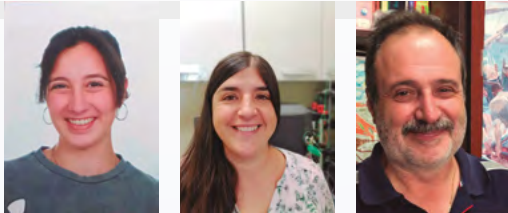




## El sistema inmune de los insectos: algo más complejo que simples barreras



LLEDÓ RODRÍGUEZ, PATRICIA HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ,  
BALTASAR ESCRICHE

Instituto BIOTECMED, Departamento de Genética,  
Universitat de València.

En los últimos años se ha producido un aumento de toma de conciencia sobre la importancia económica y social de los insectos. Aunque algunos pueden ser perjudiciales ocasionando problemas de salud pública o pérdidas económicas relacionadas con las plagas en cultivos, muchos son esenciales en procesos como la polinización, además de tener aplicaciones como la producción de biomasa o su uso como agentes de control biológico. Todos estos factores han contribuido a que se produzca un aumento del número de estudios relacionados con el sistema inmune de los insectos, lo cual ha ayudado a conocer el funcionamiento de estos animales. Se han observado similitudes con el sistema inmune de los mamíferos, además de descubrir la denominada sensibilización del sistema inmune (más comúnmente conocida por su terminología inglesa "immune priming"), lo que ha provocado que se rompa con la asunción de simplicidad que tradicionalmente se les ha asociado. Todo esto ha permitido la optimización de muchas aplicaciones importantes.

### Introducción

Los insectos representan el grupo más grande y diverso de animales de la Tierra (1), formado por más de 900.000 especies (2). Esta gran diversidad ha dado lugar a que se establezcan una gran variedad de órdenes diferentes de insectos.

Los insectos son animales invertebrados pertenecientes al filo de los artrópodos (3) y subfilo de los hexápodos que poseen un cuerpo duro gracias a la cutícula que presentan en su superficie. El cuerpo está dividido en tres zonas bien definidas: abdomen, tórax y cabeza. Poseen tres pares de patas y un par de antenas; la inmensa mayoría posee dos pares de alas cuando se convierten en adultos, aunque a veces desarrollan únicamente un par o ninguno (4). Esta estructura (**Figura 1**) es común a todos los insectos. En relación a su desarrollo, este grupo animal está caracterizado por llevar a cabo un proceso

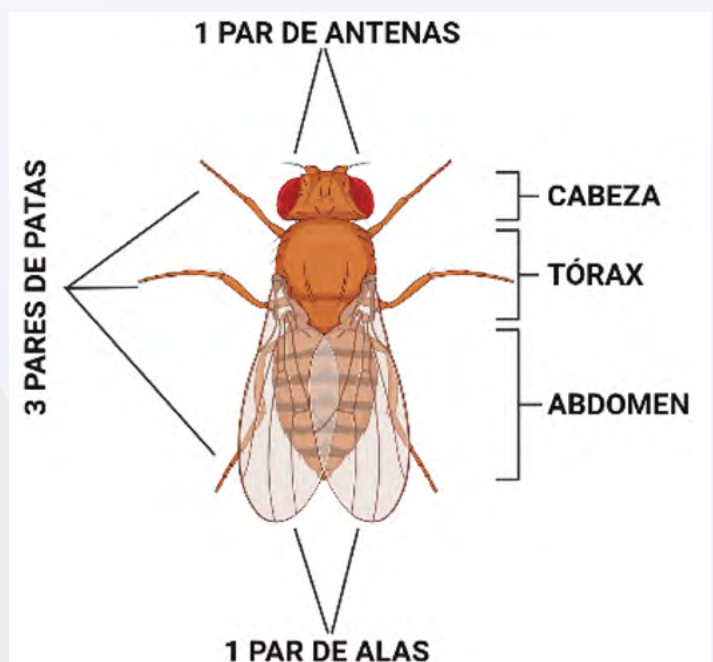


FIGURA 1. Estructura corporal común de los insectos. El modelo tomado en la imagen es una hembra de *Drosophila melanogaster*.



de metamorfosis, el cual comienza después de la eclosión del huevo hasta que alcanzan la fase adulta. La mayoría de los insectos experimentan una metamorfosis completa o transformación holometabólica. En cada fase de esta transformación (huevo, larva, pupa y adulto), el insecto presenta una morfología diferente a la que a la que presentaba en la fase anterior y a la que presentará en la fase adulta (5). Otros insectos presentan una metamorfosis incompleta o transformación hemimetabólica. En este caso, el huevo eclosiona y da lugar a un insecto en estado de ninfa que pasa por diferentes estados en los que, normalmente, no sufre grandes cambios físicos o morfológicos; muchas veces tiene una apariencia similar a la que adquirirá, finalmente, en la fase adulta (6).

#### a. TIPOS DE INSECTOS

Desde una visión antropocéntrica, los insectos se pueden distribuir en numerosas categorías o clases en función del impacto económico y social que tienen. Algunas de las clases más importantes por dicho impacto son las clases de las que se va a hablar a continuación.

#### i. Insectos para la producción de biomasa

Un aumento continuo de la población se traduce en un incremento considerable de la demanda de alimentos. Esto ha llevado a la necesidad de buscar alternativas sostenibles a los productos obtenidos mediante la ganadería tradicional.

La cría de insectos representa muchas ventajas frente a la cría de animales de ganadería convencionales tal y como se muestra en la **Figura 2**. Tienen gran valor nutricional por su elevado contenido en proteínas, grasas, vitaminas y minerales, además de su alto porcentaje comestible. Requieren poco

Animal y porcentaje comestible	Espacio (m <sup>2</sup> )	Comida (Kg)	Agua (·10 <sup>3</sup> L)	Emisión CO <sub>2</sub> (Kg)	Proteína /100g (%)
 40	250	10	15'5	40	40
 55	70	5	6	50	20
 55	70	2'5	4	40	31
 80	40	1'5	2'5	25	69

**FIGURA 2.** Tabla comparativa del impacto económico y ambiental, e información nutricional entre animales de granja convencionales e insectos. Imagen inspirada en los resultados de (8), (9) y (10). En el interior de un círculo amarillo situado junto a la imagen de cada animal se indica el porcentaje comestible del mismo. El resto de parámetros corresponden al espacio (metros cuadrados), cantidad de alimento (kilogramos) y cantidad de agua ( $\times 10^3$ ) necesario para la cría del animal; la cantidad de gas CO<sub>2</sub> que emiten durante su cría; y el porcentaje de proteína que presenta su carne cada 100 gramos.



espacio para su crecimiento y relativamente poca cantidad de agua y alimento. Las emisiones de CO<sub>2</sub> son menores en la cría de insectos que en la de animales de granja convencionales. Es importante tener en cuenta que son omnívoros y pueden crecer utilizando diferentes sustratos. Muchos de ellos son descomponedores de materia orgánica muerta, uno de los residuos generados por la actividad antropogénica. Esto permite la reducción de los desechos (7).

#### ii. Insectos polinizadores

Los insectos establecen interacciones de diferente naturaleza con las plantas. La principal posiblemente sea la polinización y dispersión de las semillas. Un tercio de la producción global de cultivos destinados al uso humano depende de la polinización llevada a cabo por insectos, además de ser necesarios para mantener la propagación de especies de plantas silvestres importantes o en peligro de extinción (11). Cabe destacar que las abejas son responsables aproximadamente del 70% de la polinización llevada a cabo por insectos (12), siendo las moscas el segundo grupo de polinizadores (13).

#### iii. Insectos como vectores de enfermedades

Los insectos son capaces de actuar como vectores de algunos agentes inductores de enfermedades actuando como vehículos de transmisión entre individuos (animales y plantas) sin sufrir ninguna patología (14).

Un ejemplo ampliamente estudiado de agentes infecciosos cuya transmisión es mediada por artrópodos son los virus arbovirus, entre los cuales se incluyen el virus del dengue, el virus de la fiebre amarilla, el virus del Nilo occidental, y el virus del zika. Todos ellos son transmitidos por dípteros, perteneciendo los más destacables a la familia Culicidae (15). También tienen un impacto importante algunos parásitos, como el parásito causante de la enfermedad de la malaria (16).

#### iv. Insectos empleados en la lucha biológica

Los insectos pueden establecer diferentes interacciones entre ellos. En base a ellas se pueden establecer, entre otros, dos tipos de insectos: parasitoides y depredadores. Ambos se caracterizan por causar la muerte de otros insectos, por lo que se pueden utilizar como agentes de control biológico.

Los insectos parasitoides son aquellos cuyas larvas se desarrollan a expensas de una alimentación a base del cuerpo de un hospedador introduciéndose en el cuerpo del mismo. Se estima que existen entre medio millón y dos millones de especies de insectos parasitoides dispersados por ambientes terrestres y acuáticos, mayoritariamente moscas y avispa (17). Por otro lado, los insectos depredadores se alimentan a base de otros insectos, pero sin introducirse en su interior (18).

#### v. Insectos plaga

Los insectos también resultan la causa de importantes pérdidas de cultivos traducidas en pérdidas económicas. Los responsables son los denominados insectos fitófagos, insectos plaga, los cuales utilizan determinadas plantas como base de su alimentación (19). Aunque este apartado se focaliza en las plagas relacionadas con los cultivos, existen plagas urbanas causadas por insectos sinantrópicos como moscas o cucarachas que habitan en ecosistemas urbanos aprovechando los desechos generados por los humanos como fuente de alimentación y/o reproducción. Estos transmiten patógenos generalmente por transmisión y dispersión mecánica mediada por el exosqueleto o por la regurgitación y representan un problema mayoritariamente de salud pública (20).

Por las grandes pérdidas que suponen estos insectos fitófagos es necesario realizar un control adecuado sobre ellos. No obstante, los métodos tradicionales como el uso de insecticidas químicos suponen un aumento de la contaminación, por lo que actualmente se está trabajando en alternativas ecológicas que ayuden a llevar a cabo este control de una forma eficiente sin impactar sobre el medio ambiente (19, 21).





FIGURA 3. Comparación del esquema general del sistema inmune de mamíferos e insectos.

### Generalidades del sistema inmune de los insectos

Hasta hace relativamente pocos años, la información que se tenía sobre el sistema de los insectos configuraba un esquema muy simple. Este esquema ha ido haciéndose más complejo y se ha observado que existe una similitud entre el sistema inmune de los insectos y el de los mamíferos, siendo los segundos considerados los animales más evolucionados y por consiguiente más complejos.

El sistema inmune tanto de insectos como de mamíferos basa su acción en la activación de diferentes respuestas cada vez más complejas que se activan de forma secuencial cuando una respuesta es insuficiente para frenar la acción del agente patógeno. Insectos y mamíferos comparten tres de estas respuestas, como se observa en la **Figura 3**: barreras físico-químicas, respuesta innata y sensibilización del sistema inmune. Además, los mamíferos poseen una última respuesta específica denominada respuesta adaptativa, hasta ahora desconocida en insectos. Se basa en el reconocimiento específico del antígeno por parte de los linfocitos B y T, los cuales se activan y se diferencian en células efectoras que dan lugar a los anticuerpos específicos (22).

#### a. Barreras físico-químicas

Se trata de la primera línea de defensa de la que consta el sistema inmune tanto de mamíferos como de insectos. En mamíferos las tres barreras físicas principales son piel, sangre y mucosas. Los insectos presentan cutícula, hemolinfa y matriz peritrófica, análogas respectivamente a las tres barreras mencionadas en mamíferos (23).

#### b. Respuesta inmune innata

Cuando el antígeno consigue atravesar las barreras físico-químicas, el sistema inmune activa la respuesta innata, una respuesta inespecífica que trata de eliminar al antígeno independientemente de cuál sea su naturaleza (23), aunque a partir de este punto el texto se va a enfocar en la respuesta a patógenos (agentes capaces de causar enfermedades a su huésped). Las defensas del sistema inmu-





ne innato poseen receptores de reconocimiento de patrones de patógenos (PRRs, del inglés "Pattern Recognition Receptor") que se activan tras reconocer los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, del inglés "Pathogen-associated molecular patterns"). La ubicación de estos PRRs es diversa, aunque tanto en mamíferos como en insectos se han encontrado en los receptores tipo Toll (TLRs, del inglés "Toll Like Receptors"). La activación de los PRRs desencadena la activación de las respuestas propias de la respuesta innata (24).

Aunque muchos de los procesos que forman parte de la respuesta innata son comunes en insectos y mamíferos, existe una diferencia importante. En mamíferos la activación de estos procesos se basa en el proceso de inflamación, que provoca la migración de células y moléculas del sistema inmune que inician procesos como la fagocitosis, producción de enzimas líticas, generación de especies reactivas del oxígeno (ROS, del inglés "Reactive Oxygen Species"), síntesis de péptidos con actividad antimicrobiana (AMPs, del inglés "Antimicrobial Peptides"), acción del enzima óxido nítrico sintetasa (NOS, del inglés "Nitric Oxide Synthetase"). Mientras, en insectos la respuesta innata se encuentra dividida en respuesta celular (fagocitosis, nodulación y encapsulación) y respuesta humoral [melanización y sistema profenoloxidasa (ProPO, del inglés "Prophenoloxydase System"), producción de AMPs, generación de especies ROS (25), generación de especies reactivas de nitrógeno (NRS, del inglés "Nitrogen Reactive Species"), la acción del enzima NOS, la coagulación y dos rutas inmunológicas: ruta TOLL y la ruta de señalización de la deficiencia inmune (IMD, del inglés "Immune Deficiency Signaling Pathway") (24).

### i. Fagocitosis, nodulación y encapsulación

Los procesos de la respuesta innata celular son llevados a cabo por los diferentes tipos de hemocitos (granulocito, esferulocito, oenocito, adipohemocito, coagulocito, plasmacito), células que se encuentran en circulación en la hemolinfa del insecto y que provienen de la diferenciación de una célula inicial denominada prohemocito. Los hemocitos que intervienen mayoritariamente en estos procesos son los plasmacitos y granulocitos (24), ya que son los únicos que se adhieren a moléculas extrañas y patógenas (26), aunque también son importantes los oenocitos.

La fagocitosis consiste en el engullimiento de agentes invasores pequeños mediante hemocitos de forma individual (27). Se inicia cuando un cuerpo extraño es reconocido como tal y diferentes proteínas de la membrana plasmática de los hemocitos se unen a ella. El cuerpo extraño queda envuelto en un fagosoma, el cual se fusiona con un lisosoma que contiene enzimas hidrolíticas capaces de digerir el patógeno (28). Además, el hemocito produce ROS y NRS, tóxicos para el patógeno y, capaces de desencadenar la respuesta humoral (26).

La nodulación y encapsulación actúan de manera conjunta contra grupos de patógenos o patógenos grandes que no pueden ser eliminados por un hemocito de forma individual. Se inicia en los primeros minutos después de la penetración del patógeno en la hemolinfa. Se basa en la formación de una cápsula, proceso que tarda entre 2 y 24 horas en función del insecto. No obstante, se considera que la cápsula está formada por completo a las 72 horas (27). Cuando el patógeno es reconocido por los PRRs, diferentes tipos de hemocitos se adhieren siguiendo un patrón de agregación que es diferente en función del tipo de insecto. Fenotípicamente se observa una cápsula proteica oscura en cuyo interior se encuentra el patógeno invasor (29).

### ii. Melanización

Uno de los procesos más importantes en el sistema inmune de los insectos es la melanización. Este proceso se desencadena a partir de la activación del sistema profenoloxidasa (ProPO) (**Figura 4**). La enzima ProPO requiere de una activación proteolítica llevada a cabo por la proteasa activadora de la proPO (PAP, del inglés "prophenoloxidase-activating protease"). PAP se encuentra inicialmente inactiva (pro-PAP), además de estar inhibida por la proteína Spn27. Cuando se requiere del proceso de melanización se sintetiza un inhibidor de Spn27 (26) y una inmunoproteína media la activación de PAP (30). PAP activa a ProPO y se inicia una cascada que finaliza con la producción de melanina (31) junto con otras proteínas que forman una vaina capaz de asfixiar y matar al patógeno gracias a compuestos tóxicos que produce (26).



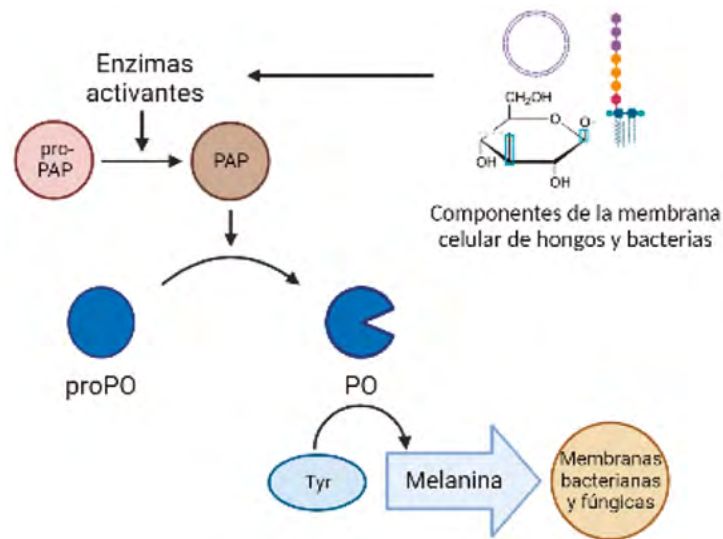


FIGURA 4. Esquema del sistema profenoloxidasas (ProPO) en insectos.

### iii. Producción de péptidos antimicrobianos (AMPs)

Los péptidos con actividad antimicrobiana no son exclusivos de insectos, sino que están también presentes en plantas y otros animales. Basan su mecanismo de acción en el ataque a la membrana celular del patógeno (23). Los AMPs son polímeros simples, péptidos cortos con una estructura secundaria anfipática en la que los aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos quedan espacialmente separados, adquiriendo una carga neta catiónica. Las membranas de las bacterias tienen una carga neta negativa, de forma que los AMPs son atraídos electrostáticamente hacia la membrana bacteriana, se abren camino hacia el interior de la célula bacteriana formando poros y causando su lisis y muerte (32).

### iv. Enzima óxido nítrico sintetasa (NOS)

El papel de esta enzima se ha podido describir en insectos gracias a la conservación que se ha observado con los mamíferos, aunque el peso de su acción en mamíferos es bajo. En insectos, la enzima NOS interviene en la degradación de patógenos en el interior de la vacuola sintetizando óxido nítrico ( $\text{NO}^-$ ), capaz de pasar al interior de la vacuola por la membrana vacuolar y cooperar con otras moléculas como el oxígeno ( $\text{O}_2$ ), anión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), anión peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), grupo hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) y ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ) (Figura 5) (24).

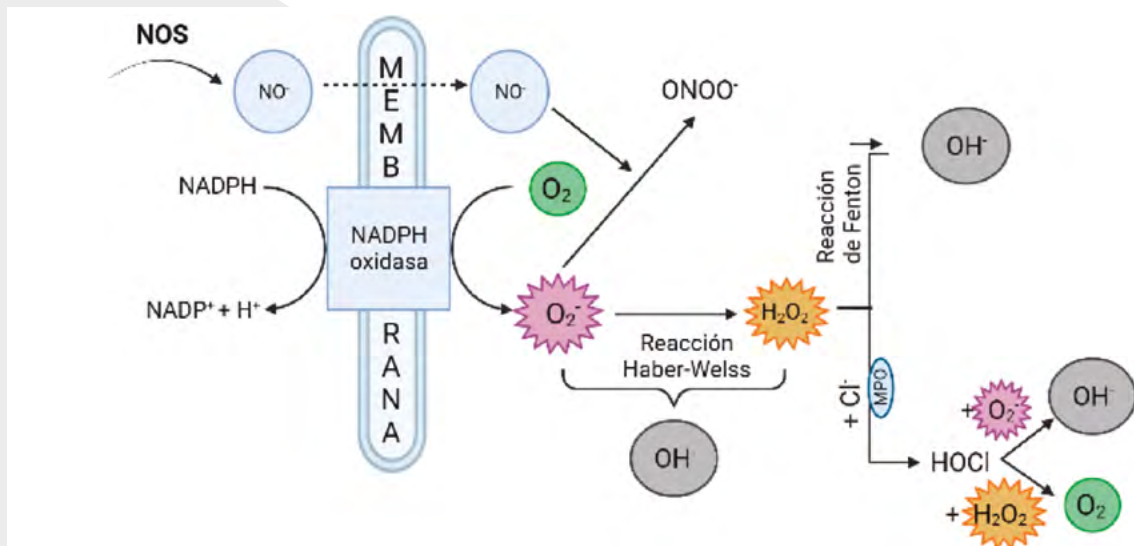


FIGURA 5. Esquema del papel de la óxido nítrico sintetasa (NOS) en la degradación de patógenos en el interior de la vacuola.



## v. Coagulación

El proceso de coagulación y su similitud con la coagulación en mamíferos está muy bien descrita, aunque en mamíferos forma parte de la respuesta adaptativa. La coagulación induce la formación de complejos insolubles matriz-coágulo en el sistema circulatorio. En insectos el proceso se inicia con la desgranulación de plasmátocitos, segregando granulocitos activos. Los granulocitos junto con otras proteínas plasmáticas y la melanina generada por el sistema ProPO llevan a cabo la coagulación (31).

## vi. Rutas Toll e IMD

Se trata de dos rutas inmunológicamente muy importantes en insectos. La ruta Toll se inicia con la activación de un receptor tipo Toll que es común entre mamíferos e insectos. Al descubrir que el receptor Toll en insectos (el cual interviene en la formación del eje dorso-ventral) (33) y el receptor Toll tipo 4 de mamíferos (activación de la ruta inmune del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-KB, del inglés "Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)) presentan una elevada similitud se pensó que el receptor Toll en insectos podría tener algún papel en el sistema inmune de éstos. Se descubrió entonces que este receptor Toll en insectos se activa al reconocer proteínas de reconocimiento del peptidoglicano bacteriano activas (PGRPs, del inglés "peptidoglycan recognition proteins"), iniciando una cascada que finaliza con la activación de la transcripción de los genes envueltos en la producción de AMPs que actúan mayoritariamente frente a bacterias Gram-positivas (31). Esta ruta Toll se relaciona con el sistema inmune de los mamíferos si se estudia la activación del receptor Toll tipo 4, la cual desencadena la activación de dos rutas inmunes: la ruta quinasas c-Jun N-terminal y la ruta NF-KB, cuyas respuestas incluye, entre otros procesos, la producción de AMPs antibacterianos.

Por otro lado, la ruta IMD se inicia en insectos por la unión del peptidoglicano bacteriano a las PGRPs. Esto conlleva a el reclutamiento de un dominio de muerte celular (IMD), una proteína adaptadora (dFADD) y una caspasa (DREED). Esto inicia una cascada que finaliza con la activación de la transcripción de los genes envueltos en la producción de AMPs que actúan mayoritariamente frente a bacterias Gram-negativas y hongos, además de inducir la apoptosis (un tipo de muerte celular programada). De una manera análoga, en mamíferos se activa la ruta de la necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , del inglés "Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ") por la unión del factor TNF- $\alpha$  al receptor del factor de necrosis de tumor R1. Su activación induce el reclutamiento de RIP-1, FADD y la caspasa 8, homólogos a IMD, dFADD y DREED de insectos. Se inicia una cascada que finaliza con la activación de la transcripción de genes envueltos en la apoptosis y la producción de moléculas propias de la respuesta inmune (33, 31).

## c. Sensibilización del sistema inmune en insectos

Hace aproximadamente una década, se descubrió la denominada sensibilización del sistema inmune en insectos, sobre la que se ha avanzado considerablemente durante los últimos años, aunque todavía se encuentra en investigación. Ésta es una respuesta que se basa en que, tras un primer contacto (en inglés, "priming"), tienen lugar cambios en los parámetros que forman parte de los procesos de la respuesta innata del insecto. Esto causa que su sistema inmune se encuentre en un estado de alerta o prevención para un contacto posterior (en inglés, "challenge"), ya sea con el mismo agente o con otro, dependiendo del caso (29). La sensibilización del sistema inmune ha demostrado aumentar la supervivencia de los insectos en muchos casos. Se pueden estudiar diferentes ejemplos. Se ve una tasa de supervivencia mayor en exposiciones posteriores al someter previamente a diferentes insectos a un primer contacto con *Bacillus thuringiensis*, *Staphylococcus aureus* o *Escherichia coli*, pero no se obtiene el mismo resultado tras un primer contacto con *Serratia entomophila* (34). Si se somete a *Galleria mellonella* a un primer contacto con el hongo letal para este insecto *Candida albicans* el insecto consigue sobrevivir en contactos posteriores con dicho hongo (35). Si se somete a un primer contacto a la oruga *Manduca sexta* con una cepa no patogénica de *E. coli* el insecto queda protegido en contactos posteriores frente a la bacteria *Photobacterium luminescens* (36). Se observa como el patrón es diferente en función del insecto y del agente inductor de la respuesta, pero todos los casos tienen en común un aumento de la supervivencia del insecto tras un primer contacto.



Sin embargo, no todos los insectos poseen esta respuesta ni todos los patógenos son capaces de inducirlos. Un ejemplo de insectos que carecen de sensibilización del sistema inmune es el de los insectos que tienen forma de vida colonial, aunque no se cumple de forma universal (37). El hecho de que estos insectos carezcan de este mecanismo de defensa parece deberse a que poseen otros mecanismos que eliminan la necesidad de presentar una respuesta inmune individual prolongada en el tiempo, como defensas colectivas que impiden la dispersión del patógeno a través de la colonia. Además, el coste energético de la sensibilización del sistema inmune es elevado, por lo que la intensidad de la respuesta será proporcional a su necesidad y, por tanto, a la peligrosidad de la infección (35). Es importante no confundir esta respuesta con la respuesta adaptativa de mamíferos, ya que no se presenta sus características esenciales: especificidad (no se ha encontrado un patrón actualmente) (34, 36), duración a largo plazo (la duración media es de 14 días) (29) y respuesta inmune bifásica (este patrón solo se ha visto en la producción de AMPs y no en todos los casos) (38).

Generalmente, el efecto de la sensibilización del sistema inmune se caracteriza mediante medidas sobre los cambios que sufren los parámetros propios de los procesos de la respuesta innata después de un primer contacto con un agente inductor de la sensibilización del sistema inmune: densidad de hemocitos (relación con la fagocitosis) (29, 35, 36, 34), producción de AMPs (34), encapsulación (29) y melanización (38) principalmente, además de la activación de las rutas Toll e IMD.

En relación a las rutas Toll e IMD se observa una activación general de ambas rutas tras someter a los insectos a un primer contacto (39). El buen funcionamiento de la ruta Toll parece necesario para que el efecto del primer contacto tenga lugar, ya que mutantes de componentes clave de esta ruta no manifiestan los beneficios de esta respuesta (38). Esto ha sido respaldado por otro estudio en el que se sometió a mutantes de *D. melanogaster* para diferentes elementos inmunes clave a diferentes contactos previos con *S. pneumoniae* (36). Es posible comparar estos resultados con la regulación de la expresión génica de los genes envueltos en las rutas Toll e IMD. Al someter a un insecto a un primer contacto con un agente inductivo de la sensibilización del sistema inmune (cepa *Btt* de *B. thuringiensis*) no se observan diferencias significativas en la regulación de los genes envueltos en la ruta IMD respecto al mismo insecto sometido a un primer contacto con un agente no inductivo (cepa *Bt407* de *B. thuringiensis*). Sin embargo, sí se encuentran diferencias significativas en la regulación de los elementos que forman parte de la ruta Toll. Esto parece indicar que existen determinados elementos de la ruta Toll que son activados específicamente durante la sensibilización del sistema inmune (contacto previo con un agente inductivo), posiblemente genes específicos clave para eliminar al patógeno (39).

Por el elevado coste metabólico de la sensibilización del sistema inmune, desarrollar esta respuesta tiene consecuencias en la vida del insecto. Lo interesante es que estas consecuencias se plasman en la reproducción de la descendencia, no en la del propio insecto.

Dichas consecuencias quedan plasmadas mediante la reducción del tiempo útil de reproducción de los descendientes cuyos progenitores han desarrollado la sensibilización del sistema inmune (40). Además, el tiempo de desarrollo larvario de dichos descendientes se ve aumentado respecto al tiempo de desarrollo larvario de insectos control. No obstante, el peso final del insecto tras la eclosión del huevo no varía (41).

#### **i. Factores que influyen en la activación de la sensibilización del sistema inmune**

Inicialmente, es interesante destacar que la inanición no influye en el desarrollo de la sensibilización del sistema inmune, a diferencia de lo esperado en base a la premisa del elevado coste energético y metabólico de la misma (40). Esto no le resta importancia a los numerosos factores que sí influyen en la intensidad y el desarrollo de la respuesta. Una dosis elevada, pero subletal del agente inductor de la respuesta utilizado en el primer contacto dará lugar a una respuesta más intensa y, por tanto, más duradera en el tiempo. Esto se debe a la proporcionalidad entre la peligrosidad de la infección y necesidad de una respuesta inmune y la intensidad de la sensibilización del sistema inmune (35, 29). Además, al ser limitada la duración de esta respuesta, la protección del insecto en una exposición posterior será mayor cuanto menor sea el intervalo temporal entre el contacto previo y dicha exposición.

Por otro lado, si se focaliza el estudio en las bacterias como agentes inductores de la respuesta, se observa una mejor respuesta al utilizar bacterias Gram-positivas frente Gram-negativas y entomopa-





tógenas frente no entomopatógenas. Esto se debe a que, en ambos casos, se trata de bacterias que son más amenazantes, y al representar un mayor peligro para la vida del insecto, la intensidad de la respuesta será mayor (34).

La microbiota del insecto es otro punto interesante. Aunque es compleja de estudiar, en base a los resultados de estudios basados en la administración de antibióticos a los insectos antes y después tanto del contacto previo como de la exposición, se ha determinado que la presencia de la microbiota propia del insecto favorece el adecuado desarrollo de la sensibilización del sistema inmune (38, 39).

## ii. Sensibilización del sistema inmune transgeneracional

La sensibilización del sistema inmune transgeneracional (más conocido por su término inglés *transgenerational immune priming*, TgIP) hace referencia al hecho de que la descendencia cuyos progenitores han sido sometidos a un primer contacto con un patógeno adquieren determinada protección y resistencia frente a exposiciones con patógenos tras su nacimiento. Esta respuesta la pueden desarrollar tanto en fase huevo, como larva o adulta. La protección puede ser transferida tanto del progenitor macho como de la hembra (38). Por ejemplo, al someter a *Tenebrio molitor* a un primer contacto con el entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, las hembras ponen huevos que presentan una actividad antimicrobiana mayor que los huevos control. Además, esos mismos descendientes, cuando llegan a su estado adulto, presentan una densidad de hemocitos más elevada que los adultos control (34).

El mecanismo molecular que se encuentra detrás de este proceso no está claro, aunque se proponen algunas posibles explicaciones: 1) se transportan algunos de los componentes de la membrana del patógeno inductor de la respuesta por parte de la hembra al huevo, observado experimentalmente en *Apis mellifera* o *Spodoptera exigua*; 2) se transfieren sustancias presentes en el fluido seminal capaces de inducir esta respuesta en la descendencia, observado experimentalmente mediante genes reporteros; 3) cambios epigenéticos durante la formación del embrión, no observado experimentalmente (38).

Al igual que en la sensibilización del sistema inmune, en la sensibilización del sistema inmune transgeneracional no se puede establecer un patrón concreto de especificidad (34). Otra incógnita es el número de generaciones que puede perdurar este efecto, hecho que depende de la especie de insecto (38, 41). Comparte con la sensibilización del sistema inmune dos aspectos: a) se utilizan los parámetros de los procesos propios de la respuesta innata para medir la respuesta, ya que son los que sufren cambios significativos; b) el hecho de desarrollar una mejor respuesta al utilizar en el contacto previo del progenitor una bacteria Gram-positiva y/o entomopatógena. Por otro lado, se observa una adquisición mayor de protección por parte de los machos que de las hembras por su mayor peso y su mayor nivel de defensas (34, 36).

## Conclusiones

El funcionamiento del sistema inmune de los insectos no puede establecerse bajo la premisa de simplicidad a la que fue sujeto inicialmente. Los avances logrados sobre el conocimiento del sistema inmune de estos animales en las últimas décadas son muchos, destacando entre ellos los relacionados con el descubrimiento de la sensibilización del sistema inmune transgeneracional, una respuesta que posibilita a los insectos aumentar su supervivencia tras sufrir contactos previos con elementos inductores de su sistema inmune. Esta es una respuesta compleja que todavía se encuentra en investigación. En base a estos conocimientos se pueden encontrar múltiples aplicaciones que destacan aún más la importancia de los insectos, como por ejemplo la optimización de la cría masiva de insectos beneficiosos mediante la mejora de su respuesta inmune; o, por el contrario, la mejora de las técnicas de control de insectos mediante el desarrollo de técnicas específicas que permitan prever la respuesta del insecto. Con todo esto, los insectos son un grupo ampliamente diverso y complejo, con un gran impacto social y económico, sobre el cual es conveniente tener un amplio conocimiento por las múltiples aplicaciones en las que se pueden emplear.



## Agradecimientos

Este artículo es parte del proyecto del programa PROMETEO de la Generalitat Valenciana (PROMETEU/2020/010) y del proyecto I+D+i PID2021-122914OB-100, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033/ y por FEDER Una manera de hacer Europa.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Vogel, E., Santos, D., Mingels, L., Verdonckt, T-W. & Vanden, J. RNA interference in insects: protecting beneficials and controlling pests. *Frontiers in Physiology*. 2019; 9:1912-1932
- 2 Göpfert, M. & Heninig, R. Hearing in insects. *Annual Reviews Entomology*. 2016; 61:257-276
- 3 Kartsev, V. Phenoptosis in arthropods and immortality of social insects. *Biochemistry*. 2014; 79:1032-1048
- 4 Torralba-Burrial, A. Orden Embioptera. *IDE@ - SEA*. 2015; 44:1-6
- 5 Rolff, J., Johnston, P. & Reynolds, S. Complete metamorphosis of insects. *Philosophical Transactions B*. 2019; 374:1783-1790
- 6 Truman, J. The evolution of insect metamorphosis. *Current Biology Review*. 2019; 29:1252-1268
- 7 Pinotti, L., Giromini, C., Ottoboni, M., Tretola, M. & Marchis, D. Review: insects and former foodstuffs for upgrading food waste biomasses/streams to feed ingredients for farm animals. *Animal*. 2019; 13:1365-1375
- 8 Quintero, A. Análisis e investigación de la fabricación de alimentos en base a proteínas y nutrientes de larvas de insectos. Pontificia universidad católica de Perú. 2020.
- 9 Ravagli, A. Prospección de los insectos comestibles como fuente de proteína animal para el consumo humano. Universidad Militar Nueva Granada. 2021.
- 10 Gertrudis, E. Desarrollo de nuevos alimentos para consumo humano a base de proteína de insectos. Universitat Politècnica de València. 2020.
- 11 Macgregor, C. & Scott-Brown, A. Nocturnal pollination: an overlooked ecosystem service vulnerable to environmental change. *Emerging Topics in Life Sciences*. 2020; 4:19-32
- 12 Magal, P., Webb, G. & Wu, Y. A spatial model of honey bee colony collapse due to pesticide contamination of foraging bees. *Journal of Mathematical Biology*. 2020; 80:2363-2393
- 13 Garcia, J. E., Hannah, L., Shrestha, M., Burd, M. & Dyer, A. G. Fly pollination drives convergence of flower coloration. *New Phytologist*. 2022; 233:52-61
- 14 Lounibos, L. Invasions by insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology*. 2002; 47:233-266
- 15 Valderrama, A., Diaz, Y. & López-Vergès, S. Interaction of Flavivirus with their mosquito vectors and their impact on the human health in Americas. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017; 492:541-547
- 16 Portillo, A., Ruiz-Arrondo, I. & Oteo, J. Atrópodos vectores en España y sus enfermedades transmisibles. *Medicina Clínica*. 2018; 151:450-459
- 17 Godfray, H. Parasitoids. *Current Biology*. 2004; 14:456
- 18 Jamian, S., Norhisham, A., Ghazali, A., Zakaria, A. & Azhar, B. Impacts of 2 species of predatory Reduviidae on bagworms in oil palm plantations. *Insect science*. 2017; 24:285-294
- 19 Terra, W. & Ferreira, C. Evolutionary trends of digestion and absorption in the major insect orders. *Arthropod Structure & Development*. 2020; 56:100931-100945
- 20 Graczyk, T., Knight, R. & Tamang, L. Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. *Clinical Microbiology Reviews*. 2005; 18:128-132
- 21 Douglas, A. Strategies for enhanced crop resistance to insect pests. *Annual Review of Plant Biology*. 2017; 29:637-660



- 22 Campos-Granados, C. El sistema inmune en los mamíferos: las defensas del cuerpo. *Nutrición Animal Tropical*. 2014; 8:80-93
- 23 Dunn, P. Biochemical aspects of insect immunology. *Annual Reviews Entomology*. 1986; 31:321-339
- 24 Kavanagh, K. & Reeves, E. Exploiting the potential of insects for *in vivo* pathogenicity testing of microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*. 2004; 28:101-112
- 25 García, F., Calzada, A., Rangel, C., Castro, G., Lanz-Mendoza, H., del Río, I. & Hernández, F. Generación de anión superóxido O<sub>2</sub><sup>-</sup> en respuesta a zymosan (β, 1-3 glucanos), activador de la respuesta inmune en la cochinilla fina de nopal (*Dactylopius coccus*: Homóptera). *Revista de Investigación de la Universidad Simón Bolívar*. 2005; 4:4-9
- 26 Lundgren, J. & Jurat-Fuentes, J.L. Physiology and ecology of host defense against microbial invaders. *Insect Pathology*. 2012; 13:461-480
- 27 Dubovskiy, I., Krukova, N. & Glupov, V. Phagocytic activity and encapsulation rate of *Galleria mellonella* larval haemocytes during bacterial infection by *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 2008; 98:360-362
- 28 Hillyer, J. Insect immunology and hematopoiesis. *Developmental and Comparative Immunology*. 2016; 58:102-118
- 29 Wu, G., Zhao, Z., Liu, C. & Qiu, L. Priming *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae with heat-killed bacterial cells induced an enhanced immune protection against *Photobacterium luminescens* TT01 and the role of innate immunity in the process. *Journal of Economic Entomology*. 2014; 107:559-569
- 30 Satyavathi, V., Minz, A. & Nagaraju, J. Nodulation: an unexplored cellular defense mechanism in insects. *Cellular Signalling*. 2014; 26:1753-1763
- 31 Sheehan, G., Garvey, A., Croke, M. & Kavanagh, K. Innate humoral immune defences in mammals and insects: The same, with differences? *Virulence*. 2018; 9:1625-1639
- 32 Zasloff, M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms: my perspective. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2019; 1117:3-6
- 33 Takeda, K., Kaisho, T. & Akira, S. Toll-like receptors. *Current Protocols in Immunology*. 2003; 21:335-376
- 34 Dhinanut, J., Chogne, M. & Moret, Y. Immune priming specificity within and across generations reveals the range of pathogens affecting evolution of immunity in an insect. *Journal of Animal Ecology*. 2017; 87:448-463
- 35 Sheehan, G., Farrell, G. & Kavanagh, K. Immune priming: the secret weapon of the insect world. *Virulence*. 2020; 11:238-246
- 36 Cooper, D. & Eleftherianos, I. Memory and specificity in the insect immune system: current perspectives and future challenges. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8:539-545
- 37 Sadd, B., Kleinlogel, Y., Schmid-Hempel, R. & Schmid-Hempel, P. Trans-generational immune priming in a social insect. *Biology Letters*. 2005; 1:386-388
- 38 Contreras-Garduño, J., Lanz-Mendoza, H., Franco, B., Nava, A., Pedraza-Reyes, M. & Canales-Lazcano, J. Insect immune priming: ecology and experimental evidences. *Ecological Entomology*. 2016; 41:351-366
- 39 Greenwood, J., Milutinović, B., Peuß, R., Behrens, S., Esser, D., Rosenstiel, P., Schulenburg, H. & Kurtz, J. Oral immune priming with *Bacillus thuringiensis* induces a shift in the gene expression of *Tribolium castaneum* larvae. *BioMed Central Genomics*. 2017; 18:329-342
- 40 Khan, I., Prakash, A. & Agashe, D. Pathogen susceptibility and fitness costs explain variation in immune priming across natural populations of flour beetles. *Journal of Animal Ecology*. 2019; 88:1332-1342
- 41 Schulz, N., Sell, M.P., Ferro, K., Kleinhöfing, N. & Kurtz, J. Transgenerational developmental effect of immune priming in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Frontiers in Physiology*. 2019; 10:98-109

