

# MI PASO POR LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA. UNA TRAVESÍA BIDIRECCIONAL ENTRE HOSPITAL Y LABORATORIO<sup>1</sup>

**Palabras clave:** investigación clínica y laboratorial, enfermedades infecciosas, inmunología.  
**Key words:** clinical and laboratory research, infectious diseases, immunology.

En un escrito con cambiantes cadencias, guiado por la afición a la música, el autor nos adentra en el mundo de la medicina traslacional, que junta al paciente con el gabinete de investigación, aplicada a enfermedades infecciosas de alta relevancia en la Argentina, con una mirada desde la inmunología.

## ■ Oscar Bottasso

Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (UNR-CONICET)  
Suipacha 591, Rosario, Argentina

bottasso@idicer-conicet-gob.ar

<sup>1</sup> Editora asignada: **María Cristina Añón**

## ■ RESUMEN

El escrito reseña el recorrido a lo largo de cuatro décadas en torno a la articulación entre la investigación biomédica laboratorial y la practicada a nivel clínico, sus variadas reciprocidades, y desde el contexto fisiopatológico de algunas enfermedades infecciosas crónicas relevantes en nuestro medio.

## ■ UN COMIENZO DONDE LA ENFERMEDAD INFLUYÓ PARA QUE LA HISTORIA SE APARTARA DE LO ESPERABLE

Nací en Villa Amelia, una localidad del sur santafesino, donde a excepción de algunos gallegos, y tenderos tildados de turcos, imperaba la inmigración italiana; entre los

míos una fusión bastante civilizada de piamonteses y toscanos. El grueso de la actividad económica estaba centrado en la explotación agropecuaria con todos sus pormenores, el trabajo en el campo, la cooperativa o los silos del ferrocarril para el acarreo del cereal. Ya desde joven cada uno iba pergeñando lo que después sería su proyecto de vida, pero en mi caso el asma se daba de bruces contra toda posibilidad de inserción en ese ámbito, con la necesidad de hallar un plan alternativo. Una recomendación de la maestra avalada por el médico orientó mi vida hacia el estudio. Las dificultades para jugar al fútbol hicieron que los libros ocuparan un lugar preponderante en tanto que un miembro del grupo parroquial abocado a la liturgia can-

tada comenzó a iniciarme en la gran música. Si bien el pueblo no contaba con colegio secundario, la línea del Belgrano poseía servicios de trenes los cuales posibilitaban el traslado a Coronel Bogado donde funcionaba la escuela de comercio que otorgaba el correspondiente título de Perito Mercantil Nacional. En el año 1968 la institución fue invitada a participar en un certamen de preguntas y respuestas organizado por el Canal 3 de Rosario "Hoy la Cultura". La dirección me seleccionó como participante por tercer año sobre una temática referida a los huesos del cráneo. Con miras a evitar cualquier traspíe, y por si el texto de Dos Santos Lara resultara insuficiente, el médico a cargo de la asignatura de anatomía muy gentilmente aceptó facilitarme

uno de los tomos del libro de *Testut-Latarjet*. Con apenas ojearlo quedé prendado, bello y cautivante como el techo de un Palazzo renacentista, el soneto del Dante a su Beatrice, o ese redoblar de timbales al inicio de la primera sinfonía de Brahms. ¡*Alumno Bottasso has hallado tu grial!* Dos años después otro tren, pero en dirección opuesta me llevaría a Rosario, para inscribirme en el curso "Preingreso" de la Facultad de Medicina que estrenaba su medio siglo de existencia.

Como alumno de tercer año, y munido de un decoroso guardapolvo blanco en 1973 ingresé a la Sala 12 del Hospital Escuela donde se dictaba Semiología Clínica. Tres alumnos por comisión aseguraban un correcto aprendizaje de las habilidades y una evaluación permanente de los progresos. Aquel fascinante mundo de la auscultación, reflejos, síntomas y maniobras exploratorias que permitían avizorar la patología subyacente constituyó otros de los *leitmotiv* de este poema sinfónico "*I percorsi della vita*"<sup>1</sup>. Fui invitado, y por supuesto que accedí, a ser ayudante de cátedra.

Como tal se nos permitía participar de la actividad formativa impartida a los residentes con quienes manteníamos una muy buena relación. Así en el año 1975 se dio la oportunidad de tomar un Curso de Inmunidad a cargo del Dr. Mauricio Londner quien había sido mi profesor de Química Biológica en 1972. Aquellas clases trasuntaban su pasión por la disciplina a la vez que dejaban entrever el enorme caudal de posibilidades a futuro. Significó un giro de 180 grados en todo lo que venía proyectando para mi carrera como médico. Y si bien mis aspiraciones se iban tornando mucho más inmunocéntricas, el escenario donde uno se movía estaba dominado

por la medicina interna por lo que el espacio para esta naciente disciplina –la inmunología– era prácticamente inexistente. Las enfermedades infecciosas estaban inexorablemente ligadas a la respuesta defensiva y tal vez desde ese flanco se podía ir ganando un ámbito de conocimiento y aplicación.

Interpretado como una suerte de apostasía, no pocos me recriminaron ese apartamiento de lo que habría sido el derrotero natural del devenir como clínico en aras de una senda bastante oscura y aventurada. Con la promesa de volver al ruedo desde la inmunología me encaminé hacia el Hospital Carrasco, puesto que la sala de enfermedades infecciosas del Hospital Escuela había sido demolida tras la ignominiosa decisión de la dictadura y los interventores de turno sobre el gobierno de la Universidad.

Un joven que transcurría sus días entre la medicina y la melomanía también fue alcanzado por las flechas de Cupido. Así a inicios de 1978 contraí matrimonio con Amalia, compañera de cursado, mujer, esposa, madre, y aliada a quien me hallo unido de un modo indivisible. Nos suceden Guillermo, Emanuel y la familia en expansión, nietas incluidas.

#### ■ DESDE LOS COMIENZOS RESULTABA CLARO QUE LA PRÁCTICA CLÍNICA ERA UN TERRENO FÉRTIL PARA LA INVESTIGACIÓN

El Hospital Carrasco de aquel entonces estaba fundamentalmente abocado a pacientes con patologías infecciosas y su amplia gama de afecciones sean bacterianas, virales, parasitarias o micóticas. Huelga decir que la Tuberculosis (TB) y la Lepra llevaban las de ganar secundadas de otras tantas entre las cuales

sobresalía la Enfermedad de Chagas y la Fiebre Hemorrágica Argentina, está última mucho más estacional.

El ingreso a la sala de internados tenía un espacio donde los transparentes anunciaban las actividades de posgrado, y un buen día apareció la nueva tan esperada, el Curso de Inmunología dictado por los integrantes del Instituto homónimo de la Facultad de Ciencias Médicas.

Docentes que resultaban familiares por su pertenencia al departamento de Fisiología, en ausencia del Dr. Londner que muy a las apuradas se había exilado en Israel. Más allá de asentar y reforzar conocimientos el objetivo era trabar una relación con ellos a fin de desembocar en un protocolo de trabajo, lo cual resultó factible y se focalizó en el análisis del perfil inmunológico de pacientes con Enfermedad de Chagas crónica. En un par de años pudimos completar el estudio donde constatamos que tales enfermos presentaban una depresión en la respuesta inmune celular, en consonancia con resultados a nivel murino en que la infección con *Trypanosoma cruzi* daba a lugar a un deterioro de la inmunidad mediada por células específica e inespecífica. Estudios llevados a cabo varios años después dejaron en claro que este tipo de individuos también denotan una incapacidad para el reconocimiento de los antígenos micobacterianos comunes, lo cual puede tener connotaciones de peso en el montaje de la inmunidad ante la infección por micobacterias.

El Instituto contaba por aquel entonces con un modelo de enfermedad experimental por *T. cruzi* en ratas desarrollado por la Dra. Silvia Revelli, muy propicio para seguir explorando el nivel de inmunocompetencia en el contexto de la tripanosomiasis. Un modo de analizarlo era

la capacidad para montar una respuesta inmune celular artritogénica ante el desafío con Adyuvante completo de Freund -ACF-, la bien conocida artritis por adyuvante (AA). En una serie de estudios que se dieron a lo largo de varios años, comprobamos que las ratas con infección crónica por *T. cruzi* desarrollaban una AA de menor magnitud y que dicho fenómeno era bien inmunomediado en base a experimentos de transferencia de células del donante infectado al receptor control y herramientas farmacológicas capaces de modificar el fenómeno la actividad de células supresoras.

Transitando los primeros años de los 80, pude incorporarme al Consejo de Investigaciones de la UNR e inscribirme en la carrera del doctorado único de la universidad, bajo la tutela del Dr. Julio C. Morini, a su vez director del Instituto. Desde tiempo atrás el laboratorio venía colaborando con los servicios de Leprología del Hospital Carrasco para el control inmunológico de pacientes y convivientes con las pruebas cutáneas (lepromina y tuberculinas, entre otras). El tema era sumamente interesante por cuanto la Lepra constituye un ejemplo típico donde la respuesta inmune generada hacia el *Mycobacterium leprae* (Ml), se correlaciona directamente con el espectro de manifestaciones clínicas y como tal exhibía distintas facetas dignas de exploración. Buena parte de los estudios en este tipo de pacientes se hizo en colaboración con la Dras. Nora Puig y Nelly Amerio. A través de esos estudios pudimos evidenciar una serie de anomalías de la respuesta de anticuerpos en parte relacionadas con la aparición de episodios reaccionales de base inmunológica.

Paralelamente, el volumen de convivientes que venían a control por aquellos años era muy adecua-

do para efectuar estudios en cuanto a variables capaces de influir sobre el montaje de la respuesta inmune celular *in vivo* producida tras la inyección intradérmica con Ml (reacción de Mitsuda, -RM-, un buen subrogado de la inmunidad protectora). Posicionado en lo que era mi proyecto de tesis encaramos el análisis de factores con posibilidad de repercutir a este nivel: la influencia del contacto con un paciente multi o paucibacilar como así también la duración del mismo respecto de la RM desarrollada por el conviviente. Para ello realizamos una serie de trabajos en contactos íntimos de enfermos con Lepra, donde constatamos que la RM, guardaba una relación inversa con el grado de exposición al bacilo, vale decir más deprimida en los individuos en contacto con focos multibacilares a la par de ir decreciendo en intensidad a medida que la duración de la exposición con el foco bacilífero se tornaba más prolongada<sup>2</sup>.

Concomitantemente realizamos otra investigación referida al componente genético, específicamente la heredabilidad, en familias constituidas tanto por convivientes de enfermos de Lepra como de sujetos normales, en quienes se testificaban progenitores e hijos. Los resultados nos permitieron concluir que desde el punto de vista cualitativo (respuesta positiva o negativa), la RM parecía estar regulada o controlada por muy pocos pares de genes con alta penetrancia. Para el caso de una reacción positiva, estos pondrían en funcionamiento un sistema poligénico aditivo con una importante interacción con los componentes medioambientales capaces de explicar en gran medida, la variación obtenida a nivel poblacional.

Llegado al punto de redactar la tesis, la secretaría académica había adquirido una máquina de escribir

eléctrica que hacía las delicias de cualquier mecanógrafo, pues poseía un visor donde uno podía inspeccionar cada renglón previo a su impresión. La defensa oral se pudo concretar tres años después, a principios de 1990, cuando la facultad se puso en sintonía con una serie de requisitos exigidos por rectorado. Los resultados habían sido publicados en la revista *Medicina* atento a que el reglamento no impedía hacerlo con anterioridad a su aprobación.

Unos años antes y gracias a los acercamientos que se daban durante las reuniones científicas sumamos otras dos cooperaciones: el Servicio de Dermatología del Hospital Provincial de Rosario y la Cátedra de Cardiología de la Facultad a la cual concurrían los pacientes con Enfermedad de Chagas.

Visto a la distancia podría decirse que el año 1988 hizo las veces de señor abrepuestas. Por un lado, había sido invitado a participar en uno de los talleres del Congreso Internacional de Lepra en La Haya donde también presentaría un trabajo sobre la hipocalcemia de los pacientes lepromatosos. Allí contacté con colegas del Sanatorio Fontilles de Alicante y a través de ellos con investigadores del *University College* de Londres (UCL) con quienes establecimos una colaboración por casi veinte años gracias a la cual realizamos una serie de estudios clínicos y experimentales en el campo de las micobacterias. Seis estudiantes de esa Escuela de Medicina hicieron parte de su trabajo final de graduación en el Instituto.

Ese mismo año presentamos en SAIC un trabajo llevado a cabo con el grupo del Dr. Julio Maiztegui del Instituto sobre Virosis Hemorrágicas referido a las mediciones de interferonemia en pacientes con Lepra. Entre los invitados a la reunión se

hallaban el Dr. y la Dra. Falcoff del Instituto Curie de París quienes venían desarrollando investigaciones conjuntas con el pergaminense precisamente sobre el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) en pacientes con Fiebre Hemorrágica. El convite de Julio fue muy taxativo: *quiero que vengas a almorzar con nosotros Oscar y no se te ocurra decirme que no*. Los compromisos de Julio lo obligaron a retirarse un tanto antes y nosotros nos volvimos caminando al "13 de Julio" al son de unas "variaciones para conversatorio continuo *in tempo di ricerca*". El matrimonio tenía pensado visitar a sus familiares rosarinos de modo que las pláticas proseguirían en la semana subsiguiente. Por aquel entonces una compañía farmacéutica poseía la licencia para el estudio y aplicación del IFN- $\gamma$  recombinante desarrollado por ellos en la *Unité 365* INSERM del Instituto Curie de París. La idea era empezar con el modelo experimental de la Enfermedad de Chagas, pero las NORNAS tenían otros planes.

### ■ NUEVAMENTE LA CLÍNICA CON SUS VICISITUDES QUE INTERPELAN Y MOVILIZAN

Hacia finales de la década el Servicio de Dermatología del Hospital Carrasco había internado un paciente oriundo del norte del país con un historial 11 años de Leishmaniasis mucocutánea. El examen otorrinolaringológico mostraba una destrucción granulomatosa parcial de la úvula, paladar blando, pared posterior de la faringe, amígdala, epiglotis, pliegue faringo-epiglótico, bandas ventriculares y sáculo laríngeo, sumado a la no mejoría del cuadro por el tratamiento con antimoniales pentavalentes a las dosis recomendadas. Atento a la gravedad del cuadro y habida cuenta que el IFN- $\gamma$  había dado buenos resultados en Leishmaniasis visceral, se le ofreció esa posibilidad al paciente quien

tras la debida explicación consintió en recibir la molécula recombinante (100  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  superficie corporal) y los antimoniales pentavalentes cuya dosis fue reducida a la mitad a raíz de una intolerancia inicial a este último. Concluido el ciclo, el paciente fue dado de alta libre de lesiones activas (quedaron algunas cicatriciales), sin recidivas en el seguimiento de 12 meses.

El impulso conferido por este resultado tan satisfactorio promovió la realización de un ensayo abierto de fase II con dosis subóptimas de antimoniales pentavalentes asociado con IFN- $\gamma$  recombinante a la dosis ya empleada, en 13 pacientes afectados de leishmaniasis cutánea o mucocutánea refractaria al antimonio. Cuatro enfermos presentaban grandes úlceras tegumentarias mientras que nueve tenían compromiso mucoso como principal manifestación. Excepto un caso con grave tocamiento del tracto respiratorio superior, las lesiones se resolvieron completamente al final de la medicación (duración media  $40 \pm 12$ , rango 30-60 días) en 11 de quienes completaron la terapia. Los principales efectos secundarios fueron dolor de cabeza y fiebre (7 casos), y en cuatro algunas modificaciones en los niveles de glóbulos blancos no preocupantes, por cierto. Los datos sentaban bases bien firmes acerca de la eficacia de esta citocina, combinada con dosis menores de antimoniales como modalidad terapéutica para el tratamiento de estas formas muy preocupantes de leishmaniasis. El paso siguiente habría sido la realización de un estudio comparativo aleatorizado y controlado, pero la Leishmaniasis no tenía el peso específico como para que los grandes círculos de decisión quisieran subvencionarlo. Un trago amargo muy difícil de deglutir, para el cual uno nunca está del todo preparado.

En el marco de estos proyectos, en 1991 fui invitado a efectuar una pasantía en la *Unité 365* y al año siguiente obtuve una beca para un entrenamiento en Ginebra como monitor clínico de estudios patrocinados por el *WHO<sup>3</sup> Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases*.

Por aquel entonces, cobró fuerza la idea inicial de expandir los estudios del IFN- $\gamma$  en el modelo de infección en ratas. Allí se nos presentaron menos escollos, además de contar con una gran disponibilidad de citocina recombinante (rata/ratón). La colaboración con el grupo dirigido por Silvia nos había llevado a explorar distintos aspectos de la infección por *T. cruzi* a nivel experimental como el mayor porcentaje de tocamiento cardíaco cuando a los animales se les extraía el timo o a la inversa el menor compromiso miocárdico cuando las madres habían sido desafiadas con el parásito durante la preñez; mientras que la administración de IFN- $\gamma$  en ratas preñadas volvía a las crías resistentes al desafío con tripanosomas, efecto que primordialmente se transfería a través de la lactancia<sup>4</sup>. Paralelamente también constatamos que la administración del IFN- $\gamma$  en la etapa aguda reducía las parasitemias. Sobrevinieron varios estudios mecanísticos respecto a los procesos subyacentes a las acciones beneficiosas de la citocina en la tripanosomiasis, que por cuestiones de espacio no pueden ser detallados. Uno de ellos, sí amerita un comentario aparte. Conforme a lo constatado en Leishmaniasis desarrollamos un protocolo de tratamiento combinado para ratas con benznidazol – BZL- (dosis subóptimas) más IFN- $\gamma$  y sus respectivos controles vale decir solo la citocina o el BZL a las dosis curativas convencionales.–Dicho proyecto también incluía la realización de ensayos *in vitro* para despe-

jar la posibilidad de que el BZL no fuera capaz *per se* de modificar la respuesta de macrófagos sometidos a diferentes clases de estímulos. Así, resultó ser que el mismo inhibía la producción de óxido nítrico y citoquinas proinflamatorias cuando estas células eran estimuladas con lipopolisacáridos -LPS-, IFN- $\gamma$ , o ambos en forma combinada. Los experimentos posteriores no permitieron determinar una serie de eventos moleculares subyacentes a este novedoso efecto antiinflamatorio del BZL, visible también en otras situaciones experimentales como la endotoxemia inducida por LPS, en un modelo de respuesta inflamatoria sistémica de base infecciosa (ligadura y punción cecal), a la par de constatar que el BZL no afectaba otras funciones cla-

ves del macrófago como la fagocitosis, y la expresión de moléculas de MHC-II involucradas en la presentación antigénica.

Así como la heurística y una pizca de serendipia son los mejores acompañantes cuando uno se decide a navegar por aguas desconocidas, todo ese cuerpo de resultados hoy habría encajado perfectamente en las propuestas de investigación traslacional en vigor.

Tampoco faltaron los hechos desafortunados. En la primavera de 1998, el Dr. Morini falleció de muerte súbita. De buenas a primeras y en función de una decisión de las autoridades de la Facultad fui designado en su reemplazo para la

dirección del Instituto. La labor de gestión fue en desmedro de mi participación directa en lo asistencial, pero afortunadamente los equipos estaban bien articulados y el trabajo de investigación siguió su curso sin mayores sobresaltos.

### ■ HAY MÁS COSAS EN EL CIELO Y LA TIERRA, HORACIO, QUE LAS QUE SOSPECHA TU FILOSOFÍA

El Gran Shakespeare sabrá disculparme por haber apelado a esta reflexión suya puesta en boca de Hamlet durante el primer acto de su drama homónimo, y que por supuesto no es ajeno a la medicina. Una actividad signada por su practicabilidad, hallazgos, conceptualizaciones, intervenciones, monitoreo

#### Estudios sobre temáticas colindantes y con colegas de otros grupos

A lo largo de los años se llevaron a cabo otras investigaciones que, aunque no correspondían a las líneas centrales sí guardaban conexión con las temáticas bajo indagación. En la mayoría de los casos se trató de un agradable recorrido entre compañeros ligados por intereses comunes. Entre ellas merecen mencionarse, las cuantificaciones a nivel sistémico de mediadores inmunológicos en pacientes con distintas formas de la tuberculosis pulmonar y la funcionalidad de los PMN; como así también estrategias inmunoterapéuticas en base a la utilización de BCG y otros antígenos micobacterianos en Lepra, TB pulmonar o meníngea o el empleo de extractos derivados de actinomicetales en la infección experimental por *T. cruzi*, la hiperplasia carotídea de base inmunológica tras una injuria experimental en ratas, o fenómenos de hipersensibilidad cutánea. Muchos de estos trabajos se dieron en el marco de la colaboración con UCL. Asimismo, con investigadores del Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida, en la Facultad de Medicina de la UBA trabajamos en el contexto de la comorbilidad TB y VIH, su interfaz inmuno-endócrina en abordajes clínico- experimentales mayormente en cuanto al rol de la DHEA sobre la respuesta inmune específica de estos pacientes. Se dieron además cooperaciones concernientes a la Enfermedad de Chagas, herramientas serológicas y estudios sobre linajes de *T. cruzi* (investigadores de la Facultad de Medicina-UBA), estudios de factores de riesgo o trastornos metabólicos potencialmente involucrados en el desarrollo de afectación cardiaca (Universidad de San Pablo y Facultad de Bioquímica de la UNL).

Con otros colegas de Santa Fe capital participé en proyectos acerca de la presencia de anticuerpos dirigidos hacia antígenos parasitarios con alguna homología molecular con estructuras propias, sea en función de las características clínicas como en el seguimiento a largo plazo tras el tratamiento con drogas tripanocidas. La aparición de algunos de estos anticuerpos guardaba relación con el compromiso miocárdico sumado a los cambios suscitados a partir de la administración de tratamiento específico. Entroncado con los efectos protectores inespecíficos que puede conferir la vacunación con BCG también se comprobó que los pacientes con el antecedente de haberla recibido tenían menores niveles de anticuerpos inducidos por *T. cruzi*, y un menor grado de tocamiento cardíaco. Circunscripto al Hospital Provincial del Centenario al presente estamos participando en dos proyectos de trascendencia en la práctica médica, el estudio de perfiles clínico-laboratoriales de enfermos con neutropenias febriles, y las modificaciones inmuno-inflamatorias en relación con la evolución del período posoperatorio en pacientes de alto riesgo quirúrgico.

de resultados, refinamiento de las teorías, la construcción de una suerte de verdad médica pero también la ineludible existencia de fenómenos, inconsistencias o paradojas que quedan por fuera de esa "ortodoxia reglamentaria". Nuestra mirada selectiva y las hipótesis de allí surgidas excluyen buena parte de la realidad, restringida a lo mensurado. A menos que midamos ese universo todo el tiempo y de muchas maneras posibles, un elemento cuasi artificioso se inmiscuye en nuestro análisis, del cual debemos ser conscientes y obrar con la debida y consecuente prudencia. Cada uno lleva consigo una variopinta serie de historias sobre pacientes desacoplados del discurso dominante. Los recuerdos más vivos son aquellos que calan en lo profundo y mi memoria se retrotrae al caso de una joven de 23 años con una tuberculosis miliar sin antecedentes de otra morbilidad que nos arrimara un por qué: nada de coinfecciones, patologías autoinmunes, tratamiento con inmunosupresores, trastornos endócrinos u otra afección de relevancia. En medio de ese fárrago, una de las enfermeras refiere que relación entre la paciente y sus allegados íntimos daba la impresión de una familia disfuncional. El trabajo tenaz y profesional del equipo de salud mental pudo recoger una información tan sustantiva como doliente; la enferma venía siendo víctima de maltrato físico por parte de sus padres, el hermano y hasta un joven que oficiaba de novio. En esta vida cada uno llora como puede y algunas personas lo hacen de un modo muy desafortunado.

*Vero e ben trovato*<sup>5</sup>, en 1972 había conocido a Hugo Besedovsky uno de los profesores en el cursado de Fisiología, unos años después emigrado a Suiza y posteriormente radicado en Marburg. Su esposa la Dra. Adriana del Rey había trabajado a su vez durante los primeros

años del recién creado Instituto de Inmunología. Por los fuertes lazos rosarinos periódicamente visitaban la ciudad y el paso por la facultad era casi obligado. Seminarios seguidos de largas conversaciones donde se fueron gestando los lineamientos de proyectos que a la postre permitieron lograr un conocimiento mucho más abarcador de la respuesta defensiva, la cual se extiende por fuera de lo estrictamente inmunológico.

A la par de trabajos clínicos y experimentales en el contexto de la infección con *T. cruzi*; sobre fines de los años 90 con la Dra. María L. Bay también habíamos realizado estudios en pacientes con TB donde se demostraba un diferente patrón de producción *in vitro* de citocinas Th1 y Th2 en función de la severidad de la enfermedad. Como ambas patologías se caracterizan por una reacción inflamatoria persistente, era muy factible que esto se acompañara de un desbalance inmunológico (IE).

Una conexión muy relevante en esta comunicación bidireccional está referida al eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA), el cual es activado por citocinas inflamatorias (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6) que estimulan la producción de hormona liberadora de corticotrofina en el hipotálamo, con la posterior liberación de adrenocorticotrofina por la pituitaria seguida de la subsiguiente secreción de hormonas esteroideas a nivel de la corteza adrenal, cortisol y dehidroepiandrosterona (DHEA). Compuestos que además de sus efectos metabólicos, son capaces de modular la respuesta inmuno-inflamatoria.

El análisis del perfil IE en pacientes varones TB evidenció concentraciones aumentadas de mediadores inflamatorios y hormonas pituitarias,

en presencia de un descenso en los valores de testosterona y DHEA, sumado a incrementos moderados en los niveles de cortisol. Un patrón que atento a los efectos de las hormonas adrenales sobre la respuesta inmune aparece inadecuado tanto para contrarrestar el proceso inflamatorio como el montaje de inmunidad protectora. En lo referente al cortisol si bien interfiere con la expresión de genes para citocinas proinflamatorias en el caso de la TB su incremento no era muy notorio. Por su parte la DHEA, que contrarresta la secreción de citocinas proinflamatorias a la par de favorecer las respuestas Th1 estaba muy descendida sobre todo en los pacientes con enfermedad avanzada. La hipótesis que este desbalance entre cortisol y DHEA podía estar impidiendo el desarrollo de una respuesta inmune celular eficiente hacia la micobacteria, se vio sustentada por otra serie de estudios, donde el tratamiento con cortisol en células mononucleares periféricas (CMP) de pacientes TB estimuladas con antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), afectaba una serie de subrogados muy relevantes en inmunidad antituberculosa que el aditamento de DHEA producía un descenso significativo en la producción del TGF- $\beta$ , una citocina de conocidos efectos inmunosupresores en TB.

La anorexia y el estado de consunción presentes en estos enfermos nos llevó a analizar los niveles de hormonas peptídicas involucradas en el control de la ingesta, el metabolismo de la glucosa lo cual nos llevó a determinar que los pacientes también tienen una disrupción a nivel del balance energético seguramente ligado a la progresión de la enfermedad.

En esta especie de reciprocidad asimismo comprobamos que los sobrenadantes de cultivo de las CMP

de los pacientes TB estimuladas con Mtb frenaban la secreción de DHEA por parte de una línea de células adrenales humanas, fenómeno vinculado al TGF- $\beta$  ya el tratamiento con anticuerpos anti-TGF- $\beta$  neutralizaba la acción inhibitoria de estos sobrenadantes. Sobrevinieron posteriormente otra serie de estudios, en torno al desbalance IE en la comorbilidad TB y diabetes tipo 2.

Una pregunta que uno se formulaba era si esto sólo se circunscribía al eje HPA. Pues no, también afectaba a su contraparte gonadal. Como los pacientes varones presentaban menores niveles de testosterona en presencia de concentraciones aumentadas de su factor liberador (la hormona luteinizante), realizamos estudios inmunohistoquímicos en preparados de testículos de enfermos fallecidos sin orquitis tuberculosa (disponibles en el registro de necropsias) e identificamos una abundante presencia de citocinas proinflamatorias a ese nivel. Va de suyo que estas citocinas inhibían la producción de testosterona cuando se las agregaba el cultivo de células de Leydig, precisamente las encargadas de sintetizar esta hormona.

A modo de corolario el cuerpo de resultados dejaba en claro que los mismos procesos puestos en marcha para asegurar una adecuada respuesta defensiva ante la noxa devienen en un estado patológico cuando esta no consigue erradicarse, en el cual la comunicación IE tiene una participación relevante.

El vínculo establecido en los 80 con el Servicio de Cardiología, fundamentalmente en la persona del Dr. Juan Beloscar nos había permitido llevar adelante varios proyectos y ahora surgía la oportunidad de explorar estas cuestiones en el campo de la Enfermedad de Chagas crónica, puesto que la inflamación

está implicada en la generación de patología.

Los estudios en este tipo de pacientes indicaron la existencia de niveles aumentados para una amplia gama de citocinas proinflamatorias, notoriamente en casos con clara afectación cardíaca, a la par de una desequilibrada relación cortisol/DHEA, a expensas de una profunda disminución de DHEA. El binomio inflamación y caída de DHEA se hacía extensible a esta tripanosomiasis.

El grupo de pacientes con miocardiopatía también presentaba un perfil laboratorial bastante compatible con el síndrome metabólico.

Los estudios de corte analíticos son muchos más factibles de llevar a cabo cuando se dispone de un modelo experimental acorde. Afortunadamente, contábamos con uno caracterizado a principios del 2000 donde la infección con la cepa Tulahuén de *T. cruzi* en ratones C57BL/6 y BALB/c daba lugar a una enfermedad letal en los primeros no así en los segundos, cuyo nivel de gravedad estaba ligado a una excesiva respuesta inflamatoria con abundantes cantidades de citocinas con este tipo de accionar sumado a una marcada atrofia tímica, preponderantemente en el grupo C57BL/6. La cinética de la respuesta hormonal demostró que los ratones BALB/c presentaban valores basales más altos de corticosterona seguidos de un adicional aumento temprano de los mismos esencial para un mejor control de la reacción inflamatoria y desenlace más favorable del proceso. De un modo poco ventajoso, en los animales C57BL/6 dicha respuesta aparecía muy demorada y a la vez exacerbada (2-3 por encima de lo verificado en los BALB/c). Esta producción excesiva de GCs tenía un papel sustancial en la involución tímica, más que nada vía de

una apoptosis masiva de linfocitos T que en su mayoría son exportados a periferia dado que la adrenalectomía (ADx) y/o la administración del antagonista del receptor GCs (mifepristone, RU486) protegía a los animales del compromiso tímico. Lamentablemente ambas intervenciones (ADx y/o RU486) conducían a un aumento dramático de citocinas proinflamatorias que en el grupo C57BL/6 aceleraba el desenlace fatal mientras que los animales BALB/c ahora todos experimentaban una enfermedad letal.

Si bien el TNF- $\alpha$  favorece que los macrófagos destruyan más fácilmente a los parásitos residentes en su interior, su accionar puede, además, llevar a la apoptosis de timocitos corticales, lo cual ameritaba su evaluación. En nuestro modelo esta citocina no estaba involucrada en la depleción tímica ya que la infección en ratones C57BL/6 genéticamente deficientes para ambos receptores de TNF- $\alpha$  seguía presentando atrofia glandular, sumado al esperable agravamiento de la enfermedad al estar imposibilitada la señalización por este mediador.

El intento de controlar el proceso infeccioso implica un notable gasto energético, reflejado en una severa hipoglucemia, caída del peso corporal de los ratones y una pérdida muy acentuada de tejido adiposo (TA) con disminución del tamaño de los adipocitos diferente presencia de las enzimas que regulan la lipólisis y lipogénesis y aumento de la expresión de citocinas proinflamatorias.

Tomados en su conjunto los hallazgos reforzaban el componente fisiopatológico de la desregulación IE durante la inflamación persistente y sostenida con el aditamento de un sustancial impacto metabólico; puesto de relieve en el abordaje experimental.

Desde una mirada un tanto más supra, los resultados obtenidos en el contexto de las dos enfermedades dan pie para pensar que ambas podrían igualmente promover una inmunosenescencia prematura en consonancia a lo observado en sujetos bajo estrés crónico o niveles persistentemente aumentados de GC, tal como disminución de la exportación tímica de células T vírgenes, aumento de los niveles circulantes de marcadores proinflamatorios y telómeros de menor longitud, cuestiones que están siendo exploradas en estos momentos (pese a las dificultades impuestas por la pandemia).

El nuevo milenio trajo consigo un hecho que habría de imprimir una dirección bien distinta y hasta ese momento impensada en mi peregrinar. En febrero de 2002 recibí una carta del Dr. Eduardo Charreau (<https://aargentinapciencias.org/publicaciones/revista-resenas/resenas-tomo-1-no-1-2013/>) entonces presidente de CONICET donde me invitaba a participar de la Comisión Asesora de Ciencias Médicas. De buenas a primeras, un neófito iría tomando conocimiento de lo que era el sistema regente de la investigación científica en el país, para así ir encauzando la actividad en función de esa lógica institucional. Tras el ingreso a la Carrera del Inves-

tigador Clínico la meta era conformar una unidad ejecutora de doble dependencia, lo cual aseguraría la continuidad de las líneas de investigaciones trazadas, a la par de atraer otros investigadores que desearan incorporarse al campo de las investigaciones biomédicas con un claro componente clínico. En el lapso de unos 10 años, el número de investigadores, la capacidad instalada en función de los subsidios obtenidos en la ANPCYT, y el desarrollo de una hoja de ruta, permitió la creación del Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario -IDICER- (UNR-CONICET) a principios del 2014. Me desempeñé como su director hasta el 2020, siendo suce-

### **Las derivaciones de la labor investigativa: docencia, formación de RRHH, actividad de gestión y cuerpos colegiados**

Como un anexo ineludible, la faena va sumando actividades muy ligadas a estos quehaceres, algunas placenteras, otras no tanto y unas pocas hasta capaces de quitar el sueño. Gajes del oficio que afortunadamente nunca lograron una dimensión trágica.

En el intento de efectuar una descripción ordenada, arrancaremos con la dirección de tesis doctorales (8 defendidas y otras 4 en curso), becarios e investigadores de CONICET (18), obtención de subsidios por parte de instituciones financiadoras de la Ciencia (25), como así también premios y distinciones (16). Dos entidades científicas me honraron con su elección para presidirlas: Sociedad Argentina de Inmunología como así también la de Protozoología y Enfermedades Parasitarias... ¡cuántos entrañables y gratos recuerdos! Dentro de CONICET, fui miembro de varias comisiones asesoras, coordinador de la Comisión de Investigador en Salud y jurado de concursos para directores de UE, vicedirector y luego director del CCT CONICET (2016-2019). También me cupo una participación en el FONCYT como co-coordinador del Área de Medicina, luego coordinador del Área de Ciencias Clínicas & Salud Pública y actualmente integrante de la Comisión de Pertinencia para PID clínicos. Las evaluaciones se hicieron extensibles a otros ámbitos como en Carreras de Postgrado acreditadas por CONEAU, Categorización para el programa de incentivos, Fundación Bunge & Born, Red AMSUD Pasteur Montevideo, Convocatoria para Enfermedades Tropicales del NIH, CONACYT (México y Paraguay), Corporación Ecuatoriana para la Investigación y la Academia. Asimismo, continúo desempeñándome como miembro de 4 comités editoriales (*Neuroimmunomodulation*, Revista de Medicina y Cine de la Universidad de Salamanca, Revista de Leprología Fontilles y Revista Médica de Rosario).

En el ámbito de la Facultad de Ciencias Médicas integro varias Comisiones de Postgrado tanto para especialidades como Doctorados a la par de haberme desempeñado años atrás como secretario de Ciencia y Técnica y miembro de su Comité de Bioética. Aquel regreso prometido hacia fines de los 70 tuvo a lugar desde la inmunología y metodología. En el seno de la UNR, sigo integrando el Comité de Ética de Investigación y también formé parte de otros cuerpos colegiados como el Consejo de Investigaciones al cual sigo perteneciendo y guardo una especial estima.

Más recientemente se han añadido tres membresías, la Academia Nacional de Medicina, la Academia de Ciencias Médicas de Santa Fe y la Fundación Ciencias Médicas de Rosario.

En 2019 la querida Sociedad Argentina de Inmunología otorgó distinciones a un par de cofrades y grandes amigos de la vida, cuyo contacto se había dado precisamente en ese grupo: Alberto Fossati (<https://aargentinapciencias.org/publicaciones/revista-resenas/resenas-tomo-6-no-4-2018/>) y quien esto escribe.

dido por la Dra. Ana Rosa Pérez tan interiorizada como competente para la temática de regulación IE quien por su parte ya había establecido una colaboración con el Dr. Wilson Savino del Instituto Fiocruz de Rio de Janeiro.

## ■ POSTLUDIO

Apelando al lenguaje musical, particularmente propicio a la hora de representar vivencias, el tiempo signado por aquel *allegro molto vivace*, ha cedido paso a otro donde habita el *andantino*, un *larghetto*, y el siempre bienvenido *scherzo* o *cantabile*;... más butaca que escenario.

Aparte de esta *humoresque*, cuatro décadas de idas y venidas entre el hospital y el laboratorio han devenido en un cúmulo de experiencias, como para elaborar algunas reflexiones con tintes de aprendizajes. Nada de petulancias o algo que pudiera ser interpretado como una suerte de *dixit* sino más bien pensamientos en voz alta para compartir.

Para arrancar me parece conveniente esto de prestar una muy debida atención a aquellos datos intrigantes, diferentes de lo esperable, y consecuentemente avanzar con una buena cuota de tenacidad puesto que la corroboración de las ideas en el terreno de lo empírico tiene sus bemoles. En tanto hayamos visibilizado bien el problema los aliados aparecerán.

La llama arde con más fuerza cuando estamos munidos de entusiasmo, y esa especie de apasionamiento para llevar adelante el trabajo. Hecha la salvedad de mi distancia sideral con el gran Bach, su historia de vida es una inspiración ante las adversidades. En sus diferentes estancias, primordialmente en Leipzig y como *Thomaskantor*, Johann de-



Figura 1: Ernesto Falcoff y yo.



Figura 2: OMS-1992 Philippe Desjeux.

bía componer las acostumbradas cantatas a posteriori valoradas por unos cuantos señores no siempre provistos de sólidos conocimientos musicales como para emitir opinión fundada. Aun así, me asiste la convicción de que el genio de Eisenach llevaba consigo un antídoto de sobrada efectividad: el fervor surgido de esa acabada compenetración en su *da-sein* existencial; nada más ni nada menos. Nuestro ser capaz ha de infundirle un peso intrínseco al estudio y eso constituye de por sí una gran recompensa, mucho mejor cuando va acompañada de una acorde tasación cuantitativa, que no siempre sucede. En tiempos de acometidas “cuantofrenias”, la máxima de Machado en no confundir valor con precio es fundamental, y si bien es cierto que uno debe moverse entre avalúos, no se trata pues de caer en sus encerronas.

Otra cuestión sustancial está referida a la necesidad de reconciliarnos con nuestros límites. De no ser conscientes, tales impedimentos se vuelven contraproducentes y más temprano que tarde su efecto deletéreo se hace sentir.

En último término, no por menos trascendente sino precisamente por su connotación, el temple para no perder de vista que el otro es uno mismo posicionado en ese lugar y no un peldaño para ir escalando. Declamado con un talante que por momentos frisaba lo épico, uno se ha anoticiado de elocuentes arengas de cuño académico, científico o institucional, que puestas a rodar iban dejando mucha gente lesionada.

El arte que tan bien sabe hacerse eco de las alegrías y desesperanzas humanas ha rescatado este *ethos* de diversas maneras. Por un sesgo pe-

ninsular del cual no pienso renegar, rescato unas estrofas que Leoncavallo escribiera para el prólogo de *I pagliacci* donde lo sintetiza de manera magistral: *E voi, piuttosto che le nostre povere Gabbane d'istrioni, le nostr'anime, considerate, poichè siam uomini, di carne e d'ossa, e che di quest'orfano mondo al pari di voi spiriamo l'aere!*<sup>6</sup>

Mucho mejor pensarnos como una empresa colectiva, de humanos más que recursos, y de esfuerzos mancomunados entre compañeros de armas. A riesgo de que suene utópico, muchos de estos espacios imaginarios en su momento fueron la antesala de lo que hoy resultan realidades.

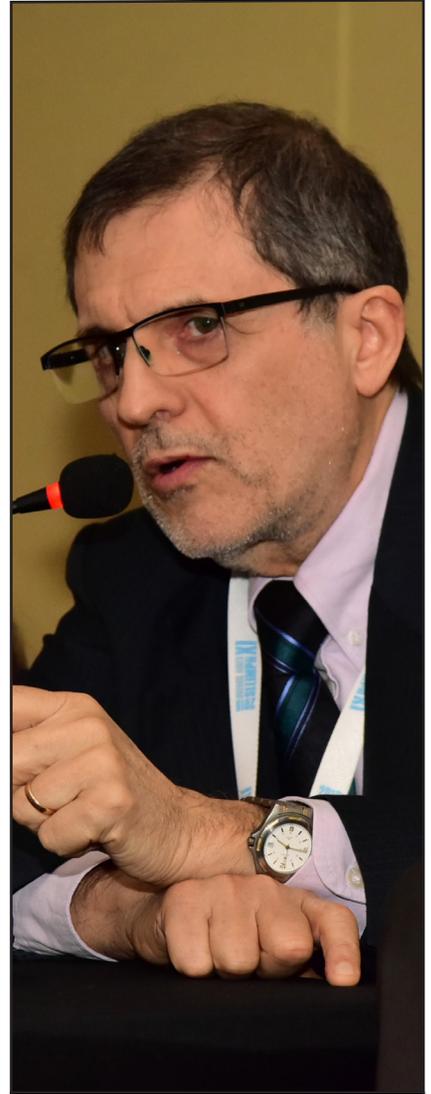
Y ahora sí para cerrar, mi deseo de una saludable cuota de buen humor a fin de que las aflicciones dejen menos melladuras. En su Falstaff,



Figura 3: Congreso RJ-Savino-Morales Montor-Loria-Besedovsky-Berczi.



**Figura 4:** Academia de Santa Fe con Amalia.



**Figura 5:** Para el Congreso.



**Figura 6:** Defensa Tesis 1990.

una de las estrellas más fulgurantes en el firmamento del teatro cantado cierra esa ópera con una fantástica fuga mientras los protagonistas cantan al unísono: “*Tutto nel mondo è burla*”<sup>7</sup>. Ciertamente, ante tantos traspiés y estratagemas infructuosas, mejor tomárselo en solfa.

Por más que no haya necesidad de declamarlo, me resulta imposible dejar de hacerlo, ¡VIVA VERDI!

## ■ AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi gratitud hacia los investigadores del IDICER y otros colegas radicados en distintos centros del país o del exterior. En el mismo sentido, mi permanente aprecio para los condiscípulos del ámbito científico-académico, con todos ellos he compartido preciados momentos de auténtica camaradería y sentida amistad. Mi reconocimiento se hace igualmente extensivo a la Universidad Nacional de Rosario, el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Nación como así también la Agencia Santafesina de Ciencia, Tecnología e Innovación.

## ■ REFERENCIAS

Falcoff E, Taranto NJ, Remondegui CE, Dedet JP, Canini LM, Ripoll CM, Dimier-David L, Vargas F, Giménez L, Bernabó J, Bottasso OA. “Clinical healing of antimony-resistant cutaneous or mucocutaneous leishmaniasis following the combined administration of interferon-gamma and pentavalent antimonials”. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 88: 95-97, 1994.

Bottasso OA, Ingledew N, Keni M, Morini J, Pividori JF, Rook GAW, Stanford JL. “The cellular immune response to common myco-

bacterial antigens is suppressed in persons seropositive for *Trypanosoma cruzi*”. *Lancet* 344: 1540-1541, 1994.

Piaggio E, Sanceau J, Revelli S, Bottasso O, Wietzerbin J, Serra E. “Trypanocidal Drug Benzimidazole Impairs Lipopolysaccharide Induction of Macrophage Nitric Oxide Synthase Gene Transcription Through Inhibition of NF- $\kappa$ B Activation”. *J Immunol* 167: 3422-3426, 2001.

Roggero E, Perez A, Tamae-Kakazu M, Piazzon I, Nepomnaschy I, Wietzerbin J, Serra E, Revelli S, Bottasso O. “Differential susceptibility to acute *Trypanosoma cruzi* infection in BALB/c and C57BL/6 mice is not associated with a distinct parasite load but cytokine abnormalities”. *Clin Exp Immunol* 128: 421-428, 2002.

del Rey A, Mahuad CV, Bozza V, Bogue C, Farroni MA, Bay ML, Bottasso OA, Besedovsky HO. “Endocrine and cytokine responses in humans with pulmonary tuberculosis”. *Brain Behav Immun* 21: 171-179, 2007.

Pérez AR, Roggero E, Nicora A, Pallazzi J, Besedovsky HO, del Rey A, Bottasso OA. “Thymus atrophy during *Trypanosoma cruzi* infection is caused by an immunendocrine imbalance”. *Brain Behav Immun* 21: 890-900, 2007.

Pérez AR, Silva-Barbosa SD, Berbert LR, Revelli S, Beloscar J, Savino W, Bottasso O. “Immunoendocrine alterations in patients with progressive forms of chronic Chagas disease”. *J Neuroimmunol* 235: 84-90, 2011.

González FB, Villar SR, Fernández Bussy R, Martín GH, Pérol L, Manarín R, Spinelli SV, Pilon C,

Cohen JL, Bottasso OA, Piaggio E, Pérez AR. “Immunoendocrine dysbalance during uncontrolled *T. cruzi* infection is associated with the acquisition of a Th-1-like phenotype by Foxp3+ T cells”. *Brain Behav Immun* 45: 219-232, 2015.

D’Attilio L, Santucci N, Bongiovanni B, Bay ML, Bottasso O. “Tuberculosis, the disrupted immunendocrine response and the potential thymic repercussion as a contributing factor to disease physiopathology”. *Front Endocrinol* 9 (214): 1-9, 2018.

González FB, Villar SR, Pacini MF, Bottasso OA, Pérez AR. “Immune-neuroendocrine and metabolic disorders in human and experimental *T. cruzi* infection: New clues for understanding Chagas disease pathology”. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1866(3):165642; 2020.

Fernández R, Díaz A, Bongiovanni B, Gallucci G, Bértola D, Gardes-ñez W, Lioi S, Bertolin Y, Galliano R, Bay ML, Bottasso O, D’Attilio L. “Evidence for a more disrupted immune-endocrine relation and cortisol immunologic influences in the context of tuberculosis and type 2 diabetes comorbidity”. *Front. Endocrinol.* 11:126; 2020. doi: 10.3389/fendo.2020.00126

## ■ NOTAS

- 1 “Los caminos de la vida”.
- 2 Para reforzar la presunción de que un excesivo y prolongado contacto con el MI podría inducir algún mecanismo capaz de deprimir la respuesta inmune hacia la micobacteria procedimos a tratar ratas con varias inyecciones intraperitoneales con MI inactivado previo al desafío

con ACF; que igualmente reducía la intensidad de la AA.

3 WHO: *World Health Organization* (OMS en español).

4 La infección y/o el tratamiento de las ratas preñadas no tenía efectos deletéreos sobre la capacidad

reproductiva de las madres valorada en función de los coeficientes de fertilidad y supervivencia.

5 Paráfrasis de la expresión de Giordano Bruno "*se non è vero, è molto ben trovato*" (si no es verdad, está bien compuesto).

6 "Y ustedes más que nuestros pobres gabanes de histriones, nuestras almas consideren, pues somos hombres de carne y hueso y que, de este huérfano mundo, como ustedes respiramos el aire".

7 Todo en el mundo es burla.