

LAS CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENO Y SU PAPEL EN EL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO

RODRÍGUEZ-GÓMEZ IM^{1*}, GÓMEZ-LAGUNA J², AMARILLA SP¹, GARCÍA-NICOLÁS O³, RAMIS G⁴, PALLARÉS Fj³, CARRASCO L¹

RESUMEN

Las células presentadoras de antígeno son aquellas células encargadas de capturar, procesar y presentar antígenos con la finalidad de lograr una respuesta inmune efectiva por parte del organismo. Su papel, como centinelas, es crucial durante el transcurso de diversas enfermedades infecciosas. El estudio de estas células tras la infección con el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino nos da información para abordar nuevas estrategias de control frente a esta enfermedad.

Palabras clave: células presentadoras de antígeno, síndrome reproductivo y respiratorio porcino

ABSTRACT

Antigen presenting cells are able to capture, process and present antigens in order to develop an effective immune response. The role of these cells during infectious diseases is crucial to control the disease. Thus, the study of these cells after the

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, Córdoba, España.

² Departamento de I+D+i, CICAP, Pozoblanco, Córdoba, España.

³ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas.

⁴ Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Murcia, España;

* e-mail: v22rogoi@uco.es

infection with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus gives us useful information on how to control this disease.

Key words: antigen presenting cells, porcine reproductive and respiratory syndrome

1. GENERALIDADES:

Durante varias décadas la inmunología se centró en el estudio de los antígenos y de los linfocitos, sin embargo, estos dos “sujetos” sin la presencia de las células presentadoras de antígeno (del inglés *antigen presenting cells*, APCs) no llevarían a ningún tipo de inmunidad (Banchereau y Steinman, 1998).

La respuesta inmune innata o inespecífica representa la primera línea de defensa frente a una infección. El conjunto de mecanismos que se llevan a cabo durante la respuesta inmune innata no son específicos de un patógeno particular sino que incluyen componentes celulares y moleculares, que reconocen clases de moléculas comunes a los patógenos que se encuentran con frecuencia (Kindt et al., 2006; Tizard et al., 2009). La respuesta inmune adaptativa o específica es aquella capaz de reconocer y eliminar de manera selectiva microorganismos y moléculas extrañas específicas, es decir, antígenos ajenos o extraños al organismo (Kindt et al., 2006; Tizard et al., 2009) y, para que esto sea posible se necesita la presencia de las APCs. Las APCs, por tanto, son las células encargadas de iniciar y modular la respuesta inmune adaptativa actuando como puente entre ésta y la respuesta inmune innata. Su misión consiste en capturar, procesar y presentar antígenos a los linfocitos T con la finalidad de instaurar una respuesta inmune eficaz frente al antígeno en cuestión (Steinman, 1991; Hart, 1997; Banchereau et al., 2000; Reid et al., 2000).

La APC por excelencia es la célula dendrítica (del inglés *Dendritic Cell*, DC), también referida como APC profesional. No obstante, y de forma general, bajo determinadas condiciones, como por ejemplo el transcurso de algunas enfermedades, los macrófagos y los linfocitos B también pueden presentar antígenos, aunque su habilidad para ello es bastante inferior si lo comparamos con la de las DCs (Inaba et al., 1997; Banchereau y Steinman, 1998; Tizard et al., 2009; Harding y Ramachandra, 2010).

El mecanismo por el cual los linfocitos B y T reconocen los diferentes antígenos y, por tanto, desarrollan una respuesta inmune difiere entre ellos. Así, mientras que los linfocitos B pueden directamente reconocer los antígenos por medio de su receptor de células B, los linfocitos T necesitan que el antígeno sea procesado y presentado

mediante el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (del inglés *Major Histocompatibility Complex*, MHC) formando un complejo con el mismo (complejo péptido-MHC) que, finalmente, será expuesto en la superficie celular. Además, se requerirá una segunda señal en la que participa la molécula co-estimuladora CD80/86 por parte de la DC y la molécula CD28 por parte del linfocito T. El péptido antigénico puede ir asociado al MHC de clase I (MHC-I) o de clase II (MHC-II) activando a los linfocitos T citotóxicos o colaboradores (del inglés *helper*, Th), respectivamente (Banchereau y Steinman, 1998; Kindt et al., 2006).

2. NATURALEZA DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS:

Las DCs conforman un grupo muy heterogéneo de células. Todas ellas expresan diferentes familias de moléculas en su superficie celular, las cuales les permiten llevar a cabo su función de presentación antigénica. Algunas de estas moléculas son los receptores de patrón de reconocimiento de patógenos específicos, los TLRs, los receptores de lectinas del tipo C, los receptores Fc y los receptores del complemento, entre otros (Lee y Iwasaki, 2007; Trinchieri, 2007; Kumar et al., 2010).

Las DCs, al ser las células involucradas en la presentación antigénica, son de gran interés como objeto de estudio frente a cualquier infección ya que una disminución en su número o alteración de su función podría suponer una presentación antigénica ineficaz y, por tanto, un fallo en la instauración de la respuesta inmune adaptativa.

Actualmente, son pocas las publicaciones en las que se ha conseguido un aislamiento satisfactorio de DCs de tejidos porcinos (Makala et al., 1998; Haverson et al., 2000), por ello, y asumiendo que el micro-ambiente de un experimento *in vitro* en ocasiones puede resultar artefactual si lo comparamos con lo que sucedería *in vivo*, en la última década se han desarrollado numerosos estudios *in vitro* en los que participan las células dendríticas derivadas de monocitos (del inglés *Monocyte derived Dendritic Cells*, MoDCs) y/o las células dendríticas derivadas de médula ósea (del inglés *Bone-Marrow derived Dendritic Cells*, BMDCs).

Estas dos subpoblaciones celulares, al igual que las DCs tisulares expresan tanto MHC-II como CD80/86, por tanto, son potenciales APCs cuyo estudio nos puede dar información de lo que podría ocurrir *in vivo*. Las MoDCs, así como, las BMDCs de humano, rata, ratón, mono y, más recientemente de porcino y bovino, han sido usadas para estudiar la interacción DC-virus (Banchereau et al., 2000; Carrasco et al., 2001; Paillot et al., 2001; Werling et al., 2002).

Un elemento clave es la diferenciación funcional y fenotípica entre las diferentes subpoblaciones de DCs. En líneas generales podemos diferenciar entre la DC convencional (del inglés *conventional DC*, cDC) y la DC plasmacitoide. El primer término engloba a todas las DCs cuya función principal es la de presentar antígenos propiamente dicha y cuyo origen es mieloide. El segundo representa a las células especializadas en la producción de interferones de tipo 1 (Fitzgerald-Bocarsly, 1993; 2002; Liu, 2005; Summerfield y McCullough, 2009), su origen es linfoide y, en cierto modo, también tienen la habilidad de presentar antígenos. Además, dentro de las cDC existe una gran heterogeneidad dependiendo de su localización en los diferentes tejidos.

Por su parte, las células dendríticas foliculares (del inglés *Follicular Dendritic Cells*, FDCs) son células residentes del folículo linfoide de los órganos linfoides, parecen tener un origen mesenquimal y su mecanismo de acción difiere completamente de las DCs de origen mieloide (Liu et al., 1996; Tew et al., 1997; Gómez-Lucía et al., 2007).

2.1. Mecanismo de acción de las DCs (origen mieloide):

Desde su origen en la médula ósea, y utilizando la sangre como medio de transporte, las DCs colonizan la mayoría de los tejidos del organismo, principalmente las mucosas, donde actúan como centinelas a la espera de cualquier antígeno extraño al organismo (Banchereau y Steinman, 1998; Kindt et al., 2006). En estos tejidos, la DC se encuentra en su estado inmaduro, de forma que tras la captura de un antígeno, éste es degradado y procesado formando los antes mencionados complejos péptido-MHC que, finalmente, exhiben en su superficie. En este momento, las DCs se consideran como “maduras”, aumentando la expresión de moléculas co-estimuladoras, como el CD80/86, y de factores de adhesión (CD54 y CD58) y migran a los nódulos linfáticos y bazo, donde ahora sí, serán capaces de activar a los linfocitos T y B de forma antígeno-específica (Banchereau y Steinman, 1998; Keller, 2001; Buckwalter y Albert, 2009).

Es importante mencionar que las DCs tienen una doble pero limitada función. Las DCs inmaduras son potentes células fagocíticas, su función es capturar y procesar antígenos, mientras que, la función principal de las DCs maduras es presentar esos antígenos procesados en forma de péptidos unidos al MHC (Banchereau y Steinman, 1998). Este intercambio de funciones dentro de una misma célula se corresponde con el proceso de maduración de las DCs. En este sentido, Romani et al. (1989) evidenciaron como las DCs inmaduras capturan antígenos y las maduras son inefectivas. En contraste, las DCs maduras son potentes estimuladoras de la respuesta T específica frente a los antígenos capturados, y las inmaduras, totalmente ineficientes. Este

hallazgo fue el que hizo que la comunidad científica reconociera que existen dos pasos diferentes y totalmente necesarios, la captura del antígeno y la presentación, la cual va ligada con otras funciones accesorias (Steinman, 2012). Además, hay que puntualizar que la maduración fenotípica de las DCs es un proceso diferente a la maduración funcional de las mismas (Steinman, 2012). En la bibliografía se cita que, tras la presentación antigénica a los linfocitos T en las áreas T de los órganos linfoides secundarios, la mayoría de las DCs desaparecen, probablemente debido a fenómenos de apoptosis (Keller, 2001).

2.2. Mecanismo de acción de las FDCs, linfocitos B y macrófagos:

Las FDCs pueden ser consideradas como una potente fuente de activación de linfocitos B. Estas células carecen del marcador de leucocitos CD45, pero en contraste, exhiben en su superficie gran cantidad de receptores para el complemento, receptores Fc, CD11b, y CD35, entre otros (Liu et al., 1996; Liu y Arpin, 1997).

La FDC atrapa complejos antígeno-anticuerpo, mediante su receptor Fc y del complemento, y exponen el complejo completo en su superficie durante largos periodos de tiempo. Los linfocitos B reconocen estos complejos inmunes y procesan el antígeno, presentándolo en forma de péptido-MHC, al igual que hacen las DCs a los linfocitos T de las inmediaciones (Tew et al., 1997; Banchereau y Steinman, 1998).

El mecanismo de acción que lleva a cabo el macrófago es similar al visto para la DC de origen mieloide y los linfocitos B.

Aunque los macrófagos y los linfocitos B actúan como APCs, la expresión de complejos péptido-MHC es entre 10-100 veces mayor en las DCs (Inaba et al., 1997). Además, las DCs maduras sintetizan grandes cantidades de IL-12 que aumentan tanto la respuesta inmune innata mediada por células asesinas naturales (del inglés *natural killer*, NK) como la respuesta inmune adaptativa, mediada por linfocitos T y B (Cella et al., 1996; Koch et al., 1996; Reis e Sousa et al., 1997; Degli-Esposti y Smyth, 2005).

3. INTERACCIÓN ENTRE LAS APCs Y LOS LINFOCITOS T:

Tradicionalmente se ha considerado que las DCs eran las únicas células con la capacidad de activar a los linfocitos T CD4⁺ y a los linfocitos T CD8⁺ naïve, o vírgenes, tanto *in vitro* como *in vivo* (Reid et al., 2000; Tizard et al., 2009). No obstante, si los macrófagos están activos, también pueden actuar activando a los linfocitos T CD8⁺ vírgenes (Pozzi et al., 2005).

Para que la activación del linfocito T se complete se requieren diferentes señales, la primera de ellas es la unión entre el complejo péptido-MHC y el receptor del linfocito T (del inglés *T cell receptor*, TCR). Esta interacción entre el linfocito T y la APC está facilitada por la liberación de diferentes quemoquinas por las APCs maduras. Las quemoquinas liberadas atraen a linfocitos T que expresan los receptores CCR7 y CCR4 (Tang y Cyster, 1999; Sallusto et al., 2000), y facilitan una serie de interacciones secundarias entre el linfocito T y la APC a través de moléculas de adhesión como ICAM-3, DC-SIGN (Geitjtenbeek et al., 2000) expresadas por las DCs, y las moléculas CD2, CD11 y CD49 expresadas por los linfocitos T. En este sentido destaca por su importancia la unión entre las moléculas co-estimuladoras CD80/86 por parte de la DC y del CD28 por parte del linfocito T. Esta interacción junto con la unión del complejo péptido-MHC y el TCR son requeridas para la activación adecuada del linfocito T, de forma que si sólo una de las señales está presente, el linfocito T no será activado y permanecerá en estado de anergia (Banchereau y Steinman, 1998; Buckwalter y Albert, 2009).

Por otro lado, la unión del CD40 y su ligando (CD40L) también se produce durante esta interacción, la cual favorece la secreción de ciertas citoquinas como IL-1, IL-6 e IL-12, que parecen tener un papel en la supervivencia de las DCs (Keller, 2001).

4. INTERACCIÓN DEL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO CON LAS APCs:

El Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (del inglés *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome*, PRRS) es una de las enfermedades infecciosas más importantes del sector porcino mundial (Neumann et al., 2005). El PRRS está causado por un virus, conocido con el mismo nombre que la enfermedad, en el que actualmente se distinguen dos genotipos, el tipo 1 o genotipo Europeo y el tipo 2 o genotipo Americano (Fauquet et al., 2005).

Actualmente, existe cierta controversia sobre el papel de las APCs en la patogenia de esta enfermedad.

4.1. Susceptibilidad y viabilidad de las APCs tras la infección con el virus del PRRS:

El virus del PRRS puede replicarse en macrófagos, MoDCs y BMDCs (Charerntantanakul et al., 2006; Wang et al., 2007; Chang et al., 2008; Flores-Mendoza et al., 2008; Park et al., 2008; Silva-Campa et al., 2009; 2010). Pero qué ocurre durante y después de la infección con el virus del PRRS.

Numerosos estudios apuntan que tanto las células infectadas por el virus como las células colindantes mueren por apoptosis, por necrosis o por ambas vías, como a continuación detallaremos.

La muerte celular puede suceder por dos mecanismos muy diferentes entre sí, la apoptosis y la necrosis (Wyllie et al., 1980). Mientras que la apoptosis es la muerte celular programada, en la que la célula *per se* participa de forma activa en su autodestrucción, la necrosis es la muerte prematura de forma pasiva de una célula (Logue y Martin, 2008). No obstante, al respecto, se han mencionado algunas discrepancias, ya que algunos autores señalan que el término necrosis engloba los cambios que la célula sufre con motivo de su muerte (Majno y Joris, 1995).

Suárez et al. (1996) describieron por primera vez la relación entre el virus del PRRS y la inducción de apoptosis, en la cual la proteína p25 (producto proteico de la ORF5) estaba involucrada. Desde ese momento han sido numerosos los estudios que se están llevando a cabo sobre este virus, la muerte celular y las vías por las cuales ésta podría tener lugar.

Durante el transcurso de la infección por el virus del PRRS se ha detectado la presencia de células en apoptosis tanto en el testículo (Sur et al., 1997), como en el pulmón y órganos linfoides (Sirinarumitr et al., 1998; Sur et al., 1998; Labarque et al., 2003; Gómez-Laguna et al., 2012). Sin embargo, en estos estudios no había co-localización entre las células positivas a los fenómenos de apoptosis y la expresión de virus, lo cual manifestaba una vía indirecta de inducción de apoptosis, que Choi y Chae. (2002) relacionaron con la secreción de TNF- α , citoquina con propiedades pro-apoptóticas.

Estudios *in vitro* han demostrado la presencia de apoptosis en células de la línea ATCC CRL11171 inoculadas pero no infectadas por el virus del PRRS (Sirinarumitr et al., 1998), y macrófagos y células de la línea MARC-145 en las que el antígeno vírico fue co-localizado al mismo tiempo (Costers et al., 2008). En este último estudio se observó como el virus inducía a la célula a un estado de anti-apoptosis temprano y una vez que la replicación había tenido lugar, la conducía a apoptosis.

Kim et al. (2002) observaron la inducción de apoptosis, aunque ésta rápidamente culminaba en necrosis de células MARC-145 tras la infección con el virus del PRRS, hallazgo que también ha sido descrito por otros autores (Miller y Fox, 2004; Lee y Kleiboeker, 2007).

El estudio de los fenómenos de muerte celular ha sido estudiado también, pero de manera poco profunda, en MoDCs infectadas con diferentes cepas del virus del PRRS. En estos estudios se han visto tanto fenómenos de apoptosis (Wang et al., 2007; Flores-Mendoza et al., 2008) como de necrosis (Wang et al., 2007). Sin embargo, en ninguno de los estudios se realizó una co-localización de la expresión de antígeno vírico y los fenómenos de muerte celular.

Todo ello nos hace pensar que dependiendo del aislado en cuestión los resultados podrían ser diferentes, y que la frecuencia en los porcentajes de apoptosis/necrosis podría variar según la estirpe celular estudiada.

4.2. Cambios en la expresión de marcadores de activación de las APCs tras la infección con el virus del PRRS:

En el transcurso de la infección de MoDC se ha detectado que tanto cepas del tipo 1 como cepas del tipo 2 del virus del PRRS, son capaces de disminuir la expresión del MHC-I (Wang et al., 2007; Park et al., 2008; Silva-Campa et al., 2010) (resumen tabla 1). En el caso del MHC-II, la expresión del mismo o bien disminuye (Wang et al., 2007; Flores-Mendoza et al., 2008; Park et al., 2008), o bien su expresión permanece sin cambios (Silva-Campa et al., 2010). Por otro lado, Chang et al. (2008) observaron una disminución del MHC-I en BMDCs infectadas con una cepa del tipo 2 del virus, sin embargo, no identificaron ningún cambio en la expresión de MHC-II. Recientemente se ha descrito que algunas cepas del tipo 1 del virus del PRRS son capaces de aumentar la expresión de antígeno leucocitario porcino de clase II, mientras que otras no inducen ningún tipo de variación (Gimeno et al., 2011). Lo que es más llamativo de este mismo estudio es que, dependiendo de si se trata de una cepa inductora de IL-10 y/o TNF- α , o bien de ninguna de estas citoquinas, el comportamiento de las BMDCs es diferente.

En el caso del estudio de moléculas co-estimuladoras, como el CD80/86, los resultados también muestran cierta controversia, ya que mientras que algunos autores señalan un aumento en la expresión de CD80/86 tanto en MoDC como en BMDCs (Chang et al., 2008; Park et al., 2008), otros trabajos describen una disminución de la expresión de esta molécula (Flores-Mendoza et al., 2008).

Autores	Tipo de DCs	Cepa	MHC-I	MHC-II	CD80/86
Gimeno et al., 2011	BMDCs	EU	↓/SC	↑/SC	↓/↑
Silva-Campa et al., 2010	MoDCs	EU	↓	SC	-
Silva-Campa et al., 2009	MoDCs	US	-	-	-
Park et al., 2008	MoDCs	US	↓	↓	↑
Flores-Mendoza et al., 2008	MoDCs	US	-	↓	↓
Chang et al., 2008	BMDCs	US	↓	SC	↑
Wang et al., 2007	MoDCs	US	↓	↓	-

Tabla 1.

Resumen de los diferentes estudios *in vitro* entre la interacción del virus del PRRS y diferentes subpoblaciones de APCs (EU: Europeo; US: Americano; SC: Sin Cambios).

La amplia diversidad de resultados obtenidos sobre el comportamiento de las APCs frente a la infección con el virus del PRRS conduce a que los futuros estudios a realizar abarquen grupos de cepas de características similares con la idea de encontrar un nexo de unión entre ellas. Además de realizar estudios de co-localización virus-molécula y extrapolar estudios *in vitro* a nivel *in vivo*.

AGRADECIMIENTOS:

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia, número de proyecto AGL2009-12438/GAN.

BIBLIOGRAFÍA:

- [1] Banchereau, J., and R.M. Steinman, 1998: Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392, 245-252.
- [2] Kindt, T.J, B.A. Osborne, and R.A. Goldsby, 2006: Overview of the immune system. In: Kindt, T.J, B.A. Osborne, and R.A. Goldsby, *Kuby Immunology*, 6th edition. Chapter 1.
- [3] Tizard, I.R., 2009: Dendritic cells and antigen processing. In: Tizard, I.R. (eds), *Veterinary Immunology*, 7th edn. pp. 56-66; Saunders editorial.
- [4] Steinman, R., 1991: The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.* 9, 271-296.
- [5] Hart, D.N., 1997: Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood* 90, 3245-3287.
- [6] Banchereau, J., F. Briere, C. Caux, J. Davoust, S. Lebecque, Y.-J. Liu, B. Pulendran, and K. Palucka, 2000: Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 18, 767-811.

- [7] Reid, S.D., G. Penna, and L. Adorini, 2000: The control of T cell responses by dendritic cell subsets. *Curr. Opin. Immunol.* 12, 114-121.
- [8] Inaba, K., M. Pack, M. Inaba, H. Sakuta, F. Isdell, and R.M. Steinman, 1997: 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, 665-672.
- [9] Harding, C.V., and L. Ramachandra, 2010: Presenting exogenous antigen to T cells. *Curr. Protoco. Immunol.* Chapter 16, unit 16:2.
- [10] Lee, H.K., and A. Iwasaki, 2007: Innate control of adaptive immunity: dendritic cells and beyond. *Semin. Immunol.* 19, 48-55.
- [11] Trinchieri, G., 2007: Pillars of immunology: The birth of a cell type. *J. Immunol.* 178, 3-4.
- [12] Kumar, V., A.K. Abbas, N. Fausto, J.C. Aster, 2010: Diseases of the immune system. In: Kumar, V., A.K. Abbas, N. Fausto, J.C. Aster, Robbins and Cotran, *Pathologic basis of disease*, 8th ed. pp. 183-257. Saunders editorial, Philadelphia.
- [13] Makala, L.H., K. Haverson, C.R. Stokes, M. Bailey, and P.W. Bland, 1998: Isolation and characterization of pig Peyer's patch dendritic cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 61, 67-81.
- [14] Haverson, K., S. Singha, C.R. Stokes, and M. Bailey, 2000: Professional and non-professional antigen-presenting cells in the porcine small intestine. *Immunology* 101, 492-500.
- [15] Carrasco, C.P., R.C. Rigden, R. Schaffner, H. Gerber, V. Neuhaus, S. Inumaru, H. Takamatsu, G. Bertoni, K.C. McCullough, and A. Summerfield, 2001: Porcine dendritic cells generated in vitro: morphological, phenotypic and functional properties. *Immunology* 104, 175-184.
- [16] Paillet, R., F. Laval, J.C. Audonnet, C. Andreoni, and V. Juillard, 2001: Functional and phenotypic characterization of distinct porcine dendritic cells derived from peripheral blood monocytes. *Immunology*, 102, 396-404.
- [17] Werling, D., M. Koss, C.J. Howard, G. Taylor, W. Langhans, and J.C. Hope, 2002: Role of bovine chemokines produced by dendritic cells in respiratory syncytial virus-induced T cell proliferation. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 87, 225-233.
- [18] Fitzgerald-Bocarsly, P., 1993: Human natural interferon-alpha producing cells. *Pharmacol. Ther.* 60, 39-62.
- [19] Fitzgerald-Bocarsly, P., 2002: Natural interferon-alpha producing cells: the plasmacytoid dendritic cells. *Biotechniques Suppl.* 16-20, 22, 24-9.
- [20] Liu, Y.J., 2005: IPC: professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. *Annu. Rev. Immunol.* 23, 275-306.
- [21] Summerfield, A., and K.C. McCullough, 2009: The porcine dendritic cell family. *Dev. Comp. Immunol.* 33, 299-309.
- [22] Liu, Y.J., G. Grouard, O. de Bouteiller, and J. Banchereau, 1996: Follicular dendritic cells and germinal centers. *Int. Rev. Cytol.* 166, 139-179.
- [23] Tew, J.G., J. Wu, D. Qin, S. Helm, G.F. Burton, and A.K. Szakal, 1997: Follicular dendritic cells and presentation of antigen and costimulatory signals to B cells. *Immunol. Rev.* 156, 39-52.
- [24] Gómez-Lucía, E., M.M. Blanco, and A. Doménech, 2007: Células implicadas en la respuesta inmune. In: Gómez-Lucía, E., M.M. Blanco, and A. Doménech. *Manual de Inmunología Veterinaria*, 1st edn. pp. 41-62. Pearsom-Prentice Hall.
- [25] Keller, R., 2001: Dendritic cells: their significance in health and disease. *Immunol. Letters*, 78, 113-122.
- [26] Buckwalter, M.R., and M.L. Albert, 2009: Orchestration of the immune response by dendritic cells. *Curr. Biol.* 19, R355-R361.
- [27] Romani, N., S. Koide, M. Crowley, M. Witmer-Pack, A.M. Livingstone, C.G. Fathman, K. Inaba, and R.M. Steinman, 1989: 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, 1169-1178.

- [28] Steinman, R., 2012: Decisions about dendritic cells: past, present, and future. *Annu. Rev. Immunol.* 30, 1-22.
- [29] Liu, Y.J., and C. Arpin, 1997: Germinal center development. *Immunol. Rev.* 156, 111-126.
- [30] Cella, M., D. Scheidegger, K. Palmer-Lehmann, P. Lane, A. Lanzavecchia, and G. Alber, 1996: Ligation of CD40 on dendritic cells triggers production of high levels of interleukin-12 and enhances T cell stimulatory capacity: T-T help via APC activation. *J. Exp. Med.* 184, 747-752.
- [31] Koch, F., U. Stanzl, P. Jennewein, K. Janke, C. Heufler, E. Kämpgen, N. Romani, and G. Schuler, 1996: High level IL-12 production by murine dendritic cells: upregulation via MHC class II and CD40 molecules and downregulation by IL-4 and IL-10. *J. Exp. Med.* 184, 741-746.
- [32] Reis e Sousa, C., S. Hieny, T. Schariton-Kersten, D. Jankovic, H. Charest, R.N. Germain, and A. Sher, 1997: *In vivo* microbial stimulation induces rapid CD40L-independent production of IL-12 by dendritic cells and their re-distribution to T cell areas. *J. Exp. Med.* 186, 1819-1829.
- [33] Degli-Esposti, M.A., and M.J. Smyth, 2005: Close encounters of different kind: dendritic cells and NK cells take centre stage. *Nature* 5, 112-124.
- [34] Pozzi, L.M., J.W. Maciaszek, and K.L. Rock, 2005: Both dendritic cells and macrophages can stimulate naïve CD8 T cells in vivo to proliferate, develop effector function, and differentiate into memory cells. *J. Immunol.* 175, 2071-2081.
- [35] Tang, H.L., and J.G. Cyster, 1999: Chemokine up-regulation and activated T cell attraction by maturing dendritic cells. *Science* 284, 819-822.
- [36] Sallusto, F., A. Langenkamp, J. Geginat, and A. Lanzavecchia, 2000: Functional subsets of memory T cells identified by CCR7 expression. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 251, 167-171.
- [37] Geitjensbeek, T.B., R. Torensma, S.J. Van Vliet, G.C. Van Duijnhoven, G.J. Adema, Y. Van Kooyk, and C.G. Figdor, 2000: Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses. *Cell*, 100, 575-585.
- [38] Neumann, E.J., J.B. Kliebenstein, C.D. Johnson, J.W. Mabry, E.J. Bush, A.H. Seitzinger, A.L. Green, and J.J. Zimmerman, 2005: Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 385-392.
- [39] Fauquet, C.M., M.A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger and L.A. Ball, 2005: Virus Taxonomy, classification and nomenclature of viruses. In: Fauquet C.M., M.A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger and L.A. Ball (eds). 8th ICTV Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, p. 1259. London: Elsevier Academic Press.
- [40] Chareerntantanakul, W., R. Platt, and J. Roth, 2006: Effects of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus-Infected Antigen-Presenting Cells on T Cell Activation and Antiviral Cytokine Production. *Viral Immunol.* 19, 646-661.
- [41] Wang, X., M. Eaton, M. Mayer, H. Li, D. He, E. Nelson, and J. Christopher-Hennings, 2007: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus productively infects monocyte-derived dendritic cells and compromises their antigen-presenting ability. *Arch. Virol.* 152, 289-303.
- [42] Chang, H.C., Y.T. Peng, H.L. Chaung, and W.B. Chung, 2008: Phenotypic and functional modulation of bone marrow-derived dendritic cells by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.* 129, 281-293.
- [43] Flores-Mendoza, L., E. Silva-Campa, M. Reséndiz, F.A. Osorio, and J. Hernández, 2008: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infects mature porcine dendritic cells and up-regulates interleukin-10 production. *Clin. Vaccine Immunol.* 15, 720-725.
- [44] Park, J.Y., H.S. Kim, and S.H. Seo, 2008: Characterization of interaction between porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine dendritic cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18, 1709-1716.
- [45] Silva-Campa, E., L. Flores-Mendoza, M. Reséndiz, A. Pinelli-Saavedra, V. Mata-Haro, W. Mwangi, and J. Hernández, 2009: Induction of T helper 3 regulatory cells by dendritic cells infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virology* 387, 373-379.

- [46] Silva-Campa, E., L. Cordoba, L. Fraile, L. Flores-Mendoza, M. Montoya, and J. Hernández, 2010: European genotype of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRSV) infects monocyte-derived dendritic cells but does not induce Treg cells. *Virology* 396, 264-271.
- [47] Wyllie, A.H., J.F. Kerr, and A.R. Currie, 1980: Cell death: the significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* 68, 251-306.
- [48] Logue, S.E., and S.J. Martin, 2008: Caspase activation cascades in apoptosis. *Biochem. Soc. Trans.* 36, 1-9.
- [49] Majno, G., and I. Joris, 1995: apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am. J. Pathol.* 146, 3-15.
- [50] Suárez, P., M. Díaz-Guerra, C. Prieto, M. Esteban, J.M. Castro, A. Nieto, and J. Ortín, 1996: Open reading frame 5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus as a cause of virus-induced apoptosis. *J. Virol.* 70, 2876-2882.
- [51] Sur, J.H., A.R. Doster, J.S. Christian, J.A. Galeota, R.W. Wills, J.J. Zimmerman, and F.A. Osorio, 1997: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replicates in testicular germ cells, alters spermatogenesis, and induces germ cell death by apoptosis. *J. Virol.* 71, 9170-9179.
- [52] Sirinarumit, T., Y. Zhang, J.P. Kluge, P.G. Halbur, and P.S. Paul, 1998: A pneumo-virulent United States isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus induces apoptosis in bystander cells both in vitro and in vivo. *J. Gen. Virol.* 79, 2989-2995.
- [53] Sur, J.H., A.R. Doster, and F.A. Osorio, 1998: Apoptosis induced in vivo during acute infection by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Pathol.* 35, 506-514.
- [54] Labarque, G., S. Van Gucht, H. Nauwynck, K. Van Reeth, and M. Pensaert, 2003: Apoptosis in the lungs of pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and associations with the production of apoptogenic cytokines. *Vet. Res.* 34, 249-260.
- [55] Gómez-Laguna, J., F.J. Salguero, M. Fernández de Marco, I. Barranco, I.M. Rodríguez-Gómez, M. Quezada, and L. Carrasco, 2012: Type 2 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus infection mediated apoptosis in B- and T-Cell areas of lymphoid organs of experimentally infected pigs. *Transbound. Emerg. Dis.* Doi: 10.1111/j.1865-1682.2012.01338.x.
- [56] Choi, C., W.S. Cho, B. Kim, and C. Chae, 2002: Expression of Interferon-gamma and tumour necrosis factor-alpha in pigs experimentally infected with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV). *J. Comp. Pathol.* 127, 106-113.
- [57] Costers, S., D. Lefebvre, P. Delputte, and H.J. Nauwynck, 2008: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus modulates apoptosis during replication in alveolar macrophages. *Arch. Virol.* 153, 1453-1465.
- [58] Kim, T.S., D.A. Benfield, and R.R. Rowland, 2002: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced cell death exhibits features consistent with a nontypical form of apoptosis. *Virus Res.* 85, 133-140.
- [59] Miller, L.C., and J.M. Fox, 2004: Apoptosis and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102, 131-142.
- [60] Lee, S.M., and S.B. Kleiboeker, 2007: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus induces apoptosis through a mitochondria-mediated pathway. *Virology* 365, 419-434.
- [61] Gimeno, M., L. Darwich, I. Díaz, E. de la Torre, J. Pujols, M. Martín, S. Inumaru, E. Cano, M. Domingo, M. Montoya, and E. Mateu, 2011: Cytokine profiles and phenotype regulation of antigen presenting cells by genotype-I porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates. *Vet. Res.* 42:9.