

FUNCIONES Y CLASIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

F. ROMERO-PALOMO¹*, P.J. SÁNCHEZ CORDÓN¹, M.A. RISALDE¹, M. PEDRERA¹, V. MOLINA¹, E. RUIZ-VILLAMOR², J.C. GÓMEZ-VILLAMANDOS¹

RESUMEN

Las células dendríticas (CDs) son leucocitos que juegan un importante papel tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa, siendo las células presentadoras de antígeno más potentes que existen y con la capacidad única de activar linfocitos T colaboradores que no han tenido contacto antigénico previo. No sólo son importantes en la regulación de respuestas inmunógenas efectivas, sino también en la inducción de fenómenos de tolerancia inmunológica, necesarios para evitar la aparición de procesos autoinmunes. Tras la captación y procesamiento de los antígenos, las CDs se dirigen principalmente a los órganos linfoides, donde se produce la presentación de antígenos a los linfocitos T, proceso en el cual no sólo es necesaria la interacción del CMH-II con el receptor de linfocitos T sino también la interacción de otras moléculas accesorias como las moléculas coestimuladoras y las moléculas de adhesión. Las CDs son células de una gran plasticidad funcional y que van a caracterizarse por su diferente localización en el organismo, su estado de madurez y su origen. En este último aspecto, cabe destacar las importantes diferencias funcionales entre las células dendríticas foliculares (CDF) de origen estromal y las clásicas CDs de origen hematopoyético, que van a derivar a su vez de progenitores mieloides o linfoides y que van a clasificarse de manera distinta según la especie estudiada.

¹Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba-Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), Edificio Sanidad Animal, Campus de Rabanales, 14014, Córdoba, España.

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

*E-mail: v32ropaf@uco.es

1. ANTECEDENTES

La primera vez que se observaron células con morfología dendrítica, presentes en la piel data de 1868, siendo Paul Langerhans, un estudiante alemán de medicina, el responsable del hallazgo [1]. En aquel momento se pensó que estas células formaban parte del sistema nervioso, cuando en realidad se trataba de las actualmente conocidas como células dendríticas epidérmicas o células de Langerhans. A pesar de su descubrimiento, no se consiguió averiguar la verdadera naturaleza y función de estas células, que permanecieron como un misterio durante más de 100 años.

En la teoría de la selección clonal propuesta por Frank Macfarlane Burnet en 1957 se postulaba que los linfocitos proliferan en respuesta a antígenos sólo si el antígeno se une a su receptor [2], pero esta teoría no explicaba cómo se presentaba el antígeno desencadenante de la respuesta inmune. Ralph M. Steinman, que en esta época continuaba con sus estudios de medicina, se interesó por estas cuestiones y se dedicó a investigar qué agente posibilitaba la presentación de antígeno para iniciar la respuesta inmunitaria linfocítica, ya que observó que añadiendo antígenos específicos a los linfocitos no se conseguía una respuesta inmune primaria.

Robert Mishell y Richard Dutton publicaron en 1966 un estudio en el que consiguieron desencadenar por primera vez una respuesta primaria de anticuerpos *in vitro* añadiendo glóbulos rojos de oveja a una suspensión de células de bazo de ratón [3]. En este caso, dicha suspensión de células no sólo contenía poblaciones de linfocitos, como se había hecho anteriormente, lo que llevó a la conclusión en trabajos posteriores [4] de que dicha respuesta primaria de anticuerpos sólo se produce en presencia de una variedad de células accesorias del bazo, cuyo principal componente son los macrófagos.

En 1970 Ralph M. Steinman comenzó a trabajar junto con Zanvil A. Cohn en estas células accesorias de bazo de ratón y descubrieron mediante microscopía de contraste de fases una escasa población de células con múltiples ramificaciones, móviles y ricas en mitocondrias. Dada su peculiar morfología, ambos investigadores utilizaron por primera vez en 1973 el término “células dendríticas” (CDs) para referirse a estas células [5-6]. Durante los años 70, la mayoría de los inmunólogos consideraron a los macrófagos como la principal célula presentadora de antígenos (CPA) en el sistema inmune, siendo poco aceptada la hipótesis de Steinman sobre el papel clave de las CDs en la generación de la respuesta inmune. Steinman y otros investigadores caracterizaron las proteínas expresadas en la superficie de las CD [7], que fueron clave para determinar la función de las CDs. Uno de los hallazgos más significativos fue la elevada expresión de proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH),

que más tarde demostraron ser necesarias para la presentación de antígenos a los linfocitos T. Tras una serie de experimentos basados en la reacción linfocitaria mixta (MLR), Steinman pudo demostrar que las CDs eran entre 100 y 1000 veces más eficaces para iniciar la respuesta inmunitaria que las células genéricas del bazo [8].

Dado que las CDs son tan escasas, los estudios iniciales fueron difíciles y no fue hasta los años 80 cuando se aceptó que las CDs son “CPA profesionales”. Estudios posteriores describieron los procesos de maduración de las CDs, mediante los cuales, las CDs inmaduras capturan antígenos en tejidos periféricos para transformarse en eficientes iniciadores de la respuesta inmune [9].

La escasez de CDs supuso un impedimento para su estudio, por lo que los investigadores descubrieron en los años 90 cómo generar *in vitro* grandes cantidades de CDs a partir de precursores de médula ósea o de monocitos, eliminando la ardua tarea de purificarlas a partir de órganos linfoides [10-11]. Distintas terapias basadas en la aplicación de CDs obtenidas *in vitro* están siendo objeto de numerosas investigaciones.

2. FUNCION DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS:

2.1.) Células presentadoras de antígenos (CPAs)

Las CDs son células especializadas del sistema inmune conocidas principalmente por su papel como CPAs a los linfocitos T, lo que permite el establecimiento de una respuesta inmune apropiada. Pero no son las CDs las únicas que desempeñan esta función presentadora de antígenos, ni tampoco esta presentación es realizada a un solo tipo de linfocito T [12]. Para que tenga lugar este proceso de presentación, es necesaria la presencia de una molécula denominada complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). En humanos, el CMH es denominado “sistema HLA” (*Human leukocyte antigen*), ya que estas proteínas se descubrieron como antígenos presentes en los leucocitos. Los receptores de linfocitos T (TCR - *T cell receptor*) son incapaces de reconocer antígenos intactos (como hacen los linfocitos B), por lo que necesitan que el antígeno sea procesado por una CPA y que ésta lo presente en su superficie como fragmentos unidos al CMH. Existen 2 tipos de moléculas CMH, denominadas **CMH tipo I y tipo II**. La primera se expresa en la mayoría de células nucleadas, que van a presentar antígenos intracelulares a los linfocitos T citotóxicos (CTL o CD8+), como es el caso de las nuevas proteínas sintetizadas en las células infectadas por virus. Una vez activados, los linfocitos T citotóxicos pueden destruir directamente la célula diana. Las moléculas CMH tipo II, sin embargo, se localizan principalmente en linfocitos B, macrófagos y células dendríticas, que son responsables de la presentación a linfocitos

T colaboradores (Th o CD4+) de antígenos extracelulares que han sido captados por la CPA mediante fagocitosis o por endocitosis mediada por receptores. Estos linfocitos T CD4, al activarse se transforman en potentes reguladores de la respuesta inmune [13]. Las CDs presentan una particularidad ausente en los macrófagos denominada “presentación cruzada” mediante la cual, antígenos no replicativos, normalmente procesados por la vía exógena y presentados en el contexto de moléculas CMH-II, son presentados por moléculas CMH-I con la consiguiente inducción de respuestas de linfocitos T CD8+ [14].

La mayoría de células nucleadas del organismo pueden actuar como CPA por su capacidad de presentar antígenos a linfocitos T CD8+ por medio de las moléculas CMH-I; sin embargo, este término es a menudo utilizado para referirse únicamente a las células capaces de presentar antígenos a los linfocitos T CD4, es decir, las que expresan CMH-II. Existen células que en determinadas ocasiones pueden activarse y expresar CMH-II, como es el caso de algunas células epiteliales (endotelio vascular, epiteliales del timo), siendo por tanto consideradas como “CPA no profesionales”. Por otro lado, las CPA que expresan CMH-II mejor definidas son las CDs, los fagocitos mononucleares y los linfocitos B, también denominadas “CPA profesionales”, siendo su capacidad fagocítica y procesadora de antígenos muy superior a la de cualquier otro tipo celular. Dentro de estas últimas, los macrófagos y linfocitos B presentan antígenos a linfocitos T colaboradores activos, es decir, linfocitos que han tenido un contacto previo con el antígeno. Las CDs en cambio, además de presentar antígenos a linfocitos T colaboradores activos, tienen la habilidad única de inducir respuestas inmunes primarias mediante la activación de linfocitos T vírgenes [15]. Las CDs expresan además una cantidad de complejos CMH-II-péptido muy superior a la expresada por linfocitos B o monocitos, siendo las CPAs más potentes de todo el sistema inmune [16-17].

2.2.) Circulación de las CDs e interacción con los linfocitos T

Las CDs tienen su origen en la médula ósea, donde las células madre se diferencian y migran como precursores de CDs hacia la sangre. Desde allí, las CDs inmaduras buscan los tejidos en los que actúan como células centinela, vigilando la posible entrada de patógenos invasores, a los cuales capturan, procesándolos en fragmentos antigénicos [13]. Una vez que se ha capturado el patógeno, la DC inmadura recibe señales de activación, que inician su maduración y migración a los órganos linfoides secundarios donde presentan los antígenos procesados a los linfocitos T vírgenes para la inducción de una respuesta inmune específica frente a esos antígenos. La

maduración y la migración de las CDs están minuciosamente dirigidas por diversas quimiocinas y moléculas de adhesión [18-19]. Una vez en las áreas T de los nódulos linfáticos, las quimiocinas atraen a los linfocitos T vírgenes hacia las CDs, permitiendo que se establezca la interacción entre la CD y el linfocito T (ver **Figura 1**). En esta interacción o sinapsis inmunológica intervienen diversas moléculas: En primer lugar, se establece la “señal 1” resultado de la interacción entre la molécula CMH-II de la CD, cargada con el antígeno, y el receptor del linfocito T. Las CDs expresan además distintas moléculas coestimuladoras que incluyen miembros de la familia B7 como CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2), que pueden interactuar con CD28 y CD152 (CTLA4) presentes en el linfocito T [20], así como miembros de la familia TNF, como es el caso de CD40, cuyo ligando en el linfocito T es CD154 [21]. Esta segunda señal (“señal 2”) generada por las moléculas coestimuladoras, presentes también en otras CPA [22], es necesaria para la correcta activación de los linfocitos T. Dicho de otro modo, la señal 2 debe acompañar a la señal 1 para que se produzca inmunidad, ya que la señal 1 en ausencia de coestimulación se asocia con la inducción de tolerancia [23]. Hay que matizar que esta segunda señal inmunógena es resultado de la interacción con CD28 en el linfocito T, ya que si se produce con CTLA4, tendrá lugar una inactivación del linfocito, es decir, una respuesta tolerogénica. Existen además interacciones en las que intervienen moléculas de adhesión intercelular, que proporcionan estabilidad a la unión, como es el caso de CD58 (LFA-3) y CD54 (ICAM-1) presentes en la CD, cuyos correceptores en el linfocito T son LFA-2 y LFA-1 respectivamente. Se han identificado nuevas moléculas de la superficie celular de las CDs que pueden contribuir en su función, como es el caso de las lectinas de tipo C [24], que regulan muchas funciones implicadas en el establecimiento de la inmunidad innata y adaptativa. Algunas de estas moléculas pueden no solo reconocer patógenos sino también regular la interacción celular con los linfocitos T, como es el caso de CD209 (DC-SIGN) [25].

Interacción “Célula dendrítica-linfocito T”	
CMH-II (en la célula dendrítica)	- TCR (receptor de linfocito T)
CD40	- CD154 (CD40L)
CD80 (B7-1) /CD86 (B7-2)	- CD28 (activación)
CD80 (B7-1) /CD86 (B7-2)	- CD152 (CTLA4) (inactivación)
LFA-3 (CD58)	- LFA-2 (CD2)
ICAM-1 (CD54)	- LFA-1 (CD11a/CD18)
DC-SIGN (CD209)	- ICAM-3 (CD50)

Figura 1. Principales moléculas participantes en la interacción entre Células dendríticas y linfocitos T. CD (grupo de diferenciación), CTLA-4 (Antígeno de linfocito T citotóxico- 4), LFA (Antígeno asociado a la función linfocítica), ICAM (Molécula de adhesión intercelular). DC-SIGN (Molécula de adhesión intercelular no asociada a integrina, específica de células dendríticas)

2.3.) Células dendríticas e Inmunidad innata:

Las CD son conocidas por el importante papel que juegan enlazando la inmunidad innata y la adaptativa [26-27]. La respuesta inmune innata limita la infección y activa a la CPA para desencadenar la inmunidad adaptativa, que incrementa la especificidad y crea memoria inmunológica. Existen varios mecanismos que llevan a la activación innata de las CD, compartiendo todos ellos un nexo de unión con las infecciones [28]. Las células del sistema inmune, incluyendo las CD poseen los denominados receptores de reconocimiento de patrones moleculares (PRR - *Pattern-recognition receptor*) que como su propio nombre indica, reconocen distintos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP - *Pathogen-associated molecular pattern*) presentes en virus, bacterias, hongos y protozoos, como pueden ser su material genético, lipopolisacáridos (LPS), etc. Los PRR mejor estudiados son los Receptores de tipo Toll (TLR - *Toll-like Receptors*), los cuales tienen un importante papel en la biología de las CD [29], aunque se ha visto que el repertorio de TLRs entre los tipos de CD no es el mismo entre distintas especies como es el caso de ratones y humanos [27, 29]. Es posible hacer una distinción entre las distintas vías de activación de CD, que pueden ser dependientes o independientes de los PAMPs. La activación dependiente de PAMP puede producirse de manera directa por contacto con PAMPs, o bien de manera indirecta mediada por citoquinas producidas por otros tipos celulares que han contactado con el patógeno. La activación independiente de PAMP se produce en respuesta a moléculas propias del organismo o alteraciones del medio interno, como las proteínas de choque térmico [27-28]. Además de los TLRs, responsables de señalizaciones intracelulares, existen otros PRR incluidos en la familia de lectinas de tipo C [24, 30], que están siendo objeto de numerosos estudios debido a su presencia en las CD (DEC205, langerina, DC-SIGN, BDCA-2, etc.). La activación de las CD implica que éstas secreten distintas citoquinas proinflamatorias implicadas en la defensa del hospedador [31]. El mejor ejemplo de ello son las CD plasmacitoides, las cuales son conocidas por ser grandes productoras de INF de tipo 1, de gran importancia en la inmunidad innata frente a los virus [32-34].

2.4.) Células dendríticas e Inmunidad adaptativa:

Las CD han demostrado ser de vital importancia no sólo para la inducción de respuestas inmunes primarias (inmunidad innata), sino también para la regulación del tipo de respuesta inmune de linfocitos T, que va a ser específica del antígeno que procesa y presenta. En este sentido, las CD van a desencadenar respuestas de linfocitos T colaboradores de tipo 1 (Th1) y de tipo 2 (Th2) [31, 35]. Existe la denominada “señal

3'' para referirse precisamente a estas señales que dan las CDs a los linfocitos T para que estos se diferencien en células efectoras como Linfocitos Th1, Th2 o citotóxicos [36]. La IL-12 es un ejemplo de mediador que proporciona una señal 3 inductora de linfocitos Th1 o CTL [37].

Existe mucha controversia acerca de si los distintos tipos de inmunidad son producidos por distintos tipos de CDs en respuesta a diferentes PAMPs o si una sola subpoblación de CDs tiene el potencial suficiente de producir distintas citoquinas dependiendo del estímulo activador [28]. Parece ser que las subpoblaciones están en cierto modo especializadas para inducir distintos tipos de inmunidad, pero conservando una plasticidad suficiente para ajustar su respuesta a las señales de los patógenos.

2.5.) Células dendríticas y tolerancia inmunológica

Las células dendríticas no solo están relacionadas con la activación de linfocitos T para desencadenar respuestas inmunes adaptativas sino que también están implicadas en la inducción de tolerancia inmunológica [38-39], de gran importancia para evitar que el cuerpo produzca un ataque inmune contra antígenos inocuos, incluidos los de los tejidos, células o proteínas del propio organismo. Dependiendo de dónde se produzcan estos fenómenos de tolerancia, hablamos de tolerancia central o de tolerancia periférica. La tolerancia **central** tiene lugar en el timo, donde se produce no sólo un proceso de selección positiva de aquellos linfocitos T que no reconocen antígenos propios, sino también un proceso de selección negativa mediado por las CDs de la médula, en el que se destruyen aquellos linfocitos T que reconocen complejos CMH-péptidos con alta afinidad [40]. Dado que algunos linfocitos T pueden esquivar el primer proceso de tolerancia, que además existen otros antígenos propios que no están presentes en el timo, o que otros surgen más tarde en la vida, las células dendríticas también participan en los fenómenos de tolerancia **periférica** que restringen su actividad [41]. Estos mecanismos incluyen la muerte, anergia o supresión activa de linfocitos T, para lo cual las CDs pueden inducir linfocitos T reguladores (Treg) a nivel periférico [42]. Fallos en el mantenimiento de la tolerancia inmune pueden conducir a la aparición de enfermedades autoinmunes al igual que un exceso de tolerancia puede crear un ambiente permisivo para agentes infecciosos crónicos, como el VIH. Tradicionalmente se ha considerado que las CDs fenotípicamente inmaduras son las *tolerogénicas* y que las fenotípicamente maduras son las CDs *inmunógenas*. Sin embargo, observaciones recientes muestran que las CDs fenotípicamente maduras no siempre promocionan inmunidad de linfocitos T sino que pueden de hecho inducir tolerancia [23, 43]. Ver apartado de tipos de CDs según madurez.

3. TIPOS DE CÉLULAS DENDRÍTICAS:

Las CDs van a poder clasificarse en base a distintos criterios como su localización en el organismo, su estado de madurez o si origen.

3.1.) Según su localización en el organismo:

Las CDs presentan un nivel de heterogeneidad que no solo se refleja fenotípicamente o en sus distintos orígenes sino también en las diferentes denominaciones que reciben según su localización anatómica. Las CDs circulan en **sangre** como células precursoras mieloides o linfoides, representando aproximadamente el 1% de las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs). En los **tejidos no linfoides**, a nivel de la piel se encuentran las CDs epidermales, también conocidas como “Células de Langerhans” (CL) [44-45], que contienen unos estructuras intracitoplasmáticas de gran tamaño llamadas gránulos de Birbeck, mientras que en la dermis existen las “CDs dermales” [46], las cuales pertenecen a una subpoblación más amplia de “CDs intersticiales” [47], las cuales se presentan a nivel de la mayoría de órganos, incluyendo hígado, riñón, corazón y otros tejidos conectivos. Las “CDs asociadas a superficies mucosas” se encuentran en la mucosa de la cavidad oral, de tracto intestinal y tracto respiratorio. Estas poblaciones de células dendríticas presentes en tejidos no linfoides actúan como células centinela captando antígenos en las barreras de entrada al organismo. Una vez que se han captado los antígenos, las CDs migran hacia los órganos linfoides donde llevan a cabo la presentación de antígeno a los linfocitos T para que éstos sean activados. Aunque el término CL se usa principalmente para referirse a las CDs de la epidermis, este término se ha extendido a las CDs presentes en todos los epitelios estratificados [44]. En los **tejidos linfoides**, el centro germinal, que es el microambiente que permite la generación de linfocitos B de memoria, también contiene “Células Dendríticas Foliculares” (CDF) y “CDs de los centros germinales” (CDCG). Las CDCG son potentes CPA para los linfocitos T [48-49]. Por el contrario, las CDF tienen la peculiar capacidad de captar antígenos en forma de complejos inmunes durante largos periodos de tiempo y promover la activación y selección de linfocitos B de los CG [50-51]. Dadas las importantes diferencias fenotípicas y funcionales con el resto de CDs, las CDF serán estudiadas con mayor detalle en el apartado de CDs de origen mesenquimal. Las CDs que han capturado antígenos y que han migrado desde la piel, otros tejidos intersticiales no linfoides, y de superficies mucosas hacia linfa aferente son reconocidas como “CDs de linfa aferente”, también llamadas “Células veladas o veliformes” [52-53], que deben su nombre a los procesos en forma de velo que presentan en la superficie. Estas células migrantes representan una fase

intermedia entre las células de Langerhans (CDs inmaduras por excelencia) y las “CDs Interdigitantes” (CDI) [54] en las que se transforman. Estas últimas están presentes principalmente en las áreas T de los órganos linfoides secundarios, presentan un alto grado de maduración y pueden iniciar respuestas inmunes por activación de linfocitos T vírgenes. Al contrario de lo que sucede con las CL, las “CDs del timo” (CD tímicas) parecen ser células no migrantes, que son generadas en el timo, donde completan su ciclo de vida [40]. Por esto, es más probable que sólo se encuentren y presenten antígenos propios, estando así implicadas en la selección negativa de linfocitos T. Ver apartado de células dendríticas y tolerancia inmune.

3.2.) Según su madurez:

Ya se ha visto anteriormente que las CDs tienen la capacidad de captar antígenos extracelulares, procesarlos en distintos compartimentos de su citoplasma y asociarlos con moléculas CMH-II de su superficie para que sean presentados a los linfocitos T. Sin embargo, no todas las CDs tienen la misma capacidad para realizar por igual estas tres funciones, lo cual va a depender de su estado de maduración.

Distintos trabajos en los que se comparaban células de Langerhans aisladas en fresco (“inmaduras”) y CL procedentes de suspensiones epidermales posteriormente cultivadas *in vitro* (“maduradas”) revelaron sus distintas capacidades de captación y procesamiento antigénico y de estimulación de linfocitos T [9, 55]. De manera muy general y a modo de definición, las CDs **inmaduras** se caracterizan por presentar una elevada capacidad fagocítica y de procesamiento antigénico, localizarse principalmente en regiones periféricas del organismo como piel y mucosas y presentar una menor cantidad de moléculas CMH-II y de moléculas coestimuladoras. De manera opuesta, las CDs **maduras** se dirigen a las zonas T de los órganos linfoides secundarios, donde queda reflejada su capacidad para la presentación de antígenos a los linfocitos T, siendo su actividad fagocítica más limitada. Además sobreexpresan la molécula CMH-II superficialmente (y no en el citoplasma como en las inmaduras) y moléculas coestimuladoras [13]. Estas definiciones se ajustan al modelo clásico en el que las CDs inmaduras presentes en piel y mucosas, maduran durante su migración a los nódulos linfáticos, disminuyendo su capacidad de captación de antígenos y aumentando su capacidad de estimular a los linfocitos T [56]. Sin embargo, existen numerosas excepciones y matices, como el hecho de que las CDs en estado inmaduro no solo están en piel y mucosas sino también en otros lugares como la sangre o los propios tejidos linfoides secundarios.

Además de cambios en la expresión de distintas moléculas de superficie, las CDs también experimentan **cambios de forma** muy significativos que van a depender del estado en el que se encuentren. Cuando se encuentran en sangre o linfa en forma de células migrantes o de precursores de CDs, su morfología es básicamente redondeada. Sin embargo, cuando se trata de CDs inmaduras existentes en regiones superficiales del organismo (principalmente CLs), su superficie presenta numerosas prolongaciones para facilitarles un mayor contacto con los antígenos. De manera similar, las CDs maduras de las áreas T también presentan numerosas prolongaciones citoplasmáticas, pero en este caso para proporcionarles una mayor superficie con la que contactar con los linfocitos T [57-58].

Las CDs inmaduras disponen de distintos mecanismos para la captación de antígenos. En primer lugar, pueden captar partículas o microorganismos por fagocitosis. En segundo lugar, pueden formar grandes vesículas en las que se toman muestras de fluido extracelular y solutos, mediante un proceso denominado macropinocitosis. Por último, expresan elevados niveles de receptores que median endocitosis por adsorción, incluidos en la familia de Lectinas tipo C [24], como es el caso de DEC-205 [59]. Gracias a esta variedad de mecanismos de captación antigénica, las CDs realizan una presentación tan eficiente que concentraciones tremendamente inferiores a las necesarias empleadas por otras CPA son suficientes [60].

La mayoría de proteínas que entran por vía endocítica en los macrófagos son degradadas en aminoácidos en los lisosomas, lugar en el que existen muy pocas moléculas CMH-II. Las CDs en cambio se caracterizan por la presencia de "compartimentos ricos en CMH tipo II" (MIICs), que son muy abundantes en las CDs inmaduras. Durante la maduración de las CDs, los MIICs se convierten en vesículas no lisosómicas que descargan sus complejos péptido-CMH en la superficie [13]. La sobreexpresión en superficie de CMH-II y de moléculas coestimuladoras son indicadores fenotípicos de CDs maduras, pero existen otras moléculas como CD83 y CD208 (DC-LAMP) que se conocen por ser marcadores exclusivos de CDs maduras [61-63], aunque los datos obtenidos provienen únicamente de estudios realizados en humanos y ratones.

Reis e Sousa [23] analiza una serie de conceptos erróneos a cerca del paradigma de la maduración de las CDs, incluyendo los siguientes: 1) No todas las CDs de los órganos linfoides secundarios proceden de la periferia ya que gran parte de las CDs presentes en el bazo y nódulos linfáticos proceden de progenitores sanguíneos, 2) No todas las CDs de los órganos linfoides secundarios son maduras, sino que hay muchas (sobre todo las derivadas de progenitores sanguíneos) que están en estado inmaduro y 3) Dado que la expresión superficial de elevados niveles de moléculas CMH-II,

CD40, CD80, CD83 y CD86 se correlaciona normalmente con la habilidad de activar a linfocitos T, se asume de manera generalizada que las CDs que son maduras por criterios fenotípicos, son también maduras funcionalmente, es decir, inmunógenas. Sin embargo, observaciones recientes muestran que las CDs fenotípicamente maduras no siempre promocionan inmunidad de linfocitos T sino que pueden de hecho inducir tolerancia [23, 43].

3.3.) Según su origen:

3.3.1.) *De origen hematopoyético:*

El origen de las CDs ha sido siempre un tema de interés entre los investigadores. Hoy día se sabe que las CDs se originan a partir de precursores hematopoyéticos, a excepción de las CDF, que se verán en el apartado siguiente. Las CDs de origen hematopoyético, se dividen a su vez en células dendríticas procedentes de progenitores linfoides [64] y procedentes de progenitores mieloides [65]. Las CDs siguen varias vías hematopoyéticas de diferenciación y maduración, y las múltiples y heterogéneas subpoblaciones de CDs varían en la expresión de marcadores de superficie [66-67]. La diversidad de funciones de las CDs en la regulación del sistema inmune (respuestas inmunes innatas, adaptativas (Th1-Th2), tolerancia inmune, producción de linfocitos T reguladores, etc.) reflejan las heterogéneas subpoblaciones con diferente origen y plasticidad funcional.

La clasificación de las distintas subpoblaciones de CDs ha sido objeto de estudio en distintas revisiones bibliográficas de gran complejidad [67-69], por lo que se intentará dar a continuación unas nociones básicas y conceptos importantes que hay que tener en cuenta. Hasta el momento no se ha identificado un marcador específico de líneas de CDs, y las subpoblaciones de CDs están por tanto actualmente definidas como líneas de células CMH-II + en combinación con varios marcadores celulares de superficie [69]. Cuando se intenta clasificar las CDs en base a su origen y funcionalidad, se hace uso de una amplia terminología que a veces puede ser muy complicada y ambigua. Este es el caso de acepciones como “mieloides”, “linfoides”, “convencionales”, “plasmacitoides”, “CDs tipo1”, “CDs tipo2” “IPCs (CDs productoras de IFN)”, complicándose todo aún más debido a la diferente subdivisión que se hace de las CDs cuando se habla de modelos murinos o de humanos, que son las dos especies más estudiadas (**Figuras 2 y 3**). En algunas fuentes se habla en humanos de CDs tipo 1 y CDs tipo 2 para referirse a las CDs convencionales y plasmacitoides respectivamente [57]. En otros textos diferencian CDs tipo 1 y CDs tipo 2 para refe-

rirse a CDs inductoras de una respuesta Th1 y Th2 respectivamente [28, 70]. Estas denominaciones se basan principalmente en la habilidad de las CDs de origen monocítico y plasmacitoides para inducir respuestas Th1 y Th2 respectivamente [71], sin embargo, se ha visto posteriormente que ambos tipos de CDs (Convencionales y plasmacitoides) son muy flexibles, pudiendo dar respuestas Th1 y Th2 [33, 72]. Aun así, es frecuente seguir encontrando la denominación CDs tipo 1 y tipo 2 para referirse a las CDs convencionales y plasmacitoides respectivamente [67]. Otra distinción es la que separa las CDs convencionales en CD mieloides tipo I y CDs mieloides tipo 2 según la expresión de marcadores como BDCA-1 (CD1c) y BDCA-3 (CD141) respectivamente. Por todo ello, la forma más común de clasificar a las CDs es aquella que las divide en convencionales (de origen principalmente mieloides) y en plasmacitoides (de origen principalmente linfoides).

Ratones:

Aunque esta revisión no está enfocada al estudio de las CDs en modelos murinos, es importante explicar brevemente las grandes diferencias con otras especies ya que muchas de las grandes conclusiones que se obtienen sobre la biología de las CDs proceden de estudios hechos en ratones.

La existencia de subpoblaciones de CDs se describió por primera vez en ratones, mediante marcadores que se utilizarían para los linfocitos T, estableciéndose dos grupos principales de CDs, CD8+CD4- y CD8-CD4+ [73]. Este hallazgo de que algunas CDs murinas expresan niveles de CD4 casi tan altos como los de los linfocitos T ahora concuerda con las CDs humanas, que también expresan CD4 [74-75]. Sin embargo, la expresión de altos niveles de CD8 no es una característica de las CDs humanas [75]. Es importante matizar que en el contexto de las CDs de ratón, hablamos de la molécula CD8 como un homodímero $\alpha\alpha$, y no como el heterodímero $\alpha\beta$ presente en los linfocitos T. Es por ello frecuente encontrar dicha molécula denominada como "CD8 α murina" para hacer hincapié en esa diferencia. Se puede generalizar entonces que las moléculas CD4 y CD8 α no son de utilidad en la diferenciación de las subpoblaciones de CDs humanas, ya que todas son CD4⁺CD8 α , mientras que las subpoblaciones de CDs de ratón van a presentar distintas combinaciones (CD4^{+/+}CD8 α ^{+/+}). Hasta hace poco, las "CDs linfoides" eran conocidas como CDs CD8 α ⁺ y las "CDs mieloides" como CDs CD8 α pero este concepto se considera actualmente incorrecto [76-77], ya que las subpoblaciones de CDs han resultado ser mucho más complejas de lo que se pensaba [67]. A pesar de todo, la discriminación entre subpoblaciones de CDs basada en la expresión diferencial de CD8 sigue siendo bastante útil en términos prácticos.

Se han definido múltiples subpoblaciones de CD en los órganos linfoides del ratón en base a la expresión de marcadores de superficie celular. Todas las subpoblaciones conocidas de CD murinas (tanto convencionales como plasmacitoides) expresan las moléculas CMH II y CD11c, aunque a distintos niveles, a diferencia de lo que sucede en las CD humanas. La determinación de las distintas subpoblaciones va a depender de la presencia o ausencia o incluso de la cantidad de distintas moléculas, principalmente CD4, CD8 α , CD11b, CD205, CD45R (B220) y Ly6C. Hay dos subtipos principales de CD en los órganos linfoides secundarios de ratón: CD convencionales (CDc) y CD plasmacitoides (CDp) que a su vez pueden ser de línea mieloide o linfoide. A grandes rasgos, se puede decir que las **CDc** son CD11c^{elevado}CD45R(B220)⁻ mientras que las CDp son CD11c^{moderado} CD45R(B220)⁺Ly6C⁺. Utilizando los marcadores anteriormente descritos, se pueden encontrar más de 5 subpoblaciones de **CDs convencionales**, de las cuales solo tres han sido descritas en el bazo. Las **CDs plasmacitoides**, de localización variable y que también pueden subdividirse según la expresión de CD8 y CD4, se diferencian de otras subpoblaciones de CDc murinas pero comparten la mayoría de características morfológicas y funcionales con sus equivalentes en otras especies, produciendo grandes cantidades de IFN de tipo I ante infecciones virales, jugando un papel importante en la respuesta antiviral más que en la presentación de antígenos a linfocitos T (ver **Figura 2**).

CDs murinas						
Subpoblación y localización principal	Convencionales					Plasmacitoides (IPCs)
	Bazo y Nódulo linfático			Nódulo linfático		
	CD4 ⁺ CD8 ⁺	CD4 ⁺ CD8 ⁻				
Linaje	L	M	M	M	M	L/M
Fenotipo						
MHCII	+++	+++	+++	+++	+++	++
CD11c	+++	var.	+++	+++	+++	++
B220, Ly6C	-	-	-	-	-	++
CD4	-	-	++	-	-	var.
CD8 α	+++	-	-	var.	-	var.
CD205	+++	-	-	+++	+	+
CD11b	-	var.	++	++	++	-

Figura 2. Heterogeneidad de las CD murinas (resumida de Sato y Fujita, 2007 [69]). IPCs (Células productoras de IFN), L (linfoide), M (Mieloide), var. (variable).

Humanos y otras especies:

Al igual que en las CDs de ratón, las CDs humanas también comprenden múltiples subpoblaciones en cuanto a la expresión de numerosos marcadores superficiales, aunque parece que están más relacionados con la madurez o funcionalidad que con su origen. Las CDs humanas también se definen por ser CMH II +, aunque todas ellas expresan CD4 y carecen de CD8. Además, se dividen en subpoblaciones de CDs convencionales, de linaje mielóide (CD11c+) y CDs plasmacitoides, de linaje linfóide CD11c-, a diferencia de las CDs de ratón, que expresan en su totalidad CD11c independientemente de su origen.

En sangre periférica de humanos se han descrito dos subpoblaciones de CDs **mieloides** convencionales denominadas como CDm1 (CD4⁺CD1a⁺CD11c⁺BDCA-1⁺) y CDm2 (CD4⁺CD1a⁺CD11c⁺BDCA-3⁺) [78-80]. Ambas subpoblaciones expresan además CD13, CD33, CD45RO y CD116 pero otras moléculas como CD2, CD11b, CD32 o CD64 se restringen solo a CDm1. Las subpoblaciones CDm1 y CDm2 parecen ser los precursores directos de las CL y de las CD intersticiales respectivamente [78]. Estas CDs convencionales pueden dar lugar a respuestas de tipo Th1 o Th2 dependiendo del entorno inflamatorio existente [35].

Las CDs **plasmacitoides** son reconocidas en humanos como subpoblaciones de CDs únicas de origen linfóide. Estas células se identificaron por primera vez en áreas paracorticales de nódulos linfáticos reactivos con una morfología similar a la de las células plasmáticas y con marcadores comunes a linfocitos T y monocitos. Se observó también que estas células producían grandes cantidades de IFN de tipo 1 en respuesta a ciertos virus y que en determinadas condiciones de cultivo (IL3, CD40L) se transformaban en células de morfología estrellada y con capacidad para activar linfocitos T vírgenes. Por todo ello, los linfocitos T plasmacitoides, monocitos plasmacitoides o Células productoras de IFN naturales resultaron ser el mismo tipo celular denominado CD plasmacitoide [33, 81-82]. Las CDp humanas se identifican como subpoblaciones CMHII⁺ CD4⁺ CD45RA⁺ IL-3R α (CD123)⁺ ILT3⁺ ILT1⁻ CD11c⁻ [33] con ausencia de otros marcadores mieloides observados en CDc y con dos marcadores adicionales, BDCA-2 (CD303) y BDCA-4 (CD304), restringidos a CDp humanas en sangre periférica y médula ósea [79]. Ver **Figura 3**.

CDs Humanas de sangre periférica			
Subpoblación y linaje	Convencionales		Plasmacitoides (IPCs)
	Mieloide tipo 1	Mieloide tipo 2	Linfoide
Fenotipo			
MHC-II	+++	+++	++
CD1a	++	-	-
CD11c	+++	++	-
CD13, CD33, CD116	++	++	-
CD2, CD11b, CD32, CD64	++	-	-
BDCA-1 (CD1c)	++	-	-
BDCA-2 (CD303)	-	-	++
BDCA-3 (CD141)	-	++	-
BDCA-4 (CD304)	-	-	++
CD123 (IL-3R α)	-	-	++
CD45RA	-	-	++
CD45RO	+	+	-

Figura 3. Heterogeneidad de las CDs humanas de sangre periférica (resumida de Sato y Fujita, 2007 [69]).

El origen de las Células de Langerhans (CL):

Diversas investigaciones se han realizado para dilucidar el origen de las CL. Los estudios de Czernielewsky fueron los primeros en demostrar que las CL tienen la capacidad única de renovarse *in situ* [83-84]. Otros autores establecieron que existe una reposición continua de las CL con precursores hematopoyéticos circulantes [85-86]. Diversos estudios posteriores han apoyado ambas teorías hasta que finalmente se ha podido aclarar que las CL en estado de reposo son renovadas independientemente de las células precursoras de la sangre y médula ósea. Sin embargo, cuando la piel se ve alterada por procesos inflamatorios, las CL son repobladas a partir de precursores sanguíneos [44, 87].

3.3.2.) De origen mesenquimal:

Las CDF se diferencian del resto de CDs por ser células estromales típicas de tejido conectivo que se originan por tanto de precursores mesenquimales. Estas células se han incluido en esta revisión para dejar claras las diferencias con respecto al resto de CDs de origen hematopoyético, ya que lo único que comparten con ellas es la morfología dendrítica. En este sentido, las CDF no son verdaderas presentadoras de antígenos ya que no expresan moléculas del CMH-II, y por tanto no presentan

antígenos procesados a los linfocitos T CD4+ [88]. En su lugar, presentan antígenos completos en forma de complejos inmunes a los linfocitos B, ayudando a su activación o maduración selectiva y contribuyendo en la formación de los centros germinales y de células plasmáticas y de linfocitos B de memoria [89]. Siempre que se hable del término CDs en esta revisión, nos referiremos exclusivamente a las de origen hematopoyético, utilizando la denominación completa de CDF cuando queramos referirnos a estas últimas.

Relación con la reacción de los centros germinales.

A pesar de sus diferencias funcionales, las CDF guardan cierta relación con los antígenos presentados por las CDs, que queda reflejada durante la reacción de los centros germinales (CG) [90]. La formación de los CG (ver **Figura 4**) comienza cuando las CDs presentes en las áreas T, que muestran antígenos (Ags) en su superficie, activan linfocitos T CD4 específicos, que proliferan y maduran a células efectoras capaces de activar linfocitos B específicos para esos Ags. Una vez activados por los linfocitos T CD4, los linfocitos B proliferan para formar un foco primario de linfocitos B específicos frente al Ag en cuestión, pudiendo a continuación seguir dos vías de diferenciación. Algunos linfocitos B del foco primario **persisten** en el área T, diferenciándose a células plasmáticas y secretando anticuerpos (Acs) (que darán lugar a los complejos inmunes que penetran en el folículo linfoide (FL) y son captados por las CDF). Sin embargo, otros linfocitos B activos migran desde el foco primario y **penetran** en los FL primarios cercanos, siendo estos los responsables de la verdadera reacción de los CG. Una vez en el folículos, estos linfocitos B activos comienzan a proliferar rápidamente (expansión monoclonal). Esta expansión clonal a la que se ven sometidos los linfocitos B (denominados centroblastos) se ve acompañada a su vez por diversas mutaciones en el ADN que codifica los fragmentos Fab de sus BCR (receptores de linfocito B). Este proceso, denominado hipermutación somática, da lugar a la formación de anticuerpos de diferentes afinidades a la del antígeno original, generándose así una gran diversidad de clones en el CG. Debido a este proceso de mutación, algunos linfocitos B obtienen una mayor afinidad en sus BCR mientras que otros perderán afinidad. Es incluso posible que aparezcan nuevas especificidades de BCRs durante estas mutaciones aleatorias [91]. Ésta progenie de linfocitos B o centroblastos migra de la zona oscura en la que han proliferado a la zona clara de los CG, donde pierden la capacidad mitótica y comienzan a exponer sus anticuerpos en la superficie, siendo denominados en esta fase como centrocitos. En la zona clara, los centrocitos sufren un proceso de selección mediado por las CDF. Los linfocitos B cuya mutación ha dado lugar a una unión más

fuerte con los antígenos presentados por las CDF (mediante receptores CR y FcR que se verán posteriormente) serán seleccionados para sobrevivir mientras que los linfocitos B cuya mutación reduce su afinidad por los antígenos morirán por apoptosis [92]. Los linfocitos B funcionales tienen ahora que interactuar con linfocitos Th para recibir señales finales de diferenciación que determinan su transformación en células plasmáticas secretoras de anticuerpos o en linfocitos B de memoria [93]. Además de la previa mutación de los genes de Fab, la diferenciación final implica cambios de isotipo en los BCR de los linfocitos B [51, 94-95]. Los linfocitos B inactivos recirculan por los FL primarios sin apenas establecer interacciones con las CDF, mientras que los linfocitos B que han sido activados son los que sufren la hipermutación somática y la posterior selección mediada por CDF. Estudios recientes han demostrado que las CDF ayudan a mantener los FL primarios como nichos exclusivos de linfocitos B y que desempeñan un papel crítico en la retención de células dentro de los CG [96].

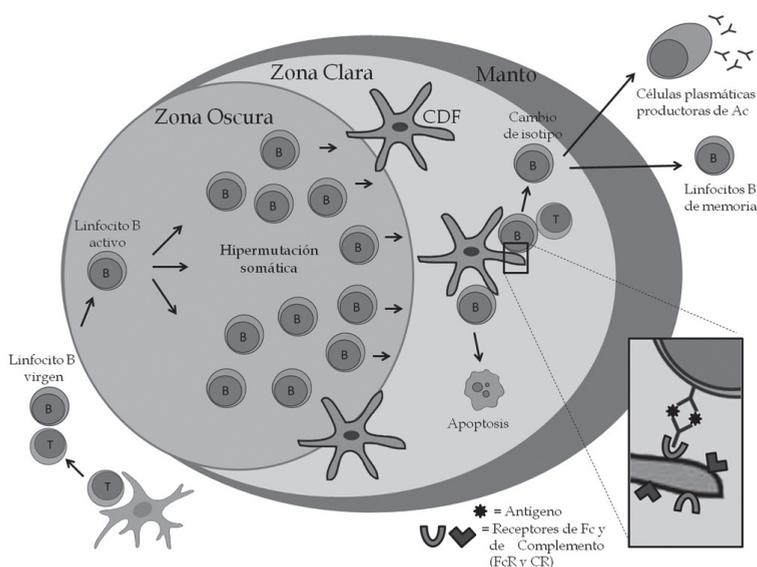


Figura 4. Reacción de los centros germinales.

Expresión de moléculas en las CDF

En relación con toda esta maquinaria, las CDF expresan varias moléculas para la presentación de antígenos. Los icosomas (del inglés *Iccosome* "Immunocomplex coated bodies") son estructuras formadas por complejos antígeno-anticuerpo presentes en la

superficie de las CDF [97], que son liberadas de sus dendritas y rápidamente captadas por los linfocitos B de los CGs. Este mecanismo permite a los linfocitos B de los CGs obtener antígenos intactos que son procesados y presentados a linfocitos T. Estructuralmente, las prolongaciones dendríticas pueden tanto tener una apariencia filiforme como formar cadenas de icosomas [50, 97]. La superficie de la membrana plasmática de las CDF está por tanto recubierta de moléculas que les permiten atrapar y retener antígenos no procesados en forma de complejos inmunes (Ag-Ac, Ag-Complemento o Ag-Ac-Compl). Entre estas moléculas destacan los receptores de los fragmentos Fc de anticuerpos, como FcγRIIb (CD32) y FcεRII (CD23), y los receptores de complemento, como CR2 (CD21) y CR1 (CD35). Algunas de estas moléculas pueden ser utilizadas para identificar CDF, pero la mayoría no son completamente específicas. Por ejemplo, CD21 se expresa en gran cantidad en las CDF, pero también, aunque en menor cantidad, en linfocitos B, y CD35 se expresa en muchos otros tipos celulares, incluyendo linfocitos B, neutrófilos y eritrocitos [98].

Además de para presentar los antígenos en forma de complejos inmunes, las CDF también expresan otras moléculas relacionadas con la atracción de linfocitos B como la quimiocina CXCL13, también denominada como BCA-1 (*B cells attracting chemokine-1*), que se une a CXCR5 (BLR1) en los linfocitos B [99]. La secreción de BCA-1 no está restringida a las CDF, existiendo evidencias de que otros tipos celulares pueden secretar esta quimiocina incluso en mayor cantidad. En la interacción de los linfocitos B con las CDF intervienen además las moléculas de adhesión LFA-1/ICAM-1 y VLA-4/VCAM-1. La expresión de ICAM-1 y VCAM-1 es típica en las CDF, pero de ninguna manera específica [91].

Origen de las CDF

Durante mucho tiempo ha existido una gran controversia sobre el origen de las CDF, pero parece que su origen estromal ha quedado claro con numerosas evidencias, como es el hecho de compartir distintos marcadores con los fibroblastos [100-101], carecer del marcador leucocitario común (CD45) o presentar un conjunto único de moléculas en su superficie [51]. Como se ha visto, las CDF se localizan exclusivamente en los FL primarios, así como en la zona clara de los FL secundarios, siendo muy escasas en la zona oscura. En este contexto, es importante recordar que en los FLs también existen las denominadas CDCG, cuyo origen es hematopoyético (CD4⁺CD11c⁺CD3⁻) [48-49, 51, 95].

4. CÉLULAS DENDRÍTICAS EN LA DIARREA VIRICA BOVINA (DVB)

Pocos son los trabajos en los que se ha estudiado el papel de las células dendríticas en la patogenia de la DVB. En algunos estudios *in vivo* se ha visto la detección del virus en células de morfología dendrítica, localizadas principalmente en el interior de los folículos linfoides, en áreas interfoliculares y en timo, mediante técnicas inmunohistoquímicas [102-108]. También ha sido posible detectar mediante hibridación *in situ* la presencia de células infectadas de morfología dendrítica en el interior de los folículos linfoides [109]

En otros estudios se ha estudiado el potencial como CPAs de los monocitos aislados a partir de sangre de animales infectados persistentemente con el DVB, sugiriendo dicho estudio que las CPA no ven alterada su capacidad de presentación antigénica [110]. Glew y colaboradores [111] estudiaron *in vitro* el efecto del virus de la DVB sobre monocitos y CDs derivadas de monocitos, concluyendo que ambos tipos celulares eran susceptibles a la infección por el virus. En este estudio también se observó que los monocitos veían afectada su capacidad de presentación antigénica y que eran susceptibles al efecto citopático del virus, no observándose dichas alteraciones en el caso de las CDs.

Estas conclusiones proceden de estudios *in vitro*, siendo necesarios estudios *in vivo* en los que se caractericen e identifiquen las localizaciones y variaciones cuantitativas de las CDs en tejidos de animales infectados con el virus de la DVB, para poder llegar así a un mejor entendimiento del papel de las células dendríticas en la patogenia de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Innovación y Ciencia de la Junta de Andalucía a través del proyecto de excelencia P09-AGR-4671 y por el Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) a través del proyecto AGL2009-13174-C02-01. Fernando Romero es beneficiario de una beca-contrato financiada por el proyecto de excelencia P09-AGR-4671 de la Junta de Andalucía. Pedro José Sánchez Cordón es beneficiario de un contrato dentro del "Programa Ramón y Cajal" del Ministerio de Ciencia e Innovación, (España).

BIBLIOGRAFÍA:

- [1] Langerhans P. Über die nerven der menschlichen haut. *Archives of Pathological Anatomy*. 44: 325-37 (1868).
- [2] Burnet FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *Austr. J. Sci.* 20: 67-69 (1957).
- [3] Mishell RI, Dutton RW. Immunization of normal mouse spleen cell suspensions in vitro. *Science*. 153: 1004-6 (1966).
- [4] Mosier DE. A requirement for two cell types for antibody formation in vitro. *Science*. 158: 1573-5 (1967).
- [5] Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J. Exp. Med.* 137: 1142-62 (1973).
- [6] Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. II. Functional properties in vitro. *J. Exp. Med.* 139: 380-97 (1974).
- [7] Steinman RM, Kaplan G, Witmer MD, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. V. Purification of spleen dendritic cells, new surface markers, and maintenance in vitro. *J. Exp. Med.* 149: 1-16 (1979).
- [8] Steinman RM, Witmer MD. Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of the primary mixed leukocyte reaction in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 75: 5132-6 (1978).
- [9] Schuler G, Steinman RM. Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells in vitro. *J. Exp. Med.* 161: 526-46 (1985).
- [10] Inaba K, Inaba M, Romani N, Aya H, Deguchi M, Ikehara S, Muramatsu S, Steinman RM. Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J. Exp. Med.* 176: 1693-702 (1992).
- [11] Romani N, Reider D, Heuer M, Ebner S, Kampgen E, Eibl B, Niederwieser D, Schuler G. Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability. *J. Immunol. Methods*. 196: 137-51 (1996).
- [12] Knight SC, Stagg AJ. Antigen-presenting cell types. *Curr. Opin. Immunol.* 5: 374-82 (1993).
- [13] Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 392: 245-52 (1998).
- [14] Belz GT, Carbone FR, Heath WR. Cross-presentation of antigens by dendritic cells. *Crit. Rev. Immunol.* 22: 439-48 (2002).
- [15] Hart DN. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood*. 90: 3245-87 (1997).
- [16] Inaba K, Pack M, Inaba M, Sakuta H, Isdell F, Steinman RM. High levels of a major histocompatibility complex II-self peptide complex on dendritic cells from the T cell areas of lymph nodes. *J. Exp. Med.* 186: 665-72 (1997).
- [17] Guery JC, Adorini L. Dendritic cells are the most efficient in presenting endogenous naturally processed self-epitopes to class II-restricted T cells. *J. Immunol.* 154: 536-44 (1995).
- [18] Sallusto F, Lanzavecchia A. Mobilizing dendritic cells for tolerance, priming, and chronic inflammation. *J. Exp. Med.* 189: 611-4 (1999).
- [19] Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, Pulendran B, Palucka K. Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 18: 767-811 (2000).
- [20] Orabona C, Grohmann U, Belladonna ML, Fallarino F, Vacca C, Bianchi R, Bozza S, Volpi C, Salomon BL, Fioretti MC, Romani L, Puccetti P. CD28 induces immunostimulatory signals in dendritic cells via CD80 and CD86. *Nat Immunol.* 5: 1134-42 (2004).
- [21] Ma DY, Clark EA. The role of CD40 and CD154/CD40L in dendritic cells. *Semin. Immunol.* 21: 265-72 (2009).

- [22]Johnson JG, Jenkins MK. Co-stimulatory functions of antigen-presenting cells. *J. Invest. Dermatol.* 99: 62S-65S (1992).
- [23]Reis e Sousa C. Dendritic cells in a mature age. *Nat Rev Immunol.* 6: 476-83 (2006).
- [24]Figdor CG, van Kooyk Y, Adema GJ. C-type lectin receptors on dendritic cells and Langerhans cells. *Nat Rev Immunol.* 2: 77-84 (2002).
- [25]Geijtenbeek TB, Engering A, Van Kooyk Y. DC-SIGN, a C-type lectin on dendritic cells that unveils many aspects of dendritic cell biology. *J. Leukoc. Biol.* 71: 921-31 (2002).
- [26]Clark GJ, Angel N, Kato M, Lopez JA, MacDonald K, Vuckovic S, Hart DN. The role of dendritic cells in the innate immune system. *Microbes Infect.* 2: 257-72 (2000).
- [27]Reis e Sousa C. Activation of dendritic cells: translating innate into adaptive immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 16: 21-5 (2004).
- [28]Reis e Sousa C. Dendritic cells as sensors of infection. *Immunity.* 14: 495-8 (2001).
- [29]Reis e Sousa C. Toll-like receptors and dendritic cells: for whom the bug tolls. *Semin. Immunol.* 16: 27-34 (2004).
- [30]Kanazawa N. Dendritic cell immunoreceptors: C-type lectin receptors for pattern-recognition and signaling on antigen-presenting cells. *J. Dermatol. Sci.* 45: 77-86 (2007).
- [31]Moser M, Murphy KM. Dendritic cell regulation of TH1-TH2 development. *Nature immunology.* 1: 199-205 (2000).
- [32]McKenna K, Beignon AS, Bhardwaj N. Plasmacytoid dendritic cells: linking innate and adaptive immunity. *J. Virol.* 79: 17-27 (2005).
- [33]Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol.* 5: 1219-26 (2004).
- [34]Diebold SS, Montoya M, Unger H, Alexopoulou L, Roy P, Haswell LE, Al-Shamkhani A, Flavell R, Borrow P, Reis e Sousa C. Viral infection switches non-plasmacytoid dendritic cells into high interferon producers. *Nature.* 424: 324-8 (2003).
- [35]Maldonado-Lopez R, Moser M. Dendritic cell subsets and the regulation of Th1/Th2 responses. *Semin. Immunol.* 13: 275-82 (2001).
- [36]Kalinski P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol. Today.* 20: 561-7 (1999).
- [37]Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol.* 3: 133-46 (2003).
- [38]Huang FP, MacPherson GG. Continuing education of the immune system--dendritic cells, immune regulation and tolerance. *Curr Mol Med.* 1: 457-68 (2001).
- [39]Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 21: 685-711 (2003).
- [40]Ardavin C. Thymic dendritic cells. *Immunol. Today.* 18: 350-61 (1997).
- [41]Steinman RM, Nussenzweig MC. Avoiding horror autotoxicus: the importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99: 351-8 (2002).
- [42]Roncarolo MG, Levings MK, Traversari C. Differentiation of T regulatory cells by immature dendritic cells. *J. Exp. Med.* 193: F5-9 (2001).
- [43]Lutz MB, Schuler G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends Immunol.* 23: 445-9 (2002).
- [44]Merad M, Ginhoux F, Collin M. Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells. *Nat Rev Immunol.* 8: 935-47 (2008).
- [45]Valladeau J, Ravel O, Dezutter-Dambuyant C, Moore K, Kleijmeer M, Liu Y, Duvert-Frances V, Vincent C, Schmitt D, Davoust J, Caux C, Lebecque S, Saeland S. Langerin, a novel C-type lectin specific to Langerhans cells, is an endocytic receptor that induces the formation of Birbeck granules. *Immunity.* 12: 71-81 (2000).

- [46]Poulin LF, Henri S, de Bovis B, Devillard E, Kissenpfennig A, Malissen B. The dermis contains langerin+ dendritic cells that develop and function independently of epidermal Langerhans cells. *J. Exp. Med.* 204: 3119-31 (2007).
- [47]Hart DN, McKenzie JL. Interstitial dendritic cells. *Int. Rev. Immunol.* 6: 127-38 (1990).
- [48]Grouard G, Durand I, Filgueira L, Banchereau J, Liu YJ. Dendritic cells capable of stimulating T cells in germinal centres. *Nature.* 384: 364-7 (1996).
- [49]Goval JJ, Greimers R, Boniver J, de Leval L. Germinal center dendritic cells express more ICAM-1 than extrafollicular dendritic cells and ICAM-1/LFA-1 interactions are involved in the capacity of dendritic cells to induce PBMCs proliferation. *J. Histochem. Cytochem.* 54: 75-84 (2006).
- [50]Tew JG, Kosco MH, Burton GF, Szakal AK. Follicular dendritic cells as accessory cells. *Immunol. Rev.* 117: 185-211 (1990).
- [51]Liu YJ, Grouard G, de Bouteiller O, Banchereau J. Follicular dendritic cells and germinal centers. *Int. Rev. Cytol.* 166: 139-79 (1996).
- [52]Howard CJ, Hope JC. Dendritic cells, implications on function from studies of the afferent lymph veiled cell. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 77: 1-13 (2000).
- [53]Knight SC. Veiled cells--"dendritic cells" of the peripheral lymph. *Immunobiology.* 168: 349-61 (1984).
- [54]Steinman RM, Pack M, Inaba K. Dendritic cells in the T-cell areas of lymphoid organs. *Immunol. Rev.* 156: 25-37 (1997).
- [55]Romani N, Koide S, Crowley M, Witmer-Pack M, Livingstone AM, Fathman CG, Inaba K, Steinman RM. Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to T cell clones. Intact protein is presented best by immature, epidermal Langerhans cells. *J. Exp. Med.* 169: 1169-78 (1989).
- [56]Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.* 9: 271-96 (1991).
- [57]Grayson MH, Holtzman MJ. Emerging role of dendritic cells in respiratory viral infection. *J Mol Med (Berl).* 85: 1057-68 (2007).
- [58]Shutt DC, Daniels KJ, Carolan EJ, Hill AC, Soll DR. Changes in the motility, morphology, and F-actin architecture of human dendritic cells in an in vitro model of dendritic cell development. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 46: 200-21 (2000).
- [59]Jiang W, Swiggard WJ, Heufler C, Peng M, Mirza A, Steinman RM, Nussenzweig MC. The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing. *Nature.* 375: 151-5 (1995).
- [60]Trombetta ES, Mellman I. Cell biology of antigen processing in vitro and in vivo. *Annu. Rev. Immunol.* 23: 975-1028 (2005).
- [61]Lechmann M, Berchtold S, Hauber J, Steinkasserer A. CD83 on dendritic cells: more than just a marker for maturation. *Trends Immunol.* 23: 273-5 (2002).
- [62]Cao W, Lee SH, Lu J. CD83 is preformed inside monocytes, macrophages and dendritic cells, but it is only stably expressed on activated dendritic cells. *Biochem. J.* 385: 85-93 (2005).
- [63]de Saint-Vis B, Vincent J, Vandenabeele S, Vanbervliet B, Pin JJ, Ait-Yahia S, Patel S, Mattei MG, Banchereau J, Zurawski S, Davoust J, Caux C, Lebecque S. A novel lysosome-associated membrane glycoprotein, DC-LAMP, induced upon DC maturation, is transiently expressed in MHC class II compartment. *Immunity.* 9: 325-36 (1998).
- [64]Ardavin C, Wu L, Li CL, Shortman K. Thymic dendritic cells and T cells develop simultaneously in the thymus from a common precursor population. *Nature.* 362: 761-3 (1993).
- [65]Inaba K, Inaba M, Deguchi M, Hagi K, Yasumizu R, Ikehara S, Muramatsu S, Steinman RM. Granulocytes, macrophages, and dendritic cells arise from a common major histocompatibility complex class II-negative progenitor in mouse bone marrow. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90: 3038-42 (1993).

- [66]Liu YJ. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity. *Cell*. 106: 259-62 (2001).
- [67]Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol*. 2: 151-61 (2002).
- [68]Pulendran B, Banchereau J, Maraskovsky E, Maliszewski C. Modulating the immune response with dendritic cells and their growth factors. *Trends Immunol*. 22: 41-7 (2001).
- [69]Sato K, Fujita S. Dendritic cells: nature and classification. *Allergol Int*. 56: 183-91 (2007).
- [70]Tizard IR. 2009. *Inmunología Veterinaria*. 8th ed. Elsevier. Barcelona. pp94.
- [71]Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, de Waal Malefyt R, Liu YJ. Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science*. 283: 1183-6 (1999).
- [72]Cella M, Facchetti F, Lanzavecchia A, Colonna M. Plasmacytoid dendritic cells activated by influenza virus and CD40L drive a potent TH1 polarization. *Nat Immunol*. 1: 305-10 (2000).
- [73]Vremec D, Zorbas M, Scollay R, Saunders DJ, Ardavin CF, Wu L, Shortman K. The surface phenotype of dendritic cells purified from mouse thymus and spleen: investigation of the CD8 expression by a subpopulation of dendritic cells. *J. Exp. Med*. 176: 47-58 (1992).
- [74]Sotzik F, Rosenberg Y, Boyd AW, Honeyman M, Metcalf D, Scollay R, Wu L, Shortman K. Assessment of CD4 expression by early T precursor cells and by dendritic cells in the human thymus. *J. Immunol*. 152: 3370-7 (1994).
- [75]Winkel K, Sotzik F, Vremec D, Cameron PU, Shortman K. CD4 and CD8 expression by human and mouse thymic dendritic cells. *Immunol. Lett*. 40: 93-9 (1994).
- [76]Wu L, D'Amico A, Hochrein H, O'Keeffe M, Shortman K, Lucas K. Development of thymic and splenic dendritic cell populations from different hemopoietic precursors. *Blood*. 98: 3376-82 (2001).
- [77]Manz MG, Traver D, Miyamoto T, Weissman IL, Akashi K. Dendritic cell potentials of early lymphoid and myeloid progenitors. *Blood*. 97: 3333-41 (2001).
- [78]Ito T, Inaba M, Inaba K, Toki J, Sogo S, Iguchi T, Adachi Y, Yamaguchi K, Amakawa R, Valladeau J, Saeland S, Fukuhara S, Ikehara S. A CD1a+ / CD11c+ subset of human blood dendritic cells is a direct precursor of Langerhans cells. *J. Immunol*. 163: 1409-19 (1999).
- [79]Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, Cremer S, Zysk M, Miltenyi S, Buck DW, Schmitz J. BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J. Immunol*. 165: 6037-46 (2000).
- [80]Narbutt J, Lesiak A, Zak-Prelich M, Wozniacka A, Sysa-Jedrzejowska A, Tybura M, Robak T, Smolewski P. The distribution of peripheral blood dendritic cells assayed by a new panel of anti-BDCA monoclonal antibodies in healthy representatives of the polish population. *Cell Mol Biol Lett*. 9: 497-509 (2004).
- [81]Dzionek A, Inagaki Y, Okawa K, Nagafune J, Rock J, Sohma Y, Winkels G, Zysk M, Yamaguchi Y, Schmitz J. Plasmacytoid dendritic cells: from specific surface markers to specific cellular functions. *Hum. Immunol*. 63: 1133-48 (2002).
- [82]Grouard G, Rissoan MC, Filgueira L, Durand I, Banchereau J, Liu YJ. The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL)-3 and CD40-ligand. *J. Exp. Med*. 185: 1101-11 (1997).
- [83]Czernielewski J, Vaigot P, Prunieras M. Epidermal Langerhans cells--a cycling cell population. *J. Invest. Dermatol*. 84: 424-6 (1985).
- [84]Czernielewski JM, Demarchez M. Further evidence for the self-reproducing capacity of Langerhans cells in human skin. *J. Invest. Dermatol*. 88: 17-20 (1987).
- [85]Katz SI, Tamaki K, Sachs DH. Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow. *Nature*. 282: 324-6 (1979).

- [86]Frelinger JG, Hood L, Hill S, Frelinger JA. Mouse epidermal Ia molecules have a bone marrow origin. *Nature*. 282: 321-3 (1979).
- [87]Merad M, Manz MG, Karsunky H, Wagers A, Peters W, Charo I, Weissman IL, Cyster JG, Engleman EG. Langerhans cells renew in the skin throughout life under steady-state conditions. *Nat Immunol*. 3: 1135-41 (2002).
- [88]Abbas AK, Lichtman AH. 2003. *Inmunología Celular y Molecular*. 5th ed. Elsevier. p206.
- [89]Tew JG, Wu J, Fakher M, Szakal AK, Qin D. Follicular dendritic cells: beyond the necessity of T-cell help. *Trends Immunol*. 22: 361-7 (2001).
- [90]MacLennan IC. Germinal centers. *Annu. Rev. Immunol*. 12: 117-39 (1994).
- [91]van Nierop K, de Groot C. Human follicular dendritic cells: function, origin and development. *Semin. Immunol*. 14: 251-7 (2002).
- [92]Lindhout E, de Groot C. Follicular dendritic cells and apoptosis: life and death in the germinal centre. *Histochem. J*. 27: 167-83 (1995).
- [93]Thorbecke GJ, Amin AR, Tsiagbe VK. Biology of germinal centers in lymphoid tissue. *FASEB J*. 8: 832-40 (1994).
- [94]Liu YJ, Malisan F, de Bouteiller O, Guret C, Lebecque S, Banchereau J, Mills FC, Max EE, Martinez-Valdez H. Within germinal centers, isotype switching of immunoglobulin genes occurs after the onset of somatic mutation. *Immunity*. 4: 241-50 (1996).
- [95]Dubois B, Barthelemy C, Durand I, Liu YJ, Caux C, Briere F. Toward a role of dendritic cells in the germinal center reaction: triggering of B cell proliferation and isotype switching. *J. Immunol*. 162: 3428-36 (1999).
- [96]Wang X, Cho B, Suzuki K, Xu Y, Green JA, An J, Cyster JG. Follicular dendritic cells help establish follicle identity and promote B cell retention in germinal centers. *J. Exp. Med*. (2011).
- [97]Terashima K, Dobashi M, Maeda K, Imai Y. Follicular dendritic cell and iccosomes in germinal center reactions. *Semin. Immunol*. 4: 267-74 (1992).
- [98]Kosco-Vilbois MH. Are follicular dendritic cells really good for nothing? *Nat Rev Immunol*. 3: 764-9 (2003).
- [99]Cyster JG, Ansel KM, Reif K, Ekland EH, Hyman PL, Tang HL, Luther SA, Ngo VN. Follicular stromal cells and lymphocyte homing to follicles. *Immunol. Rev*. 176: 181-93 (2000).
- [100]Lee IY, Choe J. Human follicular dendritic cells and fibroblasts share the 3C8 antigen. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 304: 701-7 (2003).
- [101]Bofill M, Akbar AN, Amlot PL. Follicular dendritic cells share a membrane-bound protein with fibroblasts. *J. Pathol*. 191: 217-26 (2000).
- [102]Odeon AC, Kelling CL, Marshall DJ, Estela ES, Dubovi EJ, Donis RO. Experimental infection of calves with bovine viral diarrhea virus genotype II (NY-93). *J. Vet. Diagn. Invest*. 11: 221-8 (1999).
- [103]Stoffregen B, Bolin SR, Ridpath JF, Pohlenz J. Morphologic lesions in type 2 BVDV infections experimentally induced by strain BVDV2-1373 recovered from a field case. *Vet. Microbiol*. 77: 157-62 (2000).
- [104]Raya AI, Gomez-Villamandos JC, Sanchez-Cordon PJ, Bautista MJ. Virus Distribution and Role of Thymic Macrophages During Experimental Infection With Noncytopathogenic Bovine Viral Diarrhea Virus Type 1. *Vet. Pathol*. (2011).
- [105]Liebler EM, Kusters C, Pohlenz JF. 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 (1995).
- [106]Liebler-Tenorio EM, Ridpath JF, Neill JD. 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 (2003).

- [107]Liebler-Tenorio EM, Ridpath JE, Neill JD. Distribution of viral antigen and tissue lesions in persistent and acute infection with the homologous strain of noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 16: 388-96 (2004).
- [108]Pedrera M, Sanchez-Cordon PJ, Romero-Trejejo JL, Rivalde MA, Greiser-Wilke I, Nunez A, Gomez-Villamandos JC. Morphological changes and virus distribution in the ileum of colostrum-deprived calves inoculated with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus genotype-1. *J. Comp. Pathol.* 141: 52-62 (2009).
- [109]Collins ME, Desport M, Brownlie J. Bovine viral diarrhoea virus quasispecies during persistent infection. *Virology.* 259: 85-98 (1999).
- [110]Glew EJ, Howard CJ. Antigen-presenting cells from calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus, a member of the Flaviviridae, are not compromised in their ability to present viral antigen. *J. Gen. Virol.* 82: 1677-85 (2001).
- [111]Glew EJ, Carr BV, Brackenbury LS, Hope JC, Charleston B, Howard CJ. Differential effects of bovine viral diarrhoea virus on monocytes and dendritic cells. *J. Gen. Virol.* 84: 1771-80 (2003).