

Ultraestructura de las células de Langerhans en la epidermis de cabras

Fernando Constantino C.* , **
Andrew R. Jefferies**

Las células de Langerhans de la piel constituyen una subpoblación morfológicamente bien caracterizada en la epidermis y dermis de los mamíferos.^{3,6,17,23,25} Estas células son de origen mesenquimal, provienen de la médula ósea^{2,25} y se consideran pertenecientes a la serie monocítica-fagocítica,^{1,17,19,23} representando la parte más superficial del sistema inmune.^{2,3,7}

En la epidermis, las células se distribuyen ampliamente desde el estrato basal al espinoso.^{1,2,15,23} Los procesos dendríticos de las células se extienden hasta el estrato córneo.^{1,3,15,17} En la dermis las células de Langerhans se distribuyen al azar^{14,20,27} y al parecer están en continuo tránsito a nódulos linfoides.¹⁰

Se ha estudiado ampliamente la ultraestructura de las células de Langerhans en el hombre. Se les caracteriza como células claras con núcleo lobulado y con característicos gránulos de Langerhans o de Birbeck.^{14,17,24,27} Estos gránulos son organelos con una estructura llineal de 3,200 Å de largo a 300 Å de ancho, con bordes redondeados;^{3,17,27} una sáculo está presente con frecuencia en uno de los extremos del organelo, lo que da aspecto de una "raqueta de tenis".^{6,17,24}

Los estudios de ultraestructura de las células de Langerhans en animales domésticos y de laboratorio son limitados; sólo existen informes en algunas especies como bovinos,^{3,7,15,22} roedores^{9,11,13,16,25} y primates no humanos.^{8,18} No se encontraron informes de las células de Langerhans de la piel de cabras; por tanto, se decidió identificar ultraestructuralmente estas células en la epidermis de los animales en estudio.

Se usaron 9 cabras criollas (hembras) entre uno y seis años de edad para la toma de biopsias de piel. Seis tenían pelo blanco, dos café y una blanco y negro. Los animales estaban clínicamente sanos sin ninguna lesión dermatológica.

Los sitios de biopsia de piel para su comparación fueron la región lumbar (como muestra de la parte dorsal) y el área media de las extremidades posteriores (como muestra de la parte ventral del cuerpo) de cada animal, para tener un total de 9 muestras del primer sitio y otras 9 del segundo sitio de biopsia. Las biopsias se tomaron bajo anestesia local y con un "sacabocado" de 0.6 cm de diámetro.

Las muestras (18 en total) se fijaron en 4% glutaraldehído amortiguado en PBS pH 7.4 y se posfijaron en 1% tetraóxido de osmio, también en la misma solución amortiguadora. Las muestras se lavaron en solución amortiguadora; luego, se deshidrataron en una serie ascendente de concentraciones de etanol y óxido de propileno. A continuación las muestras fueron embebidas en resina TÁBB en cápsulas de plástico durante 48 h a 60 C. Se realizaron cortes perpendiculares a la piel de 1 µm de grosor y se tiñeron con azul de toluidina. Por último, se realizaron cortes ultrafinos de 60-80 nm de grosor de áreas seleccionadas y se montaron en rejillas de malla de cobre, para luego ser teñidas con acetato acuoso seguido por la tinción de citrato de plomo.

Las secciones se estimaron en microscopio electrónico de transmisión.* Se realizó la descripción de las células de Langerhans para cada sitio de biopsia y se revisaron las diferencias ultraestructurales y en localización de la epidermis de ambos sitios de biopsia.

Las células de Langerhans en la epidermis de la región lumbar y de la cara interna de la extremidad posterior no mostraron diferencias ultraestructurales, por lo que se hace una sola descripción. Estas células se identificaron como células con núcleo alargado, lobulado o irregular. En varios núcleos se observaron una o varias escotaduras profundas (Figura 1). La cromatina nuclear estaba distribuida de manera difusa y condensada uniformemente hacia la membrana nuclear. En casi todos los núcleos sólo se observó un nucléolo. El citoplasma era abundante, claro, sin desmosomas y tonofilamentos. En algunas células se encontraron escasos melanosomas, la mayor parte en lisosomas. En el citoplasma también se encontró un retículo endoplásmico

Recibido para su publicación el 28 de febrero de 1992

Parte de este trabajo corresponde a la Tesis de Doctorado en Filosofía presentado por el primer autor.

* Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. 04510, México, D.F.

** Department of Clinical Veterinary Medicine, Madingley Road, University of Cambridge, U.K.

* Hitachi H-600



Figura 1. Fotografía de microscopía electrónica de transmisión de una célula de Langerhans con un núcleo (N) con una escotadura profunda (X7,258)

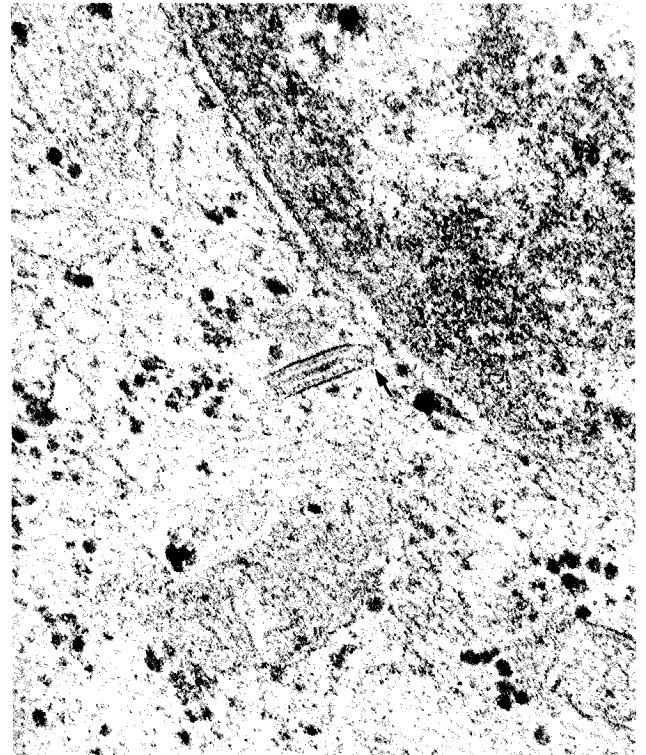


Figura 2. Fotografía de microscopía electrónica de transmisión de un gránulo de Langerhans que muestra la estructura lineal con aspecto estriado en el centro; uno de los bordes es redondo (flecha) (X100,000)

mico rugoso, ribosomas libres, un complejo de Golgi y mitocondrias. Los dos últimos organelos estaban bien desarrollados en las células con abundante cantidad de citoplasma. Se observaron de uno a tres gránulos de Langerhans por célula (Figura 2). Estos organelos citoplásmicos se localizaron cerca del complejo de Golgi; tenían una membrana trilaminar, estructura lineal y aspecto estriado en el centro; midieron de 100 a 600 nm de longitud y 50 a 200 nm de ancho. Los bordes de estos organelos eran redondeados y en ocasiones uno de sus bordes terminaba en forma de “raqueta de tenis”.

Las células de Langerhans se encontraban distribuidas al azar en el tercio inferior de la epidermis (Figura 3), en su mayor parte en posición basal extendiendo sus procesos dendríticos hacia las células vecinas y a la superficie de la epidermis hasta el estrato córneo (Figura 4). Esta última observación fue más común en las secciones de la región lumbar.

Se observaron células con la morfología descrita para las células de Langerhans, pero con ausencia de gránulos de Langerhans. Estas se distribuían al azar en posición basal o suprarrenal de la epidermis.

La ultraestructura de las células de Langerhans en la epidermis de cabra correspondió con descripciones en el hombre,^{4, 17, 20, 27} bovinos,^{3, 15} ratones y cobayos.^{16, 20, 26} Las células de Langerhans se identificaron a través de su ultraestructura y por la presencia de los característicos gránulos de Langerhans o de Birbeck. Tales gránulos se consideran la característica ultraestructura de las células de Langerhans.¹⁹ En la epidermis de cabra, los

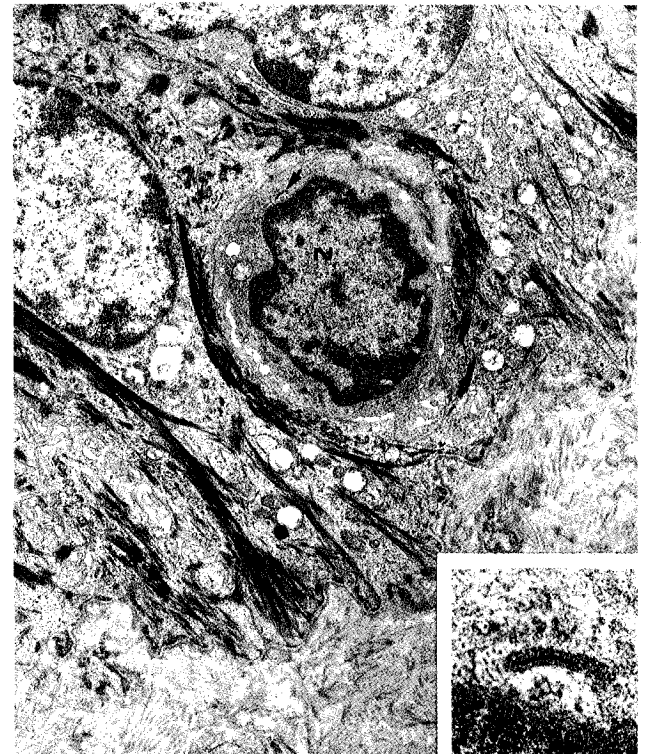


Figura 3. Fotografía de microscopía electrónica de transmisión de una célula de Langerhans en el estrato basal. El núcleo (N) es lobulado, se observa también un gránulo de Langerhans (flecha). Recuadro: detalle del gránulo de Langerhans (X9,000) (Recuadro X62,500)

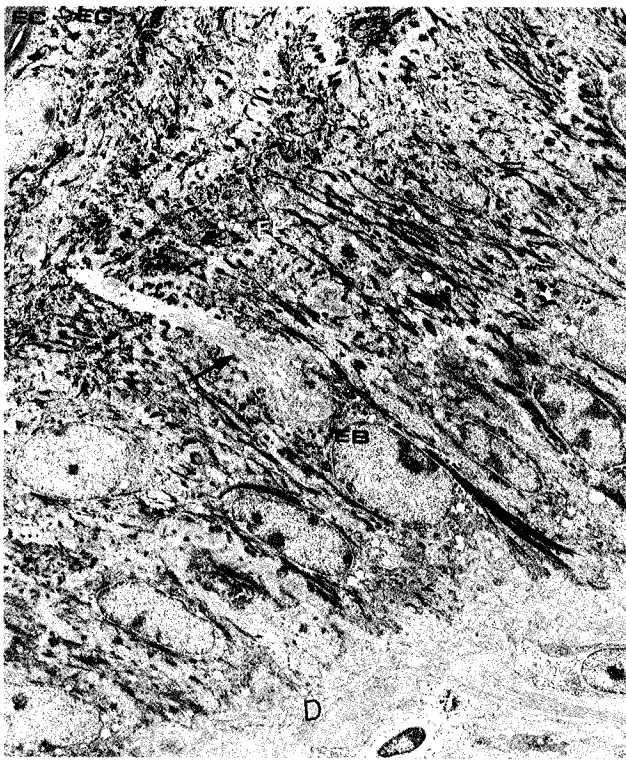


Figura 4. Fotografía de microscopía electrónica de transmisión de la epidermis de cabra; se observa la mayor parte de la epidermis, los estratos basal (EB), espinoso (EE), granuloso (EG) y córneo (EC). Se nota un proceso de una célula dendrítica (flecha) hacia el estrato córneo. En el extremo inferior la dermis (D) (X2,727)

gránulos de Langerhans no eran numerosos por cada célula. Bryan *et al.*³ y Khalil *et al.*¹⁵ también informaron que en epidermis de bovino los gránulos escaseaban, no siendo lo mismo para el ser humano. La apariencia descrita en células de Langerhans en el ser humano, de los organelos de Langerhans con forma de "raqueta de tenis",^{17,27} se observó rara vez en las muestras de cabra. En bovinos y otros animales domésticos también se comunica que esa saculación en los gránulos de Langerhans es poco frecuente.^{12, 15} Se desconoce el origen y la función de los gránulos de Langerhans.¹⁷ Se cree que se originan a partir del complejo de Golgi^{26,27} o a partir de invaginaciones de la membrana plasmática.²¹ En las muestras revisadas en este estudio casi todos los gránulos se encontraban cerca del complejo de Golgi, lo que pudiera indicar cierta relación con ese organelo.

Las células de Langerhans en la epidermis de cabra, se localizaron principalmente en posición basal y suprabasal y en algunas muestras de la región lumbar en la parte media del estrato córneo. Czernielewski y Demarchez,⁵ señalan que en el ser humano la mayor parte de las células de Langerhans se encontraron inmediatamente debajo del estrato granuloso. La localización de las células de Langerhans en la epidermis de las cabras puede ser una característica en los rumiantes. La localización más superficial de las células de Langerhans en las muestras de la región lumbar de las

cabras, se puede asociar al mayor grosor de la piel en las partes dorsales del cuerpo²³ con respecto a las partes ventrales. Es probable que las células migren más superficialmente para participar de manera más directa en su función en el sistema de inmunidad.

Las células morfológicamente similares a las de Langerhans pero sin gránulos de Langerhans observadas en este estudio, pueden clasificarse como células indeterminadas.^{2,11} Sin embargo, para estar seguros de que no presentan gránulos, se deben realizar secciones seriadas, lo cual no fue posible en este estudio. Tamaki *et al.*²⁵ mencionan que en varias de las llamadas células indeterminadas se encontraron gránulos de Langerhans en secciones seriadas y en otra proporción de células no se observaron dichos gránulos. Esto indica que muy probablemente en epidermis de cabras, las células indeterminadas sí representan una población celular. Al parecer, las células indeterminadas están muy relacionadas con las células de Langerhans,^{2,14,17,20,25} ya que al igual que ellas poseen receptores Fc-IgG y tienen antígeno OKT6.¹⁹

Se considera que el conocimiento de las células de Langerhans en la epidermis de cabras como parte estructural de la piel, es de gran importancia para estudios posteriores como diferencias cualitativas y cuantitativas en razas, sexo, edad del animal, región del cuerpo y estado nutricional. Todo lo anterior ayuda para el estudio y mejor entendimiento de las reacciones inmunológicas en la piel y su relación con enfermedades cutáneas.

Abstract

Langerhans cells in goats skin were identified ultra-structurally according to their morphology and the presence of the characteristic Langerhans or Birbeck granules. These granules were not numerous and the presence of the typical "tennis racket" organelles described in human Langerhans cells was rarely observed in goats epidermis. Langerhans cells in goats epidermis were mostly found in a basal and suprabasal position and in samples of the lumbar region in the middle part of the skin. Identification of Langerhans cells in goats skin is important, as these cells are involved in cutaneous immunological reactions due to their antigen presenting properties.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la "Neuropathology Section of the Department of Clinical Veterinary Medicine, Madingley Road, Cambridge, U.K.", por las facilidades presentadas para realización de este trabajo y a Mr. M. Stocker por el corte de las secciones finas. Agradecemos a la Unidad de Microscopía Electrónica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la impresión de las figuras y a la Srita. Emma Serrano por la captura del trabajo.

Literatura citada

1. Banks, W.J.: Applied Veterinary Histology. 2nd ed. *Waverly Press*, Baltimore, Maryland, 1981.
2. Breathnach, S.M.: The Langerhans cell. *Br. J. Dermatol.*, 119: 463-469 (1988).
3. Bryan, L.A., Griebel, P.J., Haines, D.M., Davies, W.C. and Allen, J.R.: Immunocytochemical identification of bovine Langerhans cells by use of a monoclonal antibody directed against class II MMC antigens. *J. Histochem. Cytochem.*, 36: 991-995 (1988).
4. Chu, A., Eisinger, M., Soo-Lo, J., Takezaki, S., Kung, P.C. and Edelson, R.L.: Immunoelectron microscopic identification of Langerhans cells using a new antigenic marker. *J. Invest. Dermatol.*, 78: 177-180 (1982).
5. Czernielewski, J.M. and Demarchez, M.: Further evidence for the self-reproducing capacity of Langerhans cells in human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 88: 17-20 (1987).
6. Dellmann, H.D. and Brown, C.M.: Textbook of Veterinary Histology. 3rd ed. *Lea and Febiger*, Philadelphia, 1987.
7. Gerneke, W.M.: Langerhans cells in the epithelium of the bovine forestomach: Their role in the primary immune response. *J.S. Afr. vet. Ass.*, 48: 187-192 (1977).
8. Giacometti, L. and Montagna, W.: Langerhans cells: Uptake of tritiated thymidine. *Science*, 157: 439-440 (1967).
9. Gschnait, F. and Brenner, W.: Kinetics of epidermal Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 73: 566-569 (1979).
10. Hoefsmit, E.C.M., Dujvestijn, A.M. and Kamperdijk, W.A.: Relation between Langerhans cells, veiled cells and interdigitating cells. *Immunobiology*, 161: 255-265 (1982).
11. Hsiao, L., Takeya, M., Tatsuyoshi, A. and Takahashi, K.: An immunohistochemical and immunoelectron microscopic study of the ontogeny of rat Langerhans cell lineage with anti-macrophage and anti-Ia monoclonal antibodies. *J. Invest. Dermatol.*, 93: 780-786 (1989).
12. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N.: Pathology of Domestic Animals. 3rd ed. Volume I. *Academic Press*, Orlando, Florida, 1985.
13. Juhlin, L. and Shelley, W.B.: New staining technique of the Langerhans cell. *Acta Dermatovenerol. (Stockholm)*, 57: 289-296 (1977).
14. Katz, S.J.: The role of Langerhans cell in immunity. *Arch. Dermatol.*, 116: 1361-1362 (1980).
15. Khalil, H.M., Witiuthai, S. and Allen, J.R.: Alkaline phosphatase-positive Langerhans cells in the epidermis of cattle. *J. Invest. Dermatol.*, 79: 47-51 (1982).
16. Koyama, Y.I., Nagao, S., Ohashi, K., Takahashi, H. and Marunouchi, T.: Sex differences in the densities of epidermal Langerhans cells in the mouse. *J. Invest. Dermatol.*, 88: 541-544 (1987).
17. Lever, W.F. and Schaumburg-Lever, G.: Histopathology of the skin. 6th ed. *J.B. Lippincott*, Philadelphia, 1983.
18. Montagna, W. and Yun, S.J.: The skin of primates VII. The skin of the great bushbaby (*Galgo crassicaudatus*). *Am. J. Phys. Anthropol.*, 20: 149-165 (1962).
19. Murphy, G.F., Bhan, A.K., Harrist, T.J. and Mihm, M.C.: *In situ* identification of T6 - positive cells in normal human dermis by immunoelectron microscopy. *Br. J. Dermatol.*, 108: 423-431 (1983).
20. Rowden, G.: Expression of Ia antigens on Langerhans cells in mice, guinea pigs, and man. *J. Invest. Dermatol.*, 75: 22-31 (1980).
21. Sagebiel, R.W.: *In vivo* and *in vitro* uptake of ferritin by the Langerhans cell of the epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 58: 47 (1972).
22. Schleger, A.V. and Bean, K.G.: The melanocyte system of cattle skin. Melanocytic melanocytes of epidermis and dermis. *Aust. J. biol. Sci.*, 26: 973-983 (1973).
23. Scott, D.W.: Large Animal Dermatology. *W.B. Saunders*, Philadelphia, 1988.
24. Stingl, G., Wolff-Schreiner, E.C., Pichler, W.S., Knapp, W. and Wolff, K.: Epidermal Langerhans cells bear Fc and C3 receptors. *Nature*, 268: 245-246 (1977).
25. Tamaki, K., Stingl, G. and Katz, S.J.: The origin of Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 74: 309-311 (1980).
26. Wolff, K. and Wolff-Schreiner, E.C.: Trends in electron microscopy of skin. *J. Invest. Dermatol.*, 67: 39-57 (1976).
27. Zelickson, A.S. and Mottaz, J.H.: Localization of gold chloride and adenosine triphosphatase in human Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 51: 365-372 (1968).