

EL TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A MUCOSAS COMO BLANCO DEL VIRUS DE LA DIARREA VÍRICA BOVINA: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

M. PEDRERA^{1*}, P.J. SÁNCHEZ CORDÓN¹, M.A. RISALDE¹, V. MOLINA¹, E. RUIZ-VILLAMOR², F. ROMERO-PALOMO¹, J.C. GÓMEZ-VILLAMANDOS¹

RESUMEN

Las tonsilas, al igual que otros tejidos linfoides asociados a mucosas como las placas de Peyer del intestino delgado, debido a su localización, se presentan como la puerta de entrada de numerosos agentes patógenos, y por sus características estructurales e inmunológicas, protegen los tractos respiratorios y digestivos de los antígenos que son constantemente inhalados e ingeridos. En los bovinos, distintos agentes patógenos replican en las tonsilas en las primeras fases de la infección, destacando virus como el de la diarrea vírica bovina (vDVB). En rumiantes jóvenes, las placas de Peyer ileales son responsables de la generación de la mayoría de células B, habiéndose especulado con su posible papel como órgano linfoides primario ya que, al igual que ocurre con el timo, también involuciona a edades jóvenes. El tejido linfoides asociado a mucosas se presenta como el principal lugar de replicación del vDVB, siendo además la localización en la que se producen las lesiones más importantes en el transcurso de esta enfermedad, dando lugar a una intensa depleción linfoides que se traduce, a nivel sistémico, en una marcada leucopenia. Por este motivo y con el fin de profundizar en los mecanismos patogénicos del vDVB, es necesario estudiar y comprender en profundidad tanto la estructura como las funciones inmunológicas de estos tejidos linfoides.

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, Edificio Sanidad Animal, Campus de Rabanales, 14014, Córdoba, España.

² Laboratorio Central de Veterinaria de Santa Fe, Camino del Jau s/n, 18320, Santa Fe, Granada, España

* E-mail: v72pemam@uco.es

INTRODUCCIÓN

El virus de la Diarrea vírica bovina (vDVB) (perteneciente a la familia *Flaviviridae* junto a otros pestivirus como el virus de la peste porcina clásica y el virus de la enfermedad de la frontera), es responsable de causar una amplia variedad de formas clínicas que causan cuantiosas pérdidas económicas en la cabaña bovina. Según su efecto sobre ciertos cultivos celulares, las cepas del vDVB se dividen en dos biotipos: no-citopáticas (NCP), que no causan efecto citopático y cepas citopáticas (CP), que inducen muerte celular por apoptosis en estos cultivos (1). Las cepas NCP son las que producen las formas más frecuentes de DVB, dando lugar a formas clínicas leves que pasan desapercibidas en la mayoría de las ocasiones, caracterizadas por un corto período febril y leucopenia transitoria. Sin embargo, en la mayoría de los órganos linfoides se produce una importante depleción linfoide causada por apoptosis, afectando de forma grave al tejido linfoide asociado a las mucosas, provocando así un estado de inmunosupresión a nivel local (2, 3, 4).

Dado que el tejido linfoides asociado a mucosas se presenta como el principal lugar de replicación del vDVB, así como la localización orgánica donde se producen las lesiones más importantes y las principales reacciones inmunológicas (con repercusiones sistémicas) en el transcurso de esta enfermedad, el conocimiento pormenorizado de las estructuras que componen éste tejido linfoide y sus funciones inmunológicas frente a agentes patógenos, se presenta como fundamental a la hora de profundizar en el conocimiento de los mecanismos patogénicos del vDVB y de la respuesta del sistema inmune local.

TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A MUCOSAS

Las mucosas son un lugar importante de entrada de microorganismos, ya que constituyen una barrera entre el medio externo y el interno. **El tejido linfoide asociado a mucosas (TLAM)**, forma parte del sistema inmune aunque con cierta independencia del sistema sistémico. Está formado por agrupaciones de tejido linfoide que, según su localización, se denominan **tejido linfoide asociado a bronquios (TLAB)** y **tejido linfoide asociado a intestino (TLAI)**. El TLAB está formado por todo el tejido linfoide localizado en las mucosas respiratorias, desde las fosas nasales hasta los pulmones, incluyendo tonsilas, folículos linfoides y nódulos linfáticos. El TLAI está formado por todo el tejido linfoide que se encuentra en las paredes intestinales (placas de Peyer, folículos linfoides aislados) y los nódulos linfáticos de esta localización.

1. TONSILAS

Dentro del grupo de órganos linfoides secundarios relacionados con la inmunidad de las mucosas, y en concreto, formando parte del TLAB se encuentran integradas las **tonsilas** (5,6). Se localizan en la transición entre el tracto respiratorio y el digestivo, participando en los procesos de reconocimiento y excreción de organismos extraños (6). Existen evidencias de que las tonsilas en los rumiantes poseen estructuras y funciones similares a las de los humanos (7,8), estando localizadas estratégicamente en la entrada de la faringe, donde los microorganismos patógenos pueden ser captados por las células M e inducir una respuesta inmune (9). Se encuentran formando un anillo de tejido linfoide en la pared faríngea, denominado “anillo de Waldeyer” en honor al primer científico que lo describió (10). Las tonsilas son puerta de entrada de numerosos agentes bacterianos y protegen los tractos respiratorios y digestivos de los antígenos que son constantemente inhalados e ingeridos. Por su localización desempeñan un papel fundamental en la defensa inmunológica frente a estos agentes infecciosos, estando de forma continua expuesta a estímulos antigénicos que provocan una hiperplasia funcional del tejido linfoide, lo que provoca un aumento en el número de linfocitos B y una inflamación fisiológica (11), siendo lugares fundamentales de producción de IgA local y zonas inductoras de la inmunidad, y constituyendo una fuente de células inmunocompetentes para otras áreas de las vías respiratorias altas (9).

En bovino distintos agentes patógenos replican en las células epiteliales de la tonsila durante las primeras fases de la infección, destacando virus como el de la diarrea vírica bovina (vDVB), herpesvirus bovino tipo 1 o el virus sincitial respiratorio bovino, siendo también puerta de entrada de agentes bacterianos como *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma bovis* y *Haemophilus somnus* (12,13,14,15).

La superficie de la tonsila puede ser relativamente lisa (**tonsilas planas**) o puede poseer profundas invaginaciones, denominadas criptas tonsilares, permitiendo así una alta concentración de tejido linfoide en un área determinada (**tonsilas foliculares**) (16,17). La tonsila de los bovinos se localiza en la mucosa orofaríngea y nasofaríngea, siendo las tonsilas que se encuentran en el paladar blando de pequeño tamaño. Las tonsilas localizadas en la orofaringe se denominan **tonsilas palatinas y linguales**, mientras que las de la nasofaringe se denominan **tonsilas faríngeas y tubulares** (6), presentándose como agregados de nódulos linfáticos solitarios o como agrupaciones de nódulos y tejido linfoide difuso localizados en el tejido conectivo subyacente, parcialmente encapsuladas, que protegen la entrada de la orofaringe (18,19). Las **tonsilas palatinas** son de tipo folicular y se sitúan bilateralmente en el velo del paladar, mientras que la **tonsila faríngea** es única y sin criptas (20). La **tonsila lingual**

de los bovinos involucre con la edad (17) localizándose a nivel de la raíz de la lengua, caudalmente a las papilas valladas y rostralmente a la epiglotis, entre los arcos palatoglosos (21). Contiene varios nódulos linfoides tonsilares, tanto primarios como secundarios, que se encuentran organizados alrededor de criptas epiteliales o tonsilares, visibles macroscópicamente en la superficie lingual y que se disponen más o menos alineadas en dirección rostrolateral (6,22).

Durante las primeras semanas de vida, las tonsilas no están completamente desarrolladas y no se diferencian bien las áreas T de las áreas B dependientes, alcanzando su completo desarrollo en torno a los dos meses de vida, estando condicionada su maduración con la estimulación antigénica postnatal (9). Esto puede explicar, en parte, la alta incidencia de enfermedades infecciosas durante los primeros meses de vida.

1.1. Características estructurales y funcionales de la tonsila

Dependiendo de su localización, la tonsila está revestida por un epitelio estratificado plano (escamoso) queratinizado (orofaringe) o pseudoestratificado cilíndrico ciliado (nasofaringe). Bajo este epitelio se dispone abundante tejido conectivo laxo, tejido adiposo, glándulas salivares y fibras de musculatura estriada. En el tejido conectivo subepitelial que constituye la lámina propia, están presentes grandes acumulaciones de tejido linfoide, organizados alrededor de criptas. Estos agregados linfoides están constituidos por nódulos linfoides primarios y secundarios, entre los que se dispone tejido linfoide difuso. Muchos de estos nódulos linfoides no aparecen asociados a criptas y se encuentran encapsulados por una delgada capa de tejido conectivo que los delimita del tejido adiposo y de las glándulas salivares (6,17).

1.1.1. Epitelio

El epitelio estratificado escamoso forma una estructura reticular singular en las criptas, constituyendo un epitelio reticular infiltrado por numerosos linfocitos, especializado en funciones de presentación de antígeno. El resto del epitelio apenas se infiltra por linfocitos y su función es la protección de la superficies mucosas (7), destacando la existencia de numerosos desmosomas en la superficie de las células epiteliales y bucles de tonofilamentos en su citoplasma (2,3,23).

Destaca además la presencia de células dendríticas (CD) o células de Langerhans entre las células epiteliales. Las CD son las células presentadoras de antígeno (CPA) más eficientes, formando una extensa red interdigitante en los tejidos linfoides que

facilita la captación de los antígenos y permite la interacción entre las células. Su localización estratégica en los lugares de entrada de los agentes patógenos, les permite ser una de las primeras células en tomar contacto con ellos. En estas localizaciones madurarán, y desde aquí migrarán a los tejidos linfoides para presentar estos antígenos procesados a los linfocitos T, promoviendo así una respuesta inmune efectiva (24). Presentan poca capacidad fagocítica (25), siendo capaces de expresar el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase II en su superficie (26).

La naturaleza reticular del epitelio de las criptas no está predeterminada, sino que dicha característica es posterior a la infiltración de linfocitos, los cuales causan la separación de las células epiteliales y la aparición de conductos intraepiteliales (7). Los canales intraepiteliales están en contacto con los tejidos adyacentes a través de discontinuidades de la membrana basal. Estas discontinuidades o poros son muy numerosos y poseen un diámetro que varía de 0,5 a 20 μm , a través de los cuales los macrófagos, linfocitos y otras células libres pueden migrar libremente hacia el tejido linfoide subyacente (8,27,28,29).

El epitelio tonsilar suele estar infiltrado en grado variable de linfocitos, leucocitos polimorfonucleares y macrófagos. Esta infiltración es particularmente marcada en las tonsilas de la orofaringe. La mayor parte de las células localizadas entre las células epiteliales son linfocitos, los cuales presentan núcleos grandes y eucromáticos rodeados por anillos de citoplasma con pocas organelas. Estos linfocitos son principalmente T, siendo escasa la presencia de linfocitos B. Destaca el alto número de linfocitos T $\gamma\delta$ en esta localización, especialmente en los animales más jóvenes, que constituyen una primera línea de defensa contra los patógenos (9,11). Además, existe un moderado número de linfocitos T CD8+ y T CD4+, con predominio de los primeros. El elevado número de linfocitos T $\gamma\delta$ y linfocitos T CD8+ en esta localización confiere una inmunidad celular temprana en las primeras semanas de vida hasta que las tonsilas alcancen su completa madurez inmunológica (9). El epitelio también se encuentra infiltrado de células NK y algunos leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (30,31). Asimismo, en las partes más profundas del epitelio se observan células plasmáticas, con un núcleo característico en el que la heterocromatina se dispone a modo de "rueda de carro", presentando numerosas cisternas de retículo endoplásmico rugoso. También se observan macrófagos de perfiles ampulosos, con núcleos irregulares o reniformes, abundante citoplasma con grandes mitocondrias, complejo de Golgi prominente, cisternas de retículo endoplásmico rugoso, centríolos, fagolisosomas y numerosas vesículas (32,33).

A los linfocitos y otros leucocitos que alcanzan la luz de las tonsilas se les denomina corpúsculos salivares. Cuando no son eliminados de las criptas por la secreción

de las glándulas salivares circundantes, estas células junto con microorganismos superficiales y las células epiteliales exfoliadas, pueden obstruir las criptas y originar una inflamación. Fuera de la cápsula de la tonsila existen numerosas glándulas pequeñas asociadas a la mucosa tonsilar, cuyos conductos se abren a la superficie, así como en las criptas, ayudando sus secreciones a lavar el detritus acumulado (5,34).

Asimismo, se han descrito células epiteliales especializadas con características ultraestructurales similares a la células M de la mucosa intestinal. Estas células presentan en su superficie apical unas microvellosidades gruesas y cortas junto a unos pocos desmosomas que las unen a las células escamosas. El núcleo de las células epiteliales especializadas se muestra redondeado, con cromatina difusa y un nucléolo prominente (7). Estas células son ricas en vacuolas citoplasmáticas, poseen escasos lisosomas y juegan un importante papel como células transportadoras de sustancias antigénicas a los linfocitos, mostrando una endocitosis activa transcelular (26), desempeñando además importantes funciones como células presentadoras de antígenos (9).

1.1.2. *Estroma*

El estroma de la tonsila, como el de cualquier otro órgano linforreticular, está constituido por tabiques de tejido conjuntivo que se localizan subyacentes al epitelio tonsilar. En el tejido conjuntivo se localizan además células plasmáticas rodeando a los folículos linfoides y una corona de pequeños linfocitos adyacentes al epitelio (35). La tonsila está separada del tejido adyacente por una cápsula de tejido conjuntivo denso (34).

Estos tabiques están formados por fibroblastos, fibras de colágeno y fibras elásticas. Las fibras de colágeno se continúan hacia el interior de los folículos linfoides y áreas linfoides difusas con una red de fibras reticulares, de 0,2 a 0,5 μm de diámetro, argirófilas, birrefringentes y compuestas por colágeno tipo III. En íntima asociación con estas fibras se encuentran las células reticulares, que sintetizan y constituyen, junto a las fibras reticulares, el armazón conjuntivo en el que se alojan las estructuras linfoides (36). Estas fibras están completamente rodeadas por los procesos citoplasmáticos de las células reticulares, por medio de los cuales establecen contactos unas con otras (37).

La morfología de las células reticulares varía de ovoide a estrellada, presentando un núcleo alargado e indentado y un espacio perinuclear dilatado que se continúa con un retículo endoplásmico rugoso muy desarrollado, numerosos polirribosomas libres, un complejo de Golgi muy evidente y numerosas mitocondrias (38). Además,

estas células se caracterizan por contener en su citoplasma gran cantidad de filamentos intermedios de unos 10 nm de diámetro, constituido de vimentina, así como bandas de filamentos finos de unos 5 nm similares a la actina localizados en la base de las prolongaciones (36).

1.1.3. Estructuras linfoides

Entre las estructuras linfoides de la tonsila podemos distinguir por un lado los folículos linfoides, compuestos principalmente por linfocitos B, y por otro el tejido linfoide difuso, constituido por linfocitos T (39).

Los **folículos linfoides** son agrupaciones circunscritas y compactas de linfocitos, principalmente B, rodeadas de zonas extranodulares o interfoliculares de **tejido linfoide difuso**, donde son abundantes los linfocitos T, que están asociadas íntimamente al epitelio (6,40). En los bovinos, al igual que en humanos y en el cerdo, los folículos linfoides de las tonsilas son más ricos en linfocitos B que en los nódulos linfáticos periféricos (11).

Los folículos linfoides son similares a los de otros órganos linfoides secundarios. Presentan un **centro germinal** (CG) pálido, de localización central, rodeado de una zona periférica denominada "manto" constituida de linfocitos de pequeño tamaño que se encuentran densamente empaquetados. Los folículos linfoides primarios carecen de CG y están constituidos de abundantes linfocitos de pequeño tamaño que se corresponden con los linfocitos del manto de los folículos secundarios. Así, los CG son estructuras ovoides constituidas por un acumulo esférico de células que forman una red en la que participan células dendríticas foliculares (CDF) unidas a fibras reticulares, pálidamente teñidas y cubiertas por un entramado de pequeños linfocitos. También entre este entramado hay algunas CD, pero estas se localizan principalmente en áreas interfoliculares (26). Una cápsula constituida por algunas capas de células reticulares aplanadas rodean al centro germinal. En su forma totalmente desarrollada aparecen como una masa esférica con un **polo oscuro** densamente poblado, constituido por linfoblastos, linfocitos grandes y medianos, células en transición de la serie linfoide y macrófagos cargados con restos de linfocitos fagocitados (macrófagos de cuerpo tingible). El **polo claro**, constituido por el mismo tipo de células, muestra menor densidad celular (41).

Los CG presentan una polaridad morfológica muy definida. El manto se presenta como una banda más ancha sobre la región clara, y se va adelgazando gradualmente hacia el polo oscuro. Esta zona se encuentra orientada hacia el epitelio y en ella abun-

dan los linfocitos T (6), mientras que la zona oscura se encuentra en el polo opuesto. Esta polarización no se observa cuando el plano de un corte histológico pasa a través de un centro germinativo en dirección perpendicular a su eje de simetría, apareciendo este entramado de linfocitos como una envoltura circular de grosor uniforme rodeando al CG (11,42).

En los CG se distribuye una gran cantidad de linfocitos B, muchos de los cuales se encuentran expresando IgM en su superficie (9), mientras que otros se encuentran diseminados en las zonas interfoliculares y en el epitelio (11). En los CG también se pueden encontrar linfocitos T CD4+ (especialmente en la zona clara) y escasos linfocitos T CD8+ (9).

La arquitectura de los folículos linfoides y las reacciones de los CG va a depender de la presencia de las CDF, una población especializada de CPA que se encuentran en los folículos (principalmente en la zona clara de los centros germinales) de las áreas B de los ganglios linfáticos, del bazo y de los tejidos linfoides de las mucosas (43,44). La transición entre la región clara y la oscura es gradual. Los linfoblastos y linfocitos van cediendo su puesto a los linfocitos pequeños, descendiendo el número de macrófagos. Además, en los CG existen numerosas células plasmáticas maduras. Los centros germinativos pasan a través de una serie de cambios evolutivos y al final involucionan y desaparecen (40). Asimismo, en el seno del folículo linfoide se pueden observar imágenes de linfocitos en apoptosis, que posteriormente pueden ser fagocitados por los macrófagos (45).

La zona que se encuentra entre los folículos linfoides con gran cantidad de linfocitos T y venas postcapilares corresponde a la denominada **región interfolicular**, a través de la cual circulan los linfocitos para penetrar en el parénquima tonsilar. Son áreas constituidas principalmente por células T, con presencia de abundantes linfocitos T CD4+ y un número variable de CD8+, linfocitos estos últimos que se incrementan en estas localizaciones con la edad y la mayor exposición a antígenos de los animales (46). En estas áreas destaca también la presencia de células dendríticas o interdigitantes y células reticulares (47,48).

2. TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A MUCOSA INTESTINAL: LAS PLACAS DE PEYER

El **TLAI** representa la defensa inmunológica activa de la mucosa intestinal y posee la habilidad de inducir o suprimir la respuesta inmune periférica. Esto es posible gracias a la producción de inmunoglobulinas (Ig)-A en la lámina propia de las mu-

cosas, que actúan bloqueando la adhesión, neutralizando y/o excluyendo antígenos víricos (49,50). En la mucosa del aparato digestivo de los rumiantes jóvenes existen agregaciones de células linfoides que se encuentran de forma aislada a lo largo del tracto intestinal o formando agregados linfoides organizados a nivel del yeyuno e íleon, constituyendo las placas de Peyer (PP) (51,52,53).

Existen dos tipos de PP en el intestino delgado de rumiantes. Por un lado se encuentran las PP yeyunales (PPye), pequeñas y dispersas placas linfoides con grandes áreas interfoliculares entre ellas, que son comparables con las que presentan humanos y ratones de laboratorio. Por otro lado se encuentran las PP ileales (PPil), constituidas por un extenso y continuo agregado linfoide formado por folículos grandes y alargados que se extiende cranealmente desde la unión ileocecal (52,54), llegando a medir en rumiantes jóvenes y cerdos hasta 2 mts. Las primeras persisten en los animales adultos, constituyendo un lugar muy eficiente para la inducción de las respuestas inmunes locales en la mucosa intestinal (55), mientras que las PPil involucionan a edades jóvenes (52,56), al igual que ocurre con el timo. En los rumiantes, así como en cerdos, perros, caballos y humanos, estas PPil representan un 80-90% del total del tejido de las PP (56). Se ha especulado con el posible papel de las PPil como tejido linfoide primario en rumiantes y cerdos, siendo responsables de la generación de la mayoría de células B y equiparándolas a la bolsa de Fabricio en las aves (52,54,57). La impermeabilidad de la placenta bovina y el desarrollo prenatal de las PPil, sugieren la presencia de factores intrínsecos que podrían iniciar la linfopoyesis dentro de los folículos. Se ha demostrado que las PPil y las células epiteliales asociadas a folículos aparecen y se desarrollan en el feto entre el 5° y 6° mes de gestación, madurando justo antes del nacimiento y fijando un sistema de defensa local contra sustancias nocivas y microorganismos del ambiente extrauterino (58).

2.1. Características estructurales y funcionales de las placas de peyer

Las placas de Peyer están formadas por cuatro zonas bien diferenciadas destacando los folículos linfoides, localizados en la submucosa y rodeados individualmente por una cápsula de tejido conectivo, el epitelio, la lámina propia y las áreas interfoliculares. Los folículos se extienden como un cuello de botella o corona hacia la muscular de la mucosa para formar una región en cúpula o áreas dome bajo el epitelio intestinal. Estas áreas están formadas por un entramado de fibras reticulares de origen mesenquimal, linfocitos T (normalmente CD4+), linfocitos B de los cuales la mayoría son IgM+ y en menor medida IgA+ (25-50% menos), macrófagos y células dendríticas (59). Estas células dendríticas captan y procesan antígenos lumenales de

manera similar a las células de Langerhans de la piel, presentando estos antígenos a los linfocitos T CD4+ presentes en el epitelio que se activan y migran a la región interfolicular (60). En la zona de la cúpula, la mucosa está modificada, no presentando vellosidades, ni criptas, ni células caliciformes (61).

2.1.1. Epitelio

El epitelio que recubre las PP se denomina epitelio asociado a los folículos o epitelio de la dome, rico en linfocitos T CD4+ y CD8+, especializado en permitir el transporte transepitelial de macromoléculas. En los humanos y rumiantes la mayoría de los linfocitos intraepiteliales son linfocitos CD8+, así como en el cerdo (77%). En los rumiantes, junto a una mayoría de CD8+ también se localizan numerosos linfocitos T $\gamma\delta$ intraepiteliales (62). Mientras que en ratones aproximadamente el 50% expresan la forma $\gamma\delta$ del receptor de linfocitos T, en los humanos sólo el 10 % de los linfocitos intraepiteliales son $\gamma\delta$. En este epitelio, la función transportadora está mediada por las células membranosas o células M, localizadas entre los enterocitos. Estas células poseen un elevado contenido en lisosomas y en la superficie libre presentan pliegues o prolongaciones citoplasmáticas, pero no microvellosidades. En el polo basal de las células M no existe membrana basal, mostrando invaginaciones citoplasmáticas a modo de compartimentos en los que se localizan linfocitos y macrófagos. Estas células atrapan y transportan antígenos desde la luz intestinal hacia el tejido linfoide subyacente, el cual responde produciendo IgA, iniciándose así una respuesta inmune tanto en la mucosa intestinal como a nivel sistémico (61). Mientras que el epitelio asociado a los folículos sobre las PPye de rumiantes se corresponde morfológicamente con el de las PP de otros mamíferos, las PPil están desprovistas de las típicas células M. La función transportadora a este nivel la lleva a cabo una población homogénea de células epiteliales especializadas que son capaces de internalizar material procedente de la luz (52).

2.1.2. Lámina propia

La lámina propia, situada bajo el epitelio intestinal está constituida por tejido conectivo laxo en el que se encuentran linfocitos T, la mayoría CD4+ activados, así como escasos CD8+ y $\gamma\delta$ (62). Es probable que los linfocitos T reconozcan inicialmente los antígenos en los nódulos mesentéricos y luego se dirijan a la lámina propia. También aquí se encuentran abundantes linfocitos B activados y células plasmáticas que secretan principalmente IgA (alrededor del 80%) que es liberada a la luz, macrófagos,

células dendríticas, eosinófilos y mastocitos. La **IgA** juega un importante papel en la respuesta inmune de las mucosas. Su configuración la hace muy efectiva frente a diferentes antígenos bacterianos, mediante un proceso denominado “citotoxicidad celular mediada por anticuerpos”, ya que la IgA no es bactericida. Presenta gran capacidad para la neutralización de algunos virus, incluso dentro de las células epiteliales (63), siendo la única inmunoglobulina capaz de poder actuar dentro de una célula. Pero su principal actividad en la defensa de las mucosas es la de evitar la adherencia de bacterias y virus a la superficie del epitelio, ya que puede unirse al antígeno en la luz intestinal evitando la adherencia de éstos (64,65).

2.1.3. Áreas interfoliculares

En el íleon, los folículos están densamente empaquetados y entre ellos se encuentran las áreas interfoliculares, que próximas a la mucosa presentan forma triangular. Son áreas constituidas principalmente por células T, con presencia de abundantes CD4+ (57), células B IgM+ (66), células interdigitantes y reticulares de origen mesenquimal que están estrechamente asociadas con abundantes fibras reticulares (48). Las células interdigitantes (CID) son una población de CD que se encuentran abrazando a los linfocitos T, y su función es la de procesar y presentar antígenos a los linfocitos T colaboradores y activarlos (67,68). Las células reticulares o “fibroblastos reticulares” tienen el mismo origen mesenquimal y presentan las mismas características morfológicas que las células reticulares del bazo. Sintetizan las fibras reticulares, constituidas por colágeno tipo III, que forman, junto a las células reticulares, el armazón de muchos órganos (36). Estas fibras están completamente rodeadas por los procesos citoplasmáticos de las células reticulares, por medio de los cuales establecen contactos unas con otras (37). Otras moléculas que forman la matriz extracelular junto a las fibras reticulares son la elastina, la laminina, la vimentina y la fibronectina (69). La morfología de estas células varía de ovalada a estrellada, con núcleo alargado e indentado que presenta un espacio perinuclear dilatado, un retículo endoplásmico rugoso muy desarrollado, numerosos polirribosomas libres, un complejo de Golgi muy evidente, un número importante de mitocondrias, vesículas en fila india (70) y abundantes filamentos intermedios (36), mostrando evidencias de intensa actividad secretora pero escasa actividad fagocítica. Formando también parte de las áreas interfoliculares se encuentra una compleja red de senos linfáticos, los cuales conectan con vasos linfáticos que drenan de las vellosidades intestinales, así como con sinusoides adyacentes. Desde aquí emergen finos vasos linfáticos los cuales se unen a nivel de la serosa para formar los vasos linfáticos eferentes que llevan la linfa a los nódulos linfáticos mesentéricos.

2.1.4. *Folículos linfoides*

Los folículos están constituidos mayoritariamente por células B, muchas de las cuales se encuentran expresando IgM en su superficie existiendo además, aunque en menor número, linfocitos T CD4+ y algunos CD8+ (66), junto a macrófagos de cuerpo tingible y células plasmáticas (5). Entre ellos existe una red estromal de células con morfología estrellada identificadas como CDF. Constituyendo parte del armazón existe también un número variable de células y fibras reticulares, siendo su densidad menor que en las áreas T interfoliculares. En el centro de los folículos y extendiéndose hacia las domes también existe un número variable de linfocitos B IgA+.

Varios estudios demuestran que las PPil de los rumiantes son el principal lugar de producción de células B periféricas, ya que si se eliminan quirúrgicamente en etapas tempranas del desarrollo, el animal sufre un déficit de células B que se mantiene durante largo tiempo (71). Durante la vida fetal, la expansión de las células B es independiente de la presencia de antígenos (72), pero tras el nacimiento la presencia de antígenos en la luz intestinal es fundamental para estimular el desarrollo de las PP (56,73). Por otro lado, los linfocitos T no son esenciales en el desarrollo de las células B en las PP, como lo demuestra el hecho de que no haya cambios en el desarrollo de las PPil en corderos sometidos a una timectomía fetal (73).

Existen diferencias en la arquitectura de las PPil de los rumiantes y las de otros mamíferos. Así, la corteza de los folículos en las PPil de los rumiantes es equivalente a la zona oscura de los CG de los folículos linfoides secundarios presentes en las otras PP (incluidas las PPy de rumiantes), ya que aquí es donde se localizan las células B en proliferación, siendo escasa la presencia de CDF (54,57,74,75). Estos linfocitos B presentan una elevada predisposición a sufrir apoptosis a la vez que presentan un alto grado de proliferación (43). Esta progenie de linfocitos B, que no poseen capacidad de división, migra hacia el interior de los folículos donde existen abundantes CDF, que llevarán a cabo la presentación del antígeno, y donde tendrán lugar los procesos de selección de los linfocitos B. Sólo los linfocitos B que presentan una alta afinidad son seleccionados para vivir, expresando altos niveles de la proteína anti-apoptótica bcl-2, mientras que los restantes mueren por apoptosis (43,76). Posteriormente, estas células seleccionadas migran fuera del CG y se convierten en células secretoras de anticuerpos o células de memoria. En esta zona medular se localizan abundantes CDF, células B en reposo y algunos linfocitos T CD4+, encontrándose también los antígenos presentes en los CG en forma soluble (43).

Es fundamental conocer qué papel desempeñan estas células en el mantenimiento de la homeostasis y el microambiente folicular, especialmente las CDF, ya que

intervienen de manera importante en la patogenia de muchas enfermedades, siendo células blanco de virus como el de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (77), el virus Epstein-Barr (78), el herpesvirus bovino tipo1 (79) y el virus de la diarrea vírica bovina (66,80,81). Además, se presentan como una de las principales células donde se acumula el agente responsable de las encefalopatías espongiiformes transmisibles (82,83).

En los tejidos linfoides secundarios, por tanto también en las tonsilas, la arquitectura de los folículos linfoides y las reacciones de los CG va a depender de la presencia de las CDF. Existe una dependencia entre los linfocitos B y las CDF para su supervivencia (84,85), desempeñando las CDF un importante papel ya que favorecen la proliferación de células B, proceso en el que también juegan un importante papel los linfocitos T a través de la liberación de ciertas citoquinas como la IL-2 (86,87,88). Para el correcto mantenimiento de la homeostasis folicular es necesario además, la presencia del factor trófico de las células B, cuya fuente principal son las células del estroma folicular, principalmente las CDF (44), las cuales se muestran resistentes a la radiación (89).

Las CDF y las células reticulares de los folículos linfoides primarios, así como de la zona clara de los CG, son las células que principalmente sintetizan el mediador químico CXCL13 (69,90). También es sintetizado, aunque en menor medida, por macrófagos, células dendríticas y células T foliculares (44). EL CXCL13 (antes conocida como BLC, *B-lymphocyte chemoattractant*) es una citoquina crítica en la migración de las células B vírgenes al interior y concretamente a la zona clara de los CG, formando la polarización característica de los folículos (69,91). Induce la expresión de linfotoxina por las células B incrementando a su vez la expresión de CXCL13 en la zona clara de los CG, quedando por determinar cómo influyen sobre la proliferación o la maduración celular (69). Su receptor (CXCR5) lo expresan mayoritariamente las células B maduras, pero también algunas células T activadas y de memoria, siendo el nivel de expresión indicativo de la cantidad de CXCL13 que existe en una zona (69).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa a través del proyecto AGR2010-4671. Pedro José Sánchez Cordón es beneficiario de un contrato dentro del "Programa Ramón y Cajal" del Ministerio de Ciencia e Innovación, (España).

BIBLIOGRAFÍA

1. Pedrera M, Risalde MA, Romero-Trejejo JL, Da Silva Alexandre A, Núñez A, Ruiz-Villamor E, Gómez-Villamandos JC, Sánchez Cordón PJ. (2007). Diarrea vírica bovina: etiología, formas clínicas, distribución del virus y patogenia. En: Anales. Ed. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental. 20(1):135-158.
2. Liebler-Tenorio EM, Ridpath JF, Neill JD (2003a). Distribution of viral antigen and development of lesions after experimental infection of calves with a BVDV 2 strain of low virulence. *J Vet Diagn Invest* 15:221-32.
3. Liebler-Tenorio EM, Ridpath JF, Nelly JD (2003b). Lesions and tissue distribution of viral antigen in severe acute versus subclinical acute infection with BVDV2. *Biologicals* 31: 119-22.
4. Pedrera M, Sánchez-Cordón PJ, Romero-Trejejo JL, Risalde MA, Greiser-Wilke I, Núñez A, Gómez-Villamandos JC (2009). Morphological Changes and Viral Distribution in the Ileum of Colostrum-Deprived Calves Inoculated with Noncytopathic Bovine Viral Diarrhea Virus Genotype-1. *J Comp Pathol* 141:52-62.
5. Fawcett DW (1995). El sistema inmunitario. Tratado de Histología. Ed. 12, pp. 471-75. Interamericana, McGraw-Hill.
6. Cocquyt G, Simoens P, Muylle S, Van den Broeck W (2007). Anatomical and histological aspects of the bovine lingual tonsil. *Res Vet Sci.* 84(2):166-73.
7. Howie AJ (1980). Scanning and transmission electron microscopy on the epithelium of human palatine tonsils. *J Pathol.* 130(2):91-8.
8. Inaga K, Tsujita T (1988). The structure of the human tonsillar basement membrane. *Jap. J. Tonsil.* 27: 7-11.
9. Manesse M, Delverdier M, Abella-Bourges N, Sautet J, Cabanié P, Schelcher F (1998). An immunohistochemical study of bovine palatine and pharyngeal tonsils at 21, 60 and 300 days of age. *Anat Histol Embryol.* 27(3):179-85.
10. Winkelmann A. (2007). Wilhelm von Waldeyer-Hartz (1836-1921): an anatomist who left his mark. *Clin Anat.* 20(3):231-4.
11. Rebelatto MC, Mead C, HogenEsch H (2000). Lymphocyte populations and adhesion molecule expression in bovine tonsils. *Vet Immunol Immunopathol.* Jan 31;73(1):15-29.
12. Walz PH, Steficek BA, Baker JC, Kaiser L, Bell TG (1999). Effect of experimentally induced bovine virus diarrhoea virus infection on platelet function in calves. *Am J Vet Res* 60: 1396-401.
13. Fulton RW, Purdy CW, Confer AW, Saliki JT, Loan RW, Briggs RE and Burge LJ (2000). Bovine viral diarrhoea infections in feeder calves with respiratory disease: Interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Can J Vet Res* 64: 151-9.
14. Fulton RW, Ridpath JF, Saliki JT, Briggs RE, Confer AW, Burge LJ, Purdy CW, Loan RW, Duff GC, Payton ME (2002). Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1b: predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. *Can J Vet Res* 66: 181-90.
15. Confer AW, Fulton RW, Step DL, Johnson BJ, Ridpath JF (2005). Viral antigen distribution in the respiratory tract of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus subtype 2a. *Vet Pathol* 42(2):192-9.
16. Plopper CG, Adams DR (1984). Respiratory System. In: Textbook of Veterinary Histology. Dellmann HD y Brown EM. Lea & Febiger ed. 3ª, Philadelphia 185-208.
17. Kato K, Sawada Y (2008). Distribution of the lingual tonsils of cattle designated as specified risk materials. *J Vet Med Sci.* (3):251-4.
18. Narita M, Inui S, Shimizu Y (1984). Tonsillar changes in pigs given pseudorabies (Aujeszky's disease) virus. *Am J Vet Res.* 45(2):247-51.
19. Narita M, Imada T, Haritani M, Kawamura H (1989). Immunohistologic study of pulmonary and lymphatic tissues from gnotobiotic pigs inoculated with ara-T-resistant strain of pseudorabies virus. *Am J Vet Res.* 50(11):1940-5.

20. Domínguez J, Rueda A (1991). Células y órganos del sistema inmune. *Inmunología (I)*. Porci. pp. 9-24.
21. Barone R. (1997). Pharynx et Oesophage. In: Barone R (Ed) *Anatomie Comparée des Mammifères Domestiques, Tome troisième: Splanchnologie*. Editions Vigot, París pp. 249-90.
22. Manesse M, Sautet J, Delverdier M, Schelcher F, Espinasse J, Cabanie P (1995). Anneau de Waldeyer des bovins: anatomie topographique et microscopique de tonsilles. *Revue de Médecine vétérinaire* 146, 749-56.
23. Marshall DJ, Moxley RA, Kelling CL (1996). Distribution of virus and viral antigen in specific pathogen-free calves following inoculation with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Vet Pathol* 33:311-8.
24. MacPherson GG, Liu LM (1999). Dendritic cells and Langerhans cells in the uptake of mucosal antigens. *Curr Top Microbiol Immunol* 236:33-53.
25. Lasser A (1982). The Mononuclear System. *Prog in Pathol* 108-24.
26. Tang X, Hori S, Osamura RY, Tsutsumi Y (1995). Reticular crypt epithelium and intra-epithelial lymphoid cells in the hyperplastic human palatine tonsil: an immunohistochemical analysis. *Pathol Int.* 45(1):34-44.
27. Kawaguchi E (1967). [Ultrastructure of human palatine tonsil. I. Electron microscopic studies on tonsillar mucous epithelium]. *Sapporo Igaku Zasshi.* (2):144-65.
28. Higashikawa T, Ohtani O, Masuda Y (1990). Ultrastructures of the epithelial basement membrane and the subepithelial capillaries in rabbit palatine tonsil. *Arch. Histol. Cytol.* 53: 31-39.
29. Kawabata A, Nakagaki K, Yoshida M, Shirota K (2008). Histopathological comparison of pulmonary artery lesions between raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) and domestic dogs experimentally infected with *Dirofilaria immitis*. *J Vet Med Sci.* (3):301-3.
30. Carrasco L, Gómez-Villamandos JC, Bautista MJ, Sierra MA (1997). Órganos del sistema inmune. *Porci*, 40: 13-33.
31. Frink S, Grummer B, Pohlenz JF, Liebler-Tenorio EM (2002). Changes in distribution and numbers of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes in lymphoid tissues and intestinal mucosa in the early phase of experimentally induced early onset mucosal disease in cattle. *J Vet Med B Infect. Dis. Vet. Public Health.* 49, 476-83.
32. Terasaki M, Loew L, Lippincott-Schwartz J, Zaal K (2001). Fluorescent staining of subcellular organelles: ER, Golgi complex, and mitochondria. *Curr Protoc Cell Biol.* Chapter 4: Unit 4.4.
33. De Matteis MA, Luini A (2008). Exiting the Golgi complex. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 9(4):273-84.
34. Nicander L, Brown EM, Dellman HD, Landsverk T (1994). Órganos linfáticos. En *Histología Veterinaria*. Ed. 2. De. Acribia, pp. 141-48, Zaragoza.
35. Sánchez-Vizcaíno JM (2004). Curso de introducción a la inmunología porcina. 2ª Edición. <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca013.htm>.
36. Tablin F, Weiss L (1983) The equine spleen: an electron microscopic analysis. *Am J Anat* 166: 393-416.
37. Yoshida T, Takaya K (1992). The enveloping of intercellular collagenous fibrils by reticular cell processes in postnatal development of rat lymph nodes. *Arch Histol Cytol* 55:351-9.
38. Burke JS, Simon GT (1970). Electron microscopy of the spleen. I. Anatomy and microcirculation. *Am J Pathol.* Jan;58(1):127-55.
39. Quiding-Järbrink M, Granström G, Nordström I, Holmgren J, Czerkinsky C (1995). Induction of compartmentalized B-cell responses in human tonsils. *Infec. Immunity.* 63: 853-57.
40. Raviola E (1995). Sistema inmunitario. *El Tratado de Histología*. Fawcett, D.W. Bloom-Fawcett. Ed. 3. pp. 455-78. Interamericana-Mc Graw-Hill, Madrid.
41. Binns RM, Pabst R (1994). Lymphoid tissue structure and lymphocyte trafficking in the pig. *Vet Immunol Immunopathol.* 43(1-3):79-87.

42. Chen LL, Adams JC, Steinman RM (1978a). Anatomy of germinal centers in mouse spleen, with especial reference to "follicular dendritic cells". *J Cell Biol* 77:148-64.
43. Liu Y, Arpin C (1997). Germinal center development. *Immunological Reviews* 156: 111-26.
44. Allen CDC, Cyster JG (2008). Follicular dendritic cell networks of primary follicles and germinal centers: Phenotype and function. *Seminars in Immunology* Feb;20(1):14-25.
45. Plum J, Van Cauemberge P, De Smedt M (1988). Analysis of activation markers on tonsillar T lymphocyte. *Acta otolaryngol.* 416: 45-55.
46. Schuh JC, Oliphant LW (1992). Development and immunophenotyping of the pharyngeal tonsil (adenoid) in cattle. *J Comp Pathol.* 106(3):229-41.
47. Dellmann HD (1964). [On the structure of the vascular organ of the terminal lamina in poultry]. *Anat Anz.* 31;115:174-83.
48. Halleraker M, Landsverk T, Nicander L (1990). Organization of ruminant Peyer's patches as seen with enzyme histochemical markers of stromal and accessory cells. *Vet Immunol Immunopathol* 26: 93-104.
49. McNabb P, Tomasi T (1981). Host defense mechanisms at mucosal surfaces. *Ann Rev Microbiol* 35: 477-96.
50. Clough ER, Cebra JJ (1983). Interrelationship of primed B cells with the potential for IgE and/or IgA expression. *Molecular Immunol* 20:903-915.
51. Aleksandersen M, Nicander L, Landsverk T (1991). Ontogeny, distribution and structure of aggregated lymphoid follicles in the large intestine of sheep. *Dev Comp Immunol* 15: 413-422.
52. Landsverk T, Halleraker M, Aleksandersen M, McClure S, Hein W, Nicander L (1991). The intestinal habitat for organized lymphoid tissues in ruminants; comparative aspects of structure, function and development. *Vet Immunol Immunopathol* 28: 1-16.
53. Hein WR (1999). Organization of mucosal lymphoid tissue. *Curr Top Microbiol Immunol* 236: 1-15.
54. Griebel PJ, Hein WR (1996). Expanding the role of Peyer's patches in B-cell ontogeny. *Immunol Today* 17:30-39.
55. Mutwiri G, Watts T, Lew L, Beskorwayne T, Papp Z, Baca-Estrada ME, Griebel P (1999). Ileal and jejunal Peyer's patches play distinct roles in mucosal immunity of sheep. *Immunology.* 97(3): 455-61.
56. Reynolds JD, Morris B (1983). The evolution and involution of Peyer's patches in fetal and post-natal sheep. *Eur J Immunol* 13: 627-635.
57. Yasuda M, Tanaka S, Arakawa H, Taura Y, Yokomizo Y, Ekino S (2002). A comparative study of gut-associated lymphoid tissue in calf and chicken. *Anat Rec* 266(4):207-217.
58. Beyaz F, Aşti RN (2004). Development of ileal Peyer's patches and follicle associated epithelium in bovine foetuses. *Anat Histol Embryol* 33(3):172-9.
59. Ramis Salva A (1988). Estudio histoquímico del sistema inmunitario del cerdo. Tesis Doctoral. Universidad Autonoma de Barcelona.
60. MacPherson GG, Jenkins CD, Stein MJ, Edwards C (1995). Endotoxin-mediated dendritic cell release from the intestine. Characterization of released dendritic cells and TNF dependence. *J Immunol* 154(3):1317-22.
61. Owen RL (1999). Uptake and transport of intestinal macromolecules and microorganisms by M cells in Peyer's patches—a personal and historical perspective. *Semin Immunol* 11: 157-63.
62. Liebler EM, Pohlenz JF, Moennig V (1996). Lymphocyte subpopulations in gut-associated lymphoid tissue of cattle with experimental mucosal disease. *Adv Exp Med Biol* 371B:825-7.
63. Dimmock NJ (1984) Mechanisms of neutralization of animal viruses. *J Gen Virol* 65: 1065-1070.
64. Husband AJ, Gowands JL (1978). The origin and antigen-dependent distribution of IgA-containing cells in the intestine. *J Exp Med* 148: 1146-60.

65. Tizard IR (1998). *Inmunología Veterinaria*. 5 Ed McGraw-Hill. Interamericana Madrid.
66. Liebler EM, Küsters C, Pohlenz JF (1995). Experimental mucosal disease in cattle: changes of lymphocyte subpopulations in Peyer's patches and in lymphoid nodules of large intestine. *Vet Immunol Immunopathol* 48: 233-48.
67. Balfour BM, Drexhage HA, Kamperdijk EWA, Hoefsmit EC (1981). Antigen-presenting cells, including Langerhans cells, veiled cells and interdigitating cells. In: *Microenvironments in Haematopoietic and Lymphoid Differentiation*. pp 281-301. Ed J Whelan, Pitman Medical, London, Ciba Foundation Symposium 84.
68. Roitt I, Brostoff J, Male D (1998). *Inmunología* 4ª Ed. Harcourt Brace, Madrid.
69. Cyster JG, Ansel KM, Reif K, Ekland EH, Hyman PL, Tang HL, Luther SA, Ngo VN (2000). Follicular stromal cells and lymphocyte homing to follicles. *Immunol Rev*. 176:181-93. Review.
70. Bautista MJ, Carrasco L, Pérez J, Chacón M de Lara, Hervas J, Sierra MA (1994). Estudio comparativo del bazo en los diferentes mamíferos domésticos. *An Vet (Murcia)* 9-10: 83-97.
71. Gerber HA, Morris B, Trevella W (1986). The role of gut-associated lymphoid tissues in the generation of immunoglobulin-bearing lymphocytes in sheep. *Aust J Exp Biol Med Sci* 64:201-13.
72. Reynolds JD, Morris B (1984). The effect of antigen on the development of Peyer's patches in sheep. *Eur J Immunol* 14(1):1-6.
73. Reynaud CA, Garcia C, Hein WR, Weill JC (1995). Hypermutation generating the sheep immunoglobulin repertoire is an antigen-independent process. *Cell* 80(1):115-25.
74. Liebler-Tenorio EM, Pohlenz JF (1997). Experimental mucosal disease of cattle: altered cell proliferation in lymphoid tissues and intestinal epithelium. *J. Comp. Pathol.* 117, 339-50.
75. Yasuda M, Taura Y, Yokomizo Y, Ekino S (1998). A comparative study of germinal center: fowls and mammals. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 21(3):179-89.
76. Huppertz B, Frank HG, Kaufmann P (1999). The apoptosis cascade-morphological and immunohistochemical methods for its visualization. *Anat Embryol (Berl)* 200:1-18. Review.
77. Smith BA, Gartner S, Liu Y, Perelson AS, Stilianakis NI, Keele BF, Kerkering TM, Ferreira-Gonzalez A, Szakal AK, Tew JG, Burton GF (2001). Persistence of infectious HIV on follicular dendritic cells. *J Immunol Jan* 1;166(1):690-6.
78. Lindhout E, Lakeman A, Mevissen ML, De Groot C (1994). Functionally active Epstein-Barr virus-transformed follicular dendritic cell-like cell lines. *J Exp Med.* 179(4):1173-84.
79. Winkler MT, Doster A, Jones C (2000). Persistence and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves. *J Virol.* 74(11):5337-46.
80. Brusckke CJ, Haghparast A, Hoek A, Rutten VP, Wentink GH, van Rijn PA, van Oirschot JT (1998a). The immune response of cattle, persistently infected with noncytopathic BVDV, after superinfection with antigenically semi-homologous cytopathic BVDV. *Vet Immunol Immunopathol.* 62(1):37-50.
81. Teichmann U, Liebler-Tenorio EM, Pohlenz JF (2000). Ultra-structural changes in follicles of small-intestinal aggregated lymphoid nodules in early and advanced phases of experimentally induced mucosal diseases in calves. *Am J Vet Res.* 61:174-82.
82. Bruce ME, Brown KL, Mabbott NA, Farquhar CF, Jeffrey M (2000). Follicular dendritic cells in TSE pathogenesis. *Immunol Today* 21: 442-46.
83. Montrasio F, Frigg R, Glatzel M, Klein MA, Mackay F, Aguzzi A (2000). Impaired prion replication in spleens of mice lacking functional follicular dendritic cells. *Science* 288: 1257-59.
84. MacLennan IC (1994). Germinal centers. *Annu Rev Immunol* 12:117-39.
85. Yoshida K, van den Berg TK, Dijkstra CD (1994). The functional state of follicular dendritic cells in severe combined immunodeficient (SCID) mice: role of the lymphocytes. *Eur J Immunol* 24(2):464-8.
86. Clark EA, Grabstein KH, Shu GL (1992). Cultured human follicular dendritic cells. Growth characteristics and interactions with B lymphocytes. *J Immunol* 148(11):3327-35.

87. Burton GF, Conrad DH, Szakal AK, Tew JG (1993). Follicular dendritic cells and B cell costimulation. *J Immunol* 150(1):31-8.
88. Grouard G, de Bouteiller O, Barthelemy C, Lebecque S, Banchereau J, Liu YJ (1995). Regulation of human B cell activation by follicular dendritic cell and T cell signals. *Curr Top Microbiol Immunol* 201:105-17.
89. Tew JG, Wu J, Qin D, Helm S, Burton GF, Szakal AK (1997). Follicular dendritic cells and presentation of antigen and costimulatory signals to B cells. *Immunol Rev.* 156:39-52. Review.
90. Ansel KM, Harris RB, Cyster JG (2002). CXCL13 is required for B1 cell homing, natural antibody production, and body cavity immunity. *Immunity* 16(1):67-76.
91. Allen CD, Ansel KM, Low C, Lesley R, Tamamura H, Fujii N, Cyster JG (2004). Germinal center dark and light zone organization is mediated by CXCR4 and CXCR5. *Nat Immunol* 5 (9): 943-52.