

## K. Patología y Sanidad

### Localización y distribución de células productoras de IgM en tejidos de lubinas infectadas por Nodavirus

Miguel Ángel García-Álvarez<sup>1</sup>, Elena Chaves-Pozo<sup>2</sup>, Alberto Cuesta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Murcia, Murcia, España

<sup>2</sup> Centro Oceanográfico de Murcia, Instituto Español de Oceanografía (COMU-IEO), CSIC, Mazarrón, Murcia, España

#### Resumen

En la defensa de los peces teleósteos frente a patógenos destaca el componente humoral del sistema inmune adaptativo, los anticuerpos, que son producidos por los linfocitos B. La lubina es una de las especies más cultivadas en el sector de la acuicultura de la región mediterránea, sin embargo, diferentes patógenos, como nodavirus (NNV), ponen en peligro su cultivo causando altas tasas de mortalidad. Sin embargo, hay poca información en la participación de los linfocitos B de lubina en la infección por NNV. Por ello, hemos generado un anticuerpo policlonal para investigar dicha relación. Nuestros resultados mostraron que el antisuero es capaz de reconocer la cadena pesada de la IgM de manera específica, así como un aumento de células productoras de IgM en los principales tejidos diana de NNV, evidenciando una posible participación de los linfocitos B en la lucha contra NNV.

#### Introducción

Uno de los mecanismos de reacción más importantes de peces teleósteos frente a numerosos patógenos es la producción de anticuerpos, mediada por linfocitos B, que constituyen la parte humoral del sistema inmune adaptativo y pueden reconocer a específicamente a los patógenos, neutralizando su actividad y participando en su posterior eliminación (Dörner and Radbruch, 2007); siendo la inmunoglobulina M (IgM) el anticuerpo más estudiado en peces (Zhang et al., 2010). En acuicultura, las infecciones virales generan grandes pérdidas a nivel biológico y económico. Concretamente, el principal virus de peces presente en el Mar Mediterráneo es Nodavirus (NNV), capaz de generar la enfermedad conocida como encefalopatía y retinopatía viral, y que, entre otras especies, afecta principalmente a la lubina (*Dicentrarchus labrax*), llegando a producir mortalidades cercanas al 100% en esta especie. Aunque se sabe que la infección por NNV induce la producción de anticuerpos en peces, y también en lubina, se desconoce la distribución de sus células productoras, los linfocitos B. Por ello, nuestro objetivo en el presente trabajo ha sido estudiar la participación de células productoras de IgM durante una infección por NNV en lubina mediante la generación de un anticuerpo policlonal frente a la cadena pesada de la IgM (IgMh).

#### Material y métodos

Para estudiar las células productoras de IgM, se produjo un anticuerpo policlonal en conejos frente a la proteína IgMh. La reactividad y especificidad del antisuero se confirmó mediante Western Blot. Posteriormente, juveniles de lubina fueron infectados con NNV y muestreados a distintos tiempos (Chaves-Pozo et al., 2012). Un grupo sin infectar se empleó como control. Los linfocitos B productores de IgMh se localizaron en secciones histológicas, en los principales órganos diana de NNV, cerebro y ojo, y en riñón cefálico siguiendo un protocolo similar a la descrito por García-Álvarez et al. (2024). Como control negativo se utilizó el suero preinmune.

#### Resultados y discusión

El Western Blot realizado demostró que el anti-IgMh de lubina se une a una única proteína presente en suero sanguíneo de un tamaño cercano a 85kD y similar a la IgMh de otros peces (Purcell et al., 2012). Por otro lado, se observó un aumento de células productoras de IgMh tras la infección por NNV en los tres tejidos estudiados, cerebro, ojo y riñón cefálico. Mientras que en riñón cefálico se alcanzó el máximo número de células positivas a los 15 días post-infección (dpi), en cerebro y ojo se alcanzó a los 30 dpi.

Estos datos se explican a la necesidad que tiene los linfocitos B, una vez seleccionados tras la infección, de llegar al riñón cefálico para madurar, y salir, posteriormente, al torrente sanguíneo antes de alcanzar los tejidos diana afectados. Estos datos se correlacionan con los observados en una infección por nodavirus en el pez mantequilla (*Hippoglossus hippoglossus*), donde las células productoras de IgM aumentaron en la retina y en el riñón cefálico (Grove et al., 2006). Además, estos datos complementan y corroboran el aumento de los niveles de transcripción de *igmh* en tejidos diana tales como la retina, en lubinas infectadas por NNV (Valero et al., 2018).

**Palabras Clave:**

NNV; Lubina; Linfocitos B; IgM.

**Bibliografía:**

Chaves-Pozo, E., F.A. Guardiola, J. Meseguer, M.A. Esteban y A. Cuesta. 2012. Nodavirus infection induces a great innate cell-mediated cytotoxic activity in resistant, gilthead seabream, and susceptible, European sea bass, teleost fish. *Fish & Shellfish Immunology*. 33: 1159–1166.

Dörner, T. y A. Radbruch. 2007. Antibodies and B cell memory in viral immunity. *Immunity*. 27: 384–392.

García-Álvarez, M. A., L- Cervera, Y. Valero, C. González-Fernández, L. Mercado, E. Chaves-Pozo y A. Cuesta. 2024. Regulation and distribution of European sea bass perforins point to their role in the adaptive cytotoxic response against NNV. *Fish & Shellfish Immunology*. 144: 109244.

Grove, S., R. Johansen, L-J. Reitan, C.M.L. Press y B.H. Dannevig. 2006. Quantitative investigation of antigen and immune response in nervous and lymphoid tissues of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) challenged with nodavirus. *Fish & Shellfish Immunology*. 21: 525–539.

Purcell, M.K., E.S. Bromage, J. Silva, J.D. Hansen, S.M. Badil, J.C. Woodson y P.K. Hershberger. 2012. Production and characterization of monoclonal antibodies to IgM of Pacific herring (*Clupea pallasii*). *Fish & Shellfish Immunology*. 33: 552–558.

Valero, Y., B. Boughlala, M. Arizcun, S. Patel, I.U. Fiksdal, M.A. Esteban, J. De Juan, J. Meseguer, E. Chaves-Pozo y A. Cuesta. 2018. Genes related to cell-mediated cytotoxicity and interferon response are induced in the retina of European sea bass upon intravitreal infection with nodavirus. *Fish & Shellfish Immunology*. 74: 627–636.

Zhang, Y.A., I. Salinas, J. Li, D. Parra, S. Bjork, Z. Xu, S.E. Lapatra, J. Bartholomew, y J.O. Sunyer. 2010. IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity. *Nature Immunology*. 11: 827–835.

**Agradecimientos**

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación-Agencia Estatal de Investigación [MCIN/AEI/10.13039/501100011033, proyecto PID2022-139492NB-I00 a AC] y Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER "Una manera de hacer Europa" [proyecto RTI2018-096625-B-C33 a ECP] y por el programa ThinkInAzul (PRTR-C17.I1) el cual es co-financiado por la Unión Europea: NextGenerationEU, el Ministerio de Ciencia e Innovación-Agencia estatal de Investigación: MCIN/AEI 10.13039/501100011033 y la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia: Fundación Séneca..

**Correo del Autor**

elena.chaves@ieo.csic.es