

Conference Paper

IDENTIFIKACIJA LANGERHANSOVE STANICE U DERMATOLOGIJU

Jasna LIPOZENČIĆ i Suzana LJUBOJEVIĆ

Klinika za kožne i spolne bolesti Medicinskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb, Zagreb

Primljeno u ožujku 2004.

Posljednjih 30 godina postoje dokazi o tome da koža posjeduje stanice sastavnice koje potiču i sudjeluju u nastanku imunskog odgovora. Langerhansove stanice (LS) dendritičke su stanice podrijetlom iz koštane srži. U koži se najčešće nalaze unutar spinoznog sloja i broje 2-4 % svih epidermalnih stanica. LS su epidermalne stanice koje prezentiraju antigen i imaju važnu ulogu u kontaktnoj alergijskoj reakciji u virusnih bolesti, *Graft-versus-host* bolesti i odstranjenju neoplastičkih staničnih klonova. One posjeduju na svojoj površini antigene vezane s molekulama glavnoga histokompatibilnog kompleksa II za predočavanje T-limfocitima. LS se ne mogu prikazati uobičajenim histološkim metodama, ali se vizualiziraju histokemijskim i imunohistokemijskim metodama. Prikadne metode za dokaz LS u dermatologiji (a i prema vlastitim rezultatima) jesu histoenzimske metode: adenzin trifosfataza (ATP-aza), kisela fosfataza (KF), alfa-naftilacetatesteraza (ANAE). Histoenzimske metode primijenili smo u bolesnika s dijagnozama: atopijski dermatitis, vitiligo, *mycosis fungoides*, Behçetova bolest, *lichen planus*, psorijaza, iritativni i alergijski kontaktni dermatitis. ANAE i KF su sukladni i vrlo pogodni histokemijski biljezi za dokaz LS i makrofaga u dermisu kod *mycosis fungoides*, atopijskog dermatitisa, psorijaze, iritativnoga kroničnog dermatitisa i Behçetove bolesti.

KLJUČNE RIJEČI: *histokemijske metode, makrofag epidermisa, SALT, stanice koje prezentiraju antigen*

Langerhansove stanice (LS) epidermisa imunosne su stanice koje pripadaju SALT-u (Skin Associated Lymphoid Tissues) kao vanjski i periferni dio sustava (1-16). SALT čine keratinociti, LS i imunokompetentni limfociti. SALT nadalje obuhvaća kožni mikrookoliš sposoban da sam prihvati, prenosi i prezentira antigen, zatim regionalne limfne čvorove koji prihvaćaju imunogene signale iz kože te subpopulacije limfocita T, koji pokazuju raznolik afinitet za kožu i pridružene limfne čvorove. Imunološko prepoznavanje antigena zbiva se unutar kože. Antigen koji izbjegne intrakutano prepoznavanje inducira specifičnu nereaktivnost. LS stvaraju se u koštanoj srži odakle migriraju u kožu i epitele drugih tkiva (vagina i limfoidni organi, slezena, timus, ezofagus, sluznice oralne šupljine, tonzile, jezik, limfni čvorovi). Važne su za indukciju kontaktne preosjetljivosti, a moguće je njihovo sudjelovanje i u efektorskoj fazi alergijske reakcije.

Najranije patohistološke epidermalne promjene u kasnoj alergijskoj reakciji zbivaju se suprabazalno u epidermisu, gdje su LS inače smještene. Apozicija LS uz limfocite T (pomoćničke stanice) i konačno oštećenja LS zapravo dokazuju da su one važne ciljane stanice u kontaktnoj preosjetljivosti. LS imaju na svojoj površini receptore za Fc-fragment imunoglobulina, C3 i C4-komponentu komplementa te druge fragmente, kao i brojne površinske markere, kodirane gene u D-regiji HLA-sustava u čovjeka (1, 2). Otkad je poznato da su LS važne za indukciju kontaktne preosjetljivosti, proučavale su se njihove morfološke, topografske i imunobiološke osobine, odnosno interakcija ovih dendritičkih makrofaga epidermisa s drugim dendritičkim stanicama epidermisa. LS surađuju i s drugim dendritičkim stanicama kože koje prezentiraju antigen: intermedijarne, interdigitalne i tzv. "veiled" stanice (13). *Murphy et al.* (1982) dokazali

su da epidermalne LS imaju T6 i Ir-antigen (17). Humane LS produciraju i interleukin 1 (18). LS su i *target* stanice za virus humane imunodeficijencije 1 (HIV 1) (19-21). LS su udružene i s drugim virusnim bolestima (bradavice, moluska) (22, 23). Dokazan je snižen broj LS i u gljivičnim bolestima (24). Najveći broj LS je u epidermisu - 2-4 % od ukupnog broja epidermalnih stanica (25). LS se nalaze u manjem broju u dermisu, limfnim čvorovima i limfnim putovima, kao i u timusu (26). Fenotip LS određen je medijatorima u mikrookolišu. LS pokazuju aktivnost nespecifične esteraze i adenzintrifosfataze (ATP-aza). LS su relativno konstantne stanice u određenoj vrsti, rodu i anatomskoj regiji (14, 27-29).

U epidermisu sadržavaju Fc – IgG-receptore tipa II/ Fc gama RII/ CD 32, Fc – IgE-receptore tipa I/Fc epsilon RI; C3 bi receptore (CD 11 b – CD 18) i glavni histokompatibilni kompleks (MCH) za antigene klase II (30). LS u kulturi epidermalnih stanica bitno mijenjaju sposobnost izražavanja biljega (kao npr. ATP-aze, Birberkova zrnca i drugo), a u porastu su molekule (MHC tipa I i II antigeni, CD 58, B₇). Neke su sastavnice bitne kao kostimulatorne molekule za aktivaciju T-stanica. LS se prikazuju i histokemijskim i imunohistokemijskim metodama u koži (31-42).

LANGERHANSOVE STANICE U IMUNOSNIM REAKCIJAMA KASNOG TIPA

Razvoj kontaktne senzibilizacije moguće je pratiti u eksperimentima s 2,4-dinitroklorbenzolom u čovjeka, zamorca ili miša (38). LS u epidermisu, koje imaju receptore za 18 raznih vrsta kontaktnih alergena, prezentiraju antigen limfocitima T (memorijskim stanicama) (38). LS su jedine epidermalne stanice koje sadržavaju antigene klase II MHC (Ia-antigeni u miša odnosno DR-antigeni u čovjeka). Kao specijalni makrofazi epidermisa one imaju na površini receptore za fragment Fc IgG, i komponenta C3-komplementa (38). Ove stanice osim u indukcijskoj fazi imunosne reakcije sudjeluju i u efektorskoj fazi kao ciljne stanice za senzibilizirane limfocite (38). Na svojoj površini imaju glikoprotein T 200 (38), koji se može dokazati im unoelektronskomikroskopskom analizom i upotrebom monoklonskih protutijela (38). Taj glukoprotein ima sposobnost inhibicije prirodno-ubilačkih (NK) stanica, a inače se nalazi i u hematopoetskim stanicama.

Uporabom monoklonskih protutijela OKT6 specifičnih za LS i anti HLA-DR utvrđeno je da samo

LS imaju determinante za T6 i HLA-DR⁺ (38), dok nedeterminirane epidermalne stanice OKT6⁺ i HLA-DR⁺ imaju ulogu u limfoproliferativnoj interakciji (42, 43). Zbog prisutnosti Ia-antigena na membrani, LS podliježu imunogenosnoj kontroli (38, 42, 44). Osim prezentacije antigena, druga funkcija LS jest modulacija proliferacije aktivnih stanica T putem izlaganja kompleksa tuđeg antigena i molekula te lučenje nespecifičnih faktora (38). Ovisno o stupnju aktivacije, luče se faktori koji sprječavaju proliferaciju limfocita (interferon, prostaglandini i drugi niskomolekularni inhibitori) ili faktori koji stimuliraju limfocite: faktor aktivacije limfocita IL-1 (LAF ili ETAF) i mitogeni proteini (MP) (38).

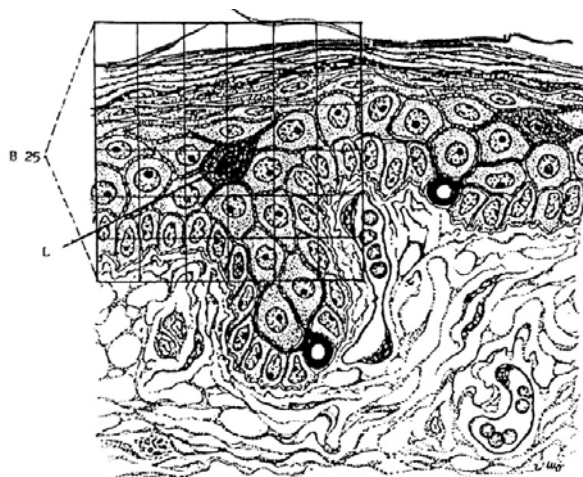
LS su specifični makrofazi epidermisa koji osim kasne alergijske reakcije (KAR) u prezentaciji antigena imaju bitnu ulogu u efektivnoj fazi i kooperiraju s limfocitima T (38). Dokazivanje prisutnosti ovih stanica u aferentnoj, kao i u eferentnoj fazi kontaktne senzibilizacije predstavlja posebno zanimljivo istraživanje (38, 42).

LS otpuštaju hidrolitičke enzime koji izazivaju upalne promjene u epidermisu. Prisutnost limfocita T i LS u upalnim dermatozama indikator je postojeće stanične imunosti (42). Te stanice nisu nađene samo u kontaktnom alergijskom dermatitisu (KAD) (38) nego i u toksičnom dermatitisu (38, 42, 45). U akutnom KAD-u broj LS je normalan, dok je u toksičnome kontaktnom dermatitisu (KD) značajno reduciran (iritativan učinak na LS) (38, 42, 45). LS je zajedno s limfocitom i makrofagom uključena u imunosni sustav sluznice rodnice i maternice (46). U upalnim promjenama na koži LS izražava fenotip zrele dendritičke stanice, tako da može stimulirati nezreli CD 4 (+) T limfocit (47). Imunohistokemijski biljeg – CD 1a za Langerhansovu stanicu u epidermisu promjena u *Lichen striatus* dokazao je ili snižen ili povišen ili normalan broj (48). U kožnim promjenama atopijskog dermatitisa (AD) ukupan broj LS je snižen u usporedbi s ukupnim brojem (CD1a – pozitivnih) LSs u koži bez promjena. Snižen broj LS u AD posebice je izražen u upalnim reakcijama (49). Langerhansova stanica je visoko specijalizirana stanica koja služi u imunogenim i tolerogenim postupcima (50). Langerhansova stanica predstavlja i podvrstu dendritičkih stanica koje potiču imunosni odgovor u koži. Poput LS dendritičke stanice su učinkovitije u predstavljanju antigena kao CD1a stanice nego dendritičke stanice nastale od monocita (51).

VLASTITA ISTRAŽIVANJA

Metode

Za dokazivanje LS u epidermisu i dermisu bolesnika primijenili smo histoenzimske metode na bioptičkom materijalu iz kožnih lezija promjera 5 mm kod: lihen rubera, psorijaze, nealergijskog dermatitisa, atopijskog dermatitisa, *mycosis fungoides*, vitiliga i Behcetove bolesti. U ranijem radu dokazali smo LS i u biopsijama iz kontaktnog alergijskog dermatitisa (38). Aktivnost adenzinotriofosfataze prikazana je u $6 \pm 2 \mu\text{m}$ debelim, smrznutim rezovima kože za Mg^{++} ATP-azu po Wachstein-Meiselu (35) i po Andu *et al.* (33); po Kondu *et al.* za kalcijevu ATP-azu (Ca^{++}) (34). Rezovi su fiksirani na 0-4 °C u 4 %-tnom fosfatnom puferu (svježe pripremljen iz para-formaldehida, Merck) i pohranjeni do obrade. Bioptički materijal uklopljen je u parafin nakon fiksacije u Bouinovoju tekućini. Smrznuti rezovi inkubirani su za određivanje aktivnosti kisele fosfataze u mediju po Barki i Andersonu (31) za dokaz aktiviranih makrofaga. Naftil-acetat za dokaz esteraza rabio se za određivanje mononuklearnih fagocita, dok se metoda za alkalne fosfataze rabila kao biljeg za vaskularnu stromu. Zbog objektivne evaluacije kvantitativne i kvalitativne epidermodermalne interakcije upotrijebljeni su ovi parametri: stromalne reakcije: nema je – 0, slaba – 1 (pojedinačni limfociti i rijetke stanice), srednja – 3 (izražena infiltracija limfocitnih stanica, mnogi aktivirani makrofazi), jaka – 4 (promjene su s izrazitom citolizom). Brojenje LS izvršeno je morfometrijskom metodom u Weibelovoj mrežici na povećanju od 640 puta (38) (slika 1). U alfa-naftilacetatesterazi (ANAE) produkt reakcije u stanicama prikazuje se kao precipitat grimizne boje.



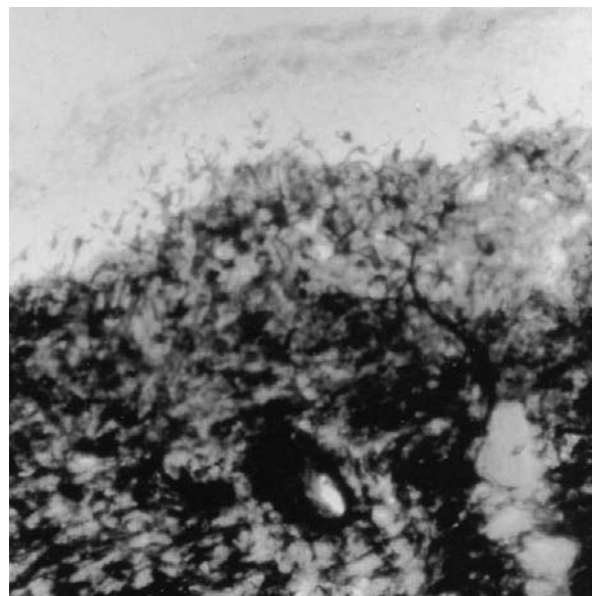
Slika 1 Shematski prikaz Weibelove mrežice za bojenje LS (vlastita modifikacija) (38)

U kisele fosfataze (KF) prikazuju se intenzivno crvene LS. Aktivnost kisele fosfataze u makrofazima strome dermisa prikazuje se intenzivno crveno, a T-limfociti imaju precipitat u polarnom smještaju.

Rezultati i rasprava

Histokemijski nalazi kože u 37 bolesnika s kontaktnim alergijskim dermatitisom i drugim dermatozama prikazani su na tablici 1. Rezultati dobiveni s pomoću navedenih metoda (ATP- aze, KF i ANAE) u 11 bolesnika s različitim dijagnozama prikazani su na tablici 2. i 3.

Brojenje LS izvršeno je semikvantitativnom metodom u Weibelovoj mrežici (slika 1).



Slika 2 Aktivnost adenzinotriofosfataze (ATP-aze) u koži bolesnika s iritativnim dermatitisom. LS posjeduju brojne citoplazmatske izdanke u epidermisu, no njihov je broj reduciran. U dermisu velik broj LS i/ili makrofaga dokazuje jaku enzimsku aktivnost (x 60).

Na slici 2. prikazana je aktivnost ATP-aze u koži bolesnika s iritativnim dermatitisom. Na slici 3. u koži bolesnika s atopijskim dermatitisom reduciran je broj LS u epidermisu. U bolesnika s T-staničnim limfomom metodom kisele fosfataze (KF) u stromi dermisa prikazani su LS, makrofazi i T-limfociti (slika 4). Metodom alfa-naftilacetatesteraze (ANAE) u epidermisu bolesnika sa psorijazom prikazane su LS na slici 5. Reaktivnost stromalne reakcije ocijenjena je parametrima od 0 do 5, koji su prethodno opisani. LS su izračunane u svjetlosnom mikroskopu. ANAE i KF dale su sukladne rezultate i pogodan su

Tablica 1 Histokemijski nalazi kože bolesnika s kontaktnim alergijskim dermatitisom i drugim dermatozama ispitivani na enzime adenzinotrifosfatazu (ATP), alfa-naftilacetatesterazu (ANAE) i kiselu fosfatazu (KF). Ustanovljena je podudarnost između ANAE i KF (38).

Redni broj	Inicijali	Dijagnoza	Lokalizacija	KF I ANAE				ATP-aza L			
				Epidermis		Dermis					
				L	T M B	L	T M B				
1.	L. J.	Kontaktni alergijski dermatitis	leđa	0	0	0	0	0			
2.	H. M.	Kontaktni nealergijski dermatitis	podlaktica	0	0	0	3	2	2	1	0
3.	B. B.	Kontaktni alergijski dermatitis	kažiprst	2	0	0	2	0	3	0	0
4.	M. Z.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	3	0	0	2	0	2	0	0
5.	S. M.	Kontaktni alergijski dermatitis	leđa	1	0	0	4	3	1	2	1
6.	S. Š.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	0	0	0	2	0	2	0	0
7.	N. I.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	1	1	0	1	2	3	0	1
8.	Š. Z.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	1	0	0	3	0	1	0	2
9.	Č. A.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	0	0	0	3	0	2	0	0
10.	J. L.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	0	0	0	2	0	2	0	0
11.	T. S.	Kontaktni alergijski dermatitis	zapešće	1	0	0	0	0	1	0	0
12.	V. S.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	0	0	0	0	0	0	0	0
13.	M. M.	Kontaktni alergijski dermatitis	trbuh	1	1	0	0	0	0	0	0
14.	Đ. Ž.	Kontaktni alergijski dermatitis	toraks	1	0	0	2	0	2	0	0
15.	V. Đ.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	1	1	0	0	0	0	0	0
16.	K. S.	Kontaktni nelaergijski dermatitis	šaka	1	0	0	0	3	3	0	0
17.	Š. M.	Pozitivna epikutana reakcija	leđa	0	2	0	0	0	0	0	0
18.	Š. M.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	1	0	0	2	1	1	0	2
19.	M. M.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	0	0	0	1	0	1	0	0
20.	O. Ž.	Pozitivna epikutana reakcija	leđa	0	0	0	1	0	1	0	1
21.	K. Đ.	Atopijski dermatitis	šaka	0	0	0	1	0	2	0	1
22.	N. J.	Vitiligo	šaka	1	0	0	0	0	1	0	1
23.	M. M.	Mycosis fungoides	potkoljenica	0	0	0	4	0	4	0	0
24.	B. A.	Morbus Behçet	podlaktica	1	0	0	2	0	2	0	0
25.	J. M.	Lichen ruber	zapešće	0	0	0	1	0	1	0	1
26.	K. J.	Neurodermitis	podlaktica	1	1	0	3	0	3	0	0
27.	F. M.	Psoriasis	podlaktica	0	0	0	1	0	1	0	0
28.	K. J.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	0	0	0	3	0	1	0	0
29.	B. I.	Psoriasis	šaka	1	0	0	1	0	1	0	2
30.	V. Z.	Psoriasis	podlaktica	1	0	0	3	0	3	0	1
31.	P. I.	Kontaktni alergijski dermatitis	leđa	1	0	0	3	0	3	0	2
32.	B. Đ.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	1	0	0	1	0	1	0	2
33.	Š. I.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	1	0	0	4	0	4	0	1
34.	B. B.	Kontaktni alergijski dermatitis	zapešće	1	0	0	2	0	2	0	1
35.	K. S.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	0	0	0	3	0	3	0	0
36.	J. B.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	1	1	0	0	0	0	0	1
37.	P. I.	Kontaktni alergijski dermatitis	šaka	1	0	0	3	2	1	0	1

L = Langerhansove stanice, T = T-limfociti, M = makrofag, B = B-limfocit ••• 0 = bez stromalne reakcije, 1 = slaba stromalna reakcija, 2 = umjerena stromalna reakcija, 3 = intenzivna stromalna reakcija, 4 = vrlo intenzivna stromalna reakcija

histokemijski biljeg za LS u odnosu na makrofage u dermisu u *mycosis fungoides*, u atopijskom dermatitisu, u vulgarnoj psorijazi i iritativnom dermatitisu. Naši rezultati dokazuju i izrazitu aktivnost adenzinotrifosfataze aktivirane kalcijem (ATP-aze) u LS (33, 38).

Već smo ranije pokazali da su LS ciljne stanice u eferentnoj fazi kontaktnog alergijskog dermatitisa (38). Apozicija i oštećenje stanica zbivaju se u

eksperimentalnoj fazi u prvom satu indukcije kasne alergijske reakcije. U kasnijoj fazi bitan je pad broja LS i fenotipskog izgleda LS. U podražajnoj reakciji s 1 %-tnim fenolom, 24 sata nakon reakcije nađu se rijetke LS s nepravilnim rasporedom u epidermisu i s dendritima izraženim u dermisu gdje je izrazita stromalna reakcija (45). LS produciraju hidrolitičke enzime koji uzrokuju upalne promjene u epidermisu. Prisutnost T-limfocita i LS u upalnim dermatozama

Tablica 2 Histoenzimske metode primijenjene u 11 bolesnika s različitim dermatozama ispitivanih na enzime adenzinotriofosfatazu (ATP-azu), alfa-naftilacetatesterazu (ANAE) i kiselu fosfatazu (KF). Ustanovljena je podudarnost između ANAE i KF

Redni broj	Inicijali	Dijagnoza	Lokalizacija	KF i ANAE				ATP-aza L
				Epidermis		Dermis		
				L	T M B	L	T M B	
1.	K. Đ.	Atopijski dermatitis	ruka	0 0 0	0	1 0 2 0	1	
2.	N. J.	Vitiligo	ruka	1 0 0	0	0 0 1 0	1	
3.	M. M.	Mycosis fungoides	noga	0 0 0	0	4 0 4 0	0	
4.	B. A.	Behçetova bolest	podlaktica	1 0 0	0	2 0 2 0	0	
5.	J. M.	Lichen ruber planus	zapešće	0 0 0	0	1 0 1 0	1	
6.	K. J.	Atopijski dermatitis	podlaktica	1 1 0	0	3 0 3 0	0	
7.	F. M.	Psoriasis vulgaris	podlaktica	0 0 0	0	1 0 1 0	2	
8.	B. J.	Psoriasis vulgaris	šaka	1 0 0	0	1 0 0 0	2	
9.	V. Z.	Psoriasis vulgaris	noga	1 0 0	0	3 0 3 0	1	
10.	K. S.	Kontaktne nealergijski dermatitis	šaka	1 0 0	0	0 3 3 0	0	
11.	H. M.	Kontaktne nealergijski dermatitis	šaka	0 0 0	0	3 2 2 1	0	

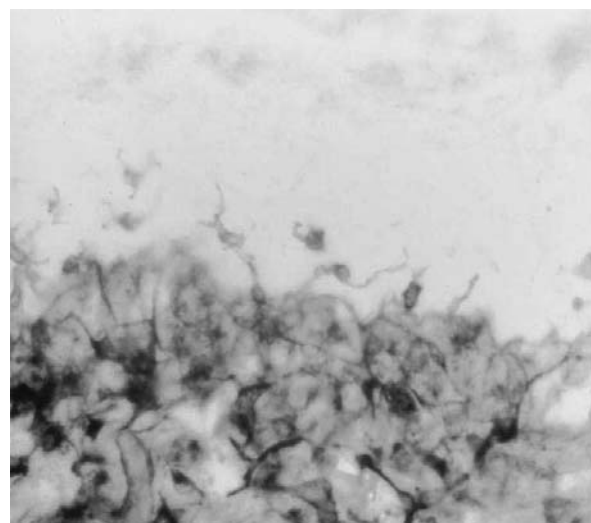
L = Langerhansove stanice, T = T-limfociti, M = makrofag, B = B-limfocit ••• 0 = bez stromalne reakcije, 1 = slaba stromalna reakcija, 2 = umjerena stromalna reakcija, 3 = intenzivna stromalna reakcija, 4 = vrlo intenzivna stromalna reakcija

indikator je celularne imunostne reakcije (38). U ranijem istraživanju nađene su LS u kontaktnoj alergijskoj reakciji (25, 38) i u toksičnoj (iritativni dermatitis) (40, 45). U bolesnika sa psorijazom i lichen ruber planuoms dokazali smo da je snižen broj LS u epidermisu, što je i razlogom snižene celularne imunoreaktivnosti (38, 41, 45). Koža je sastavni dio imunostnog sustava. Posljednjih 30 godina postoje i dokazi o tome da sastavnice u koži, primjerice LS i limfociti T imaju važnu ulogu u odstranjenju neoplastičnih staničnih klonova, u virusnih bolesti te u *Graft versus Host Disease* (GvHD). Prvi put

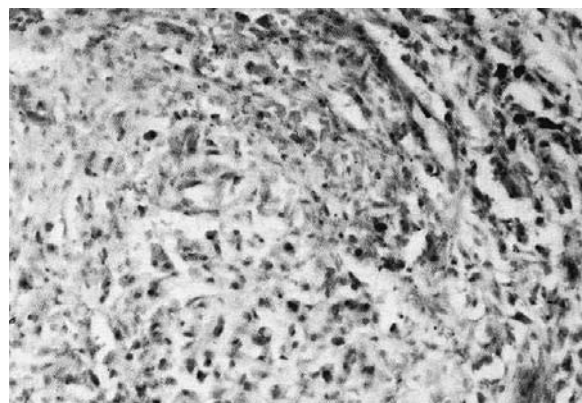
Tablica 3 Utvrđene stanice histoenzimskim metodama: ATP-aza, ANAE i KF u epidermisu i dermisu u 7 različitih dermatozama. U epidermisu i dermisu su nađeni: Langerhansove stanice (LS), T-limfociti (T), makrofazi (M), B-limfociti (B). Brojevi u zagradama označavaju LS s ATP-azom.

EPIDERMIS L T M B	UKUPNO	L T M B	DERMIS L T M B	L T M B
---	5 (3)	0	0	5 (3)
+-	4 (3)	0	1 (1)	3 (2)
-+-	1	1	0	0
++-	1	0	0	1
UKUPNO	11 (6)	1	1 (1)	9 (5)

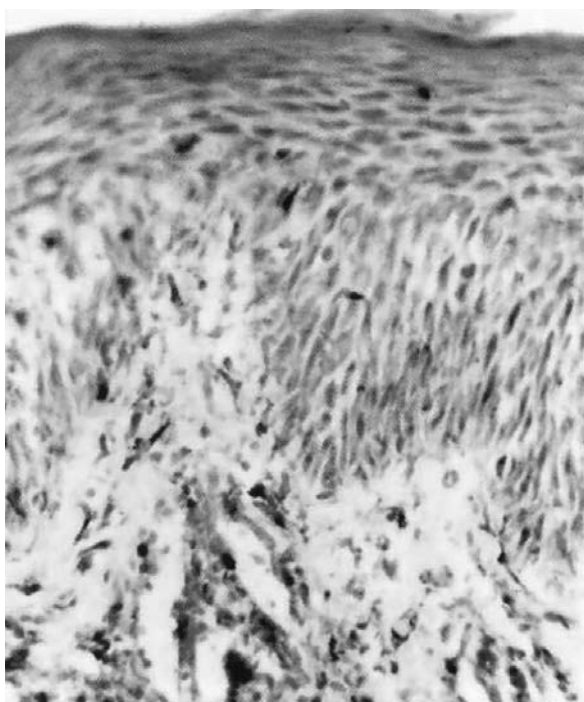
- = bez LTMB-stanica + = nešto LTMB-stanica



Slika 3 U epidermisu iz biopsije bolesnika s atopijskim dermatitisom reduciran je broj LS, a znatno povećan broj LS s izraženom enzimskom aktivnosti u dermisu (x 180).



Slika 4 Kisela fosfataza (KF) u stromi dermisa bolesnika s T-limfomom (x 60). Ističu se limfociti T (zelene boje) s istaknutom kapljičastom reakcijom. Makrofazi su crvene boje. Lizosomska reakcija prikazuje se intenzivno crvenom bojom.



Slika 5 Alfa-naftilacetatesteraza (ANAE) u epidermisu bolesnika sa psorijazom. Produkt enzimske reakcije u LS prikazuje se grimiznom bojom. Nukleusi su kontrastirani metilenskim modrilom (x 120).

su LS dokazane ATP-azom aktiviranom kalcijem u epidermisu humane kože i u koži zamorca, koja je stanični biljeg za LS (38). Prema vlastitim rezultatima i literaturnim podacima histoenzimske metode (ATP-aza, KF i ANAE) prikladne su metode za vizualizaciju LS u istraživanih dermatoza. ANAE i KF su pogodan histokemijski biljeg za dokaz LS i makrofaga u dermisu, posebice kod *mycosis fungoides* te atopijskog dermatitisa i psorijaze. Histokemijske metode su korisne za dokaz LS i limfocita u različitim upalnih dermatoza. Imunohistokemijske metode, pak, potrebne su za detaljniji prikaz imunoloških značajki LS (47-51), primjerice kod limfoma i drugih tumorskih upalnih dermatoza (42).

ZAKLJUČAK

Langerhansova stanica ima značajnu ulogu u dermatovenerologiji. LS nisu samo stanice koje prezentiraju antigen, nego i ciljne stanice za citotoksične limfocite T. U različitim dermatoza dokazali smo njihovu specifičnu prisutnost u epidermisu i dermisu specijalnim histokemijskim metodama (ATA-aza, KF i ANAE). U nekih dermatoza LS nisu nađene u epidermisu, dok su u dermisu dokazani brojni kontakti LS s limfocitima T.

LITERATURA

1. Sontheimer RD, Stastny P, Nunez G. HLA-D region antigen expression by human epidermal Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 1986;87:707-10.
2. Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: its cellular constituents and their interaction. *Immunol Today* 1986;7:235-40.
3. Shelley WB, Juhlin L. The Langerhans cells. Its origin, nature and function. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1978;58 suppl 79:7-22.
4. Silberger I, Baer RJ, Rosenthal S. The role of Langerhans cells in contact allergy. *Acta Dermatovenerol (Stockh)* 1974;54:321-31.
5. Silberger-Sinakin I, Baer RL, Thorbecke GJ. Langerhans cells. *Prog Allergy* 1978;24:268-94.
6. Silberger-Sinakin I, Thorbecke GJ. Contact hypersensitivity and Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 1980;75:61-7.
7. Askenase PW. Contact hypersensitivity reactions: interaction between T cells, Langerhans cells, mast cells and basophils. U: Kerr JW, Ganderton MA, urednici. *Proceedings of the XIth International Congress of Allergology and Clinical Immunology*, 17-22 Oct 1982 London; Velika Britanija. Houndmills (UK): Palgrave Macmillan; 1982. str. 109-14.
8. Stingl G. New aspects of Langerhans cell function. *Int J Dermatol* 1980;19:189-213.
9. Stingl G, Aberer W. Langerhans cells in contact hypersensitivity. Berlin: Springer Verlag; 1981. str.182-6.
10. Stingl G, Wolf K. Langerhans cells and their relation to other dendritic cells and mononuclear phagocytes. *Immunobiology*. U: Fitzpatrick TB, urednik. *Dermatology in general medicine*, 3. izdanje. New York: McGraw-Hill; 1986. str. 410-26.
11. Stingl G, Tamaki K, Katz SI. Origin and function of epidermal Langerhans cells. *Immunol Rev* 1980;53: 149-74.
12. Rowden G. Immunoelectron microscopic studies of surface receptors and antigens of human Langerhans cells. *Br J Dermatol* 1977;97:607.
13. Rowden G. The Langerhans cell. *CRC Crit Rev Immunol* 1981;3:95.
14. Wolf K. The fine structure of the Langerhans cell granule. *J Cell Biol* 1967;35:468-73.
15. Wolf K, Stingl G. The Langerhans cell. *J Invest Dermatol* 1983;80:17s-21s.
16. Streilen JW. Reports. Skin-associated lymphoid tissues (SALT). Origins and functions. *J Invest Dermatol* 1983;80:12s-6s.
17. Murphy GF, Bhan AK, Sato MC, Mihm MC Jr, Harris TJ. A new immunologic marker for Langerhans cells. *N Engl J Med* 1982;34:791-7.
18. Sauder DN, Dinarello CA, Morhenen VA. Langerhans cell production of interleukin 1. *J Invest Dermatol* 1984;82:605-7.

19. Belsito DV, Thorbecke GJ. Reduced Ia-positive Langerhans cells in AIDS. *N Engl J Med* 1984;311:857-8.
20. Belsito DV, Sanchez MR, Bear RL, Valentine F, Thorbecke GJ. Reduced Langerhans cell Ia antigen and ATPase activity in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1984;310:1279-82.
21. Tschachler E, Groh V, Popović M et al. Epidermal Langerhans cells a target for HTLV-III/LAV. *Infection* 1987;88:233-7.
22. Chardonnet Y, Viac J, Thivolet J. Langerhans cells in human warts. *Br J Dermatol* 1986;115:669-75.
23. Bhawan J, Dayal Y, Bhan AK. Langerhans cells in molluscum contagiosum, verrucae vulgaris, plantar wart and condyloma acuminatum. *J Am Acad Dermatol* 1986;15:645-9.
24. Gimenez MF, Tausk F, Gimenez MM, Gigli I. Langerhans cells in paracoccidiomycosis. *Arch Dermatol* 1987;123:479-81.
25. Wolf K. The Langerhans cell. U: Mali JWH, urednik. Current problems in dermatology. Basel: S. Karger AG; 1972. str. 79.
26. Stingl G, Katz S, Clement L, Green I, Shevach E. Immunologic functions of Ia bearing epidermal Langerhans cells. *J Immunol* 1978;121:2005-13.
27. Bergstresser PR, Pariser RJ, Taylor JR. Counting and sizing of epidermal cells in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1978;70:280-4.
28. Bergstresser PR, Fletcher CR, Streilen JW. Surface densities of Langerhans cells in relation to rodent epidermal sites with special immunologic properties. *J Invest Dermatol* 1980;74:77-80.
29. Berman B, Chen VL, France DS, Dotz WI, Petroni G. Anatomical mapping of Langerhans cell densities in adults. *Br J Dermatol* 1983;109:553-8.
30. Stingl G. Antigen presenting mechanisms in the skin. Postgraduate course in allergological aspects of dermatology. ICACI XV, EAACI '94. Stockholm 1994. str. 14-24.
31. Barka T, Anderson PJ. Histochemical methods for acid phosphatase using hexasonium pararosanilin as coupler. *Acta Histochem Cytochem* 1962;10:741-53.
32. Knežević M, Rode B, Knežević-Krivak Š, Ikić D, Maričić Ž, Krušić J, Padovan I, Nola P, Brodarec I, Jušić D, Šooš E. Histopathologic and histoenzymatic observations in carcinomas treated with human leukocyte interferon. *Int J Clin Pharm Ther Toxicol* 1982;20:27-8.
33. Ando T, Fujimoto K, Myahara H, Miyajima H, Ogawa K. A new one step method for the histochemistry and cytochemistry of Ca²⁺ ATPase activity. *Acta Histochem Cytochem* 1981;14:705-26.
34. Kondo S, Imamura S, Fujimoto K, Ogawa K. Calcium-activated adenosine triphosphatase and gap junctions in rat epidermis. *Acta Histochem Cytochem* 1988;21:521-533.
35. Wachstein M, Meisel E. Histochemistry of hepatic phosphatase at a physiologic pH in special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Am J Clin Pathol* 1957;27:13-23.
36. Hanau D, Fabre M, Stamo JL, Grosshans E, Benezra C. ATPase Langerhans cell staining a technique allowing progression from light to electron microscope observation. *J Invest Dermatol* 1986;86: 5-8.
37. Knowles DM, Hoffman T, Ferrarini M, Kunkel HG. The demonstration of acid alpha-naphthyl acetate esterase activity in human lymphocytes usefulness as a cell marker. *Cell Immunol* 1978;35:112.
38. Lipozenčić J. Značaj Langerhansovih i limfoidnih stanica u kontaktnom alergijskom dermatitisu. [disertacija]. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 1992.
39. Nishioka K, Katayama I, Kohayashi I. Ia antigen expressed by keratinocytes can be the molecule of antigen presentation in contact sensitivity. *J Invest Dermatol* 1987;88:694-8.
40. Gawkrödger DJ, Carr MM, McVittie E, Guy K, Hunter JAA. Keratinocyte expression of MHC class II antigens in allergic sensitization and challenge reactions and in irritant contact dermatitis. *J Invest Dermatol* 1987;88: 11-6.
41. Streilen JW, Tocus GB, Bergstresser P. Langerhans cells. Functional aspects revealed by in vivo grafting studies. *J. Invest Dermatol* 1980;75:17-21.
42. Brezovečki-Biđin D, Lipozenčić J, Lacković G, Marinović B. Langerhans cells in dermatovenerology. *Acta Dermatovenerol Croat* 1996;4:89-94.
43. Syrjänen K, Väyrynen M, Hippeläinen M, Castren O, Saarikoski S, Mäntyjärvi R. In situ immunological reactivity and its significance in the clinical behaviour of the cervical human papillomavirus lesions. *Neoplasma* 1985;32:181-90.
44. Takigawa M, Iwatsuki K, Yamada M, Okamoto H, Imamura S. Langerhans cell granule is an adsorptive endocytic organelle. *J Invest Dermatol* 1985;85:12-5.
45. Lipozenčić J, Lacković G, Rode B. Langerhans cells in irritant contact dermatitis. Second International Symposium on Irritant Contact Dermatitis (ISICD). Zürich, Švicarska 1994. Abstract 34 P. Allergologie 1994;17:14.
46. Hagiwara H, Ohwada N, Aoki T, Fujimoto T. Langerhans cells in the human oviduct mucosa. *Ital J Anat Embryol* 1998;103 suppl 1:253-8.
47. Katou F, Ohtani H, Saaristo A, Nagura H, Motegi K. Immunological activation of dermal Langerhans cells in contact with lymphocytes in a model of human inflamed skin. *Am J Pathol* 2000;156:519-27.
48. Zhang Y, McNutt NS. Lichen striatus. Histological, immunohistochemical, and ultrastructural study of 37 cases. *J Cutaneous Pathol* 2001;28:65-71.
49. Goto T, Soma Y, Ra C, Kawa Y, Kubota Y, Mizoguchi M. Enhanced expression of the high-affinity for IgE

- (Fc(epsilon)RI) associated with decreased numbers of Langerhans cells in the lesional epidermis of atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2002;27:156-61.
50. Romani N, Holzman S, Trip CH, Koch F, Stoitzner P. Langerhans cells – dendritic cells of the epidermis. *APMIS* 2003;111:725-40.
51. Hunger RE, Sieling PA, Pchoa MT, Sugaya M, Burdick AE, Rea TH, Brennan PJ, Belisle JT, Blauvelt A, Porcelli SA, Modlin RL. Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. *J Clin Invest* 2004;113:701-8.

Summary

LANGERHANS' CELLS IN DERMATOLOGY

This paper describes our own findings on the role of Langerhans' cells in dermatology and discusses literature data on their detection in seven different dermatoses. The skin is an integral part of immune system. During the past 30 years, increasing evidence has been accumulated that the skin contains cellular elements which are needed for the initiation and expression of immune response. Langerhans' cells (LCs) are dendritic cells originating in the bone marrow. They reside mainly within stratified squamous epithelia and constitute approximately 2-4 % of epithelial cells. LCs are epidermal antigen presenting cells which play a crucial role in allergic contact hypersensitivity, viral diseases, graft versus host disease and elimination of neo-plastic cell clones. They express antigens conjugated with major histocompatibility complex (MHC) class II positive molecules on their surfaces for presentation to T-helper lymphocytes. LCs cannot be identified in routinely prepared histologic testing but can be visualised at the light microscope level by histochemical and immunologic techniques. Appropriate methods for the detection of Langerhans' cells in dermatology (also shown by our own experience) are histoenzymatic methods of adenosinotriphosphatase (ATP-ase), acid phosphatase (AP), alpha-naphthylacetatesterase (ANAE and peroxidase-antiperoxidase immunohistochemistry method with polyclonal S-100 protein antibody (PAP). LCs are the only cells in normal skin with ATP-ase activity. Histoenzymatic methods used in patients with atopic dermatitis, vitiligo, *mycosis fungoides*, Behcet's disease, lichen ruber planus, *psoriasis vulgaris*, irritant dermatitis and allergic contact dermatitis demonstrated LSs in epidermis and dermis. ANAE and AP showed concordance and were suitable histochemical markers for LC distribution and macrophages in the dermis in *mycosis fungoides*, atopic dermatitis, *psoriasis vulgaris*, irritant chronic dermatitis and Bechet's disease. Our experience of the human skin showed a strong activity of calcium-activated adenosine triphosphatase in LCs. LCs in the guinea pig skin can be demonstrated by Mg^{++} and Ca^{++} activated adenosine triphosphatase, but a stronger activity of Ca^{++} activated adenosine triphosphatase in LCs after irritation. Ca^{++} ATP-ase as an indicator of energy-dependent pump is the reflection of intracellular calcium level, which is a significant factor for regulating the growth and metabolism of the cells. LCs are found as target cells during the efferent phase of contact allergic reaction. Immunohistochemical methods, define the role of LCs in dermatology more precisely and allow complete immunologic recognition within the epidermis.

KEY WORDS: *histochemical methods, lymphoid tissue, macrophages, skin associated*

REQUESTS FOR REPRINTS:

dr.sc. Jasna Lipozenčić, dr. med.
Klinika za kožne i spolne bolesti
KBC Zagreb
Šalata
HR-10000 Zagreb
E-mail: jasna.lipozencic@zg.tel.hr