdosne@hotmail.com

1. Eichmann K. Köhler's Invention. Basel: Birkhäuser Verlag, 2005, 224 pp.
2. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predetermined specificity. *Nature* 1975; 256: 495-7.
3. Wade N. Hybridomas: the making of a revolution. Scientific Prize Committees sometimes skimp on their homework. The awards for the hybridoma technique may be a case in point. *Science* 1982; 215: 1073-5.
4. Milstein C. Monoclonal antibodies. *Scientific American*, October 1980. En: <http://www.sciam.com/>; consultado el 15-IX-2008.
5. Piazzon I, Pasqualini CD. Premio Nobel de Medicina 1987: Diversidad de los anticuerpos. *Medicina (Buenos Aires)* 1988; 48: 97-9.
6. Stoppani AOM. Premio Nobel en Medicina 1984. *Medicina (Buenos Aires)* 1985; 45: 77-8.