



**SUBDIRECCION DE INVESTIGACION
Y ESTUDIOS DE POST-GRADO**

**"DETERMINACION POR METODOS HISTOQUIMICO
ENZIMATICOS DEL TIEMPO DE APARICION
DE LAS CELULAS DE LANGERHANS
EN LA EPIDERMIS DEL RATON ALBINO
(MUS MUSCULUS CEPA C-DI)"**

**"TESIS QUE EN OPCION
AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS"
ESPECIALIDAD: MORFOLOGIA**

**PRESENTA:
MCP MARINA MAGDALENA ONDARZA R**

MONTERREY, N. L. SEPTIEMBRE DE 1986

TM

QR18

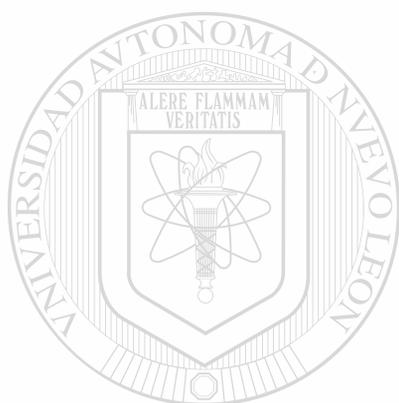
.8

.L35

05

c.1

Handwritten text, likely bleed-through from the reverse side of the page.



UANL

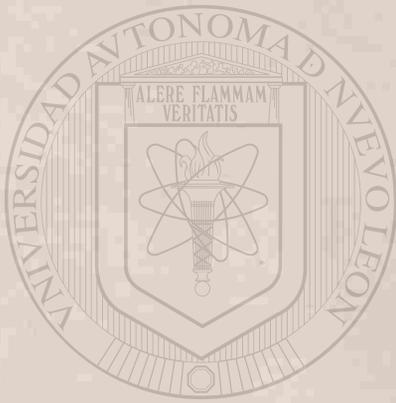
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

5029

QM2
C.2



U A N L

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

BIBLIOTECA

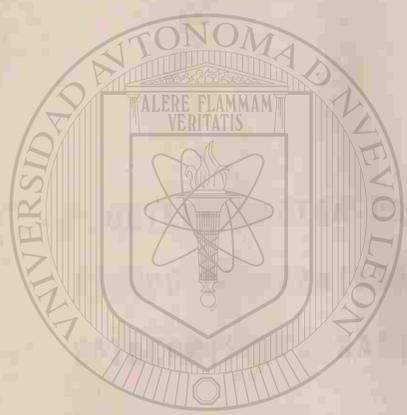
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA

ADMINISTRACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y SERVICIOS DE SALUD



U A N L

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

BIBLIOTECA

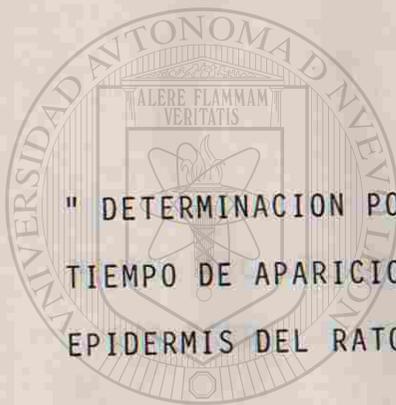
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

PLAZA DEL CECILIA, CENTRO UNIVERSITARIO, SAN JUAN DE LOS RIOS, NUEVO LEÓN, MÉXICO
ESPECIALIDAD: QUÍMICA
PRESENTA: DR. MARCO ANTONIO GARCÍA GONZÁLEZ

DUPLICADO

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA
SUBDIRECCION DE INVESTIGACION Y ESTUDIOS DE POST-GRADO



" DETERMINACION POR METODOS HISTOQUIMICO ENZIMATICOS DEL -
TIEMPO DE APARICION DE LAS CELULAS DE LANGERHANS EN LA - -
EPIDERMIS DEL RATON ALBINO (MUS MUSCULUS CEPA C-DI) "

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

" TESIS QUE EN OPCION AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS "
ESPECIALIDAD: MORFOLOGIA
PRESENTA: MCP MARINA MAGDALENA ONDARZA RODRIGUEZ



BIBLIOTECA

MONTERREY, N. L.
SEPTIEMBRE DE 1986



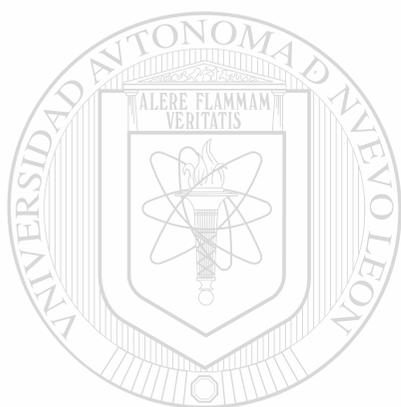


NOMBRE DEL ASESOR: MCP Y PhD JULIO SEPULVEDA SAAVEDRA

LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL TRABAJO: FACULTAD DE MEDICINA
DE LA U.A.N.L. DEPTO. DE HISTOLOGIA

INSTITUCION QUE LA AUSPICIO: FACULTAD DE MEDICINA DE LA -
U.A.N.L. Y COLABORACION DE FACULTAD-
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
DE MEDICINA DE H. MATAMOROS DE LA U.

A.T.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Dedico este trabajo de tesis a:
Mis padres, mi esposo, mi hijo-
y a todos mis maestros.**

<u>CONTENIDO</u>	PAG.
Introducción	1
Material y Métodos	8
Resultados	11
Discusión y Conclusiones	14
Resumen	17
Referencias Bibliográficas	18
Apéndice	22
Fotografías	23

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

"DETERMINACION POR METODOS HISTOQUIMICO ENZIMATICOS DEL -
TIEMPO DE APARICION DE LAS CELULAS DE LANGERHANS EN LA -
EPIDERMIS DEL RATON ALBINO (MUS MUSCULUS CEPA C-DI)"

INTRODUCCION:

En 1868 Paul Langerhans describió células dendríticas no pigmentadas en la piel humana teñidas con el método del cloruro de oro(1). A partir de esta fecha surgieron diferentes interrogantes sobre su origen y función.

Originalmente se pensó que provenían de las crestas neurales e incluso que se trataba de melanocitos despigmentados ó de algún tipo de queratinocito modificado(2).

En épocas recientes se determinó que las células de Langerhans (CL) provenían de las células dendríticas indeterminadas (CDI) y a ambas células (CL y CDI), se les atribuye que derivan de la médula ósea(2,3,4). Esto se debe a hallazgos de estudios realizados con ratones quimerizados, los cuales se dividieron en dos grupos: ratones A(donadores) y ratones híbridos AB(receptores). Los ratones AB recibieron radiaciones y a los 7 días desaparecieron las células de Langerhans cutáneas y las células de la médula ósea; posteriormente se tomaron células de médula ósea de los ratones A para transplantar a los ratones AB radiados aplicándoselas por vía intravenosa; 13 días después de la radiación comenzaron a aparecer CL en la epidermis provenientes de la médula ósea donadora y a los 32 días es cuando hay una repoblación total de CL. Utilizaron para su - -

identificación marcadores nucleares y de superficie (5,6,7 8).

Actualmente se conocen diferentes tipos de células -- dendríticas probablemente relacionadas con las CL en su -- función inmunológica, las cuales se encuentran distribuí-- das en diferentes partes del organismo como: las células - reticulointerdigitadas de las áreas timodependientes del - tejido linfoide y del timo, las células dendríticas folicu-- lares de Nossal de los folículos linfoides y las células - dendríticas descritas por Steinman y Cohn presentes en el- bazo, nódulos linfáticos y placas de peyer(2).

Las células reticulointerdigitadas presentan los grá- nulos característicos de las CL manifestándose como una - pequeña subpoblación de macrófagos; además el resto de las células dendríticas ya mencionadas, presentan algunas simi- litudes con las CL que las relacionan estrechamente(2).

Con respecto a la situación de las células de Langer- hans; se encuentran principalmente en los epitelios estra- tificados queratinizados como la piel y apéndices cutá- - neos; también se han observado en ciertos epitelios muco-- sos como el de la cavidad oral, vaginal, ervix y esófago. En menor número se han encontrado en la dermis, nódulos -- linfáticos, vasos linfáticos que drenan la piel y timo(2,4 9,10,11).

La mayor parte de las CL se encuentran en la der-- mis constituyendo aproximadamente del 2 al 4% del total de la población de las células epidérmicas. El número de las-

células de Langerhans es variable de una especie a otra y de una región anatómica a otra. En el ratón la piel de la cola presenta menos CL que la piel del abdomen; en los mamíferos la superficie central del epitelio corneal no presenta CL(4,9,12). El hombre adulto posee una área de superficie promedio de 2 m^2 con aproximadamente 500 CL/mm^2 , siendo alrededor de 2×10^9 células sólo en la piel (13).

Las CL pueden ser visualizadas al microscopio de luz por medio de técnicas de histoquímica enzimática específicas de las cuales la más utilizada es la demostración de la ATPasa, apareciendo como células dendríticas grandes en posición basal y suprabasal de la epidermis, extendiendo sus procesos dendríticos en forma tridimensional entre los queratinocitos para tener mayor contacto físico con ellas(2, 4, 13, 14, 15).

También se pueden identificar por medio de la detección de antígenos de histocompatibilidad mayor (HCM) los cuales son Ia para ratones y HLA-DR para humanos(4, 6, 7, 8, 9).

Las CL y CDI son las únicas de la epidermis que expresan en su superficie el antígeno Ia ó su equivalente, dado por los genes de la región I de los complejos de histocompatibilidad mayor (2, 3, 4, 11, 13, 16, 17, 18, 19); además de presentar receptores Fc y C₃(9, 20, 21).

Ultimamente se ha descubierto que las CL epidérmicas son las únicas células dendríticas de la piel que expresan en su superficie el antígeno T6(6, 22). Existe otro antígeno

no que las identifica el cual fue descubierto recientemente: el antígeno S-100 éste había sido demostrado antes sólo en las células de Schwann pero ahora también se ha demostrado en las CL y melanocitos, así que para identificarla en la piel se tiene que utilizar la L-DOPA(4, 9).

A la ultraestructura las CL presentan una imagen de células activas metabólicamente. El cuerpo de la célula tiene la forma piramidal con un rango de 15 a 20 micras de longitud. El cuerpo proyecta procesos apicales largos dirigidos hacia la superficie de la piel. Esos procesos miden alrededor de 30 micras de longitud y terminan cerca del estrato granuloso. La ultraestructura muestra que el núcleo tiene fenestraciones muy escasas y es lobulado. El citoplasma presenta ribosomas libres, poco aparato de Golgi, retículo endoplásmico liso, retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias y cuerpos densos; además de centriólos y algunos lisosomas. Carecen de desmosomas y tonofilamentos. Presentan característicamente gránulos cuyo aspecto varía según el plano de sección. La imagen común al microscopio electrónico es que son semejantes a una vara con un extremo redondeado, con membrana limitante de aproximadamente 50 a 60 Å de espesor. Ese perfil con su vesícula presenta un centro claro y la superficie interna de la membrana está cubierta por un material finamente granulado(12,16,23,24,25).

Las CL representan el guardián más periférico del sistema inmune y su función es la de eslabón entre el medio ambiente extracutáneo y el organismo (4,9). La función princi

-pal de las CL es la presentación de antígenos a los linfocitos T, siendo éste el brazo aferente de la respuesta inmune; además están relacionadas con el factor activador timosínico, producido por las células epidérmicas que tiene una función parecida a la interleucina aumentando la respuesta de las células T. Las CL llevan antígenos de la piel a los nódulos linfáticos que drenan la región donde están las células inmunológicamente relevantes para el antígeno (3,9, -16). Las CL son indispensables para la hipersensibilización de contacto, ya que sin ellas no se logra una sensibilización posterior (16). La radiación ultravioleta (RUV) causa disminución de la función por efecto directo sobre las mismas -- (26) ó por alteración en la expresión del antígeno Ia requerido para la presentación del antígeno en las CL, pero no altera la viabilidad de las células epidérmicas. La RUV también altera el factor activador timosínico (además de las -- CL), el cual aumenta la magnitud de la respuesta inmune (9, 16). La relación funcional entre las células dendríticas determinadas y las CL es desconocida hasta la fecha, pero hay algunos investigadores que sugieren una relación común (si no es que son originadas por la misma población celular), pues ambas son ATPasa positivos, Ia positivos; sin embargo los receptores Fc sólo son positivos en la CL. Además las CDI no poseen los gránulos característicos de las CL (descubiertos por Birbeck en 1961) (4, 19).

En fotografías de microscopía electrónica se ha observado que hay mitosis en las CL, lo cual indica que tienen -

la capacidad de proliferar; ésto se comprobó al ver que incorporan Timidina Triteriada indicando que existe fase S de la interfase (2,5,9).

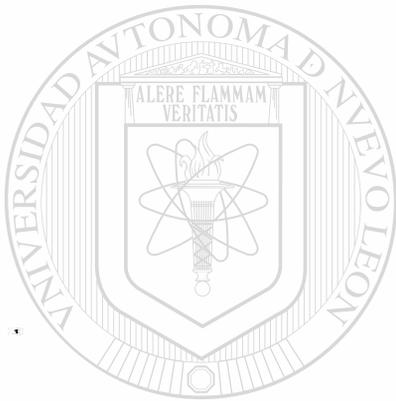
En base a ésto, se dice que esta población celular es automantenida por mitosis y migración celular (10,23). La migración de las células a la epidermis no es controlada -- por los complejos de HCM y son capaces de cruzar ciertas barreras. Sin embargo los factores que regulan su migración -- son hasta ahora desconocidos aunque se cree que puede estar controlada a 3 niveles:

- 1) Según el grado de histocompatibilidad entre las CL y la epidermis que lo rodea.
- 2) La existencia de alguna barrera funcional a nivel de la línea endotelial.
- 3) La carencia de algún factor quimiotáctico adecuado que controle la migración selectiva de las CL(18).

En el presente estudio se busca determinar por medio de técnicas histoquímicas específicas, el tiempo de llegada de la CL a la epidermis, efectuando el estudio en una cepa de ratones albinos (Mus Musculus cepa C-DI) para observar si hay influencia del medio ambiente externo en su llegada.

Objetivos: Aplicar las técnicas de histoquímica enzimática para demostrar ATPasa y Fosfatasa Alcalina, a la Epidermis del ratón albino de la cepa C-DI de recién nacidos y de estados gestacionales más tempranos, hasta que estas técnicas permitan detectar las células de Langerhans.

Hipótesis: Si las CL participan en la presentación de antígenos del medio ambiente al sistema inmunológico, migrando de la médula ósea; entonces es posible que aparezcan en la piel hasta el nacimiento, una vez que existan estímulos del medio ambiente que actuarían induciendo su migración.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MATERIAL Y METODOS:

Para el presente estudio se obtuvo la piel de 66 ratones albinos (*Mus Musculus*) cepa C-DI de diferentes edades; desde recién nacidos y así en forma retrospectiva hasta el décimo día de gestación (duración de la gestación 18 ± 1 día). No se continuó con edades más tempranas debido a dificultades técnicas. Además se incluyeron muestras de piel de animales adultos.

El experimento se repitió 3 veces para cada edad.

Los animales fueron separados en 2 grupos:

Grupo I.- Se tomaron muestras de 3 ratones albinos adultos para identificar las CL.

Grupo II.- Se utilizaron 3 muestras para cada edad mencionada y por cada método de demostración enzimática.

Metodología de la disección y obtención de la muestra

de las diferentes edades:

I.- Para ratones adultos:

a) Se obtuvo la hembra embarazada.

b) Habiéndose afeitado y después depilado perfectamente el animal, y después de lavarla 2 veces con etanol al 95%, se le sacrificó.

c) Se tomó la muestra de piel adulta de la región abdominal.

II.- Para fetos de ratones:

a) Se obtuvieron fetos de ratón y se pesaron.

b) Se sacrificaron los fetos y se tomó la piel de todo el cuerpo.

III.- Para fetos y adultos:

Se separó la epidermis de la dermis por medio de una solución de EDTA 20 Mm en amortiguador de fosfatos salinos a pH de 7.4; se incubó a 37°C por 2 horas según la técnica descrita por Mackenzie y S. Quier (27,28).

IV.- Ya incubada la pieza de piel se pasó a un amortiguador de trismaleato 0.2M a pH 7.3 y se procedió la separación de la epidermis tanto adulta como fetal, de la dermis.

V.- Una vez obtenida la epidermis se separó en 2 grupos: - para cada uno de los métodos enzimáticos utilizados - y luego cada grupo se subdividió en 2 sub-grupos más: 1) Epidermis control incubada sin sustrato y 2) Epidermis problema en medio completo.

Para cada técnica enzimática se utilizó intestino y piel de ratones adultos como muestra testigo de control de positividad.

Las técnicas empleadas fueron: para la demostración de la ATPasa según Mackenzie y S. Quier (27) y Fosfatasa Alcalina modificada de Gomori-Takamatsu(15).

Técnica de ATPasa:

Modificada de Mackenzie y S. Quier (1974).

- 1.- Enjuagar en 3 cambios de amortiguador frío de trismaleato 0.2M con 6.84% de sacarosa pH 7.3 por 20 minutos.
- 2.- Fijar en solución fría a 4°C en formol amortiguado con cacodilatos por 20 minutos.
- 3.- Reenjuagar en 3 cambios de amortiguador frío trismaleatos por 30 minutos

- 4.- Incubar a 37⁰C por 5, 10 y 15 minutos en substrato que contenga:
 - a) 10 mg de ATP(sigma).
 - b) 5 mg de MgSO₄ al 5%
 - c) 3 ml de PbNO₃ al 2%
 - d) 42 ml de amortiguador tris-maleato con - - 8.55% de sacarosa a pH 7.3
- 5.- Enjuagar en amortiguador y tratar con sulfuro de amonio para lavar.
- 6.- Montar en glicerol-gelatina.

Técnica de Fosfatasa Alcalina:

Modificada de Gomori-Takamatsu(1973).

- 1.- Incubar por 1 a 2 horas a 37⁰C en un medio que contenga:
 - a) Barbiturato de sodio al 2%---10 ml.
 - b) Beta glicerofosfato de sodio al 3%---10 ml.
 - c) Cloruro de calcio al 2%---10 ml.
 - d) Sulfato de magnesio al 5%---1 ml
 - e) Agua destilada --- 5 ml.

El pH de este medio debe de ser de 9.4
- 2.- Lavar en agua destilada por 5 minutos.
- 3.- Inmersión en nitrato de cobalto al 2% por 10 minutos.
- 4.- Enjuagar en agua destilada.
- 5.- Una inmersión en sulfuro de amonio al 5%.
- 6.- Enjuagar en agua destilada.
- 7.- Montar en medio de Berleses.

Terminado el proceso se revisaron las laminillas y-- se fotografiaron las áreas representativas con fotomicroscopio Carl Zeiss. Se contó el número de células por campo a 16 X.

RESULTADOS:

Las CL fueron identificadas por los 2 métodos empleados: Demostración de ATPasa y Fosfatasa Alcalina; las cuales colorearon de pardo oscuro a las células positivas de las preparaciones procesadas.

Las preparaciones epidérmicas separadas de la dermis de los ratones albinos estudiados fueron de diferentes edades de gestación.

Las preparaciones epidérmicas adultas(fig.1) fueron utilizadas como base de comparación morfológica con respecto a las epidermis más inmaduras obtenidas de las diferentes etapas. Las epidermis adultas muestran CL cuyo cuerpo presenta forma irregular teñido de color pardo oscuro con sus bordes muy bien delimitados y en su centro presenta una zona clara muy contorneada que representa al núcleo. Del cuerpo se emiten prolongaciones dendríticas gruesas, las cuales se van adelgazando y tornándose menos aparentes conforme se alejan. Las células regularmente distribuidas cuyos procesos dendríticos, se extienden tridimensionalmente entre los queratinocitos que son negativos, al parecer estableciendo contacto físico con ellas, dando a la preparación el aspecto como de mosaico. Se observa que cada célula cubre una área mediante sus terminaciones dendríticas. (fig. 2).

Al revisar la morfología de la CL en cada una de las preparaciones epidérmicas de las diferentes edades gestacionales y compararlas con la epidermis adulta se pudieron no-

-tar cambios morfológicos al ir disminuyendo la edad gestacional de los fetos de ratones albinos.

Las preparaciones epidérmicas del recién nacido y las de 18 días, ya presentan similitud con las células de Lan--gerhans de preparaciones epidérmicas de adulto, sólo que --sus prolongaciones se ven más adelgazadas y menos teñidas - (fig. 3).

A los 17 días las células parecen cambiar de morfología, pues su cuerpo y prolongaciones ya no muestran la reacción positiva color pardo oscuro y homogénea que presentan las células en las epidermis más maduras. En esta edad su cuerpo y prolongaciones aparecen en los sitios de reacción positiva más granulosa que homogénea y sus límites ya no --son tan precisos como en las edades más tardías; por el con--trario sus límites son más precisos que en epidermis de edades más tempranas (fig.4).

En la epidermis de 16 días la forma celular es redondeada y sus prolongaciones se acortan (fig.5), pues ya no --rodean completamente a los queratinocitos, a partir de esta fecha ya no es posible observar el patrón regular como de --mosaico, y se advierten de manera más irregular (fig.6).

En la epidermis de los 15 a los 10 días las CL se ven con una reacción pardo granular y difusa con límites imprecisos y prolongaciones escasas y muy cortas. La forma celular es redonda (fig. 7, 8, 9, 10).

Sólo de obtuvieron epidermis hasta de 10 días de gestación, pues los procedimientos técnicos empleados impidie-

-ron procesar epidermis más inmaduras, dada la pequeñez de los embriones.

La cantidad de las CL por campo (160X) en las preparaciones adultas se mantuvo constante. En esta misma cantidad se presentaron en las epidermis de recién nacido, 18 y de 17 días, pero fueron aumentando en número por campo, conforme disminuían de edad gestacional. Esto se explica por la razón de que en edades tardías de la gestación (recién nacido, 18, 17 días) y adulto se les tomó la muestra de la región abdominal y de edades más tempranas (16 a 10 días) se tomó la epidermis de todo su cuerpo.

La tabla No. 1 señala la cuantificación por campo de cada una de las edades gestacionales procesadas.

En cuanto a las preparaciones control procesadas en cada muestra se encontró negatividad (fig. 8).

Los testigos procesados fueron cortes de intestino para ambos métodos enzimáticos, los cuales resultaron positivos para la reacción. En dichas laminillas se pudo observar con toda claridad la mucosa intestinal en la cual había una tinción pardo obscura por todo el borde apical del epitelio -- (en el borde estriado), y por el borde basal de cada una de las células epiteliales (fig. 9).

DISCUSION Y CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos en el presente trabajo gracias a las técnicas histoquímico enzimáticas para demostrar la actividad de ATPasa y Fosfatasa Alcalina en las CL indicaron que se encuentran presentes desde edades muy tempranas en la gestación en las epidermis de los ratones utilizados, con lo cual la hipótesis que se planteó al inicio de este trabajo es refutada.

Estos resultados fueron apoyados por el alto grado de confiabilidad del método realizado (utilizado por muchos autores para demostrar las mismas células) (11,13,15,27) con los cuales las células tomaron una coloración pardo oscuro permitiendo identificar perfectamente su morfología y distribución, ya que tanto el cuerpo como sus prolongaciones presentan enzimas hidrolíticas en abundancia, pues son células metabólicamente muy activas; las enzimas componentes de sus membranas participan en el control del transporte transmembranal (situación importante para la interacción de la célula y su medio).

Conociendo de antemano que las CDI y las CL son demostrables con este método (4,9) y que la única forma de diferenciarlas es por métodos ultraestructurales (las CDI no presentan los gránulos en forma de raqueta de tenis) ó por el método inmunocitoquímico por medio del Anti-T6 (22,29);- para el presente trabajo ésto no es relevante, pues el objetivo fué determinar el tiempo de aparición de las células de Langerhans en la epidermis del ratón albino, como estas-

células derivan de la médula ósea y además tienen en su mayoría las mismas características morfológicas e inmunológicas, por lo tanto se dice que una de ellas (CDI) precede a las CL (4,29).

Con los métodos histoquímicos realizados fué posible identificar la presencia de las CL en la epidermis a diferentes edades gestacionales, llegando sólo hasta el 10o. día, ya que la inmadurez de los tejidos y la pequeñez de los embriones, no permitió seguir procesando las piezas de menor edad, sin embargo, con estos datos se pudo demostrar que las células están presentes en la piel ya para el 10o. día de gestación y que la morfología va cambiando desde edades gestacionales más tempranas hasta que llega al nacimiento. Pues de ser una célula irregular y dendrítica en las pieles maduras (adultas) y edades tardías de gestación, cambia a una forma redondeada y con prolongaciones escasas y romas en etapas inmaduras ó tempranas de la gestación. ®

Con estos resultados y sabiendo que las CL son un importante eslabón entre el medio ambiente y el sistema inmunológico, que migran de la médula ósea para situarse estratégicamente en los epitelios de cubierta y revestimiento - estratificados (epidermis y epitelios mucosos) como lo hace el resto de la serie monocítica a los diversos tejidos (4,6 7,8,9). Se plantea una nueva hipótesis en que las CL (que participan en la presentación de Ag del medio ambiente a los linfocitos T) migran de la médula ósea y llegan a la piel en la época de la embriogénesis temprana, tal vez cuan

--do se forma el sistema hematopoyético, independiente de-- que existan estímulos del medio ambiente externo, llegando a su destino en forma inmadura completando su diferencia- -ción cuando llegan a la epidermis. Con este planteamiento - en base a los resultados obtenidos, propongo un trabajo en el cual se efectúe una nueva metodología que permita seguir procesando a los embriones (de menos de 10 días) de ratón - albino hasta encontrar negatividad a dichas células en la - superficie embrionaria.

Con todo ésto, sólo comprobaríamos la presencia de -- las células y no su funcionalidad. Para saber si estas célu las están funcionando como las de la piel adulta, se ten- -dría que hacer un estudio utilizando marcadores inmunológi- cos y ver si las células son positivas hasta edades tan tem- pranas como de 10 días de gestación en el ratón albino; si- llegaron a resultar positivas indicaría que su núcleo ya em- pezó a codificar las proteínas integrales de la membrana ce- lular características de los Ag de histocompatibilidad ma-- yor.

Con base a los estudios realizados en este trabajo y- gracias a los conocimientos que se tienen sobre las CL a la fecha, se propone que las CL presentan positividad en sus - membranas con los marcadores inmunológicos sólo hasta que - ya está: bien diferenciada y comprometida (ya es reconocida como una célula irregular y dendrítica) que podría ser en- ratón albino entre los 18 y 19 días de gestación.

RESUMEN:-

En el presente trabajo se propuso que las CL aparecen en la piel al nacimiento estimuladas por Ag del medio ambiente.

Las CL fueron identificadas al M/O en preparaciones epidérmicas de ratones albinos (Mus Musculus) cepa C-DI de diferentes edades desde adultos, recién nacidos y así en forma retrospectiva hasta el 10o. día de gestación por medio de la actividad de la ATPasa y Fosfatasa Alcalina; utilizando previo a la técnica EDTA como un medio para poder separar las epidermis de la dermis.

Con estas técnicas se pudo demostrar su presencia en todas las epidermis estudiadas de las diferentes edades además de cambios morfológicos; notándose que el aspecto cambiaba de ser una célula irregular y dendrítica en pieles adultas a células de forma más redondeada con prolongaciones difíciles de precisar, escasas y muy cortas en etapas más tempranas.

Con todo ésto, se pudo concluir que ya en las epidermis de 10 días de gestación en el ratón albino se encuentran presentes las CL, por lo cual se comprueba que no hay influencia del medio ambiente en su llegada.

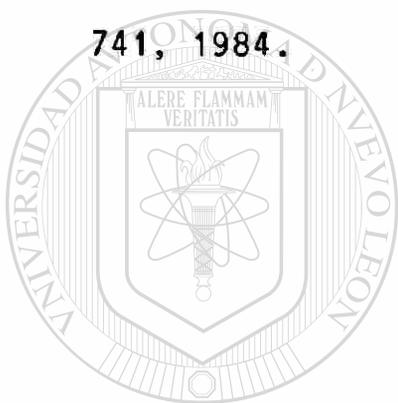
BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Ebling, F.J.: Homage To Paul Langerhans. J Invest, Dermatol, 75:3-5, 1980.
- 2.- Thorbecke J.G., Silberberg-Sinakin I. and Flotee T.J.:-- Langerhans Cells as Macrophages in Skin and Lymphoid.-- Organs. J Invest Dermatol 75:32-43, 1980.
- 3.- Frelinger J.A. and Frelinger J.G.: Bone Marrow Origin - of Ia Molecules Purified from Epidermal Cells. J Invest Dermatol 75:68-70, 1980.
- 4.- Holliday G.H. and Muller H.K.: The Role of the Langer-- hans Cell in Local Defence. Forum IRCS Med Sci 12:567-- 569, 1984.
- 5.- Tamaki, K. and Katz, S.I.: Ontogeny of Langerhans Cells.- J Invest Dermatol 75:12-13, 1980.
- 6.- Hunter J.A.A., Fairley D.J., Priestley G.C. and Cubie H A.: Langerhans Cells in the Epidermis of Athymic Mice.- British J Dermatol 94:119-112, 1976.
- 7.- Frelinger J.G., Hood L., Hill S. and Frelinger J.A.: -- Mouse Epidermal Ia Molecules Have a Bone Marrow Origin. Nature 282:321-323, 1979.
- 8.- Katz S.I., Tamaki K. and Sachs D.H.: Epidermal Langer-- hans Cells are Derived From Cell Originating in Bone - Marrow Nature 282:324-326, 1979.
- 9.- Wolf K. and Stingl G.: The Langerhans Cell. J Invest -- Dermatol 80:17-21, 1983.
- 10.- Fitzpatrick T.B., Elisen A.Z., Wolff K., Freedberg I.M.- and Austen K.F.: Dermatology In General Medicine; Struc

- ture and Development of Skin (Breathnach A.S. and Wolf K.) Ed. Mc Graw-Hill Book Company. 2a Ed:41-68, 1979.
- 11.-Steinmar M. Ral, Witmer, Nussenzweig, Chan L.L., Schlesinger S. and Cohn Z.A.: Dendritic Cell of the Mouse: Identification and Characterization. J Invest Dermatol 75:14-16,1980.
- 12.-Lever W.F. and Schavmburg Lever G.: Histopathology of the Skin; Dendritic Cell of the Epidermis. ED. J.B. Lippincott Company. 5a Ed: 9-45,1975.
- 13.-Rowden G., MRC.: Expression of Ia Antigens on Langerhans Cells in Mice, Guinea Pigs and Man. J Invest Dermatol 75:22-31,1980.
- 14.-Rook A., Wilkinson D.S. and Ebling F.J.G.: Textbook of Dermatology; The Normal Skin (Ebling F.J.G.), Ed Blackwell Scientific Publications. 3er ED: 5-30,1979.
- 15.-Khalil H.M., Nitiuthai S., and Allen J.R.: Alkaline Phosphatase positive Langerhans Cell in the Epidermis of Cattle J Invest Dermatol 79:47-51,1982.
- 16.-Toews G.B., Bergstresser R.P. and Streilein W.J.: Langerhans Cell: Sentinels of Skin Associated Lymphoid Tissue. J Invest Dermatol 75:78-82,1980.
- 17.-Tsuchida T., LLjima M., Fujiwara H., Pehamberger H., Shearer G.M. and Katz S.I.: Epidermal Langerhans Cells Can Function as Stimulatory Cells but not as Accessory Cells in CTL Induction, J. Immunol 132:1163-1168,1984.
- 18.-Krueger G.G., Daynes R.A. and Emam M.: Biology of Lan-

- gerhans Cell: Selective Migration of Langerhans Cells - into Allogenic and Xenogenic Grafts on Nude Mice, Cell-Biology. 80:1650-1654,1983.
- 19.-Haines K.A., Flotte T.J., Springer T.A., Gigli I. and Thorbecke G.J.: Staining of Langerhans Cells with Monoclonal Antibodies to Macrophages and Lymphoid Cells. Imunology 80:3448-3451,1983.
- 20.-Burke K. and Gilgi I.: Receptors for Complement on Langerhans Cells. J Invest Dermatol 75:46-51,1980.
- 21.-Green I., Stingl G., Shevach E. and Katz S.: Antigen -- Presentation and Allogeneic Stimulation by Langerhans - Cells. J Invest Dermatol 75:44-45, 1980.
- 22.-George F. Mrphy, M.D.: Cell Membrane Glycoproteins and - Langerhans Cells. Human Pathology 16:103-112,1985.
- 23.-Sagebiel R.W. and Reed T.H.: Serial Reconstruction of-- the Characteristic Granule of the Langerhans Cell. J - - Cell Biology 36:595-602,1968.
- 24.-Rodríguez E.M. and Caorsi I.: A Second Look at the Ul-- trastructure of the Langerhans Cell of the Human Epider- mis. J Ultrastructure Research 65:279-295,1978.
- 25.-Wolff K.: The Langerhans Cell. Curr. Probl. Derm. 4:79-145,1972.
- 26.-Noonan F.P., Bucana C., Sauder D.N. and De Fabo E.C.: - Mechanism of Systemic Immune Supression by UV Irradia-- tion in Vivo. J Immunol 132:2408-2416, 1984.
- 27.-Mackenzie I.C. and C.A. Squier: Cytochemical Identifica- tion of ATPasa positive Langerhans Cells in EDTA Sepa--

- red Sheets of Mouse Epidermis. British J Dermatol 92:--
523-533, 1975.
- 28.-Juhlin L. and Sheelley W.B.: New Staining Techniques --
for the Langerhans Cell. Acta Dermatovener 57:289-296,-
1977.
- 29.-Van Duinen S.G., Mauw B.J., Graaff-Reitsma C.B. and - -
Ruiter D.J.: Immunoelectron Microscopic Methods for De-
monstration of Antigens on Normal Human Melanocytes and
Other Epidermal Cells. Laboratory Investigation 50:733-
741, 1984.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Apéndice:

TABLA No. 1

No. de días de Gestación	No. de muestras		No. de CL. X campo (160X)
	ATPasa	F.A.	
Adulto	3	3	45
Recién nacido	3	3	50
18 días	3	3	60
17 días	3	3	60
16 días	3	3	80
15 días	3	3	135
14 días	3	3	150
13 días	3	3	130
12 días	3	3	110
11 días	3	3	98
10 días	3	3	100



Fig. No. 1.- Microfotografía que demuestra a las CL en la - epidermis de ratón albino. Nótese su cuerpo de forma irregular y sus bordes bien delimitados y su centro con una zona muy clara que representa al núcleo. ATPasa Positivo, 1000X.



Fig. No. 2 - Microfotografía que demuestra a las CL de la - epidermis del ratón albino adulto; las cuales se ven irregularmente distribuidas, se extienden tridimensionalmente entre los queratinocitos negativos. ATPasa Positivo, 160X.



Fig. No. 3 - Microfotografía que demuestra a las CL de ratón albino en epidermis de 18 días de gestación en la que se puede apreciar la gran similitud que presenta con las CL adultas. ATPasa Positiva, 1000X.

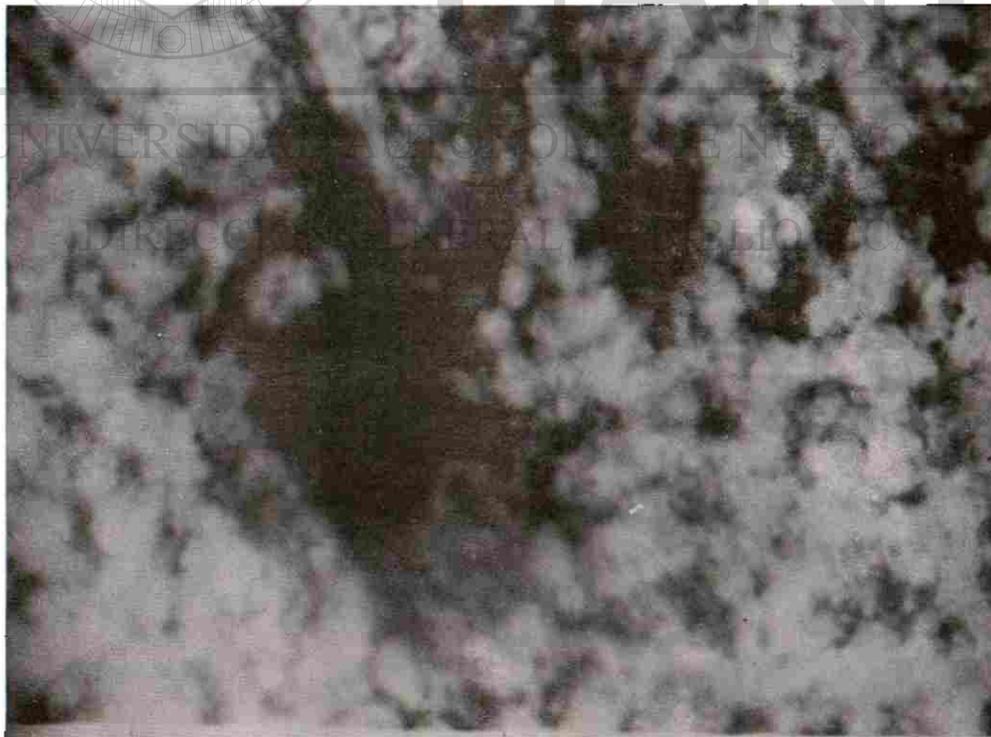


Fig. No. 4 - Microfotografía que demuestra CL de la epidermis de ratón albino de 17 días de gestación; se puede notar que su cuerpo y prolongaciones dan reacción positiva más granular y sus límites no son tan precisos. ATPasa Positiva 1000X.



Fig. No. 5 - Microfotografía que demuestra CL de epidermis de ratón albino de 16 días de gestación. Se puede observar que la forma celular es redonda con prolongaciones cortas. La reacción positiva se ve granular con bordes difusos. - ATPasa Positivo, 1000X.

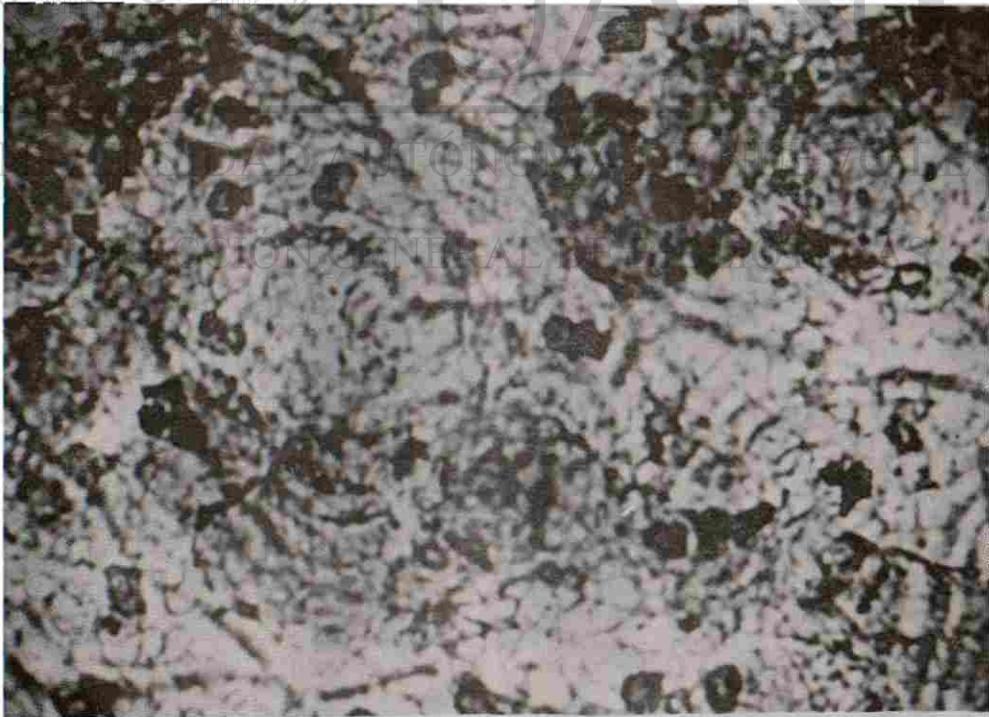


Fig. No. 6 - Microfotografía que demuestra CL de epidermis de 16 días de gestación de ratón albino; las cuales se ven más agrupadas y ya no rodean completamente a los queratinocitos negativos, por lo que no se ve al patrón de mosaico - característico de las pieles maduras. ATPasa Positivo, 320X.

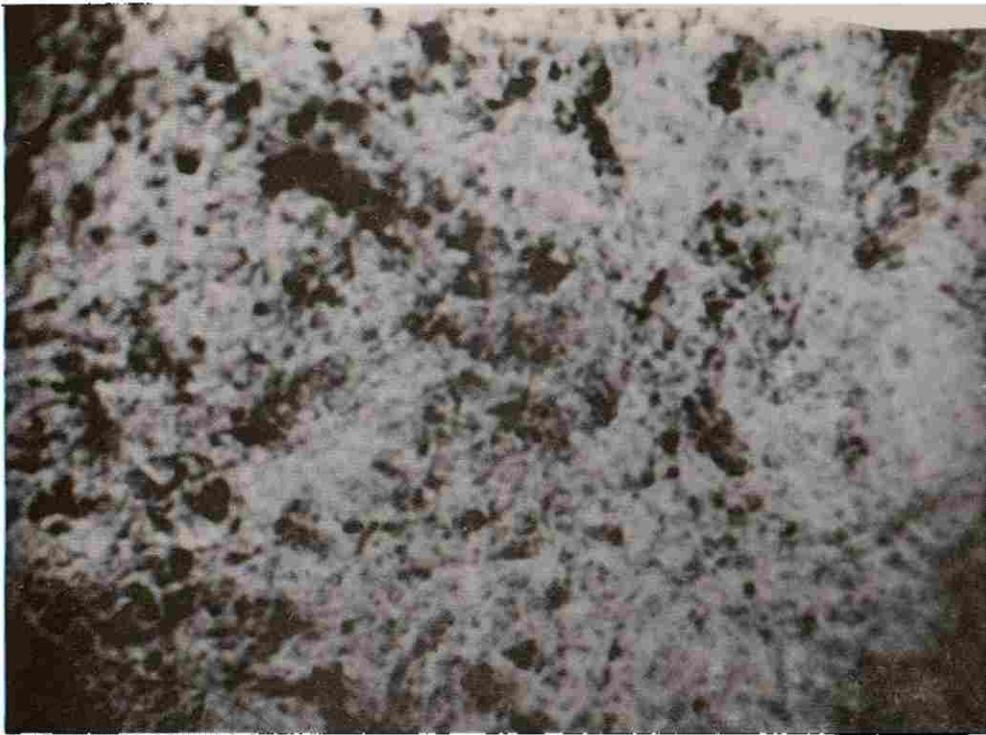


Fig. No. 7 - Microfotografía que demuestra CL de epidermis de ratón albino de 14 días de gestación, en la cual se puede observar el patrón de distribución es irregular, más abundantes y agrupadas y tampoco presentan el patrón de mosaico. ATPasa Positivo, 160X.

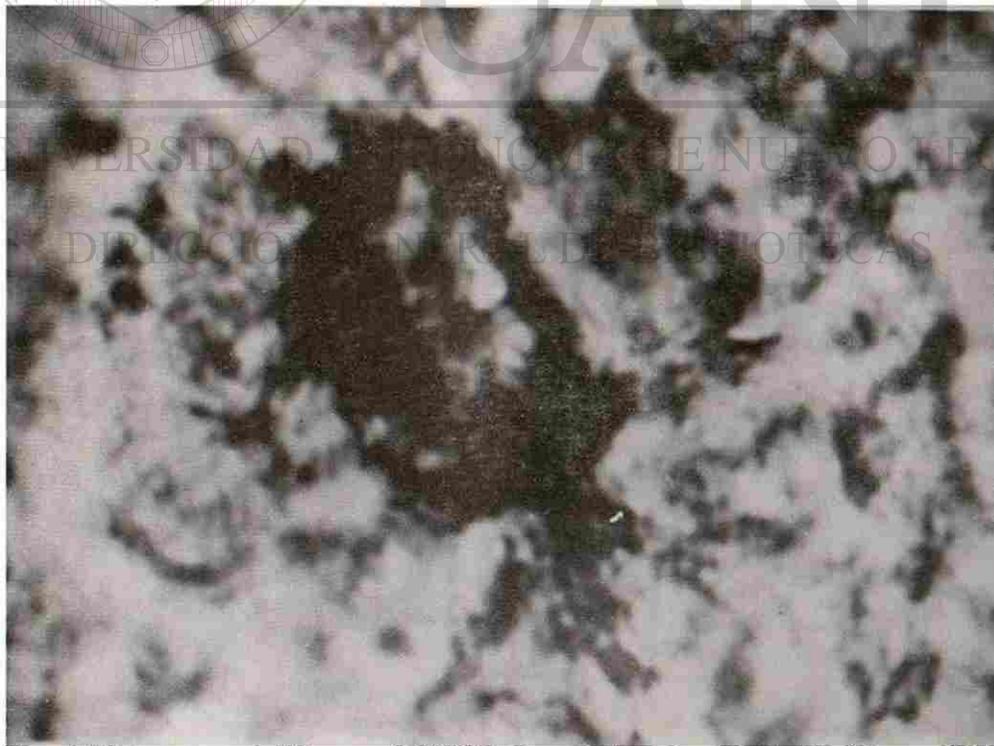


Fig. No. 8 - Microfotografía que demuestra a las CL epidérmicas de ratón albino de 12 días de gestación, en la que se puede apreciar la reacción pardo granular difusa con límites imprecisos, cuerpo celular redondeado u ovalado con prolongaciones escasas y romas. ATPasa Positivo, 1000X.

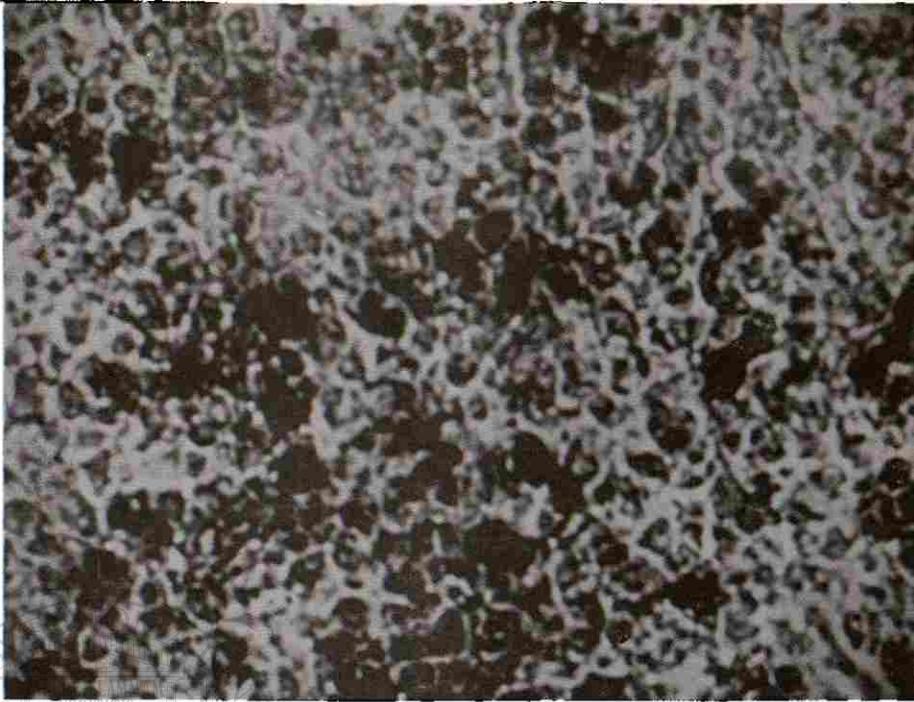


Fig. No. 9 - Microfotografía que demuestra CL de epidermis de ratón albino de 12 días que presenta las mismas características que la fig. 7 ATPasa Positivo, 320X.



Fig. No. 10 - Microfotografía que demuestra CL epidérmicas de ratón albino de 10 días de gestación, donde podemos apreciar las mismas características morfológicas de las fig. 7 y 9; pero un poquito más espaciadas entre los queratinocitos que se observan negativos pero más laxamente dispuestas. ATPasa Positivo, 160X.



Fig. No. 11 - Microfotografía que demuestra negatividad en epidermis de ratón albino. Muestra control en que se utilizó ATPasa y Fosfatasa Alcalina sin substrato. 160X.



Fig. No. 12 - Microfotografía que demuestra intestino de ratón albino con positividad en su epitelio tanto en su borde luminal como en su borde basal. Muestra utilizada como testigo de la técnica enzimática empleada (ATPasa y Fosfatasa Alcalina). 160X.

