

## CÉLULAS DE LANGERHANS. LOS INMUNOCITOS VIAJEROS DE LA PIEL. LANGERHANS CELLS. THE SKIN TRAVELLING IMMUNOCYTES.

Díaz, N.L. \*  
Ponce, L.V. \*  
Corado, J. \*\*  
Tapia, F. J. \*

Díaz N.L., Ponce L.V., Corado J., Tapia F.J., **Células de Langerhans. Los inmunocitos viajeros de la piel. Langerhans cells. The skin travelling immunocytes.** Derm. Venez, 1998, 36: 85-92

### RESUMEN

Las células de Langerhans (CL) intervienen en la respuesta inflamatoria de la piel, participando activamente en la fase de inmuoestimulación de la respuesta inmunitaria mediante su interacción con los linfocitos T, la cual ocurre en los órganos linfoides secundarios. Cuando ocurre un insulto cutáneo, las CL al capturar el antígeno, maduran y migran rápidamente a los ganglios linfáticos acumulándose en la paracorteza. Una vez en el ganglio, participan en la fase de inmuoestimulación de la respuesta inmunitaria al presentar antígeno a linfocitos T vírgenes, activándolos. Los linfocitos T activados migran y se anidan en la piel donde participan en la fase de retención y proliferación e interactúan con los queratinocitos y las células de Langerhans residentes a través de una serie de señales accesorias.

El presente trabajo realiza una actualización sobre la importante función de las CL con énfasis en su papel como inmunocito viajero involucrado en la fase inmuoestimuladora de la respuesta inmunitaria.

### ABSTRACT

Langerhans cells (LC) mediate the inflammatory response in the skin through active participation in the immunoestimulatory phase of the immune response, interacting with T lymphocytes. When injury occurs, LC capture the antigen and travel to the lymph nodes. Here, LC are involved in immunoestimulation, presenting the antigen to naive T lymphocytes, which are activated. Active T cells travel to the skin, where they play an important role in the retention and proliferation phases. Here, they interact with keratinocytes and LC through accessory signals. The present review points out the importance of LC function, outlining the role of travelling immunocyte involved in the immunotimulatory phase of the immune response.

### INTRODUCCIÓN.

Los tegumentos conforman la mayor área tisular de los organismos vivos, vegetal o animal. En los vertebrados, los tegumentos son el sitio de residencia de los sis-

temas que permiten la comunicación con el medio externo e interno. Los tegumentos junto a los órganos linfoides secundarios (ej. ganglios linfáticos, Placas de Peyer intestinales, etc.) constituyen la red periférica del sistema inmunológico encargada de la función cardinal de inmunovigilancia. La integración de esta red, viene determinada por la participación de un inmunocito localizado, inicialmente, en los epitelios de los tegumentos, la célula dendrítica.

La célula dendrítica tiene la capacidad de tomar antígenos (ej. agentes patógenos, haptenos, alérgenos, etc.) en el epitelio, activarse, y migrar hacia los gan-

glios linfáticos circunvecinos, donde, en la paracorteza o zona de linfocitos T, participan en la fase de inmuoestimulación de la respuesta inmune, la cual consiste en sensibilizar linfocitos T vírgenes transformándolos en linfocitos T memoria. Es-tos linfocitos T memoria adquieren, como producto de su interacción con las células dendríticas epiteliales, la capacidad de expresar moléculas de adhesión que le permiten migrar y anidarse en el sitio de la injuria inicial donde darán comienzo al desarrollo de una respuesta inflamatoria.

La mayoría de los antígenos que enfrentan al sistema inmune, en condiciones normales, penetran a través

\* Laboratorio de Biología Molecular, Instituto de Biomedicina, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela

\*\* Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo.

Dirección de Correspondencia: Felix J. Tapia, MPhil, Laboratorio de Biología Molecular, Instituto de Biomedicina, Apartado 4043, Caracas 1010a, Venezuela, Teléfono/Fax: 838277, Correo electrónico: ftapia@telcel.net.ve

de los tegumentos (piel, intestino, tracto respiratorio), por lo que no es sorprendente que se hayan desarrollado complejos y diferentes o variados sistemas de defensa inmunológica en estos tejidos. Así, los elementos linfoides de las mucosas se agrupan bajo el término "tejido linfóide asociado a la mucosa" (MALT, mucosa-associated lymphoid tissue), el cual a su vez puede ser dividido en "tejido linfóide asociado al intestino" (GALT, gut-associated lymphoid tissue), "tejido linfóide asociado al bronquio" (BALI,

actualización sobre la importante función de las células de Langerhans, con énfasis en su papel como inmunocito viajero involucrado en la inmunovigilancia y en la fase inmunestimuladora de la respuesta inmunitaria.

### 1. CÉLULAS DE LANGERHANS.

En 1868, Paul Langerhans, un estudiante de medicina del Instituto de Patología de Berlín, describe las células que llevan

y constituyen, aproximadamente, el 5% de la población celular del epitelio. En virtud de sus extensas dendritas, conforman una red celular capacitada para detectar cualquier evento en la epidermis. A nivel ultraestructural, se pueden observar, en su interior, los gránulos de Birbeck<sup>6</sup>, los cuales son una característica morfológica distintiva de estas células. Las células de Langerhans, son indistinguibles por procedimientos histológicos convencionales, sin embargo, la expresión de moléculas de superficie asociadas con su función como célula presentadora de antígeno permite su identificación mediante el uso de procedimientos histoquímicos e inmunocitoquímicos.

Las células de Langerhans, intervienen en la respuesta inflamatoria de la piel, participando activamente en la fase de inmunestimulación de la respuesta inmune mediante su interacción con los linfocitos T la cual ocurre en los órganos linfoides secundarios. Las células de Langerhans, durante el desarrollo de la respuesta inmunitaria, pueden generar tres tipos de señales: 1) Señal 1: factores asociados con captura, procesamiento y asociación a moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC-II); 2) Señal 2: factores asociados con presentación antigénica ej. Moléculas de adhesión y coestimulación; 3) Señal 3: factores asociados con la inmunidad local como son la migración y el anidamiento, con su consecuente producción de citocinas, quimiocinas, y receptores para componentes de la matriz extracelular<sup>7</sup>.

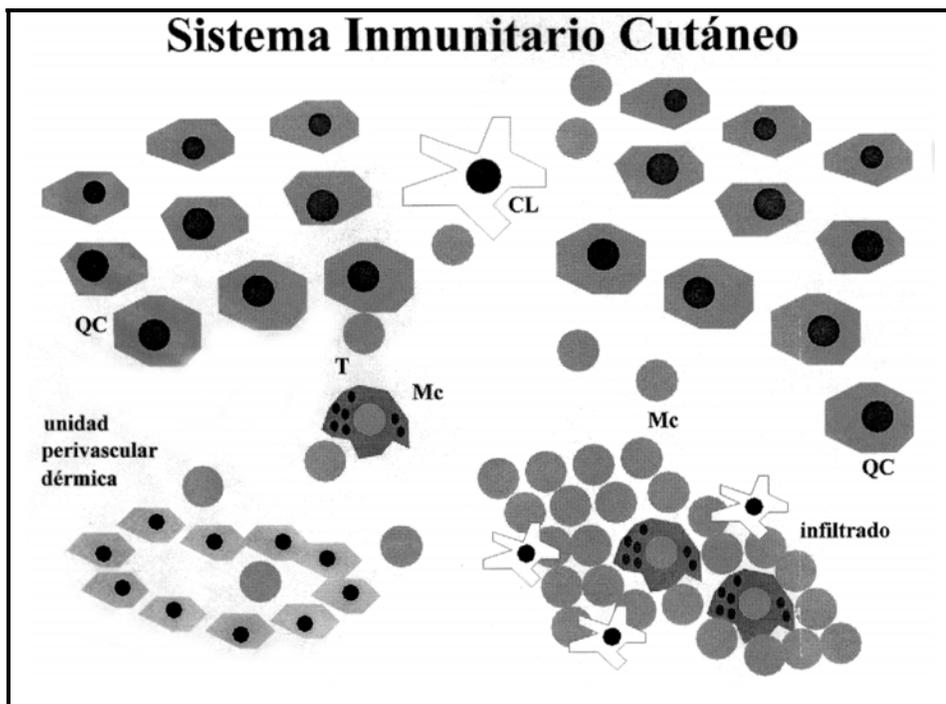


Figura 1. Sistema Inmunitario Cutáneo.

Bronchus-associated lymphoid tissue), "tejido linfóide asociado a la nasofaringe" (NALT, nasopharynx-associated lymphoid tissue), y los tejidos linfoides asociados a glándulas mamarias y órganos genitourinarios<sup>1</sup>. En piel, Streilen (1978)<sup>2</sup> fue el primero en utilizar el término "tejido linfóide asociado a la piel", pero actualmente se utiliza el término "sistema inmune cutáneo", constituido por inmunocitos (células de Langerhans epidérmicas, queratinocitos y linfocitos T), la unidad perivascular dérmica células endoteliales, pericitos vasculares, linfocitos T, mastocitos, y citocinas<sup>3</sup> (Figura 1).

su nombre como células dendríticas supra-basales en la epidermis humana. Por muchos años, se creyó que las células Langerhans pertenecían al Sistema Nervioso Periférico (SNP), debido a que se teñían con cloruro de oro al igual que tejidos del sistema nervioso. No fue sino hasta 1965, cuando estas células son relacionadas morfológicamente con los macrófagos, sugiriendo un origen mesenquimático<sup>4</sup>. En 1966, Campo-Aasen y Pearse demuestran por procedimientos histoquímicos que las células de Langerhans expresan enzimas específicas de los macrófagos

Las células de Langerhans ocupan la región basal y suprabasal de la epidermis,

#### 1.1. Caracterización fenotípica de las Células de Langerhans.

Por mucho tiempo, la determinación histoquímica de ATPasa fue utilizada para identificar las células de Langerhans, pero la presencia de esta enzima en otras células presentadoras de antígeno como monocitos y macrófagos dificultaba la interpretación de los resultados<sup>8</sup>. Actualmente, la caracterización *in situ* de células de Langerhans se realiza utilizando procedimientos inmunocitoquímicos para detectar moléculas específicas mediante anticuerpos monoclonales.

Las células de Langerhans, expresan

El presente trabajo realiza una

algunas moléculas de superficie que sirven para su reconocimiento. Por ejemplo, moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase II (MHC-11) y CD1 a en humanos, así como DEC-205 en ratones. Los antígenos CD1 son un complejo de moléculas del MHC-1 que han sido divididas según su peso molecular en CD1 a, CD1 b, CD1 c y CDd, las cuales son expresadas por los timocitos corticales, células B, monocitos y células dendríticas. Las células de Langerhans solo expresan CD1 a, y en bajos niveles, CD1 b y c<sup>9</sup>. Actualmente, se sabe que estas moléculas tienen relación con la presentación de antígenos no proteicos y se ha observado que pueden jugar un rol importante en la resistencia a bacterias encapsuladas<sup>10</sup>

Cuando la célula de Langerhans es activada, se expresan de forma inducible algunas moléculas y otras aumentan o disminuyen su expresión. Así, después de la activación, la célula de Langerhans aumenta la expresión de MHC-II, y de moléculas de adhesión como LFA (CD11, CD18), VLA (CDw29) y algunas (31 integrinas. Estas células también expresan bajos niveles del receptor Fc para IgG, y de los receptores para proteínas del C3b y C4d (CD35)".

Las células de Langerhans, también expresan moléculas asociadas inicialmente con monocitos, como CD40, CD14 y CD33. Otros marcadores menos específicos y relacionados con la estirpe embrionaria de estas células son la proteína S-100 y la vimentina<sup>12</sup>.

## 1.2. Origen de las Células de Langerhans.

Las moléculas de superficie han sido de gran utilidad para el estudio de la ontogenia de las células de Langerhans. Durante muchos años el origen de estas células fue ampliamente discutido, ya que algunos investigadores consideraban que pertenecían al sistema nervioso y otros que constituían solo melanocitos degenerados. Actualmente, se reconoce que las células de Langerhans se originan de precursores de la médula ósea. Todas las células de Langerhans expresan, en su superficie, el antígeno leucocitario común (LCA, CD45),

el cual se expresa también en células hematopoyéticas<sup>13</sup>. En humanos, células de Langerhans con el fenotipo HLA DR+/HLA DQ+/CD1 a+/CD4+ se pueden obtener a partir del cultivo de células de médula ósea y de células mononucleadas de sangre periférica<sup>14</sup>, lo cual sugiere que la célula precursora se diferencia y migra de la médula ósea a la piel por vía sanguínea. Actualmente se reconoce que células hematopoyéticas precursoras CD34+ maduran y se diferencian en células dendríticas y células de Langerhans CD1 a+, al cultivarse en presencia de citocinas como el GM-CSF (factor estimulador de colonias de monocito y macrófago), TNF- $\alpha$ : (factor de necrosis tumoral alfa) e IL4 (interleucina-4)<sup>15</sup>

En estadios embrionarios, antes de la formación de la médula ósea, las células dendríticas epidérmicas se originan de un precursor hematopoyético pluripotente del hígado (primer sitio de hematopoyesis embrionario). Estas células, en las primeras etapas de gestación (en el humano) no expresan CD1a ni poseen gránulos de Birbeck, y solo a partir de las 12 semanas se incrementa dramáticamente la expresión de CD1 a, evento que coincide con el desarrollo de la médula ósea. En contraste con los precursores fetales del hígado, los precursores de la médula ósea sintetizan CD1a<sup>16</sup>

## 1.3. Generación de células dendríticas.

Varios trabajos han demostrado que se pueden generar células dendríticas maduras por tres vías. La primera involucra células de estirpe linfocítica como las células de Langerhans, cuya célula precursora expresa el CLA (antígeno linfocitario cutáneo). La segunda vía es de células dendríticas mieloides, las cuales se desarrollan también a partir de la estimulación con GM-CSF y TNF- $\alpha$ : de un precursor CD34+ de la médula ósea, pero a diferencia de las células de Langerhans, estas células expresan CD1 4 y marcadores de macrófagos y granulocitos como CD13, CD33 y CD36; resultados que sugieren la diferenciación de monocitos circulantes a macrófagos o células dendríticas. La tercera vía involucra a las células dendríticas

tímicas, cuyos precursores aislados del timo se caracterizan por una baja expresión de CD4. La generación de estas células *in vitro* no requiere de GM-CSF y su progenie expresa CD8 y algunas moléculas mieloides como CD11 b, CD1 3 y CD33<sup>17</sup>. La existencia de diferentes vías para generar células dendríticas, pudiesen estar asociadas con funciones distintas para cada estirpe celular. Las células de Langerhans de origen mieloides podrían restringirse a una función inmunogénica capturando y transportando antígenos desde los epitelios hasta las áreas de linfocitos T de los órganos linfoides secundarios, desencadenando la fase de inmunestimulación de la respuesta inmunitaria. Por su parte, las células provenientes del timo pudiesen dar origen a una población de células dendríticas residentes (células interdigitantes fijas) capaces de distinguir antígenos propios de los no propios. Estas células funcionarían en el timo generando tolerancia, y en los órganos linfoides secundarios, pudiesen actuar como vigilantes periféricos, manteniendo la tolerancia a antígenos propios que penetran por esta vía<sup>17</sup>.

## 2. PROCESOS DE REGULACIÓN INMUNITARIA EN PIEL.

Los procesos de inmunoregulación en piel ocurren en tres fases: reclutamiento, retención/proliferación, y recirculación<sup>18</sup> (Figura 2). La fase de reclutamiento involucra la extravasación de leucocitos a través de la unidad perivascular dérmica, y la subsecuente migración de estas células hacia la epidermis. La fase de retención/proliferación comprende la interacción entre células de Langerhans, queratinocitos, linfocitos T epidérmicos y citocinas, y la subsecuente proliferación de linfocitos T y formación de un granuloma o infiltrado dérmico. La fase de recirculación es activada después de la eliminación del insulto antigénico, e involucra la bajoregulación de señales accesorias provenientes de las células de Langerhans y los queratinocitos. Los procesos de inmunoregulación pueden ser afectados por factores como la naturaleza del antígeno, las células presentadoras de antígeno epidérmicas, los linfocitos T efectores y las citocinas.

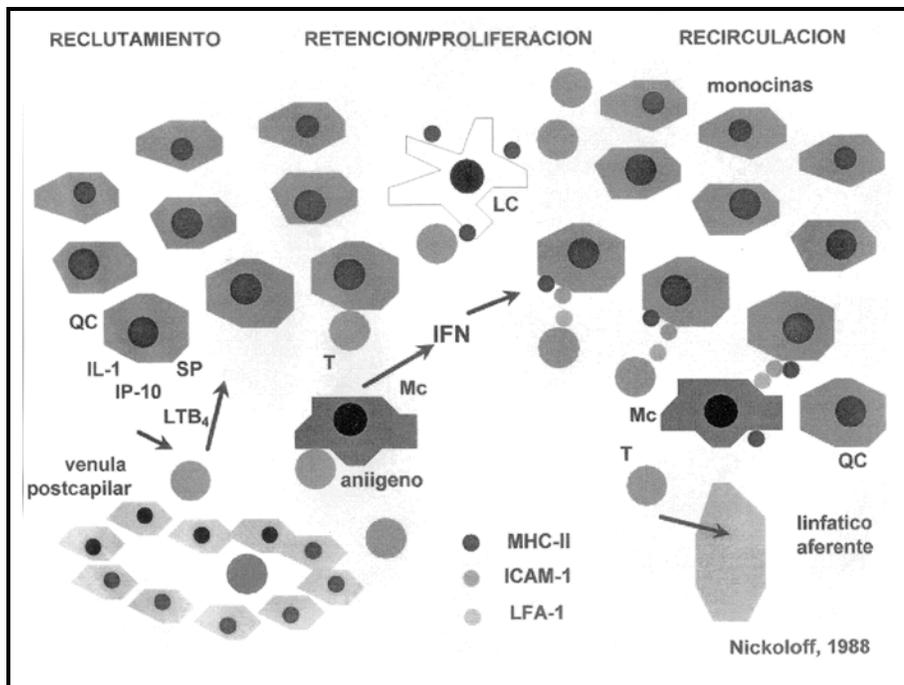


FIGURA 2. Fase de reclutamiento, Retención/proliferación y recirculación

## 2.1. Compartimientos donde se desarrolla la respuesta inmunitaria cutánea.

### 2.1.1. Unidad Perivascular Dérmica.

La extravasación de leucocitos al sitio donde ocurre el insulto antigénico cutáneo, es un proceso escalonado que requiere de interacciones secuenciales entre los leucocitos y el endotelio, las cuales son dirigidas por una cascada de adhesión<sup>19, 20</sup>. La secuencia de eventos se puede dividir en adhesión primaria (unión y encajado), adhesión firme o secundaria (activación y fijación) y diapédesis. En la adhesión primaria, los leucocitos circulantes son atraídos al endotelio donde se unen y encajan a la membrana de la célula endotelial por medio de moléculas de adhesión denominadas selectinas<sup>21</sup>. Esta primera interacción se realiza bajo un torrente sanguíneo rápido. Las L-selectina (CD62L) y P-selectina (CD62P) actúan en la fase de unión. P-selectina y E-selectina (CD62P) durante el encajado, y la E-selectina y las integrinas ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular, CD56) y VCAM-1 (molécula de adhesión vascu-

lar, CD106) durante la adhesión firme. La interacción entre pares de moléculas de adhesión, una en el leucocito y la otra en la célula endotelial, y la participación de citocinas que inmovilizan la membrana endotelial son necesarias para que se consolide la adhesión firme. Entre las moléculas de adhesión asociadas con la adhesión firme están las  $\beta$ 2-integrinas CD11 a/CD18 y CD11 b/CD18 que interactúan con ICAM-1 y otros ligandos del endotelio, y la  $\beta$ 1-integrina VLA4 (antígeno de activación tardía, CD49d/CD29) que se une a VCAM-1 y fibronectina<sup>22,23</sup>.

Las quimiocinas producidas por las células endoteliales o epidérmicas generan un gradiente que promueve la diapédesis. Las quimiocinas pueden estar localizadas en la membrana de la célula endotelial o ser liberadas para optimizar la función de las integrinas. El linfocito sujeto al epitelio responde al gradiente de quimiocinas migrando a la epidermis y luego al foco de inflamación.

Otras células de la unidad perivascular dérmica como los mastocitos pueden contribuir al proceso de extravasación

leucocitaria al secretar neuropéptidos y aminas que inducen la vasodilatación.

## 2.2. Epidermis.

Las células epidérmicas proveen adhesión adicional, la cual también es inducida por antígeno y factores microambientales, que inducen la unión de los leucocitos extravasados a las células epidérmicas y a la matriz extracelular. Esta unión es esencial para determinar la especificidad de la localización linfocitaria y el anidamiento necesario para establecer la respuesta inflamatoria<sup>24</sup>.

En la epidermis, las células de Langerhans y los queratinocitos participan en la generación del proceso inflamatorio expresando MHC-II y moléculas de adhesión, ambas necesarias para promover la migración y el anidamiento (migración) y el contacto (fase de retención) de las células inflamatorias<sup>25,26,28</sup>. Además, se establece un mecanismo control de retroalimentación entre la respuesta epidérmica y los infiltrados dérmicos con la participación de citocinas. Las células de Langerhans y los queratinocitos producen citocinas como IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ <sup>18</sup>.

La IL-1 liberada por los queratinocitos y las células de Langerhans actúa en forma autocrina y paracrina induciendo la expresión de receptores para IL-1 por estas mismas células<sup>27</sup>. La IL-1 a estimula al queratinocito a producir IL-1 y TGF $\alpha$  (factor transformador de crecimiento alfa), promoviendo este último la migración del queratinocito<sup>28</sup>. Subsecuentemente, los queratinocitos activados producen GM-CSF, el cual promueve la expresión de receptores GM-CSF en las células epidérmicas. El TNF- $\alpha$  y el GM-CSF inducen a las células de Langerhans a madurar y migrar a los ganglios linfáticos regionales, donde promueven la memoria inmunológica.

Las células de Langerhans al activarse migran rápidamente a los ganglios linfáticos donde se acumulan en la paracorteza y participan en la fase de inmunestimulación de la respuesta inmunitaria al presentar antígeno a

linfocitos T vírgenes transformándolos en linfocitos T memoria<sup>29,30</sup>. Los linfocitos T memoria migran y se anidan en la piel, donde participan en la fase de retención y proliferación interactuando con los queratinocitos y las células de Langerhans, a través de una serie de señales accesorias. Entre estas señales están la expresión de MHC-II e ICAM-1 por parte de las células epidérmicas y la producción de citocinas como el TNF- $\alpha$  y la IL10, los cuales son inducidos por IFN- $\gamma$  (interferon gamma) o IL-4 22

### 2.3. Infiltrado dérmico.

Los linfocitos T cutáneos también expresan la molécula CLA, la cual es reconocida por un anticuerpo denominado HECA-452<sup>31</sup>. La molécula CLA es un ligando importante para la E-selectina, y durante inflamación crónica linfocitos T infiltrantes CLA+ están íntimamente asociados al endotelio vascular en la dermis superior<sup>20</sup>. El 40% de los linfocitos T intraepidérmicos y perivasculares expresan CLA en piel normal, sin embargo, ésta expresión no se observa en zonas distantes a los vasos cutáneos, lo cual sugiere la participación de otras moléculas de adhesión en el anidamiento cutáneo de los linfocitos<sup>3</sup>.

El granuloma o infiltrado dérmico puede tener una configuración microanatómica particular, con linfocitos T supresores-citotóxicos CD8+ y células de Langerhans CD1a+ distribuidas en la periferia del infiltrado; y linfocitos T cooperadores-inductores CD4+ y células epiteliales localizadas aleatoriamente. La mayoría de las células expresan LFA-1 (CD11 a), LFA-2 (CD2) y VLA-4 (CD49d), indicadores de linfocitos activados. Esta organización ha sido observada en respuestas de hipersensibilidad tardía (HT) y granulomas tipo tuberculoide<sup>32,33</sup>. En relación con el patrón de citocinas producido, la respuesta inmunitaria puede ser del tipo Th1 o del tipo Th2<sup>34</sup>. Los linfocitos Th1 secretan IL-2, TNF- $\beta$  e IFN- $\gamma$ , y median respuestas de inmunidad celular tales como HT y activación macrófaga, los linfocitos Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, y contribuyen en la producción de anticuerpos para la inmunidad hu-

Moral<sup>34,35</sup>. Un tercer fenotipo, denominado Th0, produce IL-2, IL-4, IL-5, IL-3, IL-10, GM-CSF e IFN- $\gamma$ , y generalmente se observa en linfocitos T estimulados por corto tiempo<sup>35,36</sup>. Otros fenotipos incluyen a los linfocitos T vírgenes y T memoria los cuales producen IL-2<sup>34</sup> y los linfocitos Th3 productores del factor transformador de crecimiento beta (TGF- $\beta$ ).

El tipo de respuesta inmunitaria cutánea puede también ser influenciado por el microambiente de citocinas, así IFN- $\gamma$  e IL-12 inducen respuestas tipo Th1, y la IL-4 promueve respuestas tipo Th2<sup>37</sup>. Además del microambiente de citocinas, la inclinación hacia una respuesta Th1 o Th2 puede depender de la concentración y tipo de antígeno, y quizás del tipo de célula presentadora de antígeno presente<sup>38</sup>.

## 3. OTROS ASPECTOS DE LA FISIOLÓGIA DE LAS CÉLULAS DE LANGERHANS.

### 3.1. Captura y procesamiento del antígeno.

Al entrar un agente invasor o cualquier sustancia antigénica, las células de Langerhans, como todas las células presentadoras de antígeno profesionales, son capaces de tomar el antígeno del medio exterior por fagocitosis o endocitosis y degradarlo con enzimas proteolíticas en los endosomas. Simultáneamente a la captura del antígeno, aumenta la síntesis de MHC-II (cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  y una cadena invariable que le confiere estabilidad a la molécula). De alguna forma, esta molécula llega a los endosomas, donde la cadena invariable es clivada al igual que el antígeno. El péptido resultante (péptido CLIP), proveniente de la cadena invariable, es removido con la intervención de la molécula HLA-DM que acidifica el medio permitiendo que se pueda unir el péptido antigénico. Una vez formado el complejo péptido antigénico/MHC-II, este es expresado en la superficie de la célula para presentar el antígeno a los linfocitos T en el contexto de MHC clase II<sup>39</sup>.

Durante este proceso las CL sufren una

serie de cambios moleculares y morfológicos, al mismo tiempo que migran a los ganglios linfáticos para presentar el antígeno a los linfocitos T vírgenes.

### 3.2. Maduración y migración.

La mayoría de los estudios sobre la maduración de las células de Langerhans durante su migración hacia los ganglios linfáticos, se han realizado en cultivo debido a la dificultad de seguir el recorrido de estas células *in vivo*. Las células de Langerhans cultivadas por más de 72 horas, disminuyen su capacidad de fagocitar y procesar antígenos, pero adquieren una mayor capacidad para activar a linfocitos T. Estas observaciones sugieren que las células de Langerhans cultivadas o maduras son equivalentes a las células que, en los ganglios linfáticos, participan presentando antígenos en la fase de inmunostimulación de la respuesta inmunitaria. Este axioma ha permitido evaluar el proceso de migración y maduración de las células de Langerhans en cultivo.

Durante la maduración en cultivo, las CL aumentan su tamaño y la capacidad de estimular a las células T, mientras que su superficie sufre varios cambios. Aumenta la expresión de MHC-II, B7.1(CD80), ICAM-1, LFA 3 y CD40. Otras moléculas como ICAM-3, CD11b, CD45 también aumentan, mientras disminuye la expresión del receptor Fc $\gamma$ R CD32<sup>7</sup>.

Las células de Langerhans inmaduras (2-4 horas de cultivo) poseen una alta tasa de biosíntesis de MHC-II, mientras que las células maduras (1-3 días de cultivo) manifiestan una baja regulación de este proceso y el complejo MHC-péptido se hace más estable en el tiempo, pudiéndose detectar a las 72 horas después de la exposición al antígeno. En el caso de antígenos de *Leishmania major*, este proceso solo ocurre cuando hay fagocitosis<sup>40</sup>. La disposición de las moléculas MHC clase II en las CL infectadas *in vitro* con *Leishmania major*, es diferente a lo largo del tiempo postinfección. A las 8h las moléculas se encuentran en la vacuola parasitofora y en la periferia del núcleo,

mientras que a las 24h solo se observan en el borde de la célula, sugiriendo que es entonces cuando la célula es capaz de presentar el antígeno.

La maduración de las células de Langerhans es regulada por citocinas. Por ejemplo, el GM-CSF, producido por los queratinocitos activados, promueve la expresión de sus receptores en las células epidérmicas e induce a las células de Langerhans a madurar y migrar hacia los ganglios linfáticos regionales. Esta función la induce GM-CSF conjuntamente con TNF $\alpha$ , producida también por las células epidérmicas. Se ha visto que TNF $\alpha$  puede afectar la maduración disminuyendo la capacidad de procesar antígeno y la IL-1 aumentando la capacidad de presentar el mismo. La última actúa de forma paracrina y autocrina induciendo la expresión de sus receptores<sup>7</sup>.

La cinética de la migración *in vivo* de las células de Langerhans ha sido estudiada mediante la aplicación epicutánea del hapteno fluorescente Rodamina B en ratones<sup>30</sup>. Estos estudios demostraron un descenso rápido (aproximadamente 50%) en la densidad de células dendríticas epidérmicas, en las primeras 16 horas después de la sensibilización. La observación coincidió con la aparición de células dendríticas Rodamina B+ en el ganglio linfático adyacente. En el ganglio linfático, las primeras células portadoras del hapteno se observaron a las 6 horas y el mayor número entre 24-48 horas después de la sensibilización, representando un 6% del total de células dendríticas ganglionares.

Los leucocitos utilizan  $\beta$ 2-integrinas para interactuar entre sí, y  $\beta$ 1-integrinas para interactuar con los componentes de la matriz extracelular<sup>41</sup>. Durante la travesía de la epidermis hacia los ganglios linfáticos, las células de Langerhans interactúan con laminina y colágeno IV en la membrana basal, con colágeno tipo I en la dermis superior, y con fibronectina en los ganglios linfáticos aferentes. La adhesión de las células de Langerhans a fibronectina y laminina es mediada por los receptores  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 y  $\alpha$ 6 $\beta$ 1 respectivamente. Staquet y cols., (1995) demostraron que la interacción de las células de Langerhans

con la matriz extracelular dérmica (colágeno tipo I) sólo se realiza después del contacto con componentes de la membrana basal (laminina, colágeno tipo IV)<sup>42</sup>.

De igual manera, una adhesión inicial de las células de Langerhans con la matriz dérmica reduce la capacidad de unión a la laminina de la membrana basal, interacción que impide el regreso de las células a la epidermis. Recientemente, Weiss y cols. (1997) demostraron que las células de Langerhans durante su migración expresan diferentes variantes genéticas de la molécula CD44. Esta molécula tiene gran importancia en la migración celular fisiológica o patológica al ganglio linfático<sup>43</sup>.

### 3.3. Presentación del antígeno.

Las células de Langerhans inducen una vigorosa proliferación de linfocitos T sensibilizados o vírgenes. Respuesta que no es observada cuando las células son cultivadas con anticuerpos anti-MHC-II, demostrando que es un proceso restringido a MHC-II. Sin embargo, recientemente se demostró que las células de Langerhans pueden expresar un péptido antigénico asociado a MHC-I, capaz de inducir una respuesta antígeno-específica de linfocitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup><sup>44</sup>. Estos investigadores también demostraron que la transferencia adoptiva de células de Langerhans capaces de expresar a un antígeno tumoral en forma MHC-1 restringida, protege frente al desarrollo de neoplasia en ratones.

### 3.4. Efectos de la radiación ultravioleta (UV)

El sol es la principal fuente de luz ultravioleta y luz visible, que son las radiaciones que afectan a los tejidos. La radiación UV se ha clasificado según su longitud de onda en tres tipos: UVA (200-280nm), UVB(280-320nm) y UVC(320- 400nm). La UVB es la longitud de onda mas eritematogénica, razón por la cual ha sido la más estudiada. El efecto mas conocido de la radiación UV es el cáncer en la piel, el cual es el tipo de cáncer mas común en humanos<sup>45</sup>.

Cuando la piel es expuesta a la

radiación UV, se desarrolla una respuesta inflamatoria. Durante este proceso, los queratinocitos y melanocitos afectados por la radiación liberan mediadores como IL-1, que induce la activación del endotelio vascular promoviendo la acumulación de leucocitos. Otro efecto de la luz UV es el engrosamiento de la epidermis como resultado de un incremento de la actividad mitótica que genera el aumento de hasta dos veces su tamaño normal. La radiación UV también afecta el sistema inmune, entre otras vías, por la alteración de la producción de citocinas que pueden desviar una respuesta Th1 a Th2. La radiación UVB induce la producción de citocinas relacionadas con el efecto inmunosupresor como TNF $\alpha$  e IL-10<sup>45</sup>.

La UVB causa la pérdida de las dendritas de las células de Langerhans y su actividad ATPasa. Se ha demostrado en cultivos de piel humana que la radiación UVB inhibe la migración de la célula de Langerhans. Por otro lado, en ratones susceptibles se ha propuesto que al UV evita la hipersensibilidad por contacto debido a la incapacidad de la célula de Langerhans para presentar antígeno, producida por la disrupción del citoesqueleto.

Estudios *in vitro* han mostrado que la radiación UVB causa que las células de Langerhans pierdan la capacidad de inducir proliferación de los linfocitos T. específicamente perdiendo la capacidad de estimular a los linfocitos Th1 y estimulando linfocitos Th2.

El establecimiento de una línea celular de células dendríticas epidérmicas murinas (XS52) han permitido demostrar que la radiación UV inhibe significativamente la capacidad de presentación antigénica de estas células, así como la proliferación dependiente de GM-CSF<sup>46,47</sup>. Además, disminuye ligeramente la expresión de moléculas de coestimulación como B7-1(CD80) y B7 (CD86)<sup>47</sup>.

Recientemente se demostró en este mismo modelo que la radiación UVB induce apoptosis en las células XS52. La radiación crea un estado de sensibilización en la célula, de modo que al enfrentarse linfocitos T y el antígeno, recibe una segunda señal<sup>48</sup> que la induce la muerte por apoptosis<sup>48</sup>.

#### 4. LAS CÉLULAS DE LANGERHANS EN LA PATOLOGÍA CUTÁNEA.

La comprensión de la epidermis como un sitio de regulación de la respuesta inmunitaria en piel ha permitido evaluar su participación en varios procesos patológicos. Nickoloff (1988) propuso la existencia de los modelos citotóxico, tolerogénico y proinflamatorio para explicar la inmunopatología cutánea<sup>18</sup>.

El modelo citotóxico con respuestas inmunitarias tipo Th1 está implicado en la generación de resistencia a agentes patógenos u otros antígenos. La inducción de señales accesorias apropiadas, como moléculas MHC-II e ICAM-1, por parte de las células de Langerhans epidérmicas y de los queratinocitos promueven una respuesta Th1. Este modelo es el observado en eritema multiforme, algunas enfermedades liquenoides, leishmaniasis cutánea localizada y lepra tuberculoides.

El modelo tolerogénico asociado con respuestas tipo Th2 es producto de señales accesorias defectuosas por parte de las células de Langerhans epidérmicas y de los queratinocitos, tal como se observa en dermatitis por contacto, liquen plano y leishmaniasis cutánea difusa. Por ejemplo, se ha demostrado que la IL-10 y el TNF- $\alpha$  pueden modificar a las células de Langerhans para inducir tolerancia y no inmunidad, quizás afectando la expresión de factores de coestimulación<sup>46,47</sup>.

El modelo proinflamatorio se caracteriza por un infiltrado crónico y perenne que tiende a estar asociado con daño tisular, y en donde no se define claramente una respuesta del tipo Th1 o Th2, tal como se observa en formas severas de psoriasis y en la leishmaniasis mucocutánea. La ausencia o exceso de células de Langerhans pudiese contribuir al secuestro inadecuado de linfocitos T hacia la epidermis, los cuales al no recibir las señales accesorias de bajoregulación permanecen causando inmunopatología<sup>48,49</sup>.

La importancia de la piel como órgano inmunológico permitirá desarrollar nuevas esquemas terapéuticos dirigidos a

modificar el papel de la epidermis en la regulación de la respuesta inmunitaria frente a agentes patógenos u otros antígenos. Las células de Langerhans pudiesen ser utilizadas como vehículo de antígenos para inducir resistencia o tolerancia en diferentes condiciones patológicas.

#### AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el CDCH-Universidad Central de Venezuela, CONICIT S1-98000041, UNDP/World Bank/who-TDR, INCO Comunidad Europea IC18CT970213.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Croitoru R, Bienenstock J: Characteristics and functions of mucosa-associated lymphoid tissue. En Ogra PL, McGhee JR, Mestecky J et al., editors, Handbook of mucosal immunology, San Diego, 1994, Academic Press.
2. Streilen JW. Lymphocyte traffic, T cell malignancies and the skin. J Invest Dermatol 1978; 71 :167-71.
3. Bos JD, Kapsenberg ML: The skin Immune System: Progress in cutaneous biology. Immunol Today 1993; 14: 75-78.
- 4.- Basset F, Turiaf J: Identification par la microscopie électronique de particules de nature probablement virale dans les lésions granulomateuses d'une histiocytose X pulmonaire. C.R. Acad. Sci. (D) (Paris). 1965; 261:3701-3703.
- 5.- Campo-Aasen I, Pearse AGE: Enzimología de la célula de Langerhans. Med Cut 1966;106:888-889.
- 6.- Birbeck MSC, Breadnach AS, Everal DJ: An electron microscopic study of basal melanocyte and high level clear cell (Langerhans cells) in vitiligo. J Invest Dermatol 1961; 37:51-74.
- 7.- Steinman R, Hoffman L, Pope M: Maturation and migration of cutaneous dendritic cells. J. Invest Dermatol 1995; 105 :2S-7S.
- 8.- Tapia FJ, Rojas E, Kraal G, Mosca W, Convit J: Immunocytochemical analysis of Langerhans cells in murine cutaneous leishmaniasis. En: "The Langerhans cell". Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd. London. 1988; pp 479-490.
- 9.- Blumberg RS, Gerdes D, Chott A, Porcelli SA, Balk SP: Structure and function of the CD1 family of MHC-like cell surface proteins. Immunol Rev. 1995; 147: 5-29.
- 10.- Fairhurst, RM, Wang CX, Sieling PA, Modlin RL, Braun J.: CD1-restricted T cells and resistance to

polysaccharide-encapsulated bacteria. Immunol Today 1998; 19:257-264.

11. Burke K, Gigli I: Receptors for complement on Langerhans cells. J Invest Dermatol 1980;75: 46
12. Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Acuña L, Mosca W: Epidermal Langerhans cells in infectious diseases. Histol Histopath 1989; 4:599-508.
13. Flotte TJ, Murphy GF, Bhan AK.: Demonstration of T 200 on human Langerhans cells surface membranes. J Invest Dermatol 1984; 82:496.
14. Reid CD, Fryer PR, Clifford C.: Identification of hematopoietic progenitors of macrophages and dendritic Langerhans cells (DL-FCU) in human bone marrow and peripheral blood. Blood 1986; 76:1139.
15. Strunk D, Stingl G: Human Langerhans cells derived from CD34+ blood precursors: Mode of generation, Phenotypic and functional analysis, and experimental and clinical applicability. En: "Immune reactions of Epidermal Langerhans Cells". Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. 1995; 21-36.
16. Stingl G, Hauser C, Wolff K: The epidermis: An immunologic microenvironment En: Dermatology in general medicine. McGraw-Hill, New York. 1993: 172-97.
17. Steiman R, Pack M, Inaba K: Dendritic cells in the T-cell areas of Lymphoid organs. Immun Rev 1997; 156: 25-37.
18. Nickoloff BJ. Role of interferon in cutaneous trafficking of lymphocytes with emphasis on molecular and cellular adhesion events. Arch Dermatol 1988; 24: 1835-43.
19. Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. Cell. 1991; 67:1033-6.
20. Picker LJ. Mechanisms of lymphocyte homing. Curr Opin Immunol 1992; 4:227-86.
21. Dailey MO. The selectin family of cell-adhesion molecules. En: Shimizu Y, ed. Lymphocyte Adhesion Molecules. Austin: RG Landes, 1993 :75- 104.
22. Dustin ML, Garcia-Aguilar J, Hibbs ML et al. Structure and regulation of the leukocyte adhesion receptor LFA-1 and its counterreceptors, ICAM-1 and ICAM-2. Cold Spring Harbor Symp Quant Biol 1989; 54:753-7.
23. Elites MJ, Osborn L, Takada Y et al. VCAM-1 on activated endothelium interacts with the leukocyte integrin VLA-4 at a site distinct from the VLA-4/ fibronectin binding site. Cell 1990; 60:577-84.
24. Picker LI. Control of lymphocyte homing. Curr Opin Immunol 1994; 6:394-406.
25. Breathnach SM., Katz SI. Keratinocytes synthesize the antigen in acute cutaneous graft-vs-host disease. J Immunol 1983; 131: 2741-45.
26. Abock J, Roman N, Grauber G, Fritsch P. HLA-DR

- expression on keratinocytes is a common feature of diseased skin. *Br J Dermatol* 1986; 114: 465-72.
27. Kampgen E, Roman N, Koch F et al. Cytokine receptors on epidermal Langerhans cells. In: Moll H. ed. *The Immune Functions of Epidermal Langerhans Cells*. Austin: RG Landes, 1995:37-56.
  28. Chen JD, Kim JP, Zhang K et al. Epidermal growth factor (EGF) promotes human keratinocyte loco-motion on collagen by increasing the alpha 2 integrin subunit. *Exp Cell Res* 1993; 209:216-23.
  29. Macatonia SE, Knight SC, Edwards AJ et al. Localization of antigen on lymph node dendritic cells after exposure to the contac sensitizer fluorescein isothiocyanate. Functional and morphological studies. *J Exp Med* 1987; 166:1654-67.
  30. Van Wilsem EJJ, Kleijmeer BM, Kraal G: Antigen-bearing Langerhans cells in skin draining lymph nodes: Phenotype and kinetics of migration. *J Invest Dermatol* 1994; 103:1-5.
  31. Berg EL, Robinson MK, Mansson O et al. A carbo-hydrate domain common to both sialyl Le(a) and sialyl Le(x) is recognized by the endothelial cell leukocyte adhesion molecule ELAM-1. *J Biol Chem* 1991; 266:14873-76.
  32. Modlin RL, Hofman FM, Taylor CR, Rea TH. T lymphocyte subsets in the skin lesions of patients with leprosy. *J Am Acad Dermatol* 1983; 8: 182-89.
  33. Gross A, Weiss E, Tapia FJ et al. Leukocyte subsets in the granulomatous response produced after inoculation with *Mycobacterium leprae*-BCG in lepromatous patients. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 608-12.
  34. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-57.
  35. Mosmann TR, Moore KW. The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. En: "Immunoparasitology Today". Ash, C., Gallagher, R.B. (eds.). Elsevier Trends Journal, Cambridge, 1991: A49-A53.
  36. Mosmann TR, Moore KW. The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. En: "Immunoparasitology Today". Ash, C., Gallagher, R.B. (eds.). Elsevier Trends Journal, Cambridge, 1991: A49-A53.
  37. Garside P, Mowat AMcl. Polarization of Th-cell responses: a phylogenetic consequence of non-specific immune defence? *Immunol Today* 1995; 16:220-3.
  38. Constant S, Pfeiffer C, Woodard A et al. Extent of T cell receptor ligation can determine the functional differentiation of naive CD4+ T cells. *J Exp Med* 1995; 182:1591-1596.
  39. Brodsky FM, Lem L, Bresnahan PA: Antigen processing and presentation. *Tissue Antigens*. 1996; 47:464-471.
  40. Flohé S, Lang T, Moll H: Synthesis, stability, and subcellular Distribution of major histocompatibility complex class II molecules in Langerhans cells infected with *Leishmania major*. *Am Soc Microbiol* 1997; 65:1-7.
  41. Smith J: The structural basis of integrin-ligand (RGD) interaction. En: "Integrins. Molecular and biological responses to the extracellular matrix". Academic press, San Diego. 1994; 1:132.
  42. Staquet MJ, Kobayashi Y, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D: Role of specific successive contacts between extracellular matrix proteins and epidermal Langerhans cell in the control of their directed migration. *Fur J Cell Biol* 1995; 66: 342-348.
  43. Weiss JM, Sleeman J, Renkl AC, Dittmar H, Termeer CC, Taxis S, Howells N, Hofmann M, Kohler G, Schops E, Ponta H, Herrlich P, Simon JC An Essential role for CD44 variant isoforms in Epidermal Langerhans cell and blood dendritic cell faction. *J Cell Biol* 1997; 197: 1137-1147.
  44. Celluzi CM, Falo LD: Epidermal dendritic cells induce potent antigen-specific CTL-mediated immunity. *J Invest Dermatol* 1997; 108:716-720.
  45. Cáceres-Dittmar G, Tapia FJ. *Fotoinmunología Básica*. *Med Cut Iber Lat Am* 1997. XXV/ 97:229-240.
  46. Xu S, Arizumi K, Cáceres-Dittmar G et al: Successive generation of antigen-presenting, dendritic cell line from marine epidermis. *J Immunol* 1995; 154:2697-2705.
  47. Cáceres-Dittmar G, Arizumi K, Xu S, Tapia F.J.: Hydrogen Peroxide mediates UV-induced impairment of antigen presentation in a marine epidermal-derived dendritic cell line. *Photochem Photobiol* 1995. 62:176-183
  48. Kitajima T, Arizumi K, Bergs Tresser PR, et al: UltravioletB radiation sensitizes a marine epidermal dendritic cell line (XS52) to undergo apoptosis upon antigen presentation to T cells. *J Immunol* 1996; 157:3312-3316.
  49. Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Sánchez MA. Inadequate epidermal homing leads to tissue damage in human cutaneous leishmaniasis. *Immunol Today* 1994; 15: 160-65.