

Diversidad fenotípica y funcional de los linfocitos B

RESUMEN

Durante muchos años se ha considerado que la función de los linfocitos B es únicamente servir de precursores de las células plasmáticas productoras de anticuerpos; sin embargo, esta visión reduccionista se ha cuestionado en los últimos 30 años. La primera gran sorpresa ocurrió en el decenio de 1970, cuando se demostró que los linfocitos B no constituyen una población homogénea, sino que está constituida por diversas subpoblaciones con origen y funciones distintas que incluyen a la inmunidad innata y la adquirida. Durante el decenio de 1980 se descubrió que los linfocitos B son una fuente importante de citocinas y que extienden sus funciones de la presentación de antígenos a los linfocitos T a funciones de cooperación celular. A partir del año 2000 quedó claro que las células B son tan heterogéneas, hablando en términos funcionales, como lo son los linfocitos T, y que extienden sus funciones a la regulación de la respuesta inmunológica. La historia aún no concluye porque sigue el descubrimiento de nuevas funciones, que tendrán que ser incorporadas al *corpus* principal del conocimiento acerca de los mecanismos mediante los cuales funciona la respuesta inmunológica. Así, podemos concluir con una felicitación para los linfocitos B por estos primeros 50 años, y les auguramos al menos otros 50 años más de crecimiento robusto.

Palabras clave: diversidad fenotípica, diversidad funcional, linfocito B, citocinas, regulación.

Phenotypic and functional diversity of B lymphocytes

ABSTRACT

For many years, it has been considered that the function of B cells is only to serve as precursors of antibody-producing plasma cells; however, this simplistic view has been challenged in the past thirty years. The first big surprise came during the seventies, when it was shown that B lymphocytes are not a homogeneous population, but is made up of various subpopulations with different origin and functions, including both innate and acquired immunity. During the eighties, it was discovered that B cells are an important source of cytokines, extending its functions from antigen presentation to cooperation with T cells. From the year two thousand, it is clear that B cells are, functionally speaking, as heterogeneous as T lymphocytes, extending its functions to the regulation of the immune response. The story does not end yet, as they continue to discover new features that will have to be incorporated into the main body of knowledge about the mechanisms by which the immune response works. Thus, we can conclude by congratulating the B lymphocytes by these first 50 years and we can predict at least another 50 of robust growth.

Key words: phenotypic diversity, functional diversity, B lymphocyte, cytokines, regulation.

Leopoldo Santos-Argumedo

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, México, DF.

Este trabajo formó parte del simposio por el 50° Aniversario del Descubrimiento de los Linfocitos B, organizado por la Sociedad Mexicana de Inmunología A.C., que se realizó el 17 de abril de 2015 en la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Recibido: 15 de mayo 2015

Aceptado: 4 de agosto 2015

Correspondencia: Dr. Leopoldo Santos Argumedo
lesantos@cinvestav.mx

Este artículo debe citarse como

Santos-Argumedo L. Diversidad fenotípica y funcional de los linfocitos B. Revista Alergia México 2015;62:302-311.

ANTECEDENTES

Los anticuerpos representan la primera manifestación tangible de los mecanismos mediante los que trabaja la inmunidad. Desde su descripción, a finales del siglo XIX, hasta la identificación de las células que los producen, casi medio siglo después, la inmunología dio pasos gigantescos para sentar los principales paradigmas que rigen su funcionamiento. El estudio minucioso de los anticuerpos permitió establecer conceptos detallados acerca de los significados de especificidad y memoria; ambos conceptos torales de la inmunidad.¹ Los estudios en la época de la inmunoquímica, como se le conoce en la historia de la inmunología al periodo de 1920-1950, articularon una serie de observaciones que permitieron definir conceptos como especificidad inmunológica, maduración de la afinidad, cambio de isotipo, exclusión alélica, fragmentos variables y constantes de los anticuerpos, así como la introducción de métodos cuantitativos para evaluar la magnitud de una respuesta inmunitaria.¹ Sin embargo, la identidad de las células responsables de la producción de estos anticuerpos se mantuvo en la oscuridad durante casi todo este periodo. La descripción de las células plasmáticas se inició desde la segunda mitad del siglo XIX y quizá la reseña histológica más detallada se la debemos a Santiago Ramón y Cajal, quien en 1890 las encontró en una lesión sifilítica y las denominó células cianófilas (o "corpúsculos de protoplasma basófilo"); pero la asociación de estas células como el origen de los anticuerpos séricos se dio mucho tiempo después.²⁻⁴ Durante el decenio de 1930 surgieron los primeros indicios de que las células plasmáticas eran las responsables de la producción de los anticuerpos séricos, pero en los decenios de 1940 y 1950 esta asociación quedó demostrada realmente.^{3,4}

La siguiente gran aportación se dio gracias al trabajo de Bruce Glick, quien al extirpar quirúrgicamente la bursa de Fabricio consiguió demostrar que la producción de anticuerpos

estaba abatida. Este trabajo seminal no se publicó en una revista de difusión amplia, sino en una revista especializada de circulación más restringida: *Poultry Sciences*, en 1956.⁵ Max D Cooper, en 1965, recopiló y extendió los resultados de este trabajo en un artículo que describió las funciones de los dos órganos linfoides primarios de las aves: el timo y la bursa de Fabricio.⁶ La remoción temprana de la bursa de Fabricio en los pollos genera disminución muy severa en la producción de anticuerpos, sin un efecto aparente en el rechazo de aloinjertos; mientras que la extirpación temprana del timo afecta gravemente la capacidad de rechazar aloinjertos y también a la inmunidad humoral.⁷

Así, éste y muchos otros trabajos demostraron que las células derivadas de la bursa de Fabricio son los precursores de las células plasmáticas productoras de anticuerpos y, por tanto, de la inmunidad humoral. El equivalente de la bursa de Fabricio en los mamíferos estudiados resultó ser la médula ósea, cuyo nombre en inglés es *bone marrow*, por lo que se asentó la terminología para estos linfocitos, quedando de manera definitiva como linfocitos B. Otro hallazgo importante fue la demostración, por RRA Coombs y Martin Raff y sus grupos, acerca de que los linfocitos B tienen inmunoglobulinas sobre su membrana; estas moléculas no sólo son útiles para identificar a esta población celular, sino también constituyen el receptor para el antígeno (BCR o receptor de la célula B).^{8,9} Con estos hallazgos se inició formalmente el estudio de la ontogenia de estas células, y se encontraron moléculas de superficie que sirvieron de marcadores para definir estados discretos de diferenciación y diversos estudios funcionales que permitieron comenzar a entender cómo es que los linfocitos B reconocen a los antígenos y cómo son activados por éstos. Un linfocito B tiene sobre su membrana alrededor de 100 mil a medio millón de moléculas de inmunoglobulina; todas reconocen al mismo determinante antigénico, lo que demuestra la naturaleza clonal de las células

de la respuesta inmunológica adaptativa.¹⁰ En 1974, una estudiante mexicana, Érika Rebeca Abney, en el laboratorio del Dr. RME Parkhouse, del National Institute for Medical Research, en Mill Hill, Londres, Inglaterra, describió una de las moléculas más enigmáticas de los linfocitos B: la inmunoglobulina D.¹¹ Más tarde, Abney, en colaboración con Max D Cooper, describieron que la IgD identifica las etapas terminales del proceso de maduración de los linfocitos B y mostraron que la heterogeneidad en la expresión de los diversos isotipos de inmunoglobulinas acompañan el proceso de diferenciación de las células B.¹²

Ratones *xid*

No estaba claro completamente si la heterogeneidad descrita hasta ese momento representaba sólo diferentes etapas en el proceso de maduración de un solo linaje de linfocitos B, o si se trataba de células con cierta especialización, que les permitía, al igual que a las células T, linajes diferenciados con funciones especializadas para cada uno. La primera prueba de que podría tratarse de linajes diferentes vino de la descripción realizada por Paul y colaboradores, del NIH, en Estados Unidos, de una cepa de ratones cuyo comportamiento daba cuenta de una posible especialización funcional con al menos dos funciones distintas. Ya se había demostrado que la extirpación temprana del timo en ratones, además del daño severo que causaba al rechazo de injertos, también afectaba la producción de anticuerpos contra la mayor parte de los antígenos proteicos (denominados antígenos timo-dependientes, o TD); sin embargo, había un grupo de antígenos que aparentemente no necesitaban la ayuda de los linfocitos T para activar a los linfocitos B, estos antígenos se denominaron timo-independientes (o TI). Los ratones en cuestión, pertenecientes a la cepa CBA/N, tenían un defecto genético ligado al cromosoma X, que trae como consecuencia disminución en el número de linfocitos B, pero lo más significativo de estos animales es que son incapaces de

responder a un tipo muy particular de antígenos del grupo de los TI, (DNP-lys-Ficoll). En contraste, estos mismos ratones responden bien contra un típico antígeno TD, el TNP, que está unido a eritrocitos de carnero (TNP-GRC). Estos resultados sugirieron de inmediato que había una subpoblación de linfocitos B afectada (la que responde al DNP-lys-Ficoll), mientras que otra población, la de los linfocitos B que responden a los antígenos TD (TNP-GRC), estaba intacta.¹³⁻¹⁶ Un hallazgo adicional de este mismo grupo permitió demostrar que el DNP cuando se acoplaba a *Brucella abortus*, otro tipo de antígeno TI, podía generar una respuesta normal de anticuerpos.¹⁷ La conclusión de éste y de una larga serie de experimentos llevó a establecer que la respuesta humoral podría originarse de tres subpoblaciones distintas: una que reconocería a los antígenos TD y otras dos que son las responsables de responder a los antígenos TI-1 (existentes en los ratones CBA/N) o TI-2 (ausente en esta cepa de ratones). Los ratones de la cepa CBA/N también son conocidos como ratones *xid* (por *id*, de inmunodeficiencia, y *x*, ligada a este cromosoma).

De manera conjunta con estos hallazgos se inició la búsqueda de moléculas de la superficie que permitieran distinguir entre los distintos tipos o subpoblaciones de linfocitos B. Para ello se generaron antisueros que permitieron la identificación de ciertos antígenos en la membrana, pero cuyos resultados, por la naturaleza de los reactivos usados, no se corroboraron ampliamente por otros laboratorios.¹⁸ Además de las inmunoglobulinas de superficie, se demostró heterogeneidad en la expresión de receptores para la porción Fc de las inmunoglobulinas (FcR), para el receptor del factor del complemento C3b (CR), en las moléculas clase II del complejo principal de histocompatibilidad (denominadas antígenos Ia) y una serie de moléculas denominadas Lyb (de *lymphocyte B*, que van del 1 al 7).¹⁹ Estas moléculas permitieron identificar a los linfocitos B que responden a los antígenos TI de los que responden a los antígenos TD. La conclusión más

importante de estos estudios fue demostrar que aunque los linfocitos B parecen una población homogénea de células, cuya única función es transformarse en células plasmáticas productoras de anticuerpos, en realidad se trata de una población heterogénea con diversas funciones, que se describieron a partir del decenio de 1980 y los subsecuentes.

Anticuerpos monoclonales

Una de las herramientas más poderosas para la búsqueda de marcadores de superficie, y que permitió de manera definitiva poner de manifiesto la heterogeneidad de los linfocitos en general, y de los linfocitos B en particular, fue la descripción de los anticuerpos monoclonales. La técnica descrita por Georges Köhler y César Milstein,²⁰ en la segunda mitad del decenio de 1970, devino en uno de los recursos más importantes de la biología celular en los últimos 40 años. Gracias a los anticuerpos monoclonales, con homogeneidad molecular y disponibilidad prácticamente ilimitada, fue posible que una gran cantidad de investigadores tuviera acceso a reactivos estandarizados idénticos, con los que se pudo corroborar los resultados que en la época de los antisueros estuvieron muy restringidos. Los monoclonales, por ejemplo, pudieron diferenciar fácilmente entre los linfocitos T cooperadores por la expresión de la molécula CD4 y los linfocitos T citotóxicos, que expresan la molécula CD8. Una de las primeras moléculas en identificar claramente a una subpoblación de linfocitos B fue la molécula Lyt-1, posteriormente rebautizada como CD5. Con el uso del anticuerpo monoclonal 53-5.3 (anti-Lyt-1), y gracias a otra herramienta poderosísima, la citometría de flujo, desarrollada en gran medida por Leonard y Leonore Herzenberg y su grupo, de la Universidad Stanford en California, Lewis L Lanier consiguió demostrar que este anticuerpo reconoce una molécula que se expresa en algunos linfomas B y en una subpo-

blación de linfocitos B.²¹ Los linfocitos B CD5+ (o Lyt-1+) están presentes de manera abundante en las cavidades peritoneal y pleural, con escasa presencia en el bazo y en la sangre periférica de los ratones. Estos linfocitos B CD5+ son células que se originan en el omento o epiplón; son las primeras células B en aparecer en el feto y son responsables de la producción de los llamados “anticuerpos naturales”. Se trata de una población de linfocitos grandes, con predominio de IgM sobre su superficie, que producen y liberan de manera “espontánea” IgM (de secreción). En un inicio, estas células se denominaron B1y más tarde se encontró que esta población puede subdividirse en B1a (CD5+) y B1b (CD5-).^{22,23} Es de interés que hasta la fecha no se ha encontrado un equivalente de esta subpoblación en los humanos, aunque no se descarta su existencia.

En contraste, los linfocitos B2 son los predominantes en los órganos linfoides secundarios y en la sangre periférica; son células que responden a los antígenos TD y que, bajo estimulación con el antígeno (y con ayuda apropiada de los linfocitos T cooperadores), pueden transformarse en linfocitos B de memoria o en células plasmáticas. En general, los anticuerpos producidos por estimulación de los linfocitos B2 dan origen, además de la IgM, a otros isotipos. Otro aspecto muy relevante de la respuesta de estas células es que se generan anticuerpos con mayor afinidad por los antígenos. El cambio de isotipo y la maduración de la afinidad se originan en la diferenciación de los linfocitos B2 durante la reacción del centro germinal en mecanismos dependientes de la colaboración de linfocitos T cooperadores foliculares.²⁴

Los monoclonales del Instituto Nacional para la Investigación Médica del Reino Unido

En el laboratorio del Dr. Mike Parkhouse, del National Institute for Medical Research (NIMR) del Reino Unido se preparó una serie de anti-

cuerpos monoclonales de rata con el objetivo no sólo de poner de manifiesto la heterogeneidad de los linfocitos B del ratón, sino, además, con la idea de usar estas herramientas para estudiar la función biológica de las moléculas reconocidas por estos anticuerpos. De los muchos monoclonales generados durante más de una década se consiguió la caracterización parcial de algunas de las moléculas, que se describen brevemente a continuación.

El monoclonal NIM-R4 reconoce a las moléculas del MHC clase II del ratón. Este monoclonal tiñe la superficie de varios tipos celulares y el antígeno que reconoce se expresa de manera abundante en la superficie de las células B normales, así como de muchos linfomas B. La expresión de las moléculas de clase II se incrementa durante la diferenciación de los linfocitos B y durante la activación inducida por antígeno o por estímulos policlonales.²⁵ Como lo describió John Cambier, en 1989,²⁶ el anticuerpo NIM-R4 induce que las células B activadas se desparramen sobre superficies de plástico o vidrio recubiertas previamente con este monoclonal. El fenómeno del desparramado de los linfocitos B es dependiente de las modificaciones del citoesqueleto, lo que sirvió para que iniciáramos el estudio de los elementos del citoesqueleto en la fisiología de los linfocitos B.²⁷

El monoclonal NIM-R5, por mucho, es el más estudiado en mi laboratorio durante los últimos 20 años. El anticuerpo reconoce a la molécula CD38, que es predominante, aunque no únicamente sobre la superficie de los linfocitos B. La expresión de CD38 se incrementa en los linfocitos B2 durante la activación policlonal. Es una molécula que también está abundantemente expresada sobre los linfocitos B1 (semeja células preactivadas);²⁸ sin embargo, el aspecto más relevante de este anticuerpo, y la razón por lo que se volvió tan importante en nuestro trabajo, es que tiene la propiedad de inducir la proliferación

de linfocitos B en reposo.²⁸ Otra sorpresa fue encontrar que CD38 es una ectoenzima, cuyo dominio catalítico produce, a partir de NAD o NADP, ADP ribosa y ADP ribosa cíclica; esta última es un metabolito movilizador de calcio intracelular.²⁹ Además, CD38 funciona como receptor, cuyo ligando aún no se ha identificado. La vía de señalización de CD38 usa algunos de los componentes de la vía canónica del receptor de la célula B (BCR), pero tiene algunas diferencias que ameritan un estudio más detallado.

El monoclonal NIM-R6 reconoce a CD22, una molécula expresada en linfocitos B maduros. CD22 es importante porque regula de manera negativa el proceso de activación de las células B, desencadenado por la activación de la vía BCR. Gracias a un dominio tipo lectina puede unir ácido siálico y de esta manera asociarse con varios posibles ligandos. Estudios de diversos grupos determinaron que esta molécula puede, por una parte, regular la cantidad de BCR expresado en la superficie y, por otra, el grado de activación de los linfocitos B, constituyéndose en un reóstato para la activación, con importancia significativa en el desarrollo de la autoinmunidad.³⁰

El monoclonal NIM-R7 reconoce una molécula sobre los linfocitos B activados, pero ausente (en apariencia) en los linfocitos B2 en reposo. Esta molécula también está expresada en los linfocitos B1 y en ciertos linfomas B. El monoclonal reconoce una glicoproteína de 58 kDa, cuya identidad no se ha descrito. El hallazgo más significativo es que este anticuerpo, cuando se acopla a una toxina, puede funcionar como inmunotoxina para tratar linfomas *in vivo*, sin perjudicar a los linfocitos B normales (en ratones).³¹

El monoclonal NIM-R8 reconoce al CD44, molécula expresada sobre una gran variedad de células y cuya función más importante es la adhesión; el ácido hialurónico es su ligando más importante. CD44 es una molécula abun-

dante sobre linfocitos T y B, pero su expresión se incrementa durante la activación celular y se ha utilizado como marcador de linfocitos de memoria. Durante la caracterización de este monoclonal, NIM-R8, encontramos que también induce el desparramado de los linfocitos B activados sobre superficies recubiertas con él, por lo que también utilizamos este fenómeno, y esta molécula, en la caracterización de los elementos del citoesqueleto que intervienen en la motilidad, la interacción con otras células o componentes de la matriz extracelular y en el tránsito vesicular de proteínas de la superficie de los linfocitos B.^{27,32}

En resumen, estos cinco anticuerpos monoclonales, en conjunto con otros más descritos en la bibliografía, nos permitieron la caracterización de estados discretos del proceso de diferenciación de los linfocitos B y también respaldaron el estudio de las diversas subpoblaciones de estas células.

Heterogeneidad de los linfocitos B

Al regresar al tema de la heterogeneidad de los linfocitos B, en la actualidad se reconocen al menos cuatro subpoblaciones, con base en la expresión diferencial de ciertos marcadores y en la diversidad funcional de estas células cuando son estimuladas con antígenos. Todas estas subpoblaciones responden a los antígenos, pero tienen diferentes requerimientos de ayuda por parte de las células T.³³ Las mencionadas son las células B1a y B1b, que están en las cavidades peritoneal y pleural, y que también son abundantes en las mucosas. Las células B2, que corresponden a los linfocitos B “tradicionales” y maduran en la médula ósea, habitan los órganos linfoides secundarios, donde están agrupadas en “folículos primarios”; bajo estimulación con antígeno (con ayuda activa de linfocitos T) generan los centros germinales, que son los sitios donde estas células proliferan, maduran y se diferencian

en linfocitos B de memoria o plasmablastos, que posteriormente serán diferenciados a células plasmáticas. En la reacción de centro germinal ocurren otros eventos, al parecer únicos en el proceso de diferenciación de los linfocitos B, como son: la maduración de la afinidad (producto de mutación somática), en la que las células con mayor afinidad por el antígeno son seleccionadas positivamente, mientras que las que disminuyeron su afinidad son eliminadas. También en este sitio ocurre el cambio de isotipo, aunque también está documentado que este proceso puede suceder fuera de los centros germinales. La cuarta subpoblación, descrita hace unos años en el ratón, es la de los linfocitos B de la zona marginal del bazo. Estos linfocitos comparten el origen y la ruta de diferenciación de los linfocitos B2, pero en el bazo siguen una ruta propia y toman como residencia la zona marginal que separa la pulpa blanca de la pulpa roja, con lo que quedan fuera de los folículos primarios y de la reacción del centro germinal.³⁴ La zona marginal permite el contacto con antígenos transportados por la sangre y los pone en contacto directo con macrófagos (metalofílicos) y con los linfocitos B que están en esta zona (BZM). Una de las peculiaridades de los linfocitos BZM es que responden de manera rápida y eficiente contra antígenos TI-2; por ejemplo, las cápsulas de polisacáridos de bacterias como *Streptococcus pneumoniae*, con lo que facilitan una respuesta rápida de anticuerpos. En ese sentido, estas células tendrían alguna semejanza con los linfocitos B1; sin embargo, a diferencia de éstos, los linfocitos BZM pueden cambiar eficientemente de isotipo e incluso generar anticuerpos con mayor afinidad.³³⁻³⁶

Buena parte de los libros de texto de Inmunología (incluso algunos recientes) y la corriente de pensamiento generalizada entre muchos inmunólogos consideran que la única función de los linfocitos B es dar origen a las células plasmáticas productoras de anticuerpos.²⁴ Sin embargo, están más que documentadas otras varias funciones por

parte de estas células; por ejemplo, la capacidad de los linfocitos B para procesar y presentar antígenos a las células T es, quizá, una de las áreas poco atendidas, debido a la importancia que se les ha dado (durante años) a los macrófagos y a las células dendríticas. Los linfocitos B pueden capturar antígenos, vía su inmunoglobulina de superficie; el entrecruzamiento del receptor de la célula B puede activar a estas células, que en materia de horas incrementan en 5 o 10 veces la expresión de moléculas de clase II del complejo principal de histocompatibilidad. Cuando la concentración de antígeno es muy limitada, los linfocitos B muestran todo su potencial como células presentadoras, porque pueden capturar y “concentrar” ese antígeno gracias a su receptor de la célula B. Además del incremento de las moléculas del MCH clase II, los linfocitos B estimulados con antígeno pueden expresar las moléculas coestimuladoras B7.1/B7.2 (CD80/CD86) y con esto ayudar a los linfocitos T en su proceso de activación. Los linfocitos B también pueden fagocitar partículas de gran tamaño (por ejemplo, bacterias o incluso eritrocitos) para procesarlos y presentarlos. Esta capacidad de procesar y presentar antígenos le asegura al linfocito B obtener de manera eficiente las señales de cooperación de las células T CD4 para proseguir con su diferenciación hacia linfocitos de memoria y células plasmáticas.^{1,24,37-39}

Otra actividad poco explorada de los linfocitos B se refiere a su capacidad para producir y secretar citocinas. La producción de factores solubles con efecto en el crecimiento y la diferenciación de otras células se ha descrito desde el decenio de 1970; sin embargo, fue en la década de 1980 cuando se inició el estudio sistemático de la producción de estos factores solubles por los linfocitos B. Por ejemplo, el análisis de linfomas B de ratón o de humano, así como el estudio de líneas de linfocitos B humanas, transformadas con el virus de Epstein-Barr, demostraron que estas células producen gran variedad de factores

solubles; algunos de ellos tienen actividades autocrinas, que son usadas por estas células para su supervivencia.⁴⁰ A pesar de que las células B pueden producir cantidades de citocinas equivalentes a las producidas por otros tipos celulares (incluidos los propios linfocitos T), su papel en el control de la respuesta inmunitaria no ha tomado la fuerza necesaria para incluirlas entre los mecanismos generales de regulación de la inmunidad. Los linfocitos B producen citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias; de hecho, una de las primeras citocinas en ser identificadas en los sobrenadantes de cultivo de linfocitos B transformados con el virus de Epstein-Barr fue la citocina proinflamatoria IL-6 que las células B utilizan como factor de supervivencia.⁴¹ De la misma manera, dos de las citocinas con fuerte poder regulador (y funciones antiinflamatorias) son la IL-10 y el TGF- β , que se identificaron en linfomas de linfocitos B de ratón.⁴²

Al tener en cuenta el estudio de la heterogeneidad de los linfocitos B, se ha demostrado ampliamente que estas células también pueden diferenciarse como linfocitos B efectores del tipo 1 o del tipo 2 (Be1 o Be2), equivalentes en cuanto a las citocinas que producen a las células Th1 y Th2 (43, 44). Los linfocitos Be1, además, también pueden producir y secretar IL-12, con lo que respaldan la diferenciación de las células Th1.⁴³ En conjunto con esta designación de Be1 y Be2, en tiempos recientes se comienza a hablar de los linfocitos B reguladores (Breg's), que son linfocitos con capacidad de regular la respuesta inmunitaria a través de la producción y secreción de IL-10 y TGF- β .⁴⁴⁻⁴⁶ A pesar de que la producción de ambas citocinas se documentó hace más de un cuarto de siglo, su importancia se ha reforzado recientemente por el papel que pueden ejercer en algunas enfermedades autoinmunitarias.

En resumen, y con insistencia en la producción de citocinas, también podemos hablar de al menos cuatro subpoblaciones que contendrían a los

linfocitos Be0, Be1, Be2 y B reguladores. Hasta el momento no está claro si estas subpoblaciones (y algunas más que surgirán en el futuro) son terminales, restringidas claramente a un solo fenotipo y controladas (como en el caso de los linfocitos T) por sendos factores de transcripción, o bien, se trata de poblaciones con expresión transitoria de estas moléculas que pueden modificarse de acuerdo con los cambios en las condiciones del medio ambiente celular, como parece ser el caso de las subpoblaciones de macrófagos. Otro aspecto que no está claro es si la capacidad de producir citocinas está reñida con la capacidad de producir anticuerpos; aunque también está bien demostrado que las células plasmáticas producen citocinas, así que al menos en ese aspecto no parece haber conflicto. Lo que sí parece claro es que la capacidad de producir ciertas citocinas puede correlacionarse con algunas características de las células B; por ejemplo, las células B1 contribuyen con la producción de IL-10, mientras que las células B2 producen TNF- α y LT- α , que contribuyen de manera importante a la generación de la reacción de centro germinal, sitio indispensable en la generación de linfocitos B de memoria y en la de receptores de alta afinidad y de isotipos distintos a la IgM.⁴³⁻⁴⁶

Otra clasificación, que mezcla características fenotípicas y funcionales de las diversas poblaciones de los linfocitos B, es la que se refiere a su papel entre los mecanismos de la inmunidad innata (linfocitos B1 y linfocitos B de la zona marginal) y los de la inmunidad adquirida (que involucra predominantemente la respuesta T dependiente mediada por los linfocitos B2). En esta clasificación se toma en cuenta no sólo la producción temprana o tardía de los anticuerpos, o las capacidades para procesar y presentar antígenos, sino también las capacidades homeostáticas y reguladoras que estas poblaciones celulares ejercen a través de la producción y secreción de citocinas.⁴⁷⁻⁵⁰

Se describió recientemente que los linfocitos B también pueden ejercer funciones citotóxicas,

gracias a la producción y secreción de granzima B, una molécula importante en las funciones citotóxicas de los linfocitos T CD8 y de las células NK.⁵¹ Una diferencia importante es que, al parecer, los linfocitos B citotóxicos no producen perforina, componente fundamental entre los mecanismos de citotoxicidad de las células T y de las células NK. De corroborarse estas observaciones habría que buscar los mecanismos especializados con los que los linfocitos B ejercen estas funciones.^{51,52}

En resumen, los linfocitos B tienen más funciones que las de sólo proveer los precursores de las células plasmáticas. La plasticidad intrínseca de estas células para ejercer las funciones de producción de anticuerpos, memoria, fagocitosis, presentación de antígeno, regulación de la respuesta inmunitaria, cooperación celular, citotoxicidad, etcétera, requiere un largo camino para explicar a nivel molecular los determinantes de cada una de estas funciones. También es necesario establecer las moléculas que restringen y especializan a las distintas subpoblaciones, así como las moléculas que dan plasticidad para que una misma célula pueda, de manera simultánea o alternada, ejercer alguna de las funciones descritas. En este sentido, el camino es amplio y lleno de retos, lo que augura al menos otros 50 años en el estudio de los linfocitos B.

Agradecimientos

Agradezco a la mesa directiva de la Sociedad Mexicana de Inmunología A.C. (doctores Constantino López Macías, Eduardo García Zepeda, Laura Bonifaz y Rosana Pelayo) el entusiasmo con que acogieron este acto. Asimismo, agradezco a todos los investigadores que participaron de manera entusiasta en el simposio; algunas de sus ponencias aparecerán publicadas en esta revista. Finalmente, agradezco muy especialmente al Dr. Edmundo Lamoyi por leer y corregir algunas de las contribuciones de este simposio. Los trabajos de investigación de mi laboratorio se han subvencionado, durante los últimos 20

años, con fondos de distintas convocatorias del Conacyt y con becas a los numerosos alumnos, quienes contribuyeron de manera importante a generar y consolidar los resultados descritos en esta breve revisión.

REFERENCIAS

1. Silverstein AM. A history of immunology, 2nd Edition. Academic Press, 2009.
2. Ramón y Cajal S. Manual de Anatomía Patológica General y fundamentos de bacteriología. 4^a ed. Madrid, Imprenta Juan Pueyo, 1905.
3. Fagraeus A. The plasma cellular reaction and its relation to the formation of antibodies *in vitro*. J. Immunol 1948;58:1-13.
4. Coons AH, Leduc EH, Connolly JM. Studies on antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. J Exp Med 1955;102:49-60.
5. Glick G, Chang TS, Jaap RG. The bursa of Fabricius and antibody production. Poultry Sci 1956;35:224-234.
6. Cooper MD, Peterson RDA, Good RA. Delineation of the thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. Nature 1965;205:143-146.
7. Cooper MD, Peterson RDA, South MA, Good RA. The functions of the thymus system and the bursa system in the chicken. J Exp Med 1966;123:75-102.
8. Coombs RRA, Feinstein A, Wilson AB. Immunoglobulin determinants on the surface of human lymphocytes. Lancet 1969;2:1157-1160.
9. Raff MC, Sternberg M, Taylor RB. Immunoglobulin determinants on the surface of mouse lymphoid cells. Nature 1970;225:553-554.
10. Raff MC. Two distinct populations of peripheral lymphocytes in mice distinguishable by immunofluorescence. Immunology 1970;19:637-650.
11. Abney ER, Parkhouse RM. Candidate for immunoglobulin D present on murine B lymphocytes. Nature 1974;252:600-602.
12. Abney ER, Cooper MD, Kearney JF, Lawton AR, Parkhouse RM. Sequential expression of immunoglobulin on developing mouse B lymphocytes: a systematic survey that suggests a model for the generation of immunoglobulin isotype diversity. J Immunol 1978;120:2041-2049.
13. Scher I, Ahmed A, Strong DM, Steinberg AD, Paul WE. X-linked B-lymphocyte immune defect in CBA/HN mice. I. Studies of the function and composition of spleen cells. J Exp Med 1975;141:788-803.
14. Scher I, Steinberg AD, Berning AK, Paul WE. X-linked B-lymphocyte immune defect in CBA/N mice. II. Studies of the mechanisms underlying the immune defect. J Exp Med 1975;142:637-650.
15. Scher I, Sharrow SO, Paul WE. X-linked B-lymphocyte defect in CBA/N mice. III. Abnormal development of B-lymphocyte populations defined by their density of surface immunoglobulin. J Exp Med 1976;144:507-518.
16. Mosier DE, Scher I, Paul WE. *In vitro* responses of CBA/N mice: spleen cells of mice with an X-linked defect that precludes immune responses to several thymus-independent antigens can respond to TNP-lipopolysaccharide. J Immunol 1976;117:1363-1369.
17. Mond JJ, Scher I, Mosier DE, Baese M, Paul WE. T-independent responses in B cell-defective CBA/N mice to *Brucella abortus* and to trinitrophenyl (TNP) conjugates of *Brucella abortus*. Eur J Immunol 1978;8:459-463.
18. Ahmed A, Scher I, Sharrow SO, Smith AH, Paul WE, et al. B-lymphocyte heterogeneity: development and characterization of an alloantiserum which distinguishes B-lymphocyte differentiation alloantigens. J Exp Med 1977;145:101-110.
19. Scher I, Ahmed A, Sharrow SO. Murine B lymphocyte heterogeneity: distribution of complement receptor-bearing and minor lymphocyte-stimulating B lymphocytes among cells with different densities of total surface Ig and IgM. J Immunol 1977;119:1938-1942.
20. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975;256:495-497.
21. Lanier LL, Warner NL, Ledbetter JA, Herzenberg LA. Expression of Lyt-1 antigen on certain murine B cell lymphomas. J Exp Med 1981;153:998-1003.
22. Kantor AB, Herzenberg LA. Origin of murine B cell lineages. Annu Rev Immunol 1993;11:501-538.
23. Herzenberg LA. B-1 cells: the lineage question revisited. Immunol Rev 2000;175:9-22.
24. Murphy KM. Janeway's Immunobiology. 8th edition. Garland Science, 2011.
25. Andrew EM, Mackenzie NM, Parkhouse RM. Functional differences associated with quantitative distribution of membrane immunoglobulin, Fc receptors and Ia on mouse B cells. Immunology 1985;54:233-240.
26. Cambier JC, Lehmann KR. Ia-mediated signal transduction leads to proliferation of primed B lymphocytes. J Exp Med 1989;170:877-886.
27. Partida-Sánchez S, Garibay-Escobar A, Frixione E, Parkhouse RM, Santos-Argumedo L. CD45R, CD44 and MHC class II are signaling molecules for the cytoskeleton-dependent induction of dendrites and motility in activated B cells. Eur J Immunol 2000;30:2722-2728.
28. Santos-Argumedo L, Teixeira C, Preece G, Kirkham PA, Parkhouse RM. A B lymphocyte surface molecule mediating activation and protection from apoptosis via calcium channels. J Immunol 1993;151:3119-3130.

29. Howard M, Grimaldi JC, Bazan JF, Lund FE, et al. Formation and hydrolysis of cyclic ADP-ribose catalyzed by lymphocyte antigen CD38. *Science* 1993;262:1056-1059.
30. Torres RM, Law CL, Santos-Argumedo L, Kirkham PA, et al. Identification and characterization of the murine homologue of CD22, a B lymphocyte-restricted adhesion molecule. *J Immunol* 1992;149:2641-2649.
31. Parkhouse RM, Santos-Argumedo L, Teixeira C, Henry RV, Wawrzynczak E. Two surface antigen targets for immunotoxin-mediated elimination of normal and neoplastic murine B cells. *Curr Top Microbiol Immunol* 1992;182:331-335.
32. Santos-Argumedo L, Kincade PW, Partida-Sánchez S, Parkhouse RM. CD44-stimulated dendrite formation ('spreading') in activated B cells. *Immunology* 1997;90:147-153.
33. Martin F, Kearney JF. B1 cells: similarities and differences with other B cell subsets. *Curr Opin Immunol* 2001;13:195-201.
34. Pillai S, Cariappa A. The follicular *versus* marginal zone B lymphocyte cell fate decision. *Nat Rev Immunol* 2009;9:767-777.
35. Martin F, Kearney JF. Positive selection from newly formed to marginal zone B cells depends on the rate of clonal production, CD19 and btk. *Immunity* 2000;12:39-49.
36. Martin F, Kearney JF. Marginal-zone B cells. *Nature Rev Immunol* 2002;2:323-335.
37. Claman HN, Chaperon EA. Immunologic complementation between thymus and marrow cells. A model for the two-cell theory of immunocompetence. *Transplant Rev* 1969;1:92-113.
38. Mitchison NA. The carrier effect in the secondary response to hapten-protein conjugates. I. Measurement of the effect with transferred cells and objections to the local environment hypothesis. *Eur J Immunol* 1971;1:10-17.
39. Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, Liejendekker R, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med* 1996;183:1161-1172.
40. Gordon J, Ley SC, Melamed MD, English LS, Hughes-Jones NC. Immortalized B lymphocytes produce B-cell growth factor. *Nature* 1984;310:145-147.
41. Yokoi T, Miyawaki T, Yachie A, Kato K, et al. Epstein-Barr virus-immortalized B cells produce IL-6 as an autocrine growth factor. *Immunology* 1990;70:100-105.
42. O'Garra A, Stapleton G, Dhar V, Pearce M, et al. Production of cytokines by mouse B cells: B lymphomas and normal B cells produce interleukin 10. *Int Immunol* 1990;2:821-832.
43. Harris DP, Haynes L, Sayles PC, Duso DK, et al. Reciprocal regulation of polarized cytokine production by effector B and T cells. *Nat Immunol* 2000;1:475-482.
44. Mosmann T. Complexity or coherence? Cytokine secretion by B cells. *Nat Immunol* 2000;1:465-466.
45. Lund FE, Randall TD. Effector and regulatory B cells: modulators of CD4+ T cell immunity. *Nat Rev Immunol* 2010;10:236-247.
46. Tedder TF. B10 cells: a functionally defined regulatory B cell subset. *J Immunol* 2015;194:1395-1401.
47. Santos-Argumedo L. Natural antibodies. *Advances in Neuroimmune Biology* 2012;3:345-352.
48. Cerutti A, Cols M, Puga I. Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nat Rev Immunol* 2013;13:118-132.
49. Swanson CL, Pelanda R, Torres RM. Division of labor during primary humoral immunity. *Immunol Res* 2013;55:277-286.
50. Zhang X. Regulatory functions of innate-like B cells. *Cell Mol Immunol* 2013;10:113-121.
51. Jahrsdörfer B, Blackwell SE, Wooldridge JE, Huang J, et al. B-chronic lymphocytic leukemia cells and other B cells can produce granzyme B and gain cytotoxic potential after interleukin-21-based activation. *Blood* 2006;108:2712-2719.
52. Cupi ML, Sarra M, Marafini I, Monteleone I, et al. Plasma cells in the mucosa of patients with inflammatory bowel disease produce granzyme B and possess cytotoxic activities. *J Immunol* 2014;192:6083-6091.