

DR. HÉCTOR ABELARDO RODRÍGUEZ M.\*;  
DR. JORGE ALBRES SAAVEDRA\*;  
DR. MARIO MAGAÑA L.\*\*;  
MARILYN SMITH\*\*\*; y  
DR. WILLIAM FEDER\*

# CELULAS DE LANGERHANS EN EL ESTADIO TARDIO DEL MAL DEL PINTO

ESTUDIO CON MICROSCOPIO ELECTRÓNICO

**A**PESAR DE QUE EN NUESTRO medio el mal del pinto o carate ha sido estudiado con bastante amplitud por métodos clínicos, epidemiológicos, bacteriológicos e histológicos y se ha combatido con medidas terapéuticas eficaces, continúa siendo una enfermedad endémica en algunos estados de la República, especialmente Guerrero, Michoacán, Mo-

relos, Oaxaca, Tabasco y Chiapas. Es producido por el *Treponema carateum* (pintae o herrejoni). Aun cuando en el período tardío de la enfermedad se presentan graves trastornos en la pigmentación de la piel con aparición de manchas acrómicas e hiperacrómicas que pueden diseminarse a gran parte del cuerpo, su patogenia es desconocida. Por otro lado, hasta donde nosotros sabemos, no existe todavía ninguna descripción ultraestructural de las alteraciones que conducen a la acromia e hiperpigmentación cutánea. El propósito de este trabajo es el de presentar por vez primera las observaciones hechas con el microscopio electrónico en la piel de un paciente con mal del pinto tardío, así como proponer a esta enfermedad como un modelo ideal para el estudio de los mecanismos de la hipopigmentación.

\* De la Unidad de Patología, Facultad de Medicina, UNAM, y Hospital General de México, S.S.A., México 7, D. F.

\*\* Del Pabellón 11, Hospital General de México, S.S.A.

\*\*\* Del Departamento de Patología, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, E.U.A.

Petición de sobretiros a: Dr. Héctor A. Rodríguez M., Unidad de Patología, Hospital General, S.S.A., México 7, D. F.

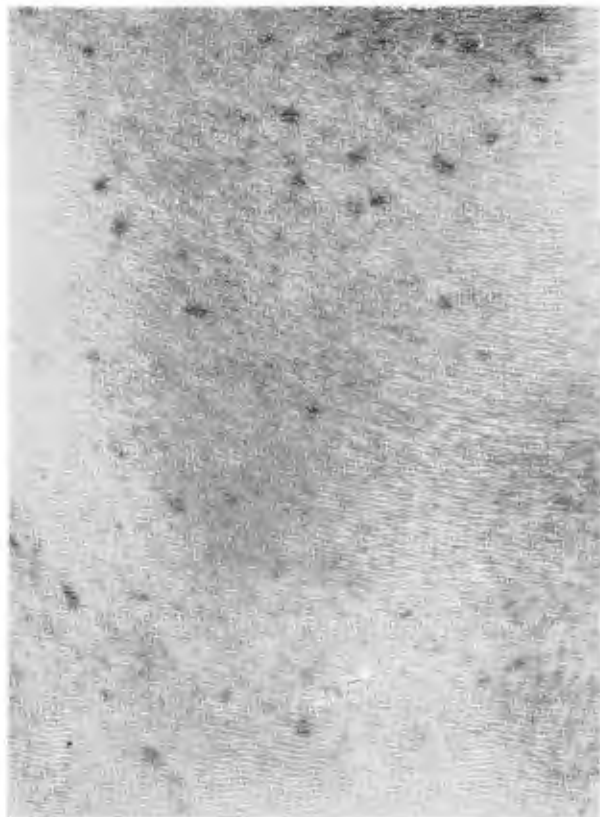


FIGURA 1. La piel exhibe numerosas manchas acrómicas que alternan con pequeñas zonas hiperpigmentadas semejantes a efélides.

#### MATERIAL Y MÉTODO

Se tomó biopsia de una pequeña lesión acrómica de mal del pinto tardío, situada en la piel de la pierna izquierda de una mujer de 26 años con V.D.R.L. positivo (Fig. 1). Múltiples bloques de tejido de 1 mm<sup>3</sup> fueron fijados durante 24 horas en glutaraldehído al 6%, y postfijados durante 2 horas en tetróxido de osmio al 2%. Ambos fijadores estaban amortiguados con bofer de fosfatos a un pH de 7.4. La deshidratación se efectuó por medio de concentraciones ascendentes de etanol y dos cambios de tolueno, y la inclusión se hizo en Araldita. Se hicieron cortes gruesos y delgados, con cuchillas de vidrio y de diamante en un ultramicrotomo Porter-

Blum. Los cortes gruesos se tiñeron con azul de toluidina, y los delgados con acetato de uranilo y citrato de plomo. Los cortes se examinaron con un microscopio electrónico RCA EMU-3F.

Numerosas células de Langerhans y melanocitos epidérmicos, de individuos caucásicos y negros, fueron previamente estudiados durante el desarrollo de una nueva técnica para la reacción de la DOPA<sup>19</sup>. Consecuentemente, se hicieron numerosas observaciones sobre el comportamiento de las células de Langerhans normales durante la reacción de la DOPA.

#### RESULTADOS

A fin de poder comparar fácilmente las características que exhibieron las células de Langerhans y los melanocitos epidérmicos en la piel normal y en la del mal del pinto, se discuten en primer lugar las observaciones hechas en la piel normal.

Tanto en individuos caucásicos como en negros, los melanocitos epidérmicos ocupaban una posición inmediatamente por encima de la membrana basal, a menudo haciendo ligera saliente por debajo de los queratinocitos vecinos. No se encontraron melanocitos por encima del estrato germinal de la epidermis. En cambio las células de Langerhans estaban situadas a diferentes niveles en el estrato espinoso, y sólo excepcionalmente se encontraron en la porción basal de la epidermis. En general el citoplasma de los melanocitos contenía premelanosomas, melancsomas y gránulos de melanina característicos, y las células de Langerhans presentaban sus gránulos típicos. No fue posible encontrar células que simultáneamente tuvieran ambos tipos de organitos, y sólo en ocasiones se observaron células de Langerhans con gránulos de melanina en su citoplasma. Aunque la reacción de la DOPA fue rutinariamente positiva en varios componentes de los melanocitos<sup>19</sup>, ésta nunca ocurrió en los gránulos de las células de Langerhans. Sólo después de incubaciones prolongadas las mitocondrias de las células de Langerhans exhibieron una débil reacción positiva.

Al observar panorámicamente la epidermis de la piel con mal del pinto, fue muy evidente el aumento en el número de las células de Langerhans, tanto en el estrato de Malpigio como en la capa basal. A pesar de que se hizo una prolongada e intencio-

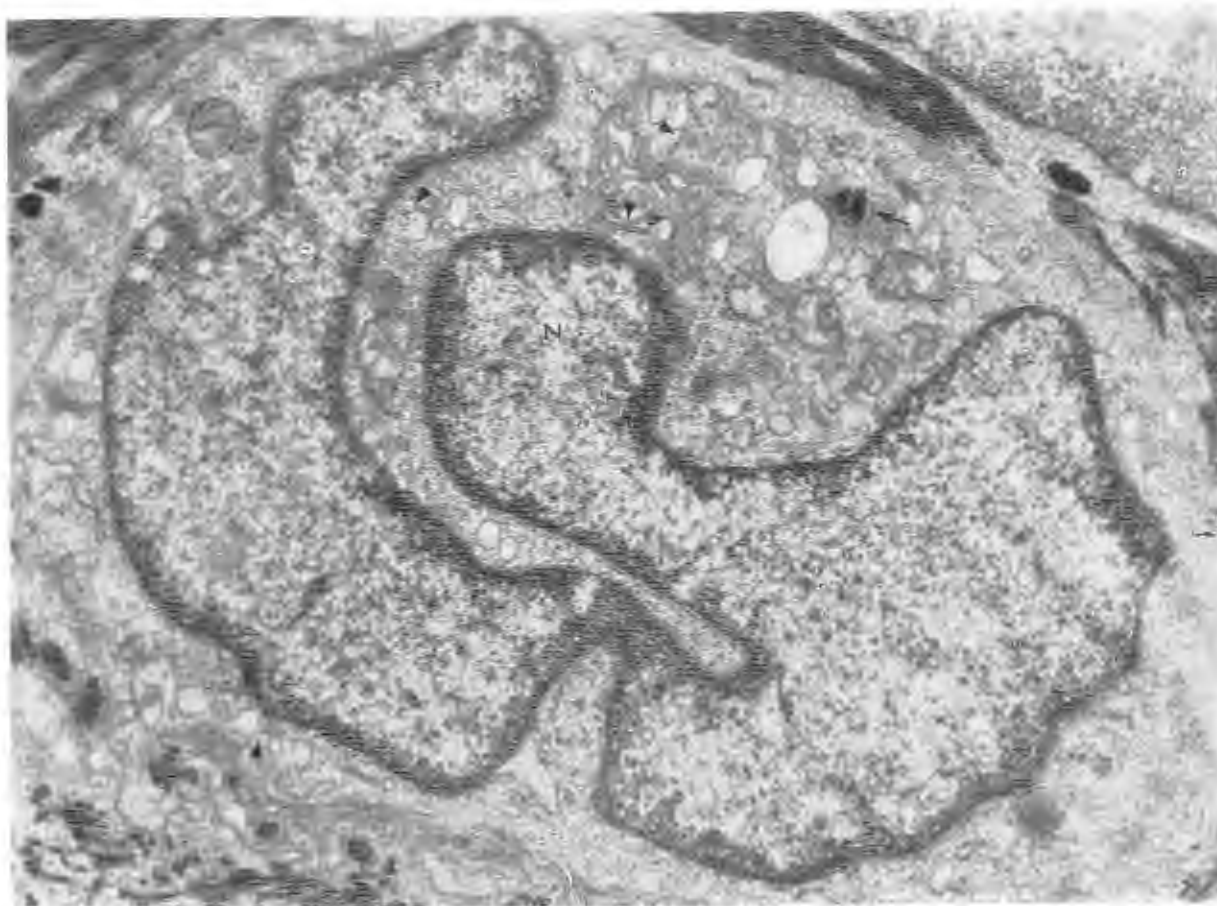


FIGURA 2. Célula de Langerhans con núcleo multilobulado (N), rodeado por citoplasma fibrilar rico en gránulos de Langerhans (triángulos). Dos gránulos de melanina están parcialmente rodeados por una membrana única (flecha). 16,550 X.

nada búsqueda de melanocitos, no fue posible identificarlos; dando la impresión, probablemente real, de que las células de Langerhans habían sustituido topográficamente a los melanocitos normales. Las células de Langerhans exhibían su característico núcleo con indentaciones (Figs. 2 y 4), rodeado por citoplasma finamente fibrilar de baja electrodensidad, moderadamente rico en mitocondrias pequeñas y alargadas, así como en retículo endoplásmico liso (Fig. 5). El aparato de Golgi era usualmente único y prominente (Figs. 2 y 4), y el retículo endoplásmico áspero y los ribosomas libres relativamente escasos (Fig. 3). El aspecto más característico de las células de Langerhans estuvo dado por un número variable de gránulos de Langerhans (Figs. 2, 4, 5 y 6), que tenían forma de bastoncitos con una línea o membrana reticular en el centro (Fig. 6).

A veces estaban los bastoncitos unidos por uno de sus extremos a una pequeña vesícula, semejando una raqueta de tenis (Figs. 5 y 6). En algunas células parecía como si los gránulos se originaran directamente de las vesículas del aparato de Golgi (Figs. 4, 5 y 6). Dichos gránulos presentaban una estructura y medidas idénticas a las de los gránulos de las células de Langerhans normales. En unas cuantas células de Langerhans se observaron gránulos de melanina, parcialmente rodeados por una membrana (Figs. 2 y 4). Sin embargo, no se encontraron células que presentaran al mismo tiempo gránulos de Langerhans y premelanosomas o melanosomas. Los queratinocitos eran normales, presentando muchos de ellos gránulos normales de melanina en su citoplasma (Figs. 4 y 7). No se identificaron treponemas.

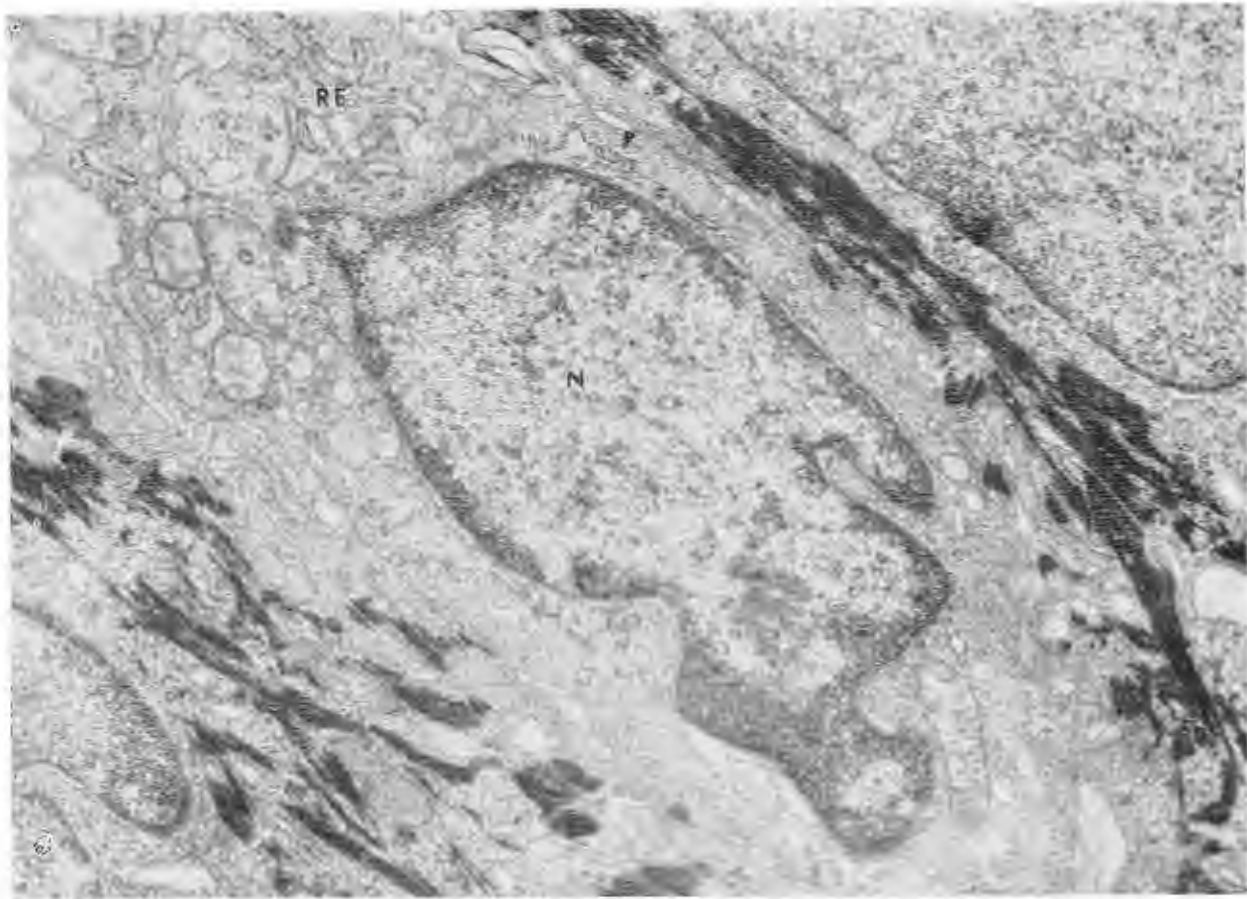


FIGURA 3. El citoplasma de esta célula de Langerhans presenta una moderada cantidad de ergastoplasma (RE) y un gránulo típico (triángulo), 18.600 X,

### DISCUSIÓN

Von Paul Langerhans describió en 1868 las células que ahora llevan su nombre. Normalmente se encuentran en el estrato espinoso de la epidermis, tienen forma dentrítica y se tiñen positivamente con cloruro de oro y colorantes del tipo del azul de metileno. Masson<sup>17</sup> pensó que estas células eran "melanoblastos acabados" que han perdido su capacidad para sintetizar melanina, y que por no ser funcionales se separan de la capa basal para ser transportados pasivamente hacia la superficie. De esta manera surgió una hipótesis, que a pesar de dos décadas de intenso trabajo no ha podido ser comprobada o descartada definitivamente.

Birbeck y Cols.<sup>3</sup> establecieron los criterios mor-

fológicos para la identificación ultraestructural de las células de Langerhans, lo que despertó especial interés en dichas células<sup>4,10,18,20,26,29</sup>. El interés se centró en el hallazgo de unos organitos citoplasmáticos, que se consideraron patognomónicos de estas células. Debido a que la forma más común de dichos organitos es la de un bastoncito unido por uno de sus extremos a una vesícula, inicialmente se les llamó "cuerpos en raqueta" y posteriormente "gránulos de Langerhans". La reconstrucción de estos gránulos<sup>20,26</sup> por medio de cortes seriados, ha mostrado que tienen forma de una copa o de un disco, o de una combinación de ambas formas. Además, con técnicas especiales<sup>10</sup> se ha demostrado que los gránulos son huecos, y aquéllos que están situados en la periferia tienen su luz comunicada con el espacio extracelular.

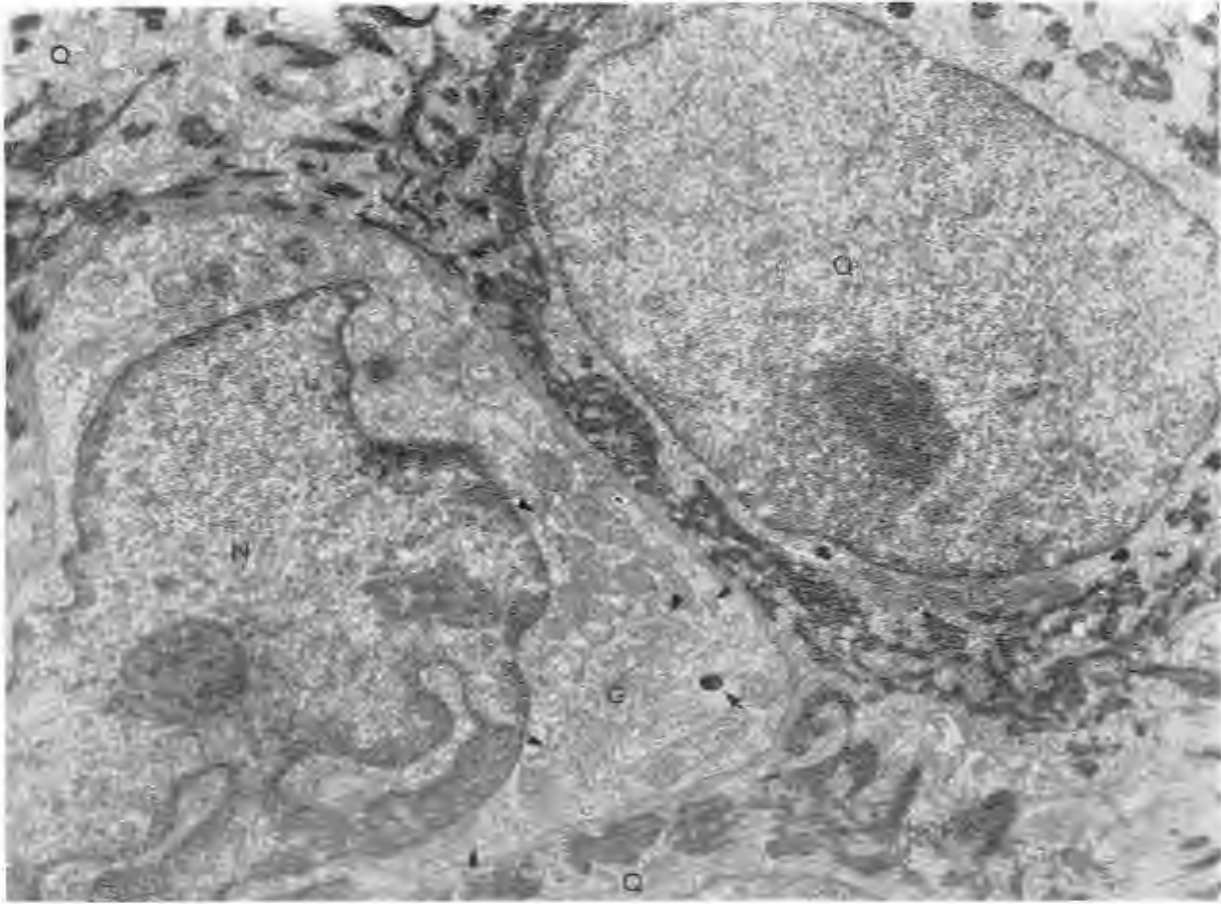


FIGURA 4. Tres queratinocitos normales (Q) rodean a unacélula de Langerhans con un aparato de Golgi (G) prominente, asociado a varios gránulos de Langerhans (triángulos). Un gránulo de melanina (flecha) se encuentra en la vecindad. 11,650 X.

La especificidad de los gránulos de Langerhans desapareció al demostrarse que las células de la histiocitosis X - granuloma eosinófilo<sup>1,2,10,16,24</sup>, enfermedad de Hand-Schüller-Christian<sup>16</sup> y enfermedad de Letterer-Siwe<sup>11,16,23</sup> - poseen también gránulos con una morfología idéntica a los de las células de Langerhans. Otras lesiones compuestas por histiocitos, como el xantogranuloma juvenil<sup>12</sup>, carecen de gránulos de Langerhans.

La microscopía electrónica y la histoquímica, lejos de comprobar que las células de Langerhans son realmente "melanocitos acabados", sirvieron para demostrar que estas células son capaces de división mitótica y de una alta actividad sintética<sup>29</sup>, pues son ricas en ATP-asa<sup>14</sup>, y en fosfatasa alcalina<sup>6</sup>. Además, se encontraron células de Langerhans en epi-

telios de mucosas humanas como el cérvix<sup>13,27</sup> y la mucosa gingival<sup>21</sup>, donde normalmente no existen melanocitos.

Todos los hechos anteriores aparentemente refutaban la idea de que pudiera haber algún parentesco entre las células de Langerhans y los melanocitos epidérmicos. Sin embargo, otras observaciones han aportado datos que tienden a relacionar estrechamente a estas dos células. Existen cuando menos cuatro enfermedades o anomalías que se caracterizan por acromia cutánea, en donde se ha demostrado ausencia de melanocitos epidérmicos basales y sustitución de los mismos por células de Langerhans. a) Vitiligo<sup>3,4,6</sup>, b) el área acrómica del nevo de halo<sup>25</sup>, c) el mechón blanco del albinismo parcial cutáneo humano o piebaldismo<sup>8</sup>, y d) la epi-

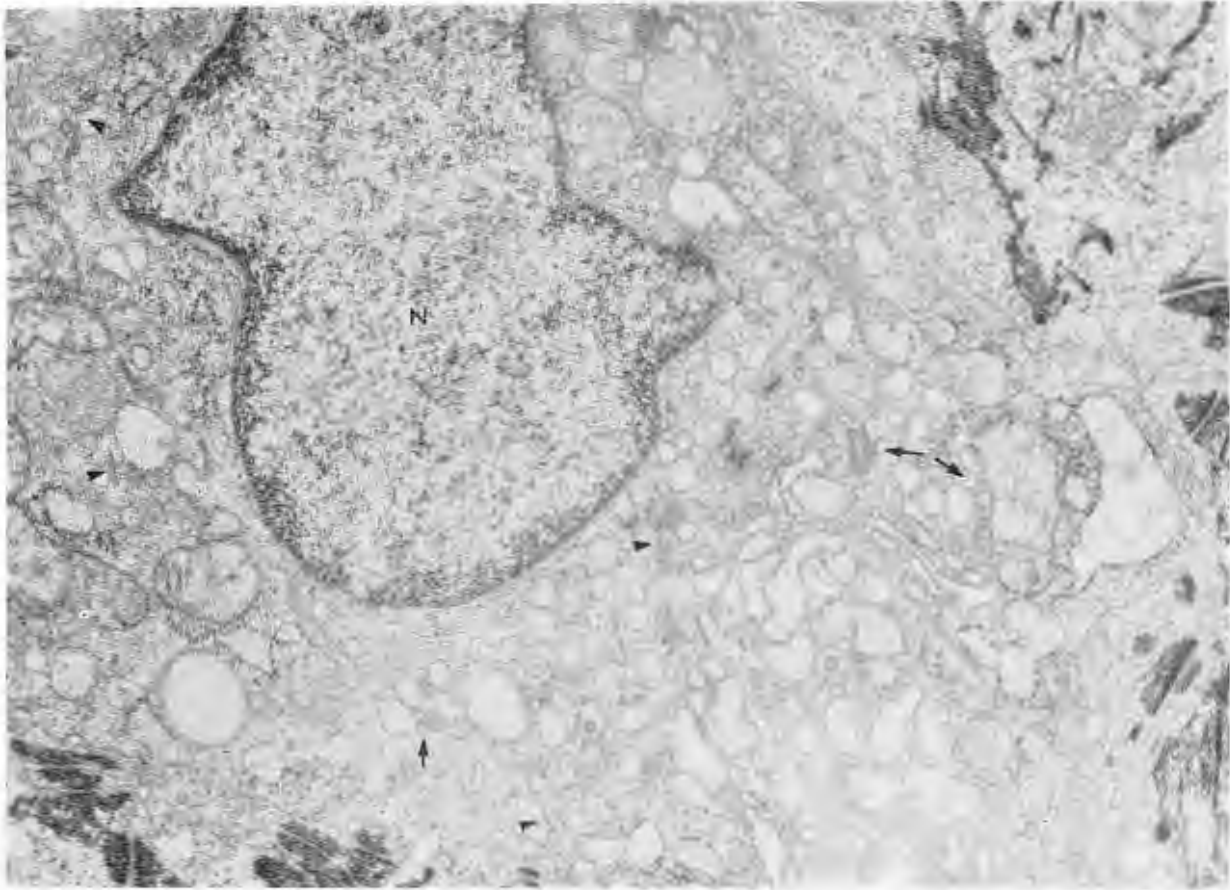


FIGURA 5. Numerosas vesículas y gránulos de Langerhans (triángulos) predominan en el citoplasma. Varios gránulos se encuentran íntimamente unidos a vesículas (flechas). 18,600 X.

dermis blanca de los cobayos pintos con áreas blancas y negras determinada genéticamente en forma recesiva. Es probable que esta constante sustitución de una célula por otra traduzca alguna relación entre melanocitos y células de Langerhans. Especialmente si se toma en cuenta que en las dos últimas entidades el fenómeno de acromia, y por ende de sustitución celular, se encuentra determinado genéticamente. Por otro lado, Zelickson<sup>28,29</sup> ha demostrado a nivel de la capa basal la existencia de células que poseen simultáneamente gránulos de Langerhans, premelanosomas y melanosomas. Sin embargo, otros investigadores no han podido repetir esta observación. Mishima<sup>18</sup> forzando la regeneración de la epidermis, mediante el desprendimiento de la capa de queratina, encontró 18 a 24 horas más tarde un número aumentado de células de Langer-

hans, algunas de las cuales poseían melanosomas dentro de vacuolas fagocíticas. Este hecho le sugirió que al provocar la regeneración celular se aceleraba la transformación de melanocitos en células de Langerhans, y que las últimas se veían obligadas a deshacerse de su melanina residual por medio de vacuolas autofágicas. Sin embargo, no se puede descartar que la melanina hubiese sido fagocitada, como lo sugirieron Breathnach y Willie<sup>9</sup>. Basándose en este último grupo de observaciones se han propuesto modificaciones a la hipótesis de Masson, siendo las más aceptables las de Breathnach<sup>4,6</sup> y Zelickson<sup>29</sup>. En ambas hipótesis se postula la existencia de una célula madre o melanoblasto, morfológicamente semejante al melanocito, que al reproducirse es capaz de dar origen a melanocitos y a células de Langerhans. Además en lugar de con-

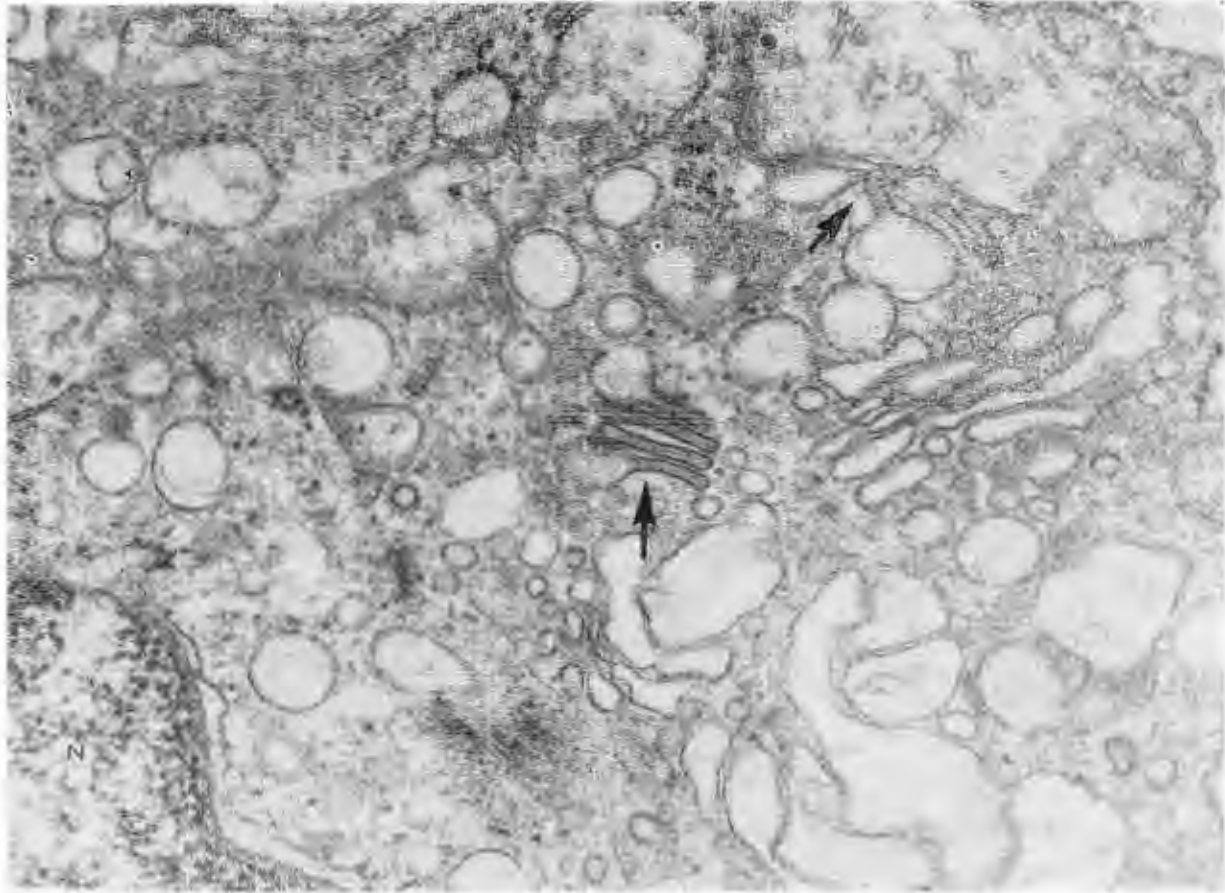


FIGURA 6. Detalle de la figura 5, para ilustrar la morfología característica del gránulo de Langerhans (flechas). 52,500 X.

siderar a la célula de Langerhans como una célula acabada, la reconocen como una célula que puede multiplicarse y probablemente cumplir una función.

Tomando en cuenta que el problema de la relación melanocito-célula de Langerhans está aún sin resolver, y que el mal del pinto es una enfermedad producida por un agente patógeno conocido, que se caracteriza por acromia e hiperpigmentación cutánea, se llevó a cabo el presente estudio. En las lesiones acrómicas las alteraciones principales consistieron en ausencia de melanocitos epidérmicos basales, sustitución de melanocitos por células de Langerhans, y aumento del número de células de Langerhans del estrato de Malpigio. Esta última alteración también ha sido descrita en vitiligo<sup>3,4,6</sup> y en el mechón blanco del albinismo parcial cutáneo hu-

mano<sup>8</sup>. A pesar de que se observaron gránulos de melanina dentro de lisosomas de las células de Langerhans (Figs. 2 y 4), no se pudo establecer si había ocurrido una transformación de los melanocitos en células de Langerhans. En las pieles normales que se usaron como controles también se observó este fenómeno, aunque con mucho menor frecuencia. Pero no fue posible determinar si la melanina había sido sintetizada previamente por las células portadoras, o si había sido fagocitada. Lo que puede afirmarse es que las células de Langerhans normales no tuvieron actividad de tirosinasa, pues usando una técnica exquisitamente sensible para la reacción de la DOPA<sup>10</sup>, ésta fue siempre negativa. Por desgracia en este estudio no fue posible hacer reacciones de la DOPA usando piel con mal del pinto tardío.

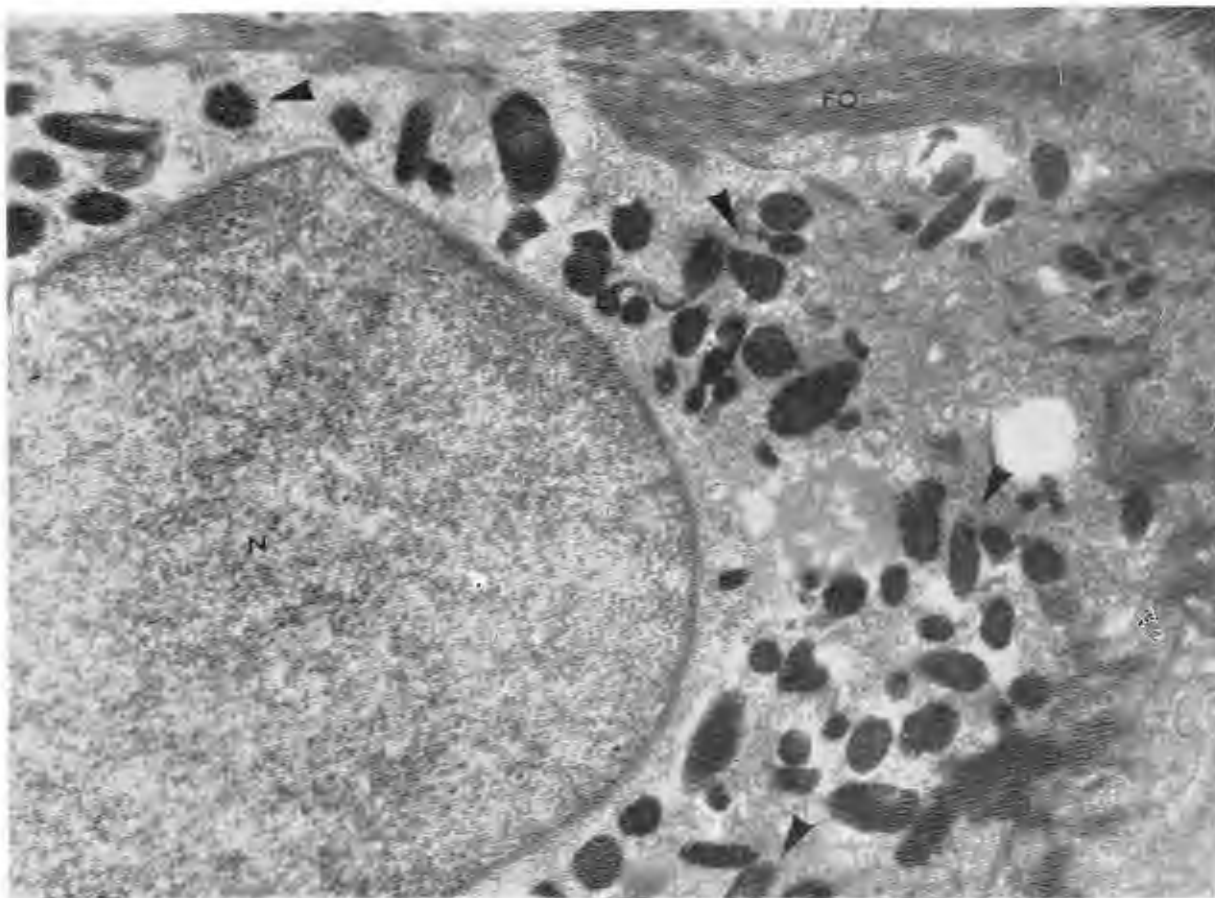


FIGURA 7. Porciones de un queratinocito con numerosos gránulos de melanina (puntas de flecha) y haces de queratina (FQ) en el citoplasma, 23,600 X.

Los resultados del presente estudio han demostrado que algunos cambios ultraestructurales del mal del pinto en su estadio tardío, son semejantes a los del vitiligo, enfermedad que hasta ahora ha sido utilizada como modelo para estudiar la relación melanocito-células de Langerhans<sup>3,4,6,9,20</sup>. Sin embargo, existen muchas probabilidades de que el mal del pinto pueda proporcionar más información que el vitiligo, ya que es una enfermedad de etiología conocida, que presenta varias etapas evolutivas, y que clínicamente exhibe zonas de acromia e hiperpigmentación cutánea. Por consiguiente, es deseable que se lleven a cabo estudios de piel con mal del pinto en todos los estadios clínicos de la enfermedad, para dilucidar definitivamente el origen de las células de Langerhans y su probable relación con los melanocitos epidérmicos.

#### RESUMEN

Se estudiaron con el microscopio electrónico las áreas acrómicas de la piel de una mujer de 26 años con mal del pinto tardío. Los principales hallazgos fueron: ausencia de melanocitos epidérmicos en el estrato basal, sustitución topográfica de los melanocitos basales por células de Langerhans, hiperplasia de estas células en el estrato de Malpigio, y gránulos de melanina dentro de lisosomas de las células de Langerhans. No se logró demostrar la transformación de melanocitos en células de Langerhans. Las tres primeras alteraciones han sido previamente descritas en otras cuatro enfermedades o anomalías, heredadas o adquiridas, que se caracterizan por acromia cutánea. Dichas enfermedades o anomalías han sido usadas hasta ahora como sistemas

modelo para estudiar la posible relación que existe entre las células de Langerhans y los melanocitos epidérmicos. Considerando que el problema de la relación melanocito-células de Langerhans está aún sin resolver, que la acromia e hiperpigmentación cutánea del mal del pinto son causadas por un agente patógeno conocido, así como los hallazgos del presente estudio, se propone a esta enfermedad como un sistema ideal para dilucidar el origen de las células de Langerhans y su probable relación con los melanocitos epidérmicos.

## SUMMARY

The achromic areas of the skin of a 26-year-old woman with late pinta were studied by electronmicroscopy. The principal findings can be summarized as follows: Absence of basal epidermal melanocytes,

topographical substitution of the basal melanocytes for Langerhans cells, hyperplasia of these cells in the malpighian stratum, and melanin granules within the lysosomes of Langerhans cells. The transformation of melanocytes to Langerhans cells could not be demonstrated. The first three alterations have been previously described in four other diseases, inherited or acquired, characterized by cutaneous achromia. These diseases have been used as model systems for the study of the possible relationship between the epidermal melanocytes and the Langerhans cell. Considering that the problem of this relationship is as yet unsolved, that the achromia and hyperpigmentation of pinta are caused by a known pathogenic organism, as well as the findings of this study, we propose this disease entity as an ideal system for dilucidating the origin of the Langerhans cell, as well as its possible relationship to the epidermal melanocyte.

## REFERENCIAS

1. BASSET, F., y TURIAT, M. J.: *Identificación par la microscopie électronique de particules de nature probablement virale dans les liaisons granulomateuses d'une histiocytose "X" pulmonaire*, C. R. Acad. Sci. 261:3701-3703, 1965.
2. BASSET, F., NEZELOV, CH. MALLET, R., y TURIAT, J.: *Nouvelle mise en évidence, par la microscopie électronique, de particules d'allure virale dans une seconde forme clinique de l'histiocytose X, le granulome éosinophile de l'os*, C. R. Acad. Sci. 261:5719-5721, 1965.
3. BIRBECK, M. S., BREATHNACH, A. S., y EVERALL, J. D.: *An Electron Microscope Study of Basal Melanocytes and High-Level Clear Cells (Langerhans Cells) in Vitiligo*, J. Invest. Derm. 37:51-64, 1961.
4. BREATHNACH, A. S.: *A New Concept of the Relation Between the Langerhans Cell and the Melanocyte*, J. Invest. Derm. 40:279-281, 1963.
5. BREATHNACH, A. S.: *Observations on Cytoplasmic Organelles in Langerhans Cells of Human Epidermis*, J. Anat. Lond. 98:265-270, 1964.
6. BREATHNACH, A. S.: *The Cell of Langerhans*, Int. Rev. Cytol. 18:1-28, 1965.
7. BREATHNACH, A. S., y GOODWIN, D. P.: *Electron Microscopy of Non-Keratinocytes in the Basal Layer of White Epidermis of the Recessively Spotted Guinea-Pig*, J. Anat. 99:377-387, 1965.
8. BREATHNACH, A. S., FITZPATRICK, T. B., y WILLIE, L. M.: *Electron Microscopy of Melanocytes in Human Piebaldism*, J. Invest. Derm. 45:28-37, 1965.
9. BREATHNACH, A. S., y WILLIE, L. M.: *Melanin in Langerhans Cells*, J. Invest. Derm. 45:401-403, 1965.
10. CANCELLA, P. A.: *Demonstration of the Langerhans Granule by Lanthanum*, J. Cell Biol. 38:248-252, 1968.
11. CANCELLA, P. A., LAHEY, M. E., y CARNES, W. H.: *Cutaneous Lesions of Letterer-Siwe Disease: Electron Microscopic Study*, Cancer 20:1986-1991, 1967.
12. GONZALEZ-CRUSSI, F., y CAMPBELL, R. J.: *Juvenile Xanthogranuloma Ultrastructural Study*, Arch. Path. 89:65-72, 1970.
13. HACKEMANN, M., GRUBB, CH., y HILL, K. R.: *The Ultrastructure of Normal Squamous Epithelium of the Human Cervix Uteri*, J. Ultrastruct. Res. 22:443-457, 1968.
14. KIISTALA, U., y MUSTAKALLIO, K. K.: *Electron-microscopic evidence of Synthetic Activity in Langerhans Cells of Human Epidermis*, Z. Zellforsch. 78:427-440, 1967.
15. LANGERHANS P.: *Ueber die Nerven der Menschlichen Haut*, Virchow Arch. Path. Anat. 44:325-337, 1868.
16. DE MAN, J. C.: *Rod-Like Tubular Structures in the*

- Cytoplasm of Histiocytes in "Histiocytosis X"*, J. Path. Bact. 95:123-126, 1968.
17. MASSON, P.: *My Conception of Cellular Nevi*, Cancer 4:9-38, 1951.
18. MISHIMA, Y.: *Melanosomes in Phagocytic Vacuoles in Langerhans Cells*, J. Cell Biol. 30:417-423, 1966.
19. RODRÍGUEZ, H. A. y MCGAVRAN, M. H.: *A Modified Dopa Reaction for the Diagnosis and Investigation of Pigment Cells*, Amer. J. Clin. Path. 52:219-227, 1969.
20. SAGEBIEL, R. W., y REED, T. H.: *Serial Reconstruction of the Characteristic Granule of the Langerhans Cell*, J. Cell Biol. 36:595-602, 1968.
21. SCHROEDER, H. E., y THEILADE, J., citado por Sagebiel, R. W., y Reed, T. H.<sup>20</sup>.
22. STEGMAIER, O. C., BECKER, S. W., y MEDENICA, M.: *Multiple Halo Nevi*, Arch. Derm. 99:180-189, 1969.
23. TARNOWSKI, W. M. y HASHIMOTO, K.: *Langerhans' Cell Granules in Histiocytosis X*, Arch. Derm. 96:298-304, 1967.
24. TURIAF, J., y BASSET, F.: *Un Cas de Histiocytose "X" pulmonaire avec présence de particules de nature probablement virale dans les lésions granulomateuses pulmonaires examinées au microscope électronique*, Bull. Soc. Med. Hop. Paris 116:1197-1208, 1965.
25. WAYTE, D. M. y HELWIG, E. B.: *Halo Nevi*, Cancer 22:69-90, 1968.
26. WOLFF, K.: *The Fine Structure of the Langerhans Cell Granule*, J. Cell Biol. 35:468-473, 1967.
27. YOUNES, M. S., ROBERTSON, E. M., y BENCOSME, S. A.: *Electron Microscope Observations on Langerhans Cells in the Cervix*, Am. J. Obst. & Gynec. 102:397-403, 1968.
28. ZELICKSON, A. S.: *The Langerhans Cell*, J. Invest. Derm. 44:201-212, 1965.
29. ZELICKSON, A. S.: *Ultrastructure of Normal and Abnormal Skin*, Philadelphia: Lea & Febiger, 1967, pp. 163-182.