

ARTÍCULO DE REFLEXIÓN/REFLECTION PAPER

RESOLUCIÓN DE CONFLICTOS AL INTERIOR DEL ORGANISMO: EL PAPEL DEL SISTEMA INMUNE

Conflict resolution within the organism: the role of the Immune System

Luis F. CADAVID¹.

¹ Departamento de Biología e Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Cra. 45 n.º 26-85, edificio 426, oficina 209. Bogotá, Colombia.

For correspondence. lfcadavidg@unal.edu.co

Received: 1st June 2015, **Returned for revision:** 2nd November 2015, **Accepted:** 10th November 2015.

Associate Editor: María Consuelo Burbano Montenegro.

Citation / Citar este artículo como: Cadavid LF. Resolución de conflictos al interior del organismo: el papel del sistema inmune. Acta biol. Colomb. 2016;21(1) Supl:S287-295. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1sup.50973>

RESUMEN

El sistema inmune de los animales está constituido por una gran variedad de células y moléculas que colectivamente reconocen, neutralizan y eliminan potenciales agentes nocivos, tanto bióticos como abióticos. El estudio del sistema inmune ha estado tradicionalmente sesgado hacia algunas especies de importancia médica o económica, a expensas de la gran mayoría de especies que constituyen la diversidad animal. Con la actual facilidad de secuenciar genomas y transcriptomas, se ha abierto la posibilidad de estudiar los sistemas inmunes de muy variados grupos animales. Uno de estos grupos es el de los cnidarios, que incluye a los corales, anémonas y medusas, en los que el estudio del sistema inmune ha probado ser de gran utilidad para entender dos tipos de conflictos de relevancia en la supervivencia de estos organismos. El primero es la respuesta de los corales a enfermedades de carácter infeccioso y el segundo hace referencia a las reacciones de histocompatibilidad que median la competencia intraespecífica por el espacio habitable. Este artículo de reflexión trata en detalle el papel del sistema inmune de los cnidarios en la resolución de estos conflictos.

Palabras clave: histocompatibilidad, inmunidad en cnidarios, inmunología evolutiva sistema inmune.

ABSTRACT

The immune system of animals is constituted by a large diversity of cells and molecules that collectively recognize, neutralize, and eliminate potential damaging agents, both biotic and abiotic. The study of the immune system has been traditionally biased towards some species with medical or economic importance, at the expense of the vast majority of species that constitute the animal diversity. With the current possibility of easily sequencing genomes and transcriptomes, there is an opportunity to study the immune systems of a wide variety of animal groups. One of these groups is the cnidarians, which include corals, anemones and jellyfishes, in which the study of the immune system has proved useful to understand two types of conflicts that are relevant for the survival of these organisms. The first one is the response of corals to diseases of infectious nature and the second relates to histocompatibility reactions, which mediate intraspecific competitions for habitable space. This article details the role of the cnidarian immune system to mediate the resolution of these two conflicts.

Keywords: cnidarian immunity, histocompatibility, evolutionary immunology, immune system.

INTRODUCCIÓN

El Sistema Inmune (SI) está constituido por una red compleja y jerárquica de órganos, tejidos, células y moléculas que mantienen la integridad del organismo ante posibles daños externos o internos (Cadavid, 2009). Durante cientos de millones de años de evolución animal, los diferentes linajes animales han desarrollado diversas estrategias para reconocer, neutralizar y eliminar potenciales agentes patogénicos, así como también variados mecanismos para reparar tejidos y órganos. Algunas de las estrategias inmunológicas se han mantenido conservadas desde el origen de los metazoarios hace más de 500 millones, mientras que otras estrategias son innovaciones más recientes de algunos linajes animales. La respuesta inmune ha sido convencionalmente clasificadas en dos clases, inmunidad innata e inmunidad adaptativa. La primera representa la primera línea de defensa, tiene limitada variabilidad y especificidad y es ancestral. La segunda está presente solo en vertebrados mandibulados, y se caracteriza por la alta diversidad y especificidad de sus respuestas, mediadas por los linfocitos y sus receptores de antígeno (Cadavid, 2009). El estudio de los mecanismos de respuesta inmune en invertebrados ha permanecido relativamente inexplorado, a pesar de su relevancia en contextos como la creciente mortalidad de corales del Caribe debido a enfermedades infecciosas. En las siguientes secciones se detalla el conocimiento actual del sistema inmune de corales y otros cnidarios y su papel en la defensa en contra de agentes infecciosos y en mecanismos de histocompatibilidad.

Respuesta inmune en corales contra enfermedades infecciosas

Los arrecifes de coral albergan una inmensa biodiversidad solo comparable con aquella del bosque húmedo tropical (Gardner *et al.*, 2003). Su base estructural y funcional son los corales duros o escleractíneos, los cuales secretan un exoesqueleto de carbonato de calcio cuya acumulación progresiva produce una formación calcárea masiva que soporta gran variedad de otros organismos, incluyendo peces y una amplia gama de invertebrados. El valor económico de los arrecifes de coral ha sido estimado en US \$375 mil millones al año, derivado del uso recursos renovables y no renovables, protección de línea de costa, incremento en los valores de propiedad y turismo (Constanza *et al.*, 1997). En Colombia los arrecifes de coral ocupan un área aproximada de 2.860 km², la gran mayoría localizados en el Mar Caribe. El deterioro global y local de las condiciones medioambientales ha comprometido dramáticamente la salud de los arrecifes de coral. Reportes recientes indican que 58-70 % de los arrecifes en el mundo están directamente amenazados por actividades humanas, mientras que más del 80 % de la biota asociada a arrecifes de coral del Caribe ha desaparecido en los últimos 30 años (Gardner *et*

al., 2003; Jackson, 2008). Las enfermedades de corales de carácter infeccioso son tal vez el factor más importante en la creciente morbi-mortalidad de los arrecifes del Caribe. Tres de estas enfermedades – la banda negra, la banda blanca y la plaga blanca – representan más dos tercios de los casos de enfermedades reportados en el Caribe, afectando en conjunto cerca de 60 especies de corales escleractíneos (Weil *et al.*, 2006). Si bien se reconoce el carácter infeccioso de estas enfermedades, la identificación de un único agente causal para muchas de estas enfermedades ha sido problemática (Rosenberg *et al.*, 2007). Esto ha llevado a considerar escenarios etiológicos más complejos que se centran en la interacción dinámica entre factores medioambientales, las poblaciones microbianas asociadas y la competencia inmunológica del coral (Rosenberg *et al.*, 2007). Si bien en la última década se ha evidenciado un creciente interés en los aspectos ambientales y microbiológicos de las enfermedades de corales, el estudio de la respuesta inmune en estos organismos hasta ahora está comenzando.

Análisis genómicos y transcriptómicos en algunos cnidarios, incluyendo los hidrozorios *Hydra magnipapillata* (Chapman *et al.*, 2010) e *Hydractinia symbiolongicarpus* (Schwarz *et al.*, 2007; Schwarz *et al.*, 2008; López *et al.*, 2011) y los antozoarios *Nematostella vectensis* (Putnam *et al.*, 2007), *Acropora millepora* (Miller *et al.*, 2007), *Acropora digitifera* (Shinzato *et al.*, 2011), *Acropora palmata* y *Montastraea faveolata* (Schwarz *et al.*, 2008), entre otros, han mostrado que estos organismos poseen varios genes que codifican moléculas de respuesta inmune conservadas en vertebrados. Estos incluyen moléculas de reconocimiento de patrones moleculares, péptidos antimicrobianos, moléculas del Sistema Complemento, y lectinas de reconocimiento inmune. De este modo, es muy probable que los cnidarios posean todo un complejo entramado de mecanismos de respuesta inmune humorales y celulares que representan las bases de la inmunidad en metazoarios. En las siguientes secciones, presento algunos de los mecanismos de respuesta inmune en cnidarios hasta ahora identificados.

Los epitelios como barreras inmunológicas

Los cnidarios son organismos esencialmente epiteliales, formados por una capa de ectodermo (epidermis) y otra de endodermo (gastrodermis) separando una matriz acelular conocida como mesoglea. Las células epiteliales cumplen una función inmunológica fundamental en estos organismos dadas sus actividades secretoras y fagocíticas (Augustin *et al.*, 2012). Ciertamente, el moco secretado por las células epiteliales recubre los epitelios y actúa como una barrera fisicoquímica que impide o retarda la entrada de potenciales patógenos. En *Hydra* se ha observado que la disolución artificial del moco induce una elevada vulnerabilidad a infecciones bacterianas y fúngicas (Fraune *et al.*, 2009). Varios factores protectores

hacen parte del moco, incluyendo inhibidores de serinproteasas con acción bactericida (Augustin *et al.*, 2009). Adicionalmente, las células epiteliales de cnidarios tienen una alta actividad fagocítica, cumpliendo funciones tanto nutricionales como inmunológicas (Augustin *et al.*, 2012). Aparte de la actividad fagocitaria de las células epiteliales del endodermo, en *Hydra* no se conocen células fagocíticas especializadas, en contraste con algunas especies de corales que poseen amebocitos granulares especializados en fagocitosis. En el octocoral *Gorgonia ventalina*, los amebocitos configuran una línea primaria de defensa, proliferando, por ejemplo, en respuesta a la infección con el hongo *Aspergillus sydowii* (Mydlarz *et al.*, 2008). Los amebocitos granulares además de fagocitar hifas del hongo, activan la vía enzimática de la fenoloxidasas que promueve la deposición de melanina (melanización) en el sitio afectado, constituyendo una barrera contra la dispersión del patógeno (Mydlarz *et al.*, 2006).

Otras enzimas importantes en inmunidad de octocorales que se activan rápidamente en respuesta a fagocitosis por amebocitos granulares son las peroxididasas y quitinasas (Mydlarz y Harvell, 2006). En corales escleractíneos también se ha demostrado la acción de amebocitos granulares en procesos de melanización (Mydlarz y Palmer, 2011), como respuesta a estrés térmico y de sedimentación (Vargas-Angel *et al.*, 2007) y en agregaciones cercanas a tejidos con anomalías esqueléticas (Domart, 2006). Adicionalmente, los cnidarios tienen una enorme capacidad de regeneración de tejidos, debido a la continua proliferación de células madre (Bosch *et al.*, 2010). Esta capacidad puede ser considerada como un brazo adicional de la defensa inmune de los cnidarios ya que las células infectadas o afectadas por patógenos como bacterias y parásitos intracelulares, hongos o virus son removidas rápidamente y de forma programada (a través de procesos de apoptosis) y reemplazadas inmediatamente por células nuevas no infectadas (Augustin *et al.*, 2012).

Mecanismos moleculares de inmunidad en cnidarios

La defensa contra agentes potencialmente patógenos es uno de los factores más importantes para la supervivencia del organismo y el sistema inmune ha evolucionado con una arquitectura robusta capaz de responder ante estos retos (Kitano y Oda, 2006). La función principal del sistema inmune es mantener la integridad fisiológica del organismo estableciendo complejas interacciones entre células y moléculas propias y foráneas. Existen diversos mecanismos moleculares que median estas interacciones y que constituyen verdaderos módulos evolutivos. Estos módulos funcionan y evolucionan de una manera casi independiente y pueden ser incorporados en otros sistemas para producir nuevas funciones o modificar algunas preexistentes. Desde el punto de vista molecular, en el sistema inmune se pueden

distinguir tres grandes módulos – reconocimiento, activación (señalización) y efector. El módulo de reconocimiento es tal vez el más dinámico, en donde los receptores de antígenos tienen una alta tasa de diversificación en los distintos grupos animales. Los módulos de activación y efector son mucho más conservados y algunos genes están presentes en todos los grupos animales estudiados.

Módulo de reconocimiento

En este módulo se agrupan las moléculas que se encargan de reconocer moléculas pertenecientes a microorganismos potencialmente patógenos e inducir una señal activadora, bien sea extracelular o intracelular, que culmina en una respuesta efectora. Además de los mecanismos de defensa del hospedero impuesta por los epitelios y el moco, los receptores de reconocimiento de patrones moleculares (PRR, por sus siglas en inglés) constituyen otra línea de defensa del sistema inmune de cnidarios contra microbios potencialmente invasores y patógenos. Los PRRs de los cnidarios, y de los metazoarios en general, detectan y se unen a componentes de la pared celular de los microbios, tales como flagelina, zymosan, ácido lipoteicoico (en bacterias Gram-positivas) y lipopolisacáridos (LPS) (en bacterias Gram-negativas) (Dunn, 2009). Estos componentes se conocen colectivamente como patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMPs, por sus siglas en inglés) y están presentes en el microorganismo pero no en el hospedero. La interacción entre los PRRs y los MAMPs inducen una respuesta rápida que opera a tres niveles (Dunn, 2009): a) estimula la ingestión microbiana a través de fagocitosis y degradación enzimática, b) estimula la movilización de moléculas a sitios donde se produce la infección, y c) induce la activación de moléculas efectoras activando cascadas de señalización que se traducen en respuestas inmunes efectivas.

Los PRRs parecen ser ampliamente diversos en cnidarios, sin embargo se necesitan estudios más profundos que permitan evaluaciones y caracterizaciones completas. Entre los PRRs de superficie celular más conservados están los receptores tipo Toll (Toll-like receptors o TLRs) (Augustin *et al.*, 2012) y son así mismo de los PRRs más estudiados en invertebrados. Los TLRs son proteínas transmembranales con un dominio extracelular N-terminal que contiene repeticiones ricas en Leucina (LRRs) responsables del reconocimiento, un dominio flanqueante rico en Cisteína, un dominio transmembranal y un dominio intracelular TIR (Receptor Toll/Interleuquina) que media la transmisión de la señal intracelular conduciendo a la translocación nuclear de factores de transcripción de la familia NF- κ B (Hoffmann *et al.*, 1999). En *Drosophila*, estos factores de transcripción activan genes que codifican péptidos antimicrobianos, mientras que en mamíferos inducen la expresión de citoquinas proinflamatorias. Se han identificado nueve genes

Toll en el genoma de *D. melanogaster*, 10 TLRs en *Anopheles gambiae*, uno en la cacerola de mar *Tachypleus tridentatus*, 214 en el erizo de mar *Strongylocentrotus purpuratus* y 222 en el anfibio *Branchiostoma floridae* (Huang *et al.*, 2008).

En cnidarios, los TLR varían en número y estructura (Dunn, 2009). En *Hydra* se han caracterizado dos TLRs (HyLRR-1 y HyLRR-2) con LRRs extracelulares similares a aquellos de vertebrados (Augustin *et al.*, 2012). Sin embargo, HyLRR-1 y HyLRR-2 no poseen el dominio intracelular TIR, típico de los receptores TLR de vertebrados. Adicionalmente, se han reportado dos proteínas transmembrana, HyTRR-1 y HyTRR-2, que poseen un dominio intracelular TIR pero no presentan dominios extracelulares. Es probable que las HyLRR y HyTRR funcionen sinérgicamente, asociándose para reconocer patrones moleculares y señalar al interior de la célula (Augustin *et al.*, 2012). En ensayos funcionales se ha encontrado que el silenciamiento de los genes que codifican HyTRR-1 e HyLRR-2 lleva a una reducción drástica de la actividad antimicrobial, lo cual sugiere que en *Hydra* la activación de receptores de reconocimiento de MAMPs induce la producción de péptidos antimicrobiales (AMPs, por sus siglas en inglés), como Hydramacin-1 y dos proteínas específicas de este organismo, Arminin-1a y Periculin-1 (Augustin *et al.*, 2010).

Los antozoarios (corales y anémonas), en comparación con los hidrozooarios, tienen un mayor número de TLRs (Dunn, 2009). El análisis de bases de datos de ESTs (secuencias expresadas etiquetadas) y de secuencias genómicas en los antozoarios *Nematostella vectensis* y *Acropora millepora*, ha mostrado la presencia tanto de receptores TLR (con estructuras diferentes a las de *H. magnipapillata*), como de componentes de su vía de señalización, como la proteína adaptadora intracelular NvMyD88 (Miller *et al.*, 2007). En *N. vectensis* se ha predicho la estructura de una proteína relacionada con los miembros de la familia Toll/TLR de mamíferos, la proteína NvTLR1 que estructuralmente posee dominios ricos en cisteína que flanquean los extremos amino-terminal y carboxi-terminal de los LRRs en la región extracelular, mientras que en la parte intracelular tiene un dominio TIR (Miller *et al.*, 2007) (Fig. 3). Además, en esta anémona se han identificado otras tres proteínas (NvIL-1R1, NvIL-1R2 y NvIL-1R3) transmembranales con dominio intracelular TIR y múltiples dominios tipo inmunoglobulina (Ig) en la región extracelular (Fig. 3), que reflejan la estructura de dominios de los receptores de interleuquina 1 de mamíferos (IL-1R) (Miller *et al.*, 2007). Recientemente se secuenció el genoma del coral *Acropora digitifera* y se determinó que este genoma contiene aproximadamente 23.700 genes, entre los cuales hay varios asociados con la respuesta inmune (Shinzato *et al.*, 2011){Formatting Citation}. Se identificaron cuatro proteínas tipo Toll/TLR (Adi-TLR1, Adi-TLR2, Adi-TLR3 y Adi-TLR4) y 19 tipo interleuquina 1 (Adi-IL-1R) (Fig. 3). Estos datos sugieren que

el repertorio inmune de este coral es más complejo que el de *Nematostella*. {Formatting Citation}

Otros PRRs identificados en cnidarios son las lectinas de reconocimiento inmune. Una de estas lectinas comunes para varios grupos de cnidarios es la Tachylectina (Mali *et al.*, 2006; Hayes *et al.*, 2010). La Tachylectina es una proteína que se aisló inicialmente de la cacerola de mar (*Tachypleus tridentatus*) y experimentalmente ha mostrado actividad antimicrobial por medio del reconocimiento de MAMPs como LPS y peptidoglicanos (Beisel *et al.*, 1999). Adicionalmente, estas proteínas parecen estar evolucionando por selección positiva como consecuencia de las presiones selectivas ejercidas por los patógenos (Hayes *et al.*, 2010). En *N. vectensis* también se han detectado una gran diversidad de genes que codifican para lectinas tipo-C (dependientes del Calcio, CTLs), que pueden jugar un papel clave en el reconocimiento inmune (Wood-Charlson y Weis, 2009). Por otro lado, en el coral escleractíneo *A. millepora* se ha caracterizado una lectina de unión a manosa (MBL) llamada Millelectina, que juega un papel importante en el reconocimiento de bacterias (Kvennefors *et al.*, 2008). La Millelectina posee una característica inusual, ya que presenta una amplia variabilidad en la región de unión al ligando, lo cual podría indicar la unión a un amplio rango de MAMPs. Finalmente, un análisis de ESTs en el coral *Montastraea faveolata* mostró la presencia de varios PRRs de la familia de lectinas tipo-C (Schwarz *et al.*, 2008).

Módulo activador

Dentro del módulo de activación de las respuestas inmunes, se agrupan las moléculas que participan en las vías de señalización intracelular y que modulan la activación de las moléculas efectoras. Aunque se han caracterizado diversos genes de señalización en cnidarios homólogos a aquellos de vertebrados, se dispone de muy poca información funcional. Una de las vías mejor estudiada, y más conservada en metazoarios es la vía de los TLRs. Esta vía se conoce en detalle en *Drosophila* (Hoffmann, 2003; Imler y Hoffmann, 2003), sin embargo en organismos basales como los cnidarios existe muy poca información. A partir de estudios genómicos y transcriptómicos en *H. magnipapillata*, *N. vectensis* y *A. millepora*, se han identificado transcritos homólogos a la proteína adaptadora universal MyD88 (Miller *et al.*, 2007), la cual contiene el dominio TIR con el cual interactúa con los dominios intracelulares de los TLRs. Los transcritos de algunas quinasas como las proteínas IRAK, TRAF y TAK, que juegan un papel importante en los procesos de fosforilación y activación de factores de transcripción, también han sido identificados en estos cnidarios (Miller *et al.*, 2007). En poblaciones silvestres de *N. vectensis* y *A. millepora* se ha caracterizado el gen que codifica para el factor de transcripción NF- κ B (Miller *et al.*, 2007), el cual controla la expresión de genes relacionados

con un amplio rango de procesos inmunes en vertebrados e invertebrados (Hayden y Ghosh, 2004). En *Hydra* se sugiere que este factor de transcripción regula la expresión de genes que codifican para péptidos antimicrobiales (Augustin *et al.*, 2010; Augustin *et al.*, 2012) tal como ocurre en *Drosophila*. En *Nematostella* y *Acropora* no se tiene información de los genes blanco del NF- κ B.

Módulo efector

Son muy pocas las moléculas efectoras de la respuesta inmune que se conocen en cnidarios. En este sentido, el papel de muchos péptidos y metabolitos secundarios como parte del mecanismo efector del sistema inmune innato de los cnidarios está empezando a ser explorado (Dunn, 2009). Los cnidarios producen péptidos antimicrobianos que se caracterizan por tener una estructura estable permitiendo su movimiento por los tejidos del animal y por presentar actividad específica *in vitro* contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Dunn, 2009). En *Hydra* se han caracterizado tres péptidos antimicrobiales, Hydramacina-1, Arminina-1a y Pereculina-1 (Bosch *et al.*, 2009; Jung *et al.*, 2009; Augustin *et al.*, 2010), mientras que en el scifozoo *Aurelia aurita*, se ha caracterizado el péptido Aurelin, que presenta actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativa (Dunn, 2009).

Se sugiere que en *Hydra* la síntesis de péptidos antimicrobiales está mediada por el reconocimiento por parte de los receptores tipo TLR, y es específica según el MAMP que es reconocido (Augustin *et al.*, 2010). Así, la síntesis de Hydramacina-1 aumenta en presencia de LPS de las bacterias, mientras que Pereculina-1 aumenta en presencia de LPS y flagelina (Bosch *et al.*, 2009). Además de estas moléculas, en *Hydra* también se han caracterizado inhibidores serin proteasa tipo *Kazal*, las cuales se producen en las células glandulares y tienen una potente actividad bactericida *in vitro* (Augustin *et al.*, 2009).

Histocompatibilidad en cnidarios

Los invertebrados clonales y sésiles con frecuencia interactúan con individuos de su misma especie mientras crecen sobre un mismo sustrato. Las interacciones típicamente culminan en fusión entre individuos relacionados o rechazo entre individuos no relacionados (Grosberg, 1988). Estos fenómenos de histocompatibilidad somática (también llamados de alorreconocimiento) se conocen desde hace más de un siglo (Bancroft, 1903) y han sido observados inequívocamente en esponjas, cnidarios, briozoos y ascidias (Buss, 1982). El alorreconocimiento en invertebrados clonales cumple un papel importante en el mantenimiento de la integridad fisiológica y genética de las colonias (Buss, 1987). Estos organismos viven sobre sustratos duros, donde las interacciones célula-célula entre conoespecíficos son frecuentes. La fusión entre individuos de la misma especie puede conferir una ventaja inmediata a la

quimera resultante, debido principalmente al incremento en el tamaño de la colonia. Ciertamente, en los invertebrados sésiles la fecundidad y la viabilidad aumentan linealmente con el tamaño (Buss, 1990).

El quimerismo, no obstante, puede llevar a que se genere parasitismo de la línea germinal de un componente de la quimera sobre el otro. Los invertebrados clonales tienen células madre multipotenciales, capaces de diferenciarse en células germinales y somáticas en cualquier momento de la ontogenia (Buss, 1982; Buss, 1987). La proporción de células somáticas y germinales puede variar ampliamente entre los individuos que componen la quimera, de tal forma que si un individuo genera un número desproporcionadamente mayor de células germinales que el otro, se genera una relación parasítica (Buss, 1982; Buss y Shenk, 1990; Stoner y Weissman, 1996; Stoner *et al.*, 1999). La representación genética del individuo parasitado disminuye progresivamente en las siguientes generaciones hasta una inevitable muerte evolutiva. El riesgo de establecer parasitismo de la línea germinal puede disminuirse sustancialmente si se restringe la fusión a individuos genéticamente relacionados mediante sistemas de alorreconocimiento altamente discriminatorios.

Las respuestas de alorreconocimiento en el hydrozoario *Hydractinia* (Cnidaria: Hydrozoa) se conocen mejor que en cualquier otro cnidario (Frank *et al.*, 2001). Las colonias de *Hydractinia* crecen sobre conchas de gasterópodos (p. ej. *Littorina* spp. o *Buccinum* spp.) habitadas por cangrejos ermitaños del género *Pagurus*. Las colonias están compuestas por pólipos interconectados por una densa red de canales conocida como cenosarco o mata estolónica. Este cenosarco se ubica sobre una placa basal incrustante compuesta de quitina, la cual está ausente en los juveniles, pero aparece antes de que la colonia alcance los límites de su sustrato. El cenosarco consiste en dos capas ectodérmicas que emparedan una red de canales gastrovasculares endodérmicos. El ectodermo de la mata es continuo con el ectodermo de los pólipos, mientras que el endodermo de los canales es continuo con el epitelio gastrovascular de los pólipos. La mayor parte del esqueleto quitinoso es secretado por la capa ectodérmica inferior del cenosarco. Algunas colonias juveniles extienden sus canales más allá de los límites de la mata y forman estolones, los cuales progresivamente van siendo cubiertos por la mata, a medida que la colonia alcanza el borde del sustrato (Yund *et al.*, 1987).

Colonias de *Hydractinia* que crecen sobre la misma concha tienen alta probabilidad de encontrarse (Yund *et al.*, 1987). Estos encuentros resultan en uno de tres posibles fenotipos: 1) *Fusión*. Los contactos entre colonias compatibles inicialmente disuelven su cobertura peridérmica y una hora después del contacto adhieren sus células ectodérmicas. Después de 2-4 horas de contacto, las colonias establecen un sistema gastrovascular común, lo que resulta en una

quimera permanente (Hauenschild, 1954; Hauenschild, 1956; Müller, 1964; Buss *et al.*, 1984). 2) *Rechazo*. Los encuentros incompatibles se caracterizan por la ausencia de adhesión y formación de continuidad gastrovascular. Dentro de las primeras 12 horas después del contacto entre las colonias, los tejidos que interactúan se engrosan debido a una masiva migración de células urticantes conocidas como cnidocitos (Buss *et al.*, 1984). Estos cnidocitos descargan estructuras con forma de arpón y liberan toxinas, causando un extenso daño tisular en la colonia contendiente (Müller, 1964; Buss *et al.*, 1984). Los eventos subsiguientes toman dos formas, dependiendo de la morfología de las colonias (Buss y Grosberg, 1990). Encuentros entre colonias estoloníferas (aquellas con predominio de estolones libres sobre mata estolónica) resultan en rechazos agresivos caracterizados por la inducción de estolones hiperplásicos (Ivker, 1972). En estos encuentros, la diferenciación y migración de cnidocitos continúa hasta que una colonia ha eliminado a la otra (Buss *et al.*, 1984; Lange *et al.*, 1989). Encuentros entre colonias con predominio de mata estolónica sobre estolones libres producen rechazos pasivos, los cuales se caracterizan por la secreción de una matriz fibrosa por ambas colonias, acompañada por la detención en el crecimiento de las colonias en la margen de contacto (Buss y Grosberg, 1990). 3) *Fusión transitoria*. En este fenotipo, las colonias inicialmente se adhieren estableciendo un sistema gastrovascular endodérmico común. En las etapas iniciales, la reacción es indistinguible de una fusión permanente. Después de 12-24 horas pos-contacto, una banda necrótica aparece en el punto del contacto inicial que posteriormente se extiende para formar una línea que corresponde a la zona de contacto original. La emergencia de la línea necrótica se acompaña por la oclusión de los canales que estaban fusionados. Uno a tres días después de la aparición de la banda necrótica, las colonias se separan. Desde este momento en adelante, la reacción es indistinguible de una respuesta de rechazo (Hauenschild, 1954; Shenk y Buss, 1991; Grosberg *et al.*, 1996; Cadavid, 2001; Powell *et al.*, 2007).

Los fenotipos de alorreconocimiento en *Hydractinia* están controlados en una región cromosómica conocida como el Complejo de Alorreconocimiento (*alloreognition complex*–ARC) que contiene dos locus principales, *alr1* y *alr2* (Cadavid *et al.*, 2004). Las colonias se fusionan si comparten uno o dos alelos en ambos locus, se rechazan si no comparten alelos en ninguno de los dos locus y muestran fusión transitoria como un efecto de dosis de alelos (por ejemplo, si comparte solo un alelo en un solo locus). *Ar1* codifica para una proteína transmembranal de 537 aminoácidos que tiene dos dominios extracelulares tipo inmunoglobulina (Ig) y un dominio intracitoplasmático con un motivo de inmunoreceptor activador basado en tirosina (ITAM) (Rosa *et al.*, 2010). Por su parte, *ar2* codifica para una proteína transmembranal con tres dominios Ig extracelulares y

un dominio intracitoplasmático que contiene un motivo de inmunoreceptor inhibitorio basado en tirosina (ITIM) (Nicotra *et al.*, 2009). Estos dos genes candidatos de alorreconocimiento comparten similitudes estructurales con loci del complejo de receptores leucocitarios (LRC) en mamíferos, incluyendo *LILR* y *KIR* (Trowsdale *et al.*, 2001). Un análisis detallado de la región cromosómica alrededor de *ar1* ha mostrado la presencia de, al menos, diez genes adicionales que codifican proteínas transmembranales con dominios extracelulares Ig no canónicos similares a *ar2* (Rosa *et al.*, 2010). La región cromosómica entre *ar1* y *ar2* no ha sido secuenciada por completo y es posible que albergue genes adicionales que, en conjunto, participen en la determinación y control de los fenotipos de alorreconocimiento.

CONCLUSIONES

Los cnidarios son la base estructural y funcional de los arrecifes de coral, uno de los ecosistemas más diversos del planeta. En las últimas décadas los cambios medioambientales globales y locales han generado una crisis sin precedentes en la salud de los corales, que ha involucrado frecuentes eventos de blanqueamiento coralino y la alta incidencia de enfermedades de corales (Weil *et al.*, 2006). Este último fenómeno ha atraído la atención de la comunidad científica, y esfuerzos importantes se han encaminado a identificar posibles agentes etiológicos involucrados en la patología de estas enfermedades. Sin embargo, el entendimiento global del fenómeno, y, más importante aún, la generación de medidas preventivas y correctivas, requieren una aproximación más integrada. Uno de los aspectos que se debe considerar en esta empresa es el entendimiento del sistema inmune de los corales y de los cnidarios en general. Gracias a las ventajas que proveen las nuevas metodologías de secuenciamiento de genomas y transcriptomas, es posible ahora identificar genes de inmunidad en cnidarios que puedan ser posteriormente evaluados por ensayos funcionales. Adicionalmente, estas aproximaciones metodológicas pueden arrojar luces a otro tipo de fenómenos relacionados a la inmunidad, como la histocompatibilidad, que en organismos coloniales, determina la capacidad de competición entre colonias por el espacio habitable. Los datos disponibles muestran que los cnidarios tienen un muy complejo sistema inmune, muchos de ellos conservados en los metazoarios, aunque algunos parecen ser únicos de este grupo. La combinación de este tipo de análisis con ensayos funcionales, seguramente permitirán generar una descripción detallada del sistema inmune de los cnidarios.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Iván Ocampo, Henry Rodríguez, Alejandra Zárate y Andrea Gonzales por sus contribuciones a este documento.

Nuestro trabajo sobre inmunidad e histocompatibilidad en cnidarios ha sido financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación-COLCIENCIAS (contratos 322-2011 y 014-2013 a LFC).

REFERENCIAS

- Augustin R, Fraune S, Bosch TC. How *Hydra* senses and destroys microbes. *Semin Immunol.* 2010;22(1):54-8. Doi:10.1016/j.smim.2009.11.002
- Augustin R, Fraune S, Franzenburg S, Bosch TC. Where simplicity meets complexity: hydra, a model for host-microbe interactions. *Adv Exp Med Biol.* 2012;710:71-81. Doi:10.1007/978-1-4419-5638-5_8
- Augustin R, Siebert S, Bosch TC. Identification of a kazal-type serine protease inhibitor with potent anti-staphylococcal activity as part of Hydra's innate immune system. *Dev Comp Immunol.* 2009;33(7):830-837. Doi:10.1016/j.dci.2009.01.009
- Bancroft FW. Variation and fusion in colonies of compound ascidians. *Proc Calif Acad Sci.* 1903;3:137-186.
- Beisel HG, Kawabata S, Iwanaga S, Huber R, Bode W. Tachylectin-2: crystal structure of a specific GlcNAc/GalNAc-binding lectin involved in the innate immunity host defense of the Japanese horseshoe crab *Tachypleus tridentatus*. *EMBO J.* 1999;18(9):2313-22. Doi:10.1093/emboj/18.9.2313
- Bosch TC, Anton-Erxleben F, Hemmrich G, Khalturin K. The Hydra polyp: nothing but an active stem cell community. *Dev Growth Differ.* 2010;52(1):15-25. Doi:10.1111/j.1440-169X.2009.01143.x.
- Bosch TC, Augustin R, Anton-Erxleben F, Fraune S, Hemmrich G, Zill H, *et al.* Uncovering the evolutionary history of innate immunity: the simple metazoan Hydra uses epithelial cells for host defence. *Dev Comp Immunol.* 2009;33(4):559-569. Doi:10.1016/j.dci.2008.10.004
- Buss LW. Somatic cell parasitism and the evolution of somatic tissue compatibility. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1982;79:5337-5341.
- Buss LW. The Evolution of Individuality. Princeton: Princeton University Press; 1987. p. 97-102.
- Buss LW. Competition within and between encrusting invertebrates. *Trends Ecol Evol.* 1990;5:352-356. Doi: 10.1016/0169-5347(90)90093-S.
- Buss LW, Grosberg RK. Morphogenetic basis for phenotypic differences in hydroid competitive behaviour. *Nature.* 1990;343:63-66. Doi: 10.1038/343063a0
- Buss LW, Mcfadden CS, Keene DR. Biology of hydractiniid hydroids. 2. Histocompatibility effector system/competitive mechanism mediated by nematocyst discharge. *Biol Bull.* 1984;167:139-158.
- Buss LW, Shenk MA. Hydroid allorecognition regulates competition at both the level of the colony and at the level of the cell lineage. In: Marchalonis JJ, Reinisch C, editors. *Defense Molecules.* New York: Alan R. Liss; 1990. p. 85-105.
- Cadavid LF. Genetic characterization of the hydroid allorecognition complex (Tesis Doctorado). New Haven: Yale University; 2001. p. 24-65.
- Cadavid LF. Evolución de sistemas complejos: el caso del sistema inmune. *Acta biol Colomb.* 2009;14:102-106.
- Cadavid LF, Powell AE, Nicotra ML, Moreno M, Buss LW. An invertebrate histocompatibility complex. *Genetics.* 2004;167:357-365. Doi:10.1534/genetics.167.1.357
- Chapman JA, Kirkness EF, Simakov O, Hampson SE, Mitros T, Weinmaier T, *et al.* The dynamic genome of *Hydra*. *Nature.* 2010;464(7288):592-596. Doi 10.1038/nature08830
- Constanza R, Darge R, Degroot R, Farber S, Grasso M, Hannon B. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature.* 1997;387(issue):253-260.
- Domart C. Comprehensive characterization of skeletal tissue growth anomalies of the finger coral *Porites compressa*. *Coral Reefs.* 2006;25:531-543. Doi:
- Dunn SR. Immunorecognition and Immunoreceptors in Cnidarians. *Invert Surv J.* 2009;6(1):7-14.
- Frank U, Leitz T, Muller WA. The hydroid *Hydractinia*: a versatile, informative cnidarian representative. *BioEssays.* 2001;23:963-971.
- Fraune S, Abe Y, Bosch TC. Disturbing epithelial homeostasis in the metazoan Hydra leads to drastic changes in associated microbiota. *Environ Microbiol.* 2009;11(9):2361-2369. Doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.01963.x.
- Gardner T, Côté J, Gill A, Grant A, Watkinson A. Long-term region-wide declines in Caribbean corals. *Science.* 2003;301:958-960. Doi: 10.1126/science.1086050
- Grosberg RK. The evolution of allorecognition specificity in clonal invertebrates. *Q Rev Biol.* 1988;63:377-412.
- Grosberg RK, Levitan DR, Cameron BB. Evolutionary genetics of the allorecognition in the colonial hydroid *Hydractinia symbiolongicarpus*. *Evolution.* 1996;50:2221-2240.
- Hauenschild CV. Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen über Intersexualität und Gewebeverträglichkeit bei *Hydractinia echinata* Flem. *Wilhelm Roux' Archiv.* 1954;147:1-41.
- Hauenschild CV. Über die Vererbung einer Gewebeverträglichkeitseigenschaft bei dem Hydroidpolypen *Hydractinia echinata*. *Z. Naturforsch.* 1956;11b:132-138.
- Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes and Development.* 2004;18(18):2195-224.
- Hayes ML, Eytan RI, Hellberg ME. High amino acid diversity and positive selection at a putative coral immunity gene (tachylectin-2). *BMC Evol Biol.* 2010;10:150. Doi: 10.1186/1471-2148-10-150
- Hoffmann JA. The immune response of *Drosophila*. *Nature.* 2003;426(6962):33-8. Doi: 10.1038/nature02021

- Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, Ezekowitz RaB. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science*. 1999;284:1313-1318.
- Huang S, Yuan S, Guo L, Yu Y, Li J, Wu T, *et al.* Genomic analysis of the immune gene repertoire of amphioxus reveals extraordinary innate complexity and diversity. *Genome Res*. 2008;18:1112-1126. Doi: 10.1101/gr.069674.107
- Imler JL, Hoffmann JA. Toll signaling: the TIREless quest for specificity. *Nat Immunol*. 2003;4(2):105-6. Doi: 10.1038/ni0203-105
- Ivker FB. A hierarchy of histo-incompatibility in *Hydractinia echinata*. *Biol Bull*. 1972;143:162-174.
- Jackson JBC. Ecological extinction and evolution in the brave new ocean. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:11458-11465.
- Jung S, Dingley AJ, Augustin R, Anton-Erxleben F, Stanisak M, Gelhaus C, *et al.* Hydramacin-1, structure and antibacterial activity of a protein from the basal metazoan *Hydra*. *J Biol Chem*. 2009;284(3):1896-905. Doi: 10.1074/jbc.M804713200
- Kitano H, Oda K. Robustness trade-offs and host-microbial symbiosis in the immune system. *Mol Syst Biol*. 2006;2:2006-0022. Doi: 10.1038/msb4100039
- Kvennefors EC, Leggat W, Hoegh-Guldberg O, Degnan BM, Barnes AC. An ancient and variable mannose-binding lectin from the coral *Acropora millepora* binds both pathogens and symbionts. *Dev Comp Immunol*. 2008;32(12):1582-92. Doi: 10.1016/j.dci.2008.05.010
- Lange R, Plickert G, Müller WA. Histocompatibility in a low invertebrate, *Hydractinia echinata*: Analysis of the mechanism of rejection. *J Exp Zool*. 1989;249:284-292.
- López JA, Fain MG, Cadavid LF. The evolution of the immune-type family Rhamnospondin in Cnidarians. *Gene*. 2011;473(issue):119-124. Doi: 10.1016/j.gene.2010.11.013
- Mali B, Soza-Ried J, Frohme M, Frank U. Structural but not functional conservation of an immune molecule: a tachylectin-like gene in *Hydractinia*. *Dev Comp Immunol*. 2006;30(3):275-81. Doi: 10.1016/j.dci.2005.04.004
- Miller DJ, Hemmrich G, Ball EE, Hayward DC, Khalturin K, Funayama N, *et al.* The innate immune repertoire in cnidaria—ancestral complexity and stochastic gene loss. *Genome Biol*. 2007;8(4):R59. Doi: 10.1186/gb-2007-8-4-r59
- Müller W. Experimentelle Untersuchungen über Stockentwicklung, Polypendifferenzierung und Sexualchimären bei *Hydractinia echinata*. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech Org*. 1964;155:182-268.
- Mydlarz LD, Harvell C. Peroxidase activity and inducibility in the sea fan coral exposed to a fungal pathogen. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2006;146:54-62.
- Mydlarz LD, Houthouse SF, Peters EC, Harvell CD. Cellular responses in sea fan corals: granular amoebocytes react to pathogen and climate stressors. *PLoS One*. 2008;3(3):e1811.
- Mydlarz LD, Jones LE, Harvell C. Innate Immunity, Environmental Drivers and Disease Ecology of Marine and Freshwater Invertebrates. *Ann Rev Ecol Evol Syst*. 2006;37:251-288.
- Mydlarz LD, Palmer CV. The presence of multiple phenoloxidases in Caribbean reef-building corals. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2011;159(4):372-378.
- Nicotra ML, Powell AE, Rosengarten RD, Moreno M, Grimwood J, Lakkis FG, *et al.* A hypervariable invertebrate allodeterminant. *Curr Biol*. 2009;19(7):583-9. Doi: 10.1016/j.cub.2009.02.040
- Powell AE, Nicotra ML, Moreno MA, Lakkis FG, Dellaporta SL, Buss LW. Differential effect of allorecognition loci on phenotype in *Hydractinia symbiolongicarpus* (Cnidaria: Hydrozoa). *Genetics*. 2007;177(4):2101-7. Doi: 10.1534/genetics.107.075689
- Putnam NH, Srivastava M, Hellsten U, Dirks B, Chapman J, Salamov A, *et al.* Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization. *Science*. 2007;317(5834):86-94. Doi: 10.1126/science.1139158
- Rosa SF, Powell AE, Rosengarten RD, Nicotra ML, Moreno MA, Grimwood J, *et al.* *Hydractinia* allodeterminant alr1 resides in an immunoglobulin superfamily-like gene complex. *Curr Biol*. 2010;20(12):1122-7. Doi: 10.1016/j.cub.2010.04.050
- Rosenberg E, Koren O, Reshef L, Efrony R, Zilber-Rosenberg I. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nat Rev Microbiol*. 2007;5(5):355-62. Doi: 10.1038/nrmicro1635
- Schwarz JA, Brokstein PB, Voolstra C, Terry AY, Manohar CF, Miller DJ, *et al.* Coral life history and symbiosis: functional genomic resources for two reef building Caribbean corals, *Acropora palmata* and *Montastraea faveolata*. *BMC Genomics*. 2008;9:97. Doi: 10.1186/1471-2164-9-97
- Schwarz RS, Bosch TC, Cadavid LF. Evolution of polydom-like molecules: identification and characterization of cnidarian polydom (Cnpolydom) in the basal metazoan *Hydractinia*. *Dev Comp Immunol*. 2008;32(10):1192-210. Doi: 10.1016/j.dci.2008.03.007
- Schwarz RS, Hodes-Villamar L, Fitzpatrick KA, Fain MG, Hughes AL, Cadavid LF. A gene family of putative immune recognition molecules in the hydroid *Hydractinia*. *Immunogenetics*. 2007;59(3):233-46. Doi: 10.1007/s00251-006-0179-1
- Shenk MA, Buss LW. Ontogenetic changes in fusibility in the colonial hydroid *Hydractinia symbiolongicarpus*. *J Exp Zool*. 1991;257:80-86.
- Shinzato C, Shoguchi E, Kawashima T, Hamada M, Hisata K, Tanaka M, *et al.* Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental

- change. *Nature*. 2011;476(7360):320-3. Doi: 10.1038/nature10249
- Stoner DS, Rinkevich B, Weissman I. Heritable germ and somatic cell lineage competitions in chimeric colonial protochordates. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96:9149-9153.
- Stoner DS, Weissman IL. Somatic and germ cell parasitism in a colonial ascidian: possible role for a highly polymorphic allorecognition system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:15254-15259.
- Trowsdale J, Barten R, Haude A, Stewart CA, Beck S, Wilson MJ. The genomic context of natural killer receptor extended gene families. *Immunol Rev*. 2001;181:20-38.
- Vargas-Angel B, Peters EC, Kramarsky-Winter E, Gilliam DS, Dodge RE. Cellular reactions to sedimentation and temperature stress in the Caribbean coral *Montastraea cavernosa*. *J Invertebr Pathol*. 2007;95(2):140-145.
- Weil E, Smith G, Gil-Agudelo DL. Status and progress in coral reef disease research. *Dis Aquat Organ*. 2006;69(1):1-7. Doi: 10.3354/dao069001
- Wood-Charlson EM, Weis VM. The diversity of C-type lectins in the genome of a basal metazoan, *Nematostella vectensis*. *Dev Comp Immunol*. 2009;33(8):881-9. Doi: 10.1016/j.dci.2009.01.008
- Yund PO, Cunningham CW, Buss LW. Recruitment and postrecruitment interactions in a colonial hydroid. *Ecology*. 1987;68:971-982.

