

## Evolución y filogenia de los linfocitos B

Fabiola Claudio-Piedras, Humberto Lanz-Mendoza

### Resumen

Los linfocitos B son unos de los tipos celulares más importantes de la respuesta inmunitaria de los mamíferos. El origen y evolución de este tipo celular se desconocen, pero el linfocito B *bona fide* aparece en peces. En esta revisión se analizan los principales componentes de la respuesta inmunitaria en invertebrados, su distribución filogenética y la permanencia de algunas propiedades que permitieron el surgimiento del linfocito B. Se parte de la idea de que muchos de los componentes que caracterizan a los linfocitos B están distribuidos desde los invertebrados; sin embargo, es en el linfocito donde se integran todos estos componentes que le dan identidad a este tipo celular. El conocimiento actual de los linfocitos proviene, en su mayor parte, del estudio de la fisiología en mamíferos y como mayor representante el ratón. El origen del linfocito B, sus mecanismos alternativos de generación de diversidad de receptores, su respuesta inmunitaria efectora y la generación de memoria, requieren para su estudio de un abordaje multidisciplinario y con enfoque evolutivo.

**PALABRAS CLAVE:** linfocito B, evolución, filogenia, invertebrados

Rev Alerg Méx 2016 Apr-Jun;63(2):190-200.

## Evolution and phylogeny of B lymphocytes

Fabiola Claudio-Piedras, Humberto Lanz-Mendoza

### Abstract

B lymphocytes are one of the most important cell types involved in the immune response of mammals. The origin and evolution of this cellular type is unknown, but the B lymphocyte *bona fide* appeared first in fish. In this review we analyze the principal components of the immune response of invertebrates, their phylogenetic distribution and the permanence of some properties that allowed the emergence of the B lymphocyte. We started from the idea that many of the components that characterize the B lymphocyte are found distributed among the invertebrates, however, it is in the B lymphocyte, where all these components that give this type of cell its identity, converged. The actual knowledge we have in regards of the lymphocytes comes, in the most part, from physiological studies in mammals, being the mice the more representative. The origin of the B lymphocyte, its alternative mechanisms for generating receptor diversity, its immune effector response, and the generation of memory, require an evolutionary and multidisciplinary approach for its study.

**KEYWORDS:** B lymphocytes, evolution, phylogeny, invertebrates.

Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública, Secretaría de Salud, Cuernavaca, Morelos, México

Recibido: 18 de noviembre 2015

Aceptado: 7 de abril 2014

### Correspondencia

Humberto Lanz-Mendoza  
Teléfono: 52 (777) 329 3074.  
humberto@insp.mx

### Este artículo debe citarse como

Claudio-Piedras F, Lanz-Mendoza H. Evolución y filogenia de los linfocitos B. Rev Alerg Méx. 2016 abr-jun;63(2):190-200.

## El linfocito B

Los linfocitos B son uno de los tipos celulares más importantes de la respuesta inmunitaria de los mamíferos.<sup>1</sup> Su gran plasticidad funcional, la repercusión pleiotrópica de sus efectos y el establecimiento de sus interacciones con otros tipos celulares posiciona a los linfocitos B como células centrales en la inmunidad. Constantemente se ha acotado la participación de los linfocitos B en la inmunidad adaptativa, sin embargo, su biología ha hecho constar su participación en la función y comportamiento de la fisiología global de los organismos. Incluso, las manifestaciones funcionales de los linfocitos B trascienden a la noción típica de lo que es un linfocito. En conciliación con lo anterior, consideramos preciso dar un paso atrás en la construcción conceptual de lo que es un linfocito B, con la finalidad de comprender su naturaleza.

Con base en sus características moleculares, los linfocitos B se clasifican en tres principales subgrupos: linfocitos *B1*, linfocitos *B foliculares* y linfocitos *B de la zona marginal*.<sup>2</sup> Los linfocitos B son células con una notable adaptabilidad al ambiente.<sup>3</sup> Después de su residencia temporal en el órgano hematopoyético se convierten en células migrantes que se dirigen a sitios con microambientes especializados y regionalizados dentro de los órganos linfoides, en donde se activan y, si es el caso, migran y se dirigen a otro microambiente tejido-específico para poblarlo, sin olvidar las condiciones propias del fluido por el que transitan para llegar a sus destinos. Además, la adaptabilidad del linfocito se extiende a sus funciones y, si bien son células residentes y migratorias que producen anticuerpos, también secretan citocinas, fagocitan, reconocen lo propio de lo no propio, tienen capacidad microbicida, procesan y presentan antígenos, regulan la actividad de los linfocitos T, adquieren y mantienen memoria de encuentros con antígenos y tienen la capacidad de residir en diversos tejidos resguardando la memoria adquirida.<sup>4</sup> Otro rasgo

de su adecuación es la manera en que desarrollan memoria, que depende en gran medida de la forma en que se produce la diversidad de su receptor a través de diferentes mecanismos y de la maduración de su afinidad.

La contribución conceptual de la presencia distintiva de los receptores en los linfocitos B se plantea en la teoría desarrollada por Frank Macfarlane Burnet a mediados del siglo pasado.<sup>5,6</sup> Burnet sostiene que los linfocitos son diversos y únicos, pues cada uno de ellos tiene un receptor de superficie que al unirse con el antígeno conduce a su proliferación y establecimiento de una descendencia clonal. La aceptación generalizada de la propuesta de Burnet llevó a la pregunta fundamental de cómo se genera la diversidad de los receptores en los linfocitos capaces de reconocer el universo antigénico. La pregunta anterior quedó resuelta molecularmente después del abordaje en 1976 por Susumu Tonegawa: el receptor es ensamblado a través de recombinación somática de segmentos de genes (V, D, J) que se encuentran en la línea germinal. Además, los mecanismos de *diversidad de unión*, *conversión génica* e *hipermutación somática* incrementan sustancialmente la diversidad de los receptores de los linfocitos.<sup>7</sup> La *diversidad de unión* es un mecanismo por el que se genera diversidad a través de la adición o la sustracción de nucleótidos en los puntos de unión entre los diferentes segmentos de los genes, mientras que la *conversión génica* es el proceso en el que se incrementa la diversidad a través de la sustitución homóloga de las secuencias en los genes re-arreglados del receptor, con las secuencias derivadas de los pseudogenes. Por su parte, la *hipermutación somática* es un mecanismo que produce diversidad en los receptores por mutaciones puntuales que permiten aumentar su afinidad al antígeno.

Experimentalmente se ha corroborado que el receptor de antígeno del linfocito B se expresa como un tipo de receptor en forma monoalélica y es altamente específico en el reconocimiento

del antígeno. Más aún, desde 1975 la producción de inmunoglobulinas por líneas celulares inmortalizadas o *hibridomas*, son una poderosa tecnología basada en la biología de los linfocitos B y es aplicada en la biología experimental, en el quehacer médico como estrategia para el diagnóstico de enfermedades y en el desarrollo de vacunas.<sup>8</sup>

### Las peculiaridades del linfocito B

Burnet, entre otros, atribuyen a la inmunidad adaptativa un tipo celular fundamental: el linfocito B. Concretamente, esta célula contiene el elemento en el que se apoya la adaptación, el receptor del linfocito B. Lo que es más, a través de su diversidad de reconocimiento y gran especificidad, el receptor del linfocito B edifica la base de la inmunidad adaptativa humoral. En sí, la inmunidad adaptativa humoral es inseparable de la existencia de la célula B. La inmunología evolutiva ofrece una analogía con esta convicción de Burnet. Según Burnet, la función del sistema inmunitario es conservar la integridad del organismo, identificar la existencia de componentes extraños en él y eliminarlos o inactivarlos. Lo anterior fundamenta su percepción del sistema inmune como una unidad homeostática y de autovigilancia, con capacidad de procesar información y tomar decisiones que son ejecutadas por células y moléculas especializadas para ajustar y conservar el *statu quo*. Por ello, la inmunología evolutiva recoge la idea de Burnet: la necesidad de la existencia de un componente como el sistema inmune, que se adapte al entorno, que retenga huellas de lo ocurrido, de la que nazca la memoria de los encuentros. De esta manera se apunta que en toda adaptación hay memoria y que la adaptación es también creativa. El sistema inmune de los organismos ha evolucionado con el paso del tiempo, ha adquirido y perdido componentes, ha adaptado otros y ha retenido huellas.

Volviendo a lo que designa e identifica al linfocito B, a la relevancia de su receptor, podemos preguntar: ¿qué características son indispensables para considerar a una célula como linfocito B?, ¿qué factores conducen a la necesidad de la existencia de una célula de tipo B?, será a caso la colectividad multicelular, la presencia de órganos especializados, el surgimiento de seres de sangre caliente, o más bien, ¿es un producto del surgimiento eventual del receptor del linfocito B?

Para entender el origen y la evolución del sistema inmunitario, en los últimos años los científicos han dirigido su interés hacia la inmunología comparada. La inmunología comparada permite discriminar a los aspectos de la respuesta inmunitaria que son específicos de cada especie y devela cuáles son los generales e indispensables para integrarlos en todas las especies.

Lo que sigue representa un intento provisional por analizar los principales componentes de la respuesta inmunitaria en invertebrados, su distribución filogenética y la permanencia de algunas propiedades que permitió el surgimiento del linfocito B, así como de cuestionar las posibles razones para considerar a una célula como tal. Partimos de la idea de que muchos de los componentes que caracterizan a los linfocitos se encuentran distribuidos desde los invertebrados; sin embargo, es en el linfocito donde se integran todos estos componentes que le dan identidad a este tipo celular. Así, nos adentramos en un camino que se intenta recorrer en este artículo, no sin la guía de preguntas elementales como: ¿por qué aparecieron los linfocitos B?, ¿cuándo aparecieron en la evolución?, ¿cuáles fueron los puntos críticos para que se diera su desarrollo?, ¿qué los hizo indispensables para la respuesta inmunitaria de los vertebrados y en especial de los mamíferos?

### El sistema inmune y el linfocito B como adaptaciones

Una de las contribuciones más interesantes e influyentes que Darwin hizo al pensamiento biológico actual fue *que la evolución de las adaptaciones complejas puede ser explicada por reglas simples de cambio a través del tiempo*<sup>9</sup> y *por la selección natural*. La propuesta darwiniana del origen común de todas las especies ha abierto la puerta para el estudio de las adaptaciones en los sistemas biológicos. Una de las adaptaciones más significativas en la biología es el sistema inmunitario.<sup>9</sup>

El sistema inmunitario es una compleja red de moléculas, células y tejidos que interactúan entre sí para mantener la integridad genética y fisiológica de los individuos.<sup>10</sup> Por más de 400 millones de años de evolución, los distintos grupos de animales han generado diversas estrategias de reconocimiento, de eliminación de patógenos y mecanismos de reparación de tejidos y órganos.<sup>11</sup> Algunas de las estrategias que aparecieron desde los invertebrados se han conservado en la mayoría de los grupos animales, incluyendo el hombre. Otras de las estrategias fueron innovaciones propias de grupos animales particulares, cuya consolidación obedeció a las condiciones ambientales o a la presencia de ciertos patógenos. El sistema inmune adaptativo de los vertebrados surge como una innovación en los peces y se caracteriza por la existencia de células especializadas que expresan receptores con una variabilidad casi ilimitada para reconocer un amplio universo antigénico en constante cambio, los *linfocitos*. Actualmente se conoce con cierto detalle al sistema inmune basado en *linfocitos*; sin embargo, es importante subrayar que el grupo de animales que cuentan con este sistema es verdaderamente pequeño: tan solo 3% de las especies animales conocidas en la actualidad pertenecen al grupo de los vertebrados que ya cuentan con sistema inmune adaptativo (peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos), mientras que 97% no

posee un sistema inmune basado en linfocitos y corresponden al gran grupo de los invertebrados.<sup>12</sup>

El marco geológico en donde surgió la respuesta inmune nos remonta a los comienzos de la Era Paleozoica, hace unos 570 millones de años. En los principios de esta era se produjo un fenómeno en el que súbitamente apareció la vida pluricelular, la denominada *explosión cámbrica* --este surgimiento de los animales pluricelulares ha quedado respaldado por los registros fósiles que revelan la única existencia de vida unicelular en periodos previos--. La emergencia explosiva de los diversos grupos de organismos vivos dio lugar a una radiación adaptativa generalizada que permitió el surgimiento de los principales grupos de animales modernos.<sup>13</sup> A lo largo de esos muchos millones de años que separan al Cámbrico de nuestros días, la vida sufrió una serie de cambios que produjo a los seres vivos actuales, no sin antes haber experimentado fases de aparición y desaparición de numerosas formas.

### Generalidades funcionales de los linfocitos B

La capacidad para reconocer lo propio y mantener la individualidad de las especies quizá apareció desde los organismos unicelulares y, en especial, en los organismos formadores de colonias. Las moléculas involucradas en esta capacidad de los organismos para distinguir lo propio y los mecanismos para destruir agentes patógenos están presentes desde las células fagocíticas libres hasta los organismos evolutivamente recientes. En los organismos multicelulares parecen ser un pre-requisito para el reconocimiento de la compatibilidad sexual para asegurar la descendencia.<sup>14</sup> La fagocitosis como mecanismo ancestral apareció en los primeros eucariontes. Es difícil trazar el origen simultáneo de todos los pasos que involucran a la fagocitosis; el reconocimiento de la partícula extraña, la endocitosis, la activación del estallido respiratorio, la formación de la vacuola endocítica y la eliminación, pero su presencia desde

protozoarios hasta vertebrados es innegable. Tal parece que el mecanismo fagocítico presente en protozoarios ameboides se desarrolló y especializó durante la evolución de la inmunidad innata. Por su parte, las *lectinas*, los *receptores parecidos a Toll*, los *receptores tipo scavenger*, entre otras moléculas con importancia notable en la fagocitosis, aparecieron desde las esponjas y los corales y tienen un papel crucial en la detección de la presencia de potenciales patógenos o invasores.<sup>14</sup> Además, los receptores tipo *scavenger* involucrados en la inducción de la fagocitosis de bacterias, están codificados en los genomas de diversos animales, que van desde algunas de las esponjas más antiguas hasta el humano y la amplia distribución del sistema de transducción de señal implicado en la fagocitosis se extiende a todos los metazoarios.<sup>14</sup>

En todos los vertebrados con mandíbulas estudiados hasta la fecha, la activación de la fagocitosis también conduce a la regulación de la maquinaria de procesamiento de antígenos, moléculas estimuladoras y citocinas pro-inflamatorias que pueden mejorar la inmunidad adaptativa.<sup>15</sup> En los invertebrados, los hemocitos son las células responsables de la fagocitosis. En el lepidóptero *Galleria mellonella*, los hemocitos previamente tratados con lipopolisacárido muestran intensa actividad de una metaloproteasa que degrada a la colágena de tipo IV. Interesantemente, los péptidos derivados de su degradación activan la melanización y la expresión de péptidos antimicrobianos. Un dato interesante es que las metaloproteasas de diversos patógenos son capaces de activar a los mecanismos de defensa de esta especie de mariposas a través de la degradación de la colágena de tipo IV y la inducción de actividad antibacteriana por activación de las vías Toll e IMD en el cuerpo graso, lo que permite la síntesis de moléculas antibacterianas.<sup>16</sup>

Si bien los linfocitos B tienen la capacidad ancestral de fagocitar, los primeros organismos

donde aparecen linfocitos B *bona fide* son los peces. La capacidad para procesar y presentar antígenos de naturaleza proteica y activar la respuesta inmunitaria está presente en los linfocitos B.<sup>17</sup> A pesar de que la capacidad para procesar moléculas de mayor tamaño y activar la respuesta inmunitaria no parece ser única de los linfocitos B o de las células dendríticas de los mamíferos, la presentación del antígeno con base en la restricción genética del complejo principal de histocompatibilidad sí lo es, pues apareció tardíamente en la evolución con la consolidación de los peces. Es probable que la capacidad de procesar antígenos sea muy antigua, pero adquirió una especificidad enorme y un control genético cuando aparece el complejo principal de histocompatibilidad.

Los receptores de los linfocitos B y T aparecieron súbitamente en el ancestro de los peces mandibulados, probablemente como consecuencia de una transferencia horizontal de genes bacterianos denominados *transposones*, que tienen la capacidad de cortar y pegar fragmentos de DNA<sup>18</sup> o, por las *dos rondas de duplicación de todo el genoma* que quizá ocurrió en el ancestro común de los vertebrados.<sup>19</sup> Este *accidente evolutivo* tuvo profundas consecuencias en la adaptación y la radiación de los vertebrados, especialmente en su interacción con su medio ambiente biótico. Tal vez los antígenos en forma de parásitos o patógenos, terminaron de moldear poco a poco la respuesta adaptativa en los vertebrados. Sin embargo, es tema de intenso debate cómo convergieron todos estos mecanismos de la respuesta adaptativa para dar origen a los linfocitos B.

Algunos autores consideran que la respuesta inmune adaptativa fue un evento que ocurrió al azar. Los genes RAG 1 y RAG 2 se incorporaron en la línea germinal del ancestro de los vertebrados a partir de *transposones* bacterianos o virales y tienen el papel primordial de rearreglar las cadenas V, D y J para la producción de los

anticuerpos. Los *transposones* tipo RAG se han integrado en el genoma de muchos invertebrados como en medusas, anémonas, corales, estrellas y erizos de mar,<sup>14</sup> pero la capacidad recombinante solo fue explotada a partir de los peces mandibulados. La pregunta es: ¿por qué los invertebrados no usaron esta capacidad? Tal parece que la incorporación al azar de RAG no es suficiente para explicar las diferencias de la respuesta inmune de invertebrados y vertebrados ni tampoco para entender la aparición del linfocitos B.

Es muy probable que el ancestro común de los vertebrados se haya sometido a *dos rondas de duplicación del genoma completo* o 2RoWGD. Estas *rondas de duplicación del genoma* en el ancestro común podrían proporcionar las *materias primas* sobre las que la evolución podría trabajar con el fin de producir sistemas adaptativos, incluyendo células como los linfocitos B. En apoyo a este punto de vista, se señaló que el genoma de *Petromyzon marinus* (lamprea) indica que las *dos rondas de duplicación del genoma* precedieron a la divergencia de estos animales con mandíbula. La duplicación del genoma aumenta el potencial de diversificación de un linaje, pero no garantiza el desarrollo de nuevos fenotipos. En otras palabras, queda por demostrar cómo y por qué las *rondas de duplicación del genoma completo* resultaron en el desarrollo de un sistema inmune adaptativo y su participación en la formación de los linfocitos B. Sin lugar a dudas, 2RoWGD debe haber jugado un papel crítico en el desarrollo de la respuesta inmunitaria de los vertebrados, pero no es suficiente para explicar el origen de células como los linfocitos B.

Una característica distintiva de los receptores de los linfocitos B y T es que están formados de proteínas con dominios de *inmunoglobulina*. Estos dominios ancestrales se encuentran desde invertebrados como las esponjas, medusas, anémonas, corales e insectos.<sup>14</sup> Las proteínas de la *súperfamilia de las inmunoglobulinas* o IgSF reci-

ben su nombre por poseer un dominio estructural conocido como *dominio de inmunoglobulina*, formado por 70-110 aminoácidos estabilizadas con un puente disulfuro. Las proteínas de las IgSF incluyen miembros que están implicados en funciones del sistema inmune, como receptores de antígeno, receptores de cooperación, moléculas inmunitarias coestimuladoras, moléculas implicadas en la presentación del antígeno a los linfocitos, moléculas de adhesión celular y ciertos receptores para citocinas. Esta superfamilia es ampliamente distribuida en el genoma humano con 765 miembros identificados.<sup>20,21</sup>

Pocas proteínas representantes de esta familia pueden ser inducidas por la respuesta inmunitaria en invertebrados. En particular, la proteína inducible denominada *hemolina* presente en lepidópteros, ha mostrado características inmunes muy interesantes. La *hemolina* es una proteína cuya expresión es inducida por la presencia de bacterias en la hemolinfa de la polilla de seda gigante *Hyalophora cecropia* y cuenta con cuatro dominios de *inmunoglobulina*. Esta proteína es producida principalmente en el cuerpo graso y en los hemocitos. La concentración de *hemolina* después de un reto bacteriano puede llegar a ser de hasta miligramos de proteína. En otros lepidópteros como *Manduca sexta*, *Monacha dispar*<sup>22</sup> y *Antheraea pernyi*<sup>23</sup> también ha sido descrita.

La *hemolina* está implicada en la regulación de la respuesta inmune celular, pues previene la agregación de los hemocitos estimulados por ésteres de forbol o lipopolisacáridos y estimula la actividad fagocítica en hemocitos y de la línea celular *mbn-2*.<sup>24</sup> El incremento de la fagocitosis provocada por la acción combinada de la *hemolina* y el lipopolisacárido es prevenida por la estaurosporina y el H7, que son inhibidores de la proteínasa C. La *hemolina* también induce la fosforilación de tirosinas en algunas proteínas. Además, la *hemolina* es una proteína de

unión a lipopolisacárido y parece que funciona como un receptor de amplia especificidad para patrones moleculares asociados a patógenos.<sup>25</sup> Interesantemente, la *hemolina* es inducida por ARN bicatenario y por baculovirus.<sup>26</sup> Además, una forma membranal de 52 kDa de *hemolina* en hemocitos media su unión homofílica dependiente de calcio.<sup>27</sup> Por otro lado, la importancia de la *hemolina* para los procesos de desarrollo fue reportada en los experimentos que utilizan ARN de interferencia para silenciar la expresión *hemolina* en *Hyalophora cecropia*, mostrando la necesidad de su expresión para el desarrollo normal de los embriones.<sup>28</sup> Las hembras en las que la expresión de la *hemolina* es silenciada, producen huevos con embriones malformados y las larvas no eclosionan de sus huevos. Así mismo, la supresión de la respuesta inmune mediada por *hemolina* a través ARN de interferencia provoca un aumento de la susceptibilidad a los patógenos en *Manduca sexta*.<sup>29</sup>

Resulta interesante que en los invertebrados se encuentre una proteína como la *hemolina*, con funciones en el reconocimiento y en la regulación de la respuesta inmunitaria. La súper familia de las inmunoglobulinas ha sido muy relevante en la evolución de la respuesta inmune, pero hay que subrayar que aunque la *hemolina* tiene características análogas a los anticuerpos, no tienen las mismas funciones y tampoco se ha observado que en esta proteína se presenten mecanismos generadores de diversidad como en los anticuerpos.

El intento por identificar a las *inmunoglobulinas*, al receptor de los linfocitos T o a las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad en organismos diferentes a los mamíferos se mantuvo por muchos años, pero fue en las lampreas donde se encontraron analogías interesantes. Se sabía que este grupo de animales tienen células de tipo linfoide y que producen *aglutininas*. Recientemente se demostró que poseen receptores de antígeno altamente variables que no están relacionados estructuralmente con las *inmu-*

*noglobulinas*.<sup>30,31</sup> Estos receptores se conocen como VLRs (*Variable Lymphocyte Receptors*) y están formados por varias repeticiones ricas en leucina y una región constante de unión a la membrana.<sup>32</sup> Además, las células que tiene en su superficie a los VLRs se expanden clonalmente como ocurre en los mamíferos. La generación de la diversidad de los VLRs es independiente de las recombinasas RAG, responsables de la generación de diversidad en los linfocitos de vertebrados, aunque al parecer involucra un mecanismo de conversión génica. Se ha reportado la presencia de dos VLRs: VLRA y VLRB. VLRA se expresa en una población de células que se comportan como linfocitos T y, VLRB en otra población celular de tipo linfocito B.<sup>33</sup>

Los VLRs nos son los únicos receptores de antígeno en animales que generan variabilidad de manera independiente de las recombinasas RAG. Un candidato para la generación de receptores inmunológicamente diversos independientes de RAG, es la proteína *Dscam* (*Down Syndrome Cell Adhesión Molecule*) de *Drosophila melanogaster*.<sup>34-36</sup> Este gen combina la *variación somática y genotípica* para crear diversidad. A través de *splicing alternativo*, *Dscam* potencialmente podría producir más de 152 000 isoformas. Recientemente se observó que la molécula funciona como un receptor de antígenos.<sup>25</sup> Los genes de *Dscam* están compuestos por alrededor de 15 exones que codifican para dominios de *inmunoglobulina*, una región transmembranal y una región citoplasmática. Tres de los exones codificantes para dominios de *inmunoglobulina* están compuestos por docenas de casetes, cada uno de los cuales codifica para un único dominio de *inmunoglobulina* través de un mecanismo recombinatorio a nivel del procesamiento de RNA, en el que se generan más de 31 000 moléculas *Dscam* distintas. Este ejemplo nos indica que la evolución ha seguido diferentes rutas para generar un repertorio de receptores de antígenos suficientemente diverso para discriminar entre miles de antígenos. La participación de *Dscam*

en la respuesta inmunitaria contra patógenos se ha observado en el mosquito *Anophles gambiae*, en el cual esta molécula puede reconocer diversos antígenos y funcionar como opsonina.<sup>37,38</sup> El silenciamiento de este gen disminuye la capacidad de reconocimiento de diversos microorganismos incluyendo al parásito de la malaria y la capacidad fagocítica de bacterias.

Una de las características más sobresalientes de la respuesta inmunitaria de los vertebrados es su capacidad para generar *memoria*. El término *memoria inmunológica* se ha empleado para describir a la capacidad del sistema inmune para responder más rápida y eficazmente contra los antígenos con los que se ha encontrado previamente el organismo.<sup>28</sup> Por décadas, el estudio de la *memoria inmunológica* se ha abordado con la consideración de que es una adquisición evolutiva reciente y por tanto, exclusiva de la respuesta inmune adaptativa de los vertebrados y en particular de los mamíferos.<sup>39</sup> Sin embargo, en los últimos años se ha descrito un fenómeno en invertebrados denominado *priming inmunológico*. El *priming inmunológico* se define como la capacidad adquirida de los organismos para enfrentar a los patógenos con mayor eficiencia después de una exposición a dosis subletales y se propone que es funcionalmente análogo a la memoria inmunológica en vertebrados.<sup>40-42</sup>

De manera general, el *priming inmunológico* tiene efecto un protector<sup>43</sup> y específico frente al agente responsable de su inducción,<sup>42,44</sup> de comportamiento bifásico<sup>45</sup> e incluso, se puede transmitir de generación en generación<sup>46</sup> (*transgeneracionalmente*). Este fenómeno se ha observado en distintos grupos de invertebrados, incluyendo esponjas, moluscos, anélidos, crustáceos, insectos y equinodermos.<sup>40</sup>

Se desconoce cuál o cuáles son los mecanismos que subyacen a la memoria inmunológica de los invertebrados y en particular de los mosquitos, sin embargo, es posible anticipar algunos

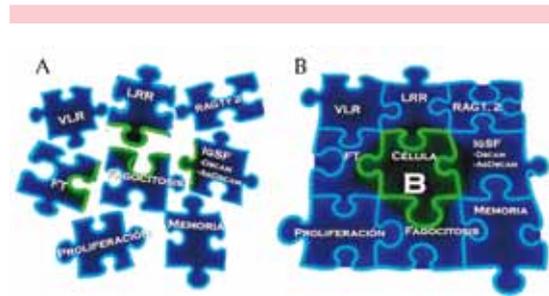
elementos a considerar. En primer lugar, las moléculas implicadas en el reconocimiento y en la protección deben de ser inducidas por un reto inmunológico; esta inducción puede ocurrir a nivel transcripcional, traduccional o postraduccional. En segundo lugar, para dar cuenta de la especificidad observada, se espera que algunas de las moléculas sean susceptibles a mostrar diversidad. En tercer lugar, se requiere algún tipo de proceso de selección que favorezca la especificidad en la respuesta inmune. En *Drosophilas* infectadas con *Streptococcus pneumoniae* o con *Beauveria bassiana* se ha observado una protección a la reinfección con los mismos microorganismos, pero no con otros patógenos.<sup>44</sup> Estos mecanismos de protección durante la reinfección se han atribuido a la activación de hemocitos a través de un mecanismo dependiente de Toll.<sup>44</sup> Sin embargo, carecemos de información sobre las moléculas o genes de los hemocitos que se modifican durante el *priming*.

En los mamíferos, los linfocitos son seleccionados clonalmente y tras el reconocimiento antigénico específico proliferan.<sup>46</sup> La proliferación celular representa un reto energético y demanda recursos, sobre todo en los insectos. Un mecanismo alternativo a la proliferación y con menor inversión energética es la *endoreplicación*. La *endoreplicación* es un proceso que consiste en la síntesis de múltiples copias del genoma o de amplicones sin que la célula entre en mitosis o proliferación. Es probable que los hemocitos y las células de distintos tejidos en los mosquitos entren en este proceso en respuesta a un reto inmunológico. En cultivos primarios de varios tejidos de *A. albimanus* se observa una intensa síntesis del ADN en respuesta a la inoculación con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Por otro lado, durante el *priming inmunológico* en *A. albimanus* se observa la sobre expresión de un gen descrito en *Drosophila* y que está involucrado en el cambio del ciclo celular que va de mitosis a endociclo, el

gen *hnt*. La síntesis del ADN y la formación de los cromosomas politénicos son en potencia un mecanismo de incremento de la actividad de los genes para sintetizar grandes cantidades de proteínas de defensa, tales como *Dscam*. La proteína *Dscam* es candidata como molécula portadora de la memoria inmune por su potencial para expresarse en múltiples isoformas. El número correspondiente de isoformas en el mosquito *An. gambiae* es de casi 16 000.<sup>35</sup> Aunque estos números son muchos órdenes de magnitud menores que los calculados para la diversidad de los receptores de los linfocitos B, de los linfocitos T y de los anticuerpos,<sup>47</sup> esta diversidad sin precedentes removería la concepción que se tiene de los efectores inmunes conocidos en insectos. Estas observaciones permiten sugerir la generación de diversidad durante la defensa en los invertebrados, permitiendo la inducción de respuestas anticipatorias

La memoria inmunitaria no es exclusiva de los vertebrados y a pesar de que aún se desconocen las bases moleculares de este fenómeno en otros organismos, es probable que los mecanismos básicos se hayan conservado a través de la filogenia. Hace poco varios investigadores presentaron evidencias de la *inmunidad entrenada* (trained immunity)<sup>48</sup> en macrófagos y células NK, por lo que será muy interesante entender las relaciones filogenéticas de estos tipos de memoria.

En resumen, el propósito de este artículo fue dibujar un mapa general de los cambios ocurridos a través de la evolución que dieron origen a los linfocitos B. Partimos de la siguiente idea: *si los componentes pilares de la biología de los linfocitos B se encontraban dispersos entre los invertebrados, como si se tratara de un rompecabezas, su organización e integración durante la evolución pudo dar lugar al nacimiento del linfocito B* (Figura 1). Aunque el rompecabezas propuesto en este manuscrito se logra armar, todavía desconocemos los mecanismos que permitieron su conjunción y



**Figura 1.** Se representan en forma de piezas de rompecabezas, las principales características de las células B que están dispersas entre los invertebrados (A). Al organizarse las principales características celulares (azul) e integrarse (verde) se forma a la célula B de los vertebrados (B). De izquierda a derecha: VLR= Receptores Variables de Linfocitos. LRR=Repetidos Ricos en Leucinas; RAG 1,2= Recombinasas 1 y 2; FT= Factores de Transcripción. IgsF= Proteínas de la superfamilia de las inmunoglobulinas; También se incluyen las características de proliferación celular, fagocitosis y memoria.

el surgimiento de los linfocitos B. También sabemos que las principales moléculas para generar una respuesta inmune adaptativa se encuentran en los invertebrados pero, ¿por qué no generó una respuesta parecida a la de los linfocitos B? Tal vez la respuesta más sencilla es *porque no la necesitan*. Sus mecanismos de adaptación al entorno son diferentes lo mismo que su capacidad para responder a distintos patógenos. Es importante entender cómo se desarrollaron estos mecanismos en invertebrados con el objeto de desarrollar abordajes comparativos, filogenéticos y entender su relación con los mecanismos mejor caracterizados de los vertebrados. Seguramente se podrán trazar en un futuro las posibles razones para considerar a una célula como linfocito B y que resulte en la inclusión de la mayoría de las especies animales, pero se requieren más esfuerzos e interés científico para investigar la inmunología del gran grupo animal. A manera de reflexión planteamos las siguientes interrogantes: ¿cuáles son las características mínimas e indispensables para considerar a una célula

como de tipo B?, ¿deben de secretar receptores?, ¿deben de generar diversidad del repertorio?, ¿deben de tener transformación linfoblastoide?, ¿deben de proliferar tras un reto inmunológico?, ¿deben de adquirir marcadores de superficie tras la activación?, ¿deben de adquirir especificidad y afinidad? ó ¿deben de producir memoria por los mecanismos conocidos de generación de diversidad?

## REFERENCIAS

- Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-cell biology and development. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013;131(4):959-71. doi:10.1016/j.jaci.2013.01.046
- Oropallo MA, Cerutti A. Germinal center reaction: Antigen affinity and presentation explain it all. *Trends in Immunology*. 2014;35(7):287-9. doi:10.1016/j.it.2014.06.001
- Tsuneto M, Kajikhina E, Seiler K, Reimer A, Tornack J, Bouquet C, Melchers F. Environments of B cell development. *Immunology Letters*, 2014;157(1-2):60-63. doi:10.1016/j.imlet.2013.11.011
- Kurosaki T, Kometani K, Ise W. (). Memory B cells. *Nature Reviews Immunology*. 2015;15(3):149-59. doi:10.1038/nri3802
- Jerne NK. The Natural-Selection Theory of Antibody Formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1955;41:849-57. doi:10.1073/pnas.41.11.849
- Nossal GJV. One cell, one antibody: prelude and aftermath. *Immunological Reviews*. 2007;185(10):15-23. doi:10.1038/ni1007-1015
- Parra D, Takizawa F, Sunyer JO. Evolution of B Cell Immunity. *Annual Review of Animal Biosciences*. 2013;1:65-97. doi:10.1146/annurev-animal-031412-103651
- Herrin BR, Cooper MD, Merino MC, Gruppi A, Weissman IL. Immunology: Fifty years of B lymphocytes. *Journal of Immunology* 2015;1(3):139-41. doi:10.1038/517139a
- Cadavid LF. La evolución de sistemas complejos: el caso del sistema inmune en animales. *Acta biol. Colomb*. 2009;14:247-54.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología celular y molecular. Elsevier. 7ª edición. 2012. pp 2-6.
- Lanz-Mendoza H, Hernández-Martínez S. Y Darwin tenía razón. La evolución del sistema inmunitario. *Ciencia*. 2015;66:60-6.
- Ruppert EE, Barnes RD. Zoología de los invertebrados. 6ª edición. Mc Graw Hill-Interamericana; 1996. p 2.
- Bromham L. Molecular clocks and explosive radiations. *J. Mol Evol* 2003;13-20
- Dzik JM. The ancestry and cumulative evolution of immune reactions. *Acta Biochimica Polonica*. 2010;57(4):443-66. doi:20101980 [pii]
- Gordon S. Elie Metchnikoff, the man and the myth. *J Innate Immun*. 2016 Feb 3. [Epub ahead of print]. doi:10.1159/0004433312016.
- Altincicek B, Vilcinskas A. Metamorphosis and collagen-IV-fragments stimulate innate immune response in the greater wax moth, *Galleria Mellonella*. *Dev Comp Immunol*. 2006;30:1108-18.
- Hoffman W, Lakkis FG, Chalasani G. B Cells, Antibodies, and More. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016;11:137-54.
- Flajnik MF, Kasahara M. Origin and evolution of the adaptive immune system: genetic events and selective pressures. *Nat Rev Genet* 2009;11:47-59.
- Van de Peer Y, Maere S, Meyer A. The evolutionary significance of ancient genome duplications. *Nat Rev Genet*. 2009;10:725-32.
- Barclay A. Membrane proteins with immunoglobulin-like domains--a master superfamily of interaction molecules. *Semin Immunol*. 2003;15:215-23.
- Leshchyn'ska I, Sytnyk V. Reciprocal interactions between cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily and the cytoskeleton in neurons. *Front Cell Dev Biol*. 2016;16;4:9.
- Lee KY, Horodyski FM, Valaitis AP. Molecular characterization of the insect immune protein hemolin and its high induction during embryonic diapause in the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Insect Biochem Mol Biol*. 2002;32:1457-67.
- Li W, Terenius O, Hirai M. Cloning, expression and phylogenetic analysis of Hemolin, from the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. *Dev Comp Immunol*. 2005;29:853-64.
- Lanz-Mendoza H, Bettencourt R, Fabbri M. Regulation of the insect immune response: the effect of hemolin on cellular immune mechanisms. *Cell Immunol*. 1996;169:47-54.
- Daffre S, Faye I. Lipopolysaccharide interaction with hemolin, an insect member of the Ig-superfamily. *FEBS Lett*. 1997;19;408(2):127-30.
- Hirai M, Terenius O, Li W. Baculovirus and dsRNA induce Hemolin, but no antibacterial activity, in *Antheraea pernyi*. *Insect Mol Biol*. 2004;13:399-405.
- Bettencourt R, Lanz-Mendoza H, Lindquist KR. Cell adhesion properties of hemolin, an insect immune protein in the Ig superfamily. *Eur J Biochem*. 1997;15:630-7.
- Bettencourt, R, Terenius O, Faye I. Hemolin gene silencing by ds-RNA injected into *Cecropia* pupae is lethal to next generation embryos. *Insect Mol Biol* 2002;11(3):267-71.
- Eleftherianos I, Millichap PJ, Reynolds SE. RNAi suppression of recognition protein mediated immune responses in the tobacco hornworm *Manduca sexta* causes increased

- susceptibility to the insect pathogen *Photobacterium*. *Dev Comp Immunol.* 2006;30:1099-107.
30. Guo P, Hirano M, Brantley R. Dual nature of the adaptive immune system in lampreys. *Nature* 2009;459:796-902.
  31. Im SP, Lee JS, Kim SW, Yu JE, Kim YR, Kim J, Lee JH, Jung TS. Investigation of variable lymphocyte receptors in the alternative adaptive immune response of hagfish. *Dev Comp Immunol.* 2016;55:203-10.
  32. Alder MN, Rogozin IB, Iyer LM, Glazko GV, Cooper MD, Pancer Z. Diversity and function of adaptive immune receptors in a jawless vertebrate. *Science* 2005;310:19703. doi:10.1126/science.1119420
  33. Guo P, Hirano, M Herrin BR, Li J, Yu C, Sadlonova A, Cooper MD. Dual nature of the adaptive immune system in lampreys. *Nature.* 2009;459(7248):796-801. doi:10.1038/nature08354
  34. Smith PH, Mwangi JM, Afrane YA, Yan G, Obbard DJ, Ranford-Cartwright LC, Little TJ. Alternative splicing of the *Anopheles gambiae* Dscam gene in diverse *Plasmodium falciparum* infections. *Malar J.* 2011;10:156
  35. Dong Y, Taylor HE, Dimopoulos G. AgDscam, a hypervariable immunoglobulin domain-containing receptor of the *Anopheles gambiae* innate immune system. *PLoS Biol.* 2006;4(7):e229.
  36. Watson FL, Puttmann-Holgado R, Thomas F. Extensive diversity of Ig-superfamily proteins in the immune system of insects. *Science.* 2005;309:1874-1878.
  37. Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R. Effector and memory T-cell differentiation: implications for vaccine development. *Nat Rev Immunol.* 2002;2:251-262.
  38. Schmid-Hempel P. Natural insect host-parasite systems show immune priming and specificity: puzzles to be solved. *BioEssays.* 2005;27:1026-34.
  39. Roth O, Sadd B M, Schmid-Hempel P. Strain-specific priming of resistance in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Procc Biol Scien.Proc.* 2009;276:145-51.
  40. Garduño-Contreras J, Lanz-mendoza H, Franco B, Nava A, Pedraza-reyes M, Canales-Lazcano J. Insect Immune priming: ecology and experimental evidence. *Ecol Entomol.* 2016; DOI: 10.1111/een.12300.
  41. Moret Y, Siva-Jothy MT. Adaptive innate immunity? Responsive-mode prophylaxis in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Proc Biol Sci.*2003;270:2475-2480.
  42. Pham LN, Dionne M S, Shirasu-Hiza M. A specific primed immune response in *Drosophila* is dependent on phagocytes. *PLoS Pathogens* 2007;3:e26.
  43. Contreras-Garduño J, Rodríguez, MC Rodríguez MH, Alvarado A. *Plasmodium berghei* induces priming in *Anopheles albimanus* independently of bacterial co-infection *Dev Comp Immunol.* 2015;52:172-81.
  44. Kleinlogel Y, Schmid-Hempel R, Schmid-Hempel P. Trans-generational immune priming in a social insect. *Biol Lett.* 2005;1:386-8.
  45. Cannistra SA, Vellenga E, Groshek P. Human granulocyte-monocyte colony-stimulating factor and interleukin 3 stimulate monocyte cytotoxicity through a tumor necrosis factor-dependent mechanism. 1988;71:672-676.
  46. Contreras-Garduño J, Rodríguez MC, Hernández-Martínez S, Martínez-Barnette J, Alvarado-Delgado A, Izquierdo J, Herrera-Ortiz A, Moreno-García M, Velazquez-Meza ME, Valverde V, Argotte-Ramos R, Rodríguez MH, Lanz-Mendoza H. *Plasmodium berghei* induced priming in *Anopheles albimanus* independently of bacterial co-infection. *Dev Comp Immunol.* 2015;52:172-81.
  47. Klein, J. Are invertebrates capable of anticipatory immune responses? *Scand J Immunol.* 1989;29:499-505.
  48. Blok BA, Arts RJ, van Crevel R. Trained innate immunity as underlying mechanism for the long-term, nonspecific effects of vaccines. *J Leukoc Biol.* 2015;pii: jlb.SRI0315-096R