

LA EVOLUCIÓN DE SISTEMAS COMPLEJOS: EL CASO DEL SISTEMA INMUNE EN ANIMALES

The Evolution of Complex Systems: The Case of the Immune System in Animals

LUIS F. CADAVID¹, M.D., Ph. D.

¹ Profesor Titular, Departamento de Biología e Instituto de Genética,
Universidad Nacional de Colombia. Carrera 30 # 45-08, edificio 426,
Bogotá D.C., Colombia. lfcadavidg@unal.edu.co

Presentado 21 de septiembre de 2009, aceptado 4 de noviembre de 2009, correcciones 25 de mayo de 2010.

RESUMEN

El sistema inmune en animales comprende una serie de mecanismos celulares y moleculares que de manera conjunta mantienen la integridad fisiológica y genética de los organismos. Convencionalmente se ha considerado la existencia de dos clases de inmunidad, la innata y la adaptativa. La primera es ancestral, con variabilidad limitada y baja discriminación, mientras que la segunda es altamente variable, específica y restringida a vertebrados mandibulados. La inmunidad adaptativa se basa en receptores de antígeno que se rearreglan somáticamente para generar una diversidad casi ilimitada de moléculas. Este mecanismo de recombinación somática muy probablemente emergió como consecuencia de un evento de transferencia horizontal de transposones y transposas bacterianas en el ancestro de los vertebrados mandibulados. El reciente descubrimiento en vertebrados no mandibulados e invertebrados de mecanismos de inmunidad adaptativa alternos, plantea la necesidad de considerar nuevos elementos en la construcción de un modelo evolutivo de la inmunidad en animales. Algunos de esos elementos se esbozan en este ensayo.

Palabras clave: sistema inmune, evolución.

ABSTRACT

The immune system in animals is composed by a series of cell and molecular mechanisms that coordinately maintain the physiological and genetic integrity of the organism. Traditionally, two classes of immunity have been considered, the innate immunity and the adaptive immunity. The former is ancestral, with limited variability and low discrimination. The latter is highly variable, specific and limited to jawed vertebrates. Adaptive immunity is based on antigen receptors that rearrange somatically to generate a nearly unlimited diversity of molecules. Likely, this mechanism of somatic recombination arose as a consequence of a horizontal transfer of transposons and transposases from bacterial genomes in the ancestor of jawed vertebrates. The recent discovery in jawless vertebrates and invertebrates of alternative adaptive immune mechanisms, suggests the necessity to consider new elements for the construction of an evolutionary model of the immune system in animals. Some of these elements are considered in this assay.

Key words: Evolution, immune system.

INTRODUCCIÓN

Una de las mayores contribuciones de Darwin al pensamiento biológico es el concepto de que la evolución de adaptaciones complejas puede ser explicada por reglas simples de cambio en el tiempo. Darwin abrió la puerta para el estudio de sistemas biológicos de la más alta complejidad. Una de estas adaptaciones complejas es el sistema inmune. Este sistema es una red de moléculas, células y tejidos que interactúan entre sí para mantener la integridad genética y fisiológica de los individuos. Por más de 500 millones de años de evolución, los distintos grupos animales han generado diversas estrategias de reconocimiento, neutralización y eliminación de patógenos potenciales, así como también de mecanismos de reparación y homeostasis de tejidos y órganos. Algunas de estas estrategias han aparecido en grupos basales, permaneciendo conservadas en la mayoría de grupos animales. Otras estrategias son innovaciones propias de ciertos linajes animales cuya fijación ha respondido a las condiciones medioambientales propias. El sistema inmune adaptativo o linfocitario de los vertebrados es un ejemplo de estas innovaciones y se caracteriza por la presencia de células especializadas (linfocitos) que expresan receptores con una variabilidad casi ilimitada para reconocer un amplio universo antigénico en constante cambio. Estos receptores (inmunoglobulinas y receptores de células T) aparecieron súbitamente en el ancestro de los vertebrados mandibulados como consecuencia de una transferencia horizontal de genes bacterianos que codifican para una enzima con capacidad de cortar y pegar fragmentos de DNA. Este accidente evolutivo tuvo profundas consecuencias en la adaptación y radiación de los vertebrados, especialmente en su interacción con su medio ambiente biótico. Si bien el sistema inmune linfocitario se conoce en detalle, este solo existe en una fracción de la gran diversidad animal. Hasta ahora estamos empezando a explorar los mecanismos inmunológicos en otros grupos animales. Nuevos hallazgos han evidenciado que vertebrados no mandibulados e invertebrados tienen receptores inmunológicos altamente variables que han evolucionado independientemente de aquellos que caracterizan a los vertebrados. Estos hallazgos ponen de manifiesto que la evolución del sistema inmune en animales involucra la integración de nuevos módulos sobre una red preexistente de módulos que interactúan entre sí a varios niveles jerárquicos.

ORIGEN DEL SISTEMA INMUNE LINFOCITARIO

El sistema inmune linfocitario puede considerarse como un sistema autónomo y distribuido que carece de un mando central. Interacciones locales entre células circulantes y residentes en distintos tejidos resultan en la emergencia de propiedades sistémicas que mantienen la integridad de los tejidos contra amenazas internas o externas. De las varias células que componen el sistema inmune de los vertebrados, los linfocitos juegan un papel central en el procesamiento de información inmunológica. Estas células reconocen antígenos mediante receptores de membrana y responden a ese reconocimiento activando una serie de eventos efectoros que van desde la inducción de muerte en células propias alteradas y la liberación de factores de comunicación celular, hasta la secreción de anticuerpos que se unen con alta afinidad a los más diversos antígenos. Los linfocitos se originan en los órganos hematopoyéticos a partir de un progenitor linfoide que se diferencia en dos poblaciones principales, los linfocitos B y los linfocitos T. Los linfocitos B producen moléculas de inmunoglobulina que sirven como receptores de antígenos. La interacción de las inmunoglobulinas con el antígeno conduce a la activación, proliferación y diferenciación de los linfocitos B en células secretoras de anticuerpos, llamadas células plasmáticas. Los anticuerpos secretados unen y neutralizan una gran variedad de antígenos incluyendo proteínas solubles y microorganismos. Los linfocitos T expresan también receptores de antígenos en su superficie, los cuales son estructuralmente y evolutivamente relacionados a las inmunoglobulinas

ya que están contruidos a partir de los llamados dominios de inmunoglobulina. Sin embargo, a diferencia de las inmunoglobulinas, los receptores de células T (TcR) no reconocen el antígeno directamente sino que requieren de moléculas presentadoras del antígeno, conocidas como las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Las moléculas del MHC están en la superficie de todas las células nucleadas y unen fragmentos peptídicos generados a partir del procesamiento del antígeno, para luego ser presentados a los TcRs de los linfocitos T. La interacción trimolecular TcR-peptido-MHC induce la activación de los linfocitos T, los cuales proliferan y se diferencian en células citotóxicas o células productoras de moléculas de comunicación, colectivamente conocidas como citoquinas. Las citoquinas amplifican la respuesta inmune actuando sobre una gran variedad de células que llevan a la instauración un proceso inflamatorio, el cual es en efecto el campo de batalla inmunológico. La activación de los linfocitos resulta también en la generación de células de memoria, las cuales permanecen en un estado quiescente hasta un segundo contacto con el mismo antígeno, produciendo una activación más rápida y una respuesta más intensa que la respuesta primaria.

Los anticuerpos y TcRs tienen una diversidad casi ilimitada que les permite reconocer con alta afinidad virtualmente todo el universo antigénico. La diversidad de estos receptores de antígenos, que está en el orden de billones de moléculas diferentes, excede la diversidad de los antígenos. ¿Cómo es posible tal diversidad? Los genes que codifican a los anticuerpos y TcRs están realmente compuestos por centenares de fragmentos génicos, los cuales pertenecen a una de tres familias: V (variabilidad), D (diversidad) y J (unión). Durante la maduración de los linfocitos se activan mecanismos de recombinación somática que ensamblan las regiones codificadoras de los receptores por medio de la unión de un fragmento V, un fragmento D y un fragmento J. Este sistema combinatorio tiene un alto componente de aleatoriedad, de tal forma que cada linfocito ensamblará un receptor diferente. Así, la diversidad del sistema es una función del número de fragmentos génicos de cada familia. La variabilidad resultante aumenta aún más como consecuencia de la unión imperfecta de los fragmentos génicos y de la adición aleatoria de nucleótidos en los sitios de unión entre fragmentos. Los linfocitos resultantes difieren en la especiación por el antígeno, lo cual se explica por diferencias en la secuencia de aminoácidos de sus receptores de antígenos. Cada linfocito tiene una única especiación y el antígeno selecciona al linfocito con la especiación adecuada induciendo su activación y expansión, en un fenómeno conocido como selección clonal (Burnet, 1959). Dado que la generación de la diversidad precede el contacto con el antígeno, este es un sistema anticipatorio. Una consecuencia de esta altísima diversidad de receptores es que se genera una fracción alta de linfocitos que reconocen antígenos propios, los cuales podrían inducir autoinmunidad. Para prevenir estos eventos potencialmente fatales, los vertebrados han evolucionado mecanismos de control de calidad que eliminan linfocitos que portan receptores que reconocen antígenos propios (Boehm y Bleul, 2007).

La presencia de anticuerpos, TcRs y moléculas del MHC está restringida filogenéticamente a los vertebrados mandibulados (gnatostomos), es decir, peces cartilaginosos, óseos y pulmonados, anfibios, reptiles, aves y mamíferos. Adicionalmente, la maquinaria enzimática responsable de la recombinación somática V-D-J en linfocitos, el sistema RAG, está también restringida a gnatostomos. Esta maquinaria está compuesta por dos proteínas específicas de linfocitos, la RAG-1 y RAG-2, que cortan y pegan los fragmentos génicos VDJ para formar las regiones variables de los receptores. El registro fósil indica que los peces cartilaginosos y los vertebrados no mandibulados (agnatas) están separados por cerca de 100 millones de años, una ventana temporal relativamente corta para la emergencia de todo el espectro del sistema inmune linfocitario. Hace tres décadas se observó una curiosa similitud entre la estructura en la línea germinal de los fragmentos génicos que codifican a los receptores de antígeno y la estructura de elementos genéticos móviles (transposones) en pro-

cariotes. En ambos casos la recombinación ocurre entre secuencias repetidas que flanquean el fragmento movilizado. Adicionalmente, se ha demostrado que las RAG tienen actividad de transposasa *in vitro* (Agrawal *et al.*, 1998). Estas observaciones han sugerido que las RAG fueron adquiridas en los vertebrados mandibulados por transferencia horizontal y transposición de genes bacterianos. La adquisición de los genes RAG por los vertebrados ancestrales como parte de un transposón de origen bacteriano pudo haber generado los fragmentos génicos originales a partir de los cuales se originaron los segmentos VDJ. Así mismo, la introducción de la transposasa RAG pudo haber permitido la recombinación somática de estos fragmentos génicos en receptores de membrana preexistentes. En conclusión, el exótico mecanismo de generación de variabilidad en inmunoglobulinas y TcRs por recombinación somática, muy probablemente se originó por la inserción de un fragmento de DNA de origen bacteriano que contenía un transposón acompañado de su transposasa.

MECANISMOS DE GENERACIÓN DE VARIABILIDAD INDEPENDIENTES DE RAG

Las lampreas y los mixínidos son los únicos representantes contemporáneos de los agnatos o vertebrados no mandibulados. Por décadas se ha intentado identificar en estos animales inmunoglobulinas, TcRs o moléculas del MHC, pero no se han encontrado. Sin embargo se sabe que estos animales tienen células linfoides que producen aglutininas específicas de antígeno. Estudios recientes como el de Guo *et al.*, 2009, han mostrado que los agnatos han evolucionado receptores de antígeno altamente variables que no están relacionados estructuralmente con las inmunoglobulinas. Estos receptores se conocen como VLRs (*variable lymphocyte receptors*) y están compuestos por varias repeticiones ricas en leucina (LRRs) y una región invariable proximal a la membrana. Una de las observaciones asombrosas sobre los VLRs es que se expanden clonalmente, es decir, cada linfocito lleva una única especiación para el antígeno, como es el caso para las inmunoglobulinas y los TcRs. La generación de la diversidad de los VLRs es independiente de RAG, aunque también involucra un mecanismo de recombinación somática. En la línea germinal de los agnatos hay dos loci incompletos, llamados *VLRA* y *VLRB*, que solo tienen las secuencias codificadoras para las regiones N-terminal y C-terminal de la molécula madura. Sin embargo, cada locus está flanqueado por cientos de regiones codificadoras para LRRs individuales que sirven para llenar de manera aleatoria el locus incompleto de los VLRs y así formar los loci maduros. La manera como se ensamblan estos genes en los linfocitos de agnatos es por un mecanismo de recombinación conocido como conversión génica, en donde aleatoriamente LRRs individuales se van insertando en la región codificadora de los VLRs. Lo que es aún más sorprendente, es que *VLRA* y *VLRB* se expresan en poblaciones distintas de linfocitos que funcionalmente, al menos *in vitro*, se comportan como linfocitos T y B. Así, dos trayectorias evolutivas independientes han convergido en la generación de receptores de antígenos altamente variables, con mecanismos de generación de variación basados en recombinación somática y que se expresan en poblaciones linfocitarias con funciones distintas y complementarias. Estas trayectorias evolutivas paralelas han usado bloques de construcción distintos, por un lado dominios de inmunoglobulina, y por el otro, LRRs.

Pero los VLRs no son los únicos receptores de antígeno en animales que generan altos niveles de variabilidad de una manera independiente de RAG. La molécula *Dscam* fue descubierta como responsable en parte de la guía axonal en el desarrollo del sistema nervioso en la mosca de la fruta (*Drosophila*) y posteriormente se observó que funciona como un receptor de antígenos (Watson *et al.*, 2005). El mecanismo de generación de variabilidad por las *Dscam*, no obstante, no involucra rearrreglos del DNA sino rearrreglos del RNA en un mecanismo conocido como *splicing* alternativo del RNA. Los genes que codifican a *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 que codifican para dominios de inmunoglobulina, están

realmente compuestos por docenas de casetes, cada uno de los cuales codifica para un único dominio de inmunoglobulina. Después de la transcripción del DNA y durante el proceso de maduración de RNA mensajero, cada molécula escoge aleatoriamente un solo casete de cada uno de los tres exones variables. Así, por un mecanismo combinatorio a nivel del procesamiento de RNA, potencialmente se generan más de 31.000 moléculas de *Dscam* distintas. Adicionalmente, se ha visto que ciertas moléculas están sobre o subrepresentadas dependiendo del tipo de patógeno al que se exponen las células. El caso de la *Dscam* ilustra también que la evolución ha seguido diferentes rutas para generar un repertorio de receptores de antígenos suficientemente diverso para discriminar entre una amplísima gama de antígenos.

ALORRECONOCIMIENTO EN INVERTEBRADOS BASALES

El vasto universo antigénico incluye no solo patógenos potenciales sino también tejidos de individuos de la misma especie. Si bien en organismos solitarios como nosotros el reconocimiento de tejidos provenientes de individuos de la misma especie ocurre solo en situaciones artificiales como los trasplantes, existe una gran variedad de animales en los cuales estos fenómenos de alorreconocimiento son cotidianos. Estos animales son típicamente coloniales y sésiles que crecen como incrustaciones de superficie en sustratos duros, como es el caso de corales o esponjas. Mientras la colonia crece bidimensionalmente, la probabilidad de entrar en contacto célula-célula con miembros de su misma especie aumenta. Los contactos pueden resultar en fusión entre las colonias, formando una colonia quimérica más grande y por lo tanto con mayor capacidad para adquirir recursos energéticos. La mayoría de los contactos, no obstante, resultan en rechazo entre colonias, proceso que es mediado por diversos mecanismos efectores que inducen una respuesta inflamatoria en el sitio de contacto previniendo la fusión. La razón por la cual existen estos fenómenos de fusión/rechazo en organismos coloniales se puede explicar desde la biología de sus ciclos de vida. Estos organismos, a diferencia de la mayoría de organismos solitarios, no secuestran la línea germinal en etapas tempranas de desarrollo. Por el contrario, son capaces de generar células germinales en cualquier momento de sus vidas a partir de células madre pluripotenciales que circulan constantemente en la colonia. Estas células además de diferenciarse en gametos, también lo pueden hacer en los varios tipos de células somáticas que componen la colonia. Cuando dos colonias se fusionan, es posible que las células madre de una colonia migren hacia la otra, y si las dos colonias difieren en el régimen con el cual se diferencian en células germinales versus somáticas, una colonia puede generar una fracción desproporcionada de gametos con respecto a la otra. Así, la colonia más propensa a diferenciar sus células madre en células germinales “parasitará” a la colonia más propensa a generar primordialmente células somáticas. Cuando la quimera se reproduzca, el genoma de la colonia que genere más gametos estará mayoritariamente representada en la siguiente generación. Es por esto también que la probabilidad de fusión entre colonias es directamente proporcional a la similitud genética entre las colonias. Este parasitismo de células germinales ha sido la principal fuerza selectiva para promover la evolución de mecanismos de alorreconocimiento en invertebrados coloniales. Las moléculas responsables del alorreconocimiento hasta ahora se están empezando a estudiar, y se han caracterizado candidatos en el cnidario *Hydractinia* (Nicotra *et al.*, 2009) y el ascidio *Botryllus* (De Tomaso *et al.*, 2005). Las moléculas de alorreconocimiento en estas dos especies tienen en común ser parte de la superfamilia de las inmunoglobulinas y ser altamente variables. Los mecanismos de generación de variabilidad, sin embargo, aún se desconocen.

HACIA UNA TEORÍA UNIFICADA SOBRE LA EVOLUCIÓN DE LA INMUNIDAD

Desde que Elie Metchnikoff en la segunda mitad del siglo XIX describió la función inmunológica de células fagocíticas en larvas de estrellas de mar, ha habido interés por establecer las

relaciones evolutivas entre los mecanismos de respuesta inmune de vertebrados e invertebrados. Hasta no hace mucho tiempo, se consideraba que todos los animales poseen un sistema inmune innato con limitada variabilidad y especiación y que solo los vertebrados tienen un sistema inmune adaptativo. El sistema inmune innato lo conforma un amplio espectro de estrategias inmunes, que van desde barreras fisiológicas y anatómicas, hasta el sistema del complemento y los receptores de reconocimiento de patrones moleculares como los TLRs (*toll-like receptors*). Muchas de estas estrategias aparecieron temprano en la evolución de los metazoarios y se han conservado sin mayores modificaciones en vertebrados. Ciertamente, componentes del sistema del complemento, un set de proteínas séricas que funcionan en lisis celular, opsonización y amplificación de la respuesta inflamatoria, y algunos receptores de reconocimiento de patrones moleculares como los TLRs, se han conservado desde esponjas hasta humanos. El sistema inmune linfocitario o adaptativo apareció casi súbitamente en este transcurso y sobrepuesto al sistema inmune innato, confiriéndole a los vertebrados mandibulados una nueva manera de reconocer el universo antigénico y responder apropiadamente contra este. Esta innovación proporcionó la posibilidad de anticipar el reto inmune mediante la generación de incontables clones de células inmunes con especiaciones diferentes contra el antígeno. El antígeno simplemente selecciona el clon, el cual se activa y prolifera, dejando a su paso células de memoria competentes para montar una respuesta mucho más rápida e intensa contra el antígeno que inició la respuesta. Variabilidad, especiación y memoria inmunológica, definen pues esta innovación que apareció en vertebrados mandibulados como un complemento a un sistema inmune innato ancestral, invariable e inespecífico.

A la luz de los nuevos descubrimientos sobre sistemas inmunes adaptativos alternos presentes en animales ampliamente divergentes, el modelo tradicional de evolución del sistema inmune es insuficiente. A juicio del autor, los siguientes son algunos esbozos conceptuales que deberían hacer parte de una teoría unificada sobre la inmunidad animal:

1. **Los mecanismos inmunes mantienen la integridad fisiológica y genética del organismo:** los mecanismos de reconocimiento y respuesta inmune no se restringen a la detección y eliminación de microorganismos potencialmente patógenos. El sistema inmune es un sistema homeostático que mantiene la integridad de los tejidos a lo largo de todo el ciclo de vida del organismo. El sistema inmune participa activamente en el adecuado ensamblaje de tejidos y órganos durante la ontogenia, así como también el mantenimiento de su integridad en etapas adultas mediante la detección y eliminación de células senescentes o defectuosas. Así mismo, el sistema inmune mantiene la integridad genética de organismos coloniales, evitando la fusión de individuos no relacionados genéticamente. El mismo Metchnikoff describió este principio general de la función inmune con su concepto de inflamación fisiológica.
2. **El sistema inmune tiene la arquitectura de una red compleja:** el comportamiento de la mayoría de sistemas complejos emerge de la interacción entre sus componentes. Estas redes de interacción describen varios sistemas biológicos, como por ejemplo las vías metabólicas, la regulación de la expresión génica y las interacciones proteína-proteína, que se caracterizan por tener una topología libre de escala. Estas topologías siguen una ley de potencias, en donde la gran mayoría de los nodos tienen muy pocos vínculos, mientras que unos pocos nodos están altamente conectados. Una consecuencia de esta topología es el fenómeno de unión preferencial o (“el-rico-se-hace-más-rico”), en donde la probabilidad de que un nodo altamente conectado adquiera un nuevo vínculo es mayor que la de un nodo sin muchas conexiones. No hace falta forzar demasiado la imaginación para considerar el sistema inmune como una arquitectura de red compleja.

Existen redes de interacción entre células, entre receptores y sus ligandos, entre citoquinas, entre anticuerpos (la famosa red idiotipos-antiidiotipos), etc.

3. **Las redes inmunes son modulares y jerárquicas:** ciertamente, uno de los principios arquitectónicos de los organismos vivos es la modularidad. Los módulos son conjuntos de elementos altamente integrados y cuasiindependientes de otros módulos. La arquitectura modular de los organismos vivos les confiere una mayor robustez ante perturbaciones y les permite una mayor plasticidad evolutiva, pues los módulos pueden actuar como unidades de selección natural, proveyendo que estos cumplan la máxima darwiniana de descendencia con modificación. Los módulos pueden originarse de otros módulos preexistentes mediante adquisición de nuevas funciones. Tal es el caso de las moléculas *Dscam* que inicialmente evolucionaron como moléculas importantes en la guía axonal y que luego fueron cooptadas por los amebocitos de artrópodos para actuar en el reconocimiento de antígenos. En el contexto inmune podemos pensar varios módulos: el sistema inmune linfocitario, el sistema de reconocimiento inmune mediado por *Dscam* o *VLR*, el sistema complemento, etc. El sistema inmune, así como los organismos mismos, tiene una arquitectura modular. Pero estos módulos se pueden organizar para formar una red jerárquica. Un ejemplo relevante sería la integración de los módulos de las citoquinas, la inmunidad celular y la inmunidad humoral en el módulo del sistema inmune linfocitario o adaptativo de los vertebrados.
4. **El sistema inmune funciona como un procesador en paralelo:** los distintos módulos que componen el sistema inmune procesan información de distinta naturaleza y responden de manera distinta a los estímulos. Sin embargo, las respuestas de cada uno de los módulos afecta a su vez el procesamiento de información y las respuestas de los otros módulos. Por ejemplo, los linfocitos B reconocen la conformación de los antígenos mediante sus inmunoglobulinas de membrana, mientras que los linfocitos T reconocen una pequeña muestra de la secuencia primaria del antígeno. Sin embargo, la respuesta inmune global resulta de la integración de estas dos visiones de un mismo objeto. Los agentes inmunes, en este caso los linfocitos B y T, intercambian información que modifica el comportamiento de cada agente que se traduce en un reconocimiento global del antígeno. Así, el procesamiento en paralelo del sistema inmune se refiere al uso de diferentes mecanismos para un mismo objetivo.

CONCLUSIÓN

El sistema inmune de los animales es una red modular y jerárquica que mantiene la homeostasis de los tejidos, así como también la integridad fisiológica y genética de los organismos. La topología de las redes inmunes permite una constante comunicación entre módulos que continuamente modifica el comportamiento de cada módulo. De este modo, el sistema inmune responde a perturbaciones internas de una manera dependiente de contexto. Durante la evolución de los animales nuevos módulos han aparecido mientras que otros posiblemente se han perdido.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los integrantes del grupo de Inmunología Evolutiva por proporcionarme un ambiente estimulante para la discusión. Al profesor Eugenio Andrade por su invitación a participar en el Simposio Internacional Darwin 200 años y en la Cátedra de Sede José Celestino Mutis: Darwin 200 años.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRAWAL A, EASTMAN QM, SCHATZ DG. Transposition mediated by RAG-1 and RAG-2 and its implications for the evolution of the immune system. *Nature*. 1998;395: 744-751.
- BURNET FM. *The clonal selection theory of acquired immunity*. Nashville: Vanderbilt University Press; 1959.
- BOEHM T, BLEUL CC. The evolutionary history of lymphoid organs. *Nature Immunol*. 2007;8:131-135.
- DE TOMASO AW, NYHOLM SV, PALMERI KJ, ISHIZUKA KJ, LUDINGTON WB, MITCHEL K, WEISSMAN IL. Isolation and characterization of a protochordate histocompatibility locus. *Nature*. 2005;438:454-459.
- GUO P, HIRANO M, BRANTLEY R, HERRIN BR, LI J, YU C, SADLONOVA A, COOPER MD. Dual nature of the adaptive immune system in lampreys. *Nature*. 2009;459:796-902.
- NICOTRA ML, POWELL AE, ROSENGARTEN RD, MORENO M, GRIMWOOD J, LAKKIS FG, DELLAPORTA SL, BUSS LW. A hypervariable invertebrate allodeterminant. *Curr Biol*. 2009;19:583-589.
- WATSON FL, PÜTTMANN-HOLGADO R, THOMAS F, LAMAR DL, HUGHES M, KONDO M, REBEL VI, SCHMUCKER D. Extensive diversity of Ig-superfamily proteins in the immune system of insects. *Science*. 2005;309:1874-1878.