

SUBPOBLACIONES LEUCOCITARIAS EN TRAYECTOS LINEALES ADYACENTES A LESIONES PRIMARIAS EN PACIENTES CON LEISHMANIASIS CUTÁNEA LOCALIZADA

Dra. Rita Pichardo M. *
Dr. Félix J. Tapia**
Dr. Hugo Naranjo A. *
Dr. Juan Morantes I. *

Pichardo R, Tapia FJ, Naranjo H, Morantes J. **Subpoblaciones Leucocitarias en Trayectos Lineales Adyacentes a Lesiones Primarias en Pacientes con Leishmaniasis Cutánea Localizada.** Derm Venez 1995; 33: 87-94

RESUMEN

La leishmaniasis cutánea americana es una enfermedad que conforma un espectro clínico, inmunológico e histopatológico, por lo que constituye un excelente modelo para el estudio de mecanismos de inmunorregulación asociados con la protección inmunológica frente a agentes infecciosos. En un estudio previo, evaluamos la histopatología en los trayectos adyacentes (TLA) a las lesiones primarias de pacientes con leishmaniasis cutánea localizada (LCL). En el presente trabajo, realizamos una caracterización de los distintos inmunofenotipos leucocitarios en la lesión y en el TLA de pacientes con LCL, utilizando anticuerpos monoclonales específicos y el método de la avidina-biotina inmunoperoxidasa.

Los resultados demostraron una leishmanina significativamente mayor ($p < 0,05$) en pacientes con TLA (48.5 ± 3.7 mm) que en aquellos con lesiones solamente (30.9 ± 3.2 mm). Igualmente, se demostró un alta densidad de linfocitos T supresores/ citotóxicos CD8+ en ambas localizaciones con valores en lesiones (3497 ± 127 células/mm²). La expresión de LFA1 (3 presentó un valor más alto en pacientes con TLA (3609 ± 114 células/mm²) que en pacientes con lesiones (3162 ± 151 células/mm²).

La expresión de ICAM-1, HLA-DR y CD1a+ fue similar en ambas lesiones, todo sugerente de una respuesta granulomatosa tipo tuberculoide.

Este estudio constituye un aporte para determinar el estado inmunológico que presentan los pacientes portadores de este trayecto lineal y es una información importante para inferir la respuesta de esos individuos ante la presencia del parásito.

ABSTRACT

American cutaneous leishmaniasis is an spectral disease from the clinical, immunological and histopathological point of view. This disease is an excellent model to study the immunoregulatory mechanisms involved in immune protection against infectious agents. In a previous study, we evaluated the adjacent lineal tract (ALT) to primary lesions of patients with localized cutaneous leishmaniasis (LCL). In the present work, we carried our a characterization of various leukocyte immunophenotypes in the lesion and ALT of LCL patients (n=149) using specific monoclonal antibodies and the avidin-biotin immunoperoxidase technique.

The results showed significantly high intradermal leishmanin reaction ($p < 0.05$) in ALT patients (48.5 ± 3.7 mm) than in those with only primary lesions (30.9 ± 3.2 mm). In addition, we demonstrated a high proportion of T suppressor/cytotoxic CD8+ cells in both sites with higher values in the lesions (3497 ± 127 cells/mm²). The expression of LFA-1(3 was higher in ALT patients (3609 ± 114 cells/mm²) than in lesions (3162 ± 151 cells/ mm²). The expression of ICAM-1, HLA-DR and CD1a was similar in both sites, highly suggestive of a granulomatous tuberculoide type response.

This study gives an insight into the immunological status of patients with ALT, and it may be an important information to predict the outcome of the immune response.

* Hospital Militar "Dr. Carlos Arvelo"

** Instituto de Biomedicina

INTRODUCCION

La leishmaniasis es una enfermedad de distribución mundial, que se agrupa en dos entidades: la leishmaniasis cutánea y la leishmaniasis visceral o Kala azar. En nuestro continente, la leishmaniasis cutánea se denomina leishmaniasis cutánea o tegumentaria americana (LCA) y conforma un espectro de formas clínicas que van desde la leishmaniasis cutánea localizada (LCL) hasta la leishmaniasis cutánea difusa (LCD). La LCL es la forma más común de la enfermedad y se caracteriza por una adecuada respuesta inmune mediada por células y pocas lesiones bien definidas. Por su parte, las lesiones de LCD son poco frecuentes y se presenta en forma muy severa caracterizada por una anergia selectiva de la inmunidad mediada por células, compromiso extenso de la piel, presencia de nódulos no ulcerados y ricos en parásitos que tienden a diseminarse por todo el cuerpo. Un pequeño grupo de pacientes con LCA, desarrolla leishmaniasis mucocutánea (LMC) caracterizada por una exacerbación de la respuesta inmune celular con lesiones destructivas de las mucosas oral y nasofaríngea. Trabajos previos² destacaron la presencia de un trayecto lineal adyacente a las lesiones primarias en pacientes con LCL, sin aparente compromiso de ganglios linfáticos.

Histológicamente, el granuloma de la LCL está compuesto por una infiltración linfocitaria, variable número de células epitelioides y pocos parásitos. Las lesiones ulceradas muestran variables grados de hiperplasia epidérmica, la cual depende del tiempo de evolución y tipo de lesiones? En los trayectos lineales adyacentes (TLA), observamos en algunos casos una estructura granulomatosa similar a la lesión primaria de LCL.² Las lesiones de la LCD contienen numerosos macrófagos indiferenciados con muchos parásitos, pocos linfocitos y células plasmáticas.³ El granuloma en la LMC es una mezcla de linfocitos y macrófagos, con pocos parásitos y moderados cambios epidérmicos.⁴

La leishmaniasis constituye un excelente modelo para comprender las varia

ciones en los mecanismos de regulación de la respuesta inmune al parásito en el humano y sus implicaciones en otras enfermedades infecciosas.

SISTEMA INMUNE CUTANEO

Actualmente, el término "sistema inmune cutáneo" comprende las células de Langerhans (CL) epidérmicas, los linfocitos T dendríticos epidérmicos, las células veladas de los vasos linfáticos aferentes cutáneos, los queratinocitos, los macrófagos tisulares, las células endoteliales vasculares y linfáticas, los linfocitos T y las células interdigitantes y dendríticas foliculares de los ganglios linfáticos adyacentes.⁵

En un proceso inflamatorio, el sistema inmune cutáneo participa activamente, promoviendo la comunicación entre las células inflamatorias infiltrantes y las células cutáneas residentes.

CELULAS DE LANGERHANS, QUERATINOCITOS Y LINFOCITOS T DENDRITICOS EPIDERMICOS

Las células de Langerhans (CL) fueron descubiertas por Paul Langerhans,⁶ quien debido a sus características morfológicas las clasificó como células neuronales Campo-Aasen Y Pearse. Demostraron citoquímicamente que las CL contenían enzimas características de los macrófagos. La asociación entre las CL y los macrófagos fue fortalecida por resultados posteriores, tales como: expresión de receptores Fc y C3,⁶ expresión de moléculas clase II del complejo principal de histocompatibilidad (MHCII)^{9,10} y capacidad inmunoestimuladora.¹¹ Ultraestructuralmente estas células se reconocen por unas estructuras citoplasmáticas denominadas gránulos de Birbeck.¹²

Actualmente, diferencias funcionales entre las CL recién aisladas (frescas) y las CL cultivadas sugieren la existencia de subtipos celulares. Las CL cultivadas por 12-72 horas son mejores células estimuladoras que las CL frescas en un ensayo autólogo de linfoproliferación.¹³ Igualmente, se ha demostrado

que las CL cultivadas son más eficientes que las CL frescas en la presentación de antígenos nativos (no procesados) a linfocitos T sensibilizados *in vivo*, pero no así a linfocitos T vírgenes. Las CL son similares a las células dendríticas presentes en órganos linfoides.¹⁴ Estas observaciones demuestran que CL cultivadas *in vitro* son equivalentes a CL que han ingerido y procesado antígenos en la piel y han migrado a ganglios linfáticos cercanos.^{15,16} Esto constituye un eficiente mecanismo para el transporte del antígeno desde el sitio del primer encuentro en la piel hasta el ganglio linfático donde existe una gran variedad de linfocitos T que pueden iniciar la respuesta inmune específica."

Los queratinocitos en condiciones patológicas pueden convertirse en células inmunocompetentes, adquiriendo la capacidad de interactuar con linfocitos T y CL en la epidermis. Esta activa participación en los procesos inflamatorios se manifiesta por la expresión de MHC-II, la molécula de adhesión intercelular ICAM-1 y la producción de monocinas como la IL-1, IL-6, IL-8, etc.¹⁸ El papel de los queratinocitos como células presentadoras de antígeno es desconocido.

MOLECULAS DE ADHESION Y MIGRACION LINFOCITARIA

Los linfocitos circulan a través del organismo en un constante proceso de inmunovigilancia que los lleva de la sangre hacia los tejidos y nuevamente al sistema circulatorio por intermedio de los vasos linfáticos. La interacción entre los linfocitos y las células endoteliales que cubren las paredes de los vasos sanguíneos es esencial para que ocurra la migración linfocitaria hacia los tejidos.

Básicamente, dos tipos de moléculas son necesarias para que ocurra esta interacción: **receptores direccionales** ("homing receptors") expresados por los linfocitos y las directrices **vasculares** ("vascular addressins") expresadas por las células endoteliales. La migración linfocitaria en órganos linfoides secundarios se efectúa a través de un endotelio especializado denominado endotelio capilar alto o **HEV** ("high endothelium")

venules"). Los receptores direccionales más conocidos pertenecen a la familia de las integrinas y son los VLA ("very late antigens") y los LFA ("Leukocyte-function associated antigen"). Por su parte, las directrinas vasculares más conocidas pertenecen a la familia del supergen de inmunoglobulina y son las moléculas de adhesión intercelular ICAM-1 e ICAM-2 y la molécula de adhesión de células vasculares VCAM-1.¹⁹

El receptor direccional más conocido, el LFA-1, es expresado por todos los linfocitos T, pero en un nivel dos veces mayor por los T memoria que por los T vírgenes.¹⁹ La molécula LFA-1 no se encuentra constitutivamente en un estado de avidéz para sus ligandos o contra-receptores las moléculas ICAM-1 e ICAM-2, y requiere de la intercalación ("cross-linking") del TCR durante el reconocimiento antígeno para que ocurra su participación en los mecanismos de adhesión celular.²⁰

Los linfocitos pueden adherirse fuertemente al endotelio inflamado y jugar un papel fundamental en la respuesta inflamatoria, o interactuar con el epitelio normal para migrar al tejido linfoide y no-linfoide.¹⁹ En la piel, Nickoloff²¹ ha dividido el proceso de migración linfocitaria en fase de reclutamiento, fase de retención y fase de retorno. La fase de reclutamiento comienza con la interacción de los linfocitos circulantes con las células endoteliales en donde las moléculas de adhesión juegan un papel importante. Una vez que sucede un insulto antigénico, los linfocitos son atrapados en los capitales cutáneos y entran al adventicio perivascular, reciben además señales quimiotácticas adicionales que los orientan hacia la epidermis (fase de reclutamiento). La fase de retención implica la interacción entre linfocitos T, queratinocitos y CL, y en ella participan las moléculas MHC-II, ICAM-1, LFA-1 y diferentes citocinas como el INF- γ , IL-1, IL-3 e IL-6. Básicamente las CL presentan antígenos a linfocitos T y desencadenan la formación de un proceso inflamatorio que pudiera generar en un granuloma, como es el caso en la mayoría de los agentes infecciosos. La fase de retorno, quizás está asociada con la bajo-regulación de

moléculas de adhesión entre las CPA y los linfocitos T, permitiendo la migración de CL a los ganglios linfáticos en donde ocurriría la estimulación de linfocitos T vírgenes, o promoviendo el retorno de linfocitos T memoria infiltrante a la circulación.

HIPOTESIS

En el presente trabajo realizamos un análisis inmunocitoquímico de los inmunofenotipos leucocitarios y moléculas de activación en el trayecto lineal adyacente presente en pacientes con LCL con la finalidad de demostrar que el mismo constituye un componente importante de la respuesta inmunitaria frente al parásito.

MATERIALES

Y

MÉTODOS

1. Pacientes

Pacientes con LCL (n=149) provenientes de la consulta de Leishmaniasis del Instituto de Biomedicina en la población de Araira, Edo. Miranda, desde el mes de Abril hasta Septiembre de 1993; fueron diagnosticados de acuerdo a criterios clínicos, epidemiológicos e histopatológicos establecidos.²² La confirmación parasitológica (Secciones de Leprología y Dermopatología) del diagnóstico clínico se realizó de varias formas: 1. Coloración de Giemsa del frotis por aposición de las biopsias. 2. Cultivo de un macerado de la biopsia en agar sangre compuesto por 15% de sangre de conejo desfibrinada y 200 U penicilina/ml. 3. Inoculación en hamsters con macerados de biopsia. 4. Análisis histopatológico de cortes teñidos con hematoxilina-eosina o giemsa.

Se encontraron 10 pacientes que presentaban un trayecto lineal adyacente a la lesión primaria. Las biopsias tanto de la lesión primaria como de los TLA de esos 10 pacientes, fueron incluidas en el medio de criopreservación "OCT compound" (Miles Scientific, EEUU), congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a -70° C

2. Anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales utilizados fueron diluidos en buffer fosfato salino modificado (PBS), PH 7,2.²³ Los anticuerpos utilizados reconocen los siguientes marcadores: - CD4 (PH 2,6, T cooperador-inductor, dilución 1:2500) donado por A. Moretta (Ludwig Institute, Lausanne, Suiza). - CD8 (B 116.1, T supresor-citotóxico, dilución 1:2500) y MHC-11 (B 33.1.1, HLA-DR, dilución 1"20) donado por G. Trinchieri (The Wistar Institute, Phyladelphia, EEUU). - CD1 a (Células de Langerhans, dilución 1:100) Becton Dickenson, Inc, (Mountain View, EEUU). - CD54 (RR 1/ 1, ICAM-1 dilución 1: 3000); CD18 (T S1/18, LFA-1 R, dilución 1:2000) donados por T. Springer (Harvard Medical School, Boston, EEUU).

PROCEDIMIENTO INMUNOCITOQUÍMICO

El procedimiento inmunocitoquímico fue el de la avidina biotina inmuno peroxidasa previamente descrito.^{24,25} Brevemente, se obtuvieron cortes congelados (5 μ m) en un criostato y se dejan secar toda una noche antes de la inmunotinción comienza con una hidratación de las muestras en PBS e incubación por 30 min en cada uno de los siguientes pasos: 1. Anticuerpo primario monoclonal de origen murino. 2. Anti-IgG de ratón biotinado generado en caballo (50 microgramos/ml, dilución 1:30) (Vector Labs INC., Burlingame, EEUU). 3. Incubación con el complejo avidinbiotina peroxidasa. Lavados con PBS de 5 min fueron realizados entre cada una de las incubaciones. La reacción fue revelada por 10 min con 90 M H₂O₂ y 3-amino-9-etil-carbazol (AEC) (0,88 mM de concentración final), el cual fue disuelto en 50 mM N, N-dimetil formamida en buffer acetato 0,1 M, pH 5,2.

Los cortes fueron lavados contrastados con Hematoxilina de Mayer. Los controles consistieron en la omisión del anticuerpo primario o el uso de un anticuerpo de especificidad irrelevante a la misma concentración.

CUANTIFICACION CELULAR

El conteo celular se realizó bajo un microscopio óptico, equipado con una retícula milimetrada (Carl Zeiss, Alemania), calibrada para determinar el número de células/mm² presentes en la epidermis o en los granulomas. Sólo aquellas células con núcleo visible que presentaron una tinción roja para marcaje simple fueron contadas como positivas. Con la finalidad de obtener una muestra representativa de las lesiones, cuatro cortes no-seriados y alternos fueron recolectados, inmunoteñidos y contados para cada marcador. Los campos de interés en cada corte fueron contados a 1000X, generando 2-4x 10⁶ células por corte. Los porcentajes de cada fenotipo fueron calculados, basándonos en que hay 4000 cels/mm² de infiltrado, deducido de un conteo previo de las células nucleadas en hematoxilina-eosina.

ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados de la caracterización inmunocitoquímica fueron expresados como media ± SEM (error estándar de la media). Las medias fueron calculadas en base a los valores individuales para cada paciente. La comparación entre grupos se realizó aplicando el test de Student y el test no paramétrico de Wilcoxon. Cualquier valor de "p" ≤ 0,05 fue considerado significativo.

RESULTADOS

Los pacientes estudiados fueron clasificados de acuerdo a criterios clínicos bien establecidos. Del análisis se ubicaron a los pacientes como: sexo masculino (n=100) y del sexo femenino (n=49), quienes presentaron lesiones de LCA, diagnosticada mediante frotis por aposición, cultivo de lesiones y prueba intradérmica de la leishmanina. Esta última fue positiva en pacientes con lesiones primarias (LP) (39.9 ± 3.2 mm) pero fue significativamente mayor desde el punto de vista estadístico (p < 0.05) en pacientes con trayectos lineales adyacentes (TLA) (48.5 ± 3.7 mm) (Tabla 1).

Se observaron trayectos lineales adyacentes en 10 pacientes, con predominio del sexo masculino (n=9). El promedio de edad varió entre los 15 y 30 años en ambos casos. En cuanto al tiempo de evolución, los pacientes acudieron a consulta a los 3 meses del inicio de la lesión clínica aproximadamente.

Histopatológicamente, se observó en la lesión una ulceración con fondo necrótico con restos nucleares; granuloma macrófago indiferenciado, difuso y ocupando áreas de variable extensión, invadido por células linfoides y células plasmáticas; focos de PMN íntegros y fragmentados y presencia de parásitos.

En los trayectos lineales adyacentes, pudimos apreciar 3 patrones: 1. Un granuloma macrófago indiferenciado con discreto grado de diferenciación epitelioide invadido por células linfoides, escasas células plasmáticas y presencia de parásitos. 2. Un granuloma por agente vivo y 3. Una inflamación crónica inespecífica discreta.

ANALISIS INMUNOCITOQUIMICO

El análisis del componente epidérmico en la LCA fue orientado hacia la caracterización de células de Langerhans (CL)

TABLA 1			
Leishmanina en Pacientes con Lesión Primaria (LP) y Trayecto Lineal Adyacente (TLA)			
*	LP	TLA	p*
Leishmanina	39.9 ± 3.2 mm	48.5 ± 3.7 mm	0.0076

* Valores Expresados: Promedio ± SEM
• Estadísticamente muy significativa: p < 0.05

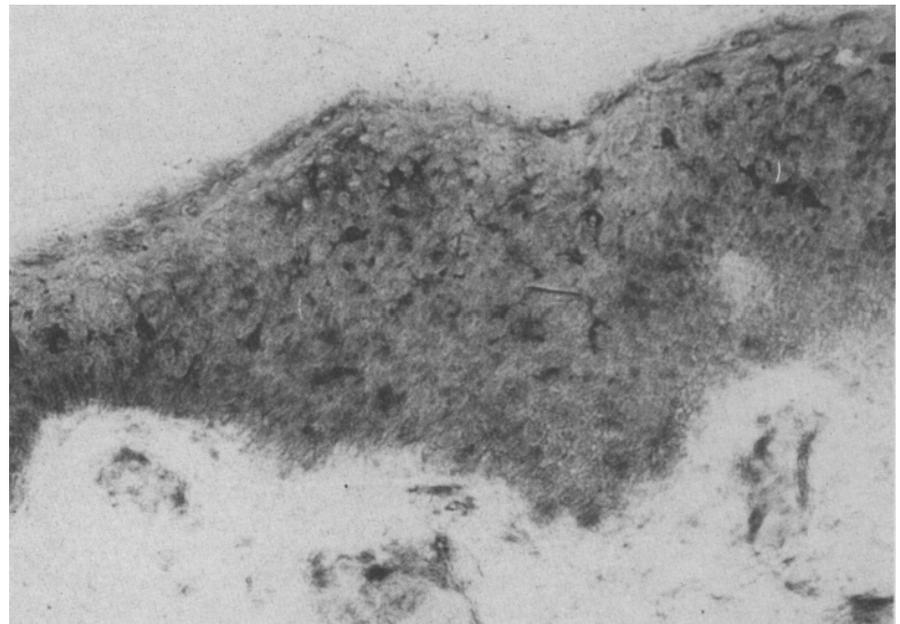


FIGURA 1: Inmunolocalización de ICAM-1 utilizando la técnica de la avidina-biotina. inmunoperoxidasa.

CD1 a+ y la expresión de moléculas del MHC-II e ICAM-1.

En los pacientes con LCL, se observó, que tanto los queratinocitos como las CL epidérmicas expresaban uniformemente MHC-II. Los queratinocitos HLADR+ estaban distribuidos en parches en el epitelio. En el granuloma de las lesiones primarias (LP) y los trayectos lineales adyacentes (TLA), la mayoría de las células expresaban HLA-DR+. La expresión de ICAM-1 se limitó a un pequeño grupo de queratinocitos, los cuales se encontraban distribuidos en parches o grupos en el epitelio de ambas lesiones (Figura 1).

La densidad de las CL epidérmicas en la LCL fue alta, encontrándose también numerosas CD1 a+ en el granuloma dérmico, lo cual pudimos confirmar al observar que ambos tipos de lesión estudiadas la proporción de estas células era similar (Figura 2, Tabla 2).

La proporción de linfocitos T CD4+ mostró valores similares en ambos tipos de lesión (Figuras 3 y 4A). Por otra parte, se observó una proporción significativamente mayor de linfocitos T CD8+ en LP (3497 ± 127 células/mm²) con respecto a TLA (2677 ± 100 células/mm²) Figuras 3 y 4B), con una relación CD4/CD8 menor a 1 (Tabla 2). No se observó una distribución topográfica particular de estos dos inmunofenotipos en el granuloma.

Los anticuerpos monoclonales dirigidos a la molécula CD18 fueron utilizados para caracterizar la subunidad beta de LFA-1. Se observó una diferencia significativamente mayor en TLA (3609 ± 114 células/mm²) con respecto a LP (3162 ± 131 células/mm²) (Tabla 2, Figura 5).

TABLA 2			
Densidad (cells/mm ²) de células T en Lesión Primaria y Trayecto Lineal Adyacente*			
Fenotipos	LP	TLA	p
CD4+	3300 ± 100	3250 ± 107	NSE
CD8+	3497 ± 127	2677 ± 100	≤ 0.05
CD4/CD8	0.94 ± 1	1.21 ± 1.1	NSE
LFA-1	3162 ± 31	3609 ± 114	≤ 0.05
CD1 a+	659 ± 43	722 ± 34	NSE

* Valores Expresados: Promedio ± SEM
NSE: No significativo estadísticamente

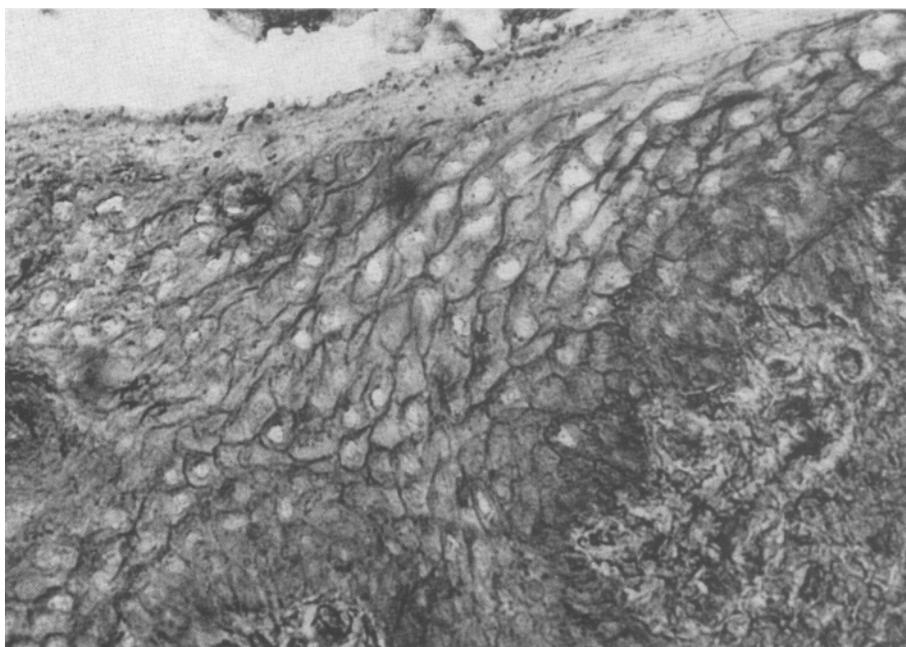


FIGURA 2: Células de Langerhans CD1a+ en la epidermis de pacientes con leishmaniasis cutánea localizada.

DISCUSION

Basándonos en observaciones previas ² en el presente trabajo, estudiamos el significado inmunopatológico del trayecto lineal adyacente. Los resultados demostraron una leishmanina mayor en pacientes con trayecto lineal adyacente que en aquellos con lesiones solamen-

te, lo que confirma que estos individuos poseen una mejor respuesta inmune mediada por células y coincide con lo expuesto por Barral y colaboradores ²⁶. Por otra parte, observamos significativos aumentos de linfocitos T supresores/citotóxicos CD8+ entre pacientes con

lesiones primarias y pacientes con trayectos lineales adyacentes, lo que nos indica que existe una mayor cantidad de linfocitos T CD8+ que pudieran ser principalmente T supresores con la función de controlar el tamaño de granuloma en la lesión.

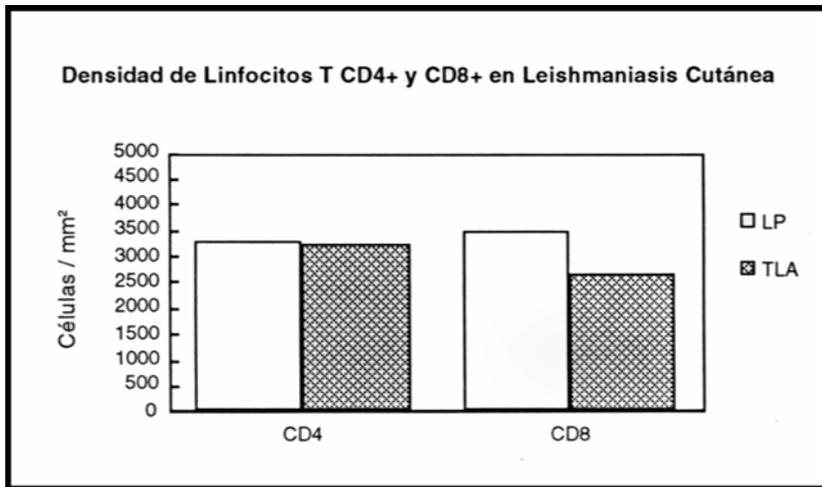


FIGURA 3

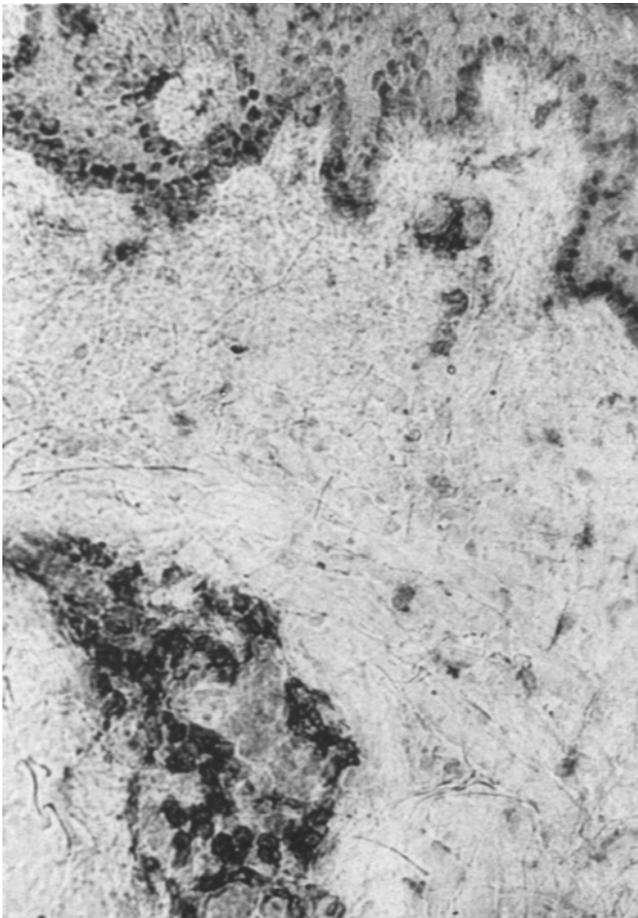


FIGURA 4A: Linfocitos T cooperadores-inductores CD4+

Una de las observaciones más interesantes del presente estudio fue la mayor densidad de linfocitos T LFA-1 j3+ en los trayectos lineales adyacentes (TLA) en comparación con las lesiones primarias (LP). La molécula de LFA-1 j3+ fue detectada con el anticuerpo CD18, el cual también identifica al receptor del complemento 3 CR3 (W11 b/CD18) y a la molécula p 150/95 (CD11c/CD18), esta última molécula está presente en un subgrupo de linfocitos T CD4+. Por lo tanto, podemos asumir que la detección de CD18 en nuestro estudio, identifica principalmente el LFA-1 el cual está presente en linfocitos T memoria y los resultados indican una mayor acumulación de linfocitos T sensibilizados al trayecto lineal adyacente que a la lesión primaria.²⁷

Los resultados en relación con la expresión de ICAM-1, HLA-DR y CD1 a+, indican que la epidermis de las LP y de los TLA en la LCL posee todas las señales accesorias necesarias para la participación del sistema inmune cutáneo en la eliminación del parásito. La co-expresión de ICAM-1 y HLA-DR por parte de los queratinocitos ha sido asociada con la migración y acumulación selectiva de linfocitos T hacia la epidermis y la subsecuente inducción de citocinas necesarias para el establecimiento de procesos de inmunorregulación efectivos.^{21,28}

En conclusión, se pudo observar que los pacientes portadores del trayecto lineal adyacente presentan una serie de componentes asociados a un buen estado inmunológico y sugieren una activa migración linfocitaria en la piel, los cuales podrían estar relacionados con los mecanismos inmunológicos necesarios para la eliminación del parásito y la cura de la enfermedad.

El presente trabajo aporta nuevos conocimientos sobre el papel inmunológico del trayecto lineal adyacente a las lesiones de LCL y abre nuevas posibilidades para determinar el comportamiento inmunológico de los individuos portadores de esta característica ante la presencia del parásito.

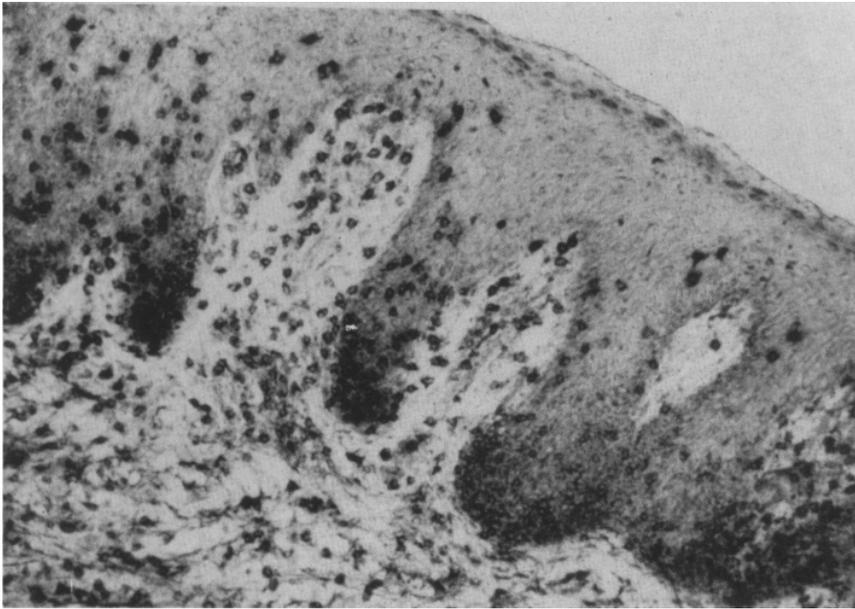


FIGURA 4B: Linfocitos-citotóxicos CD8+ en lesión primaria.

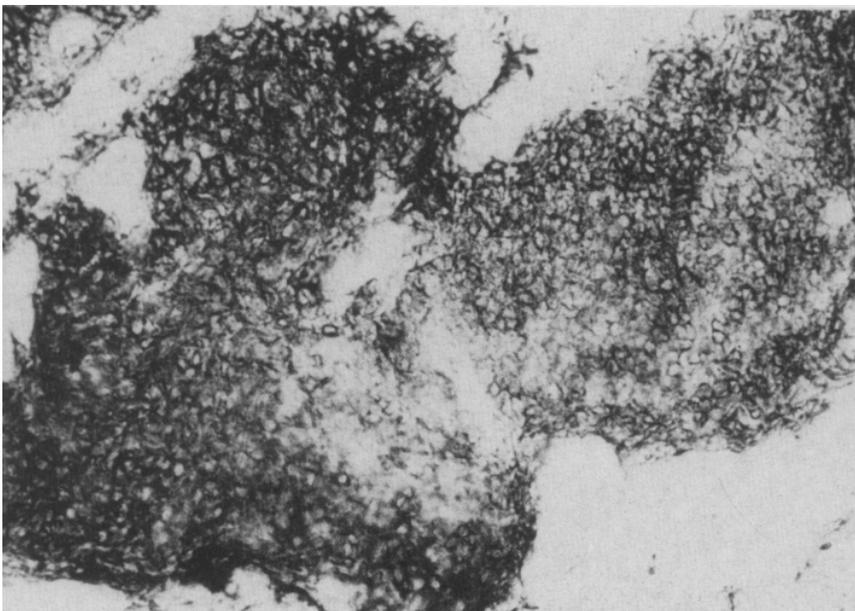


FIGURA 5: Linfocitos T CD18+ en trayecto lineal adyacente.

REFERENCIAS

1. Perez HA. Inmunología de la leishmaniasis cutánea experimental. *A Microbiol Enf Infec* 1982; 1 (103): 10429.
2. Morantes J, Pichardo R, Naranjo H, García L. Hallazgos histopatológicos en trayectos lineales adyacentes a lesiones primarias en pacientes con leishmaniasis cutánea localizada. *Derm Ven*. Aceptado para publicación en Enero 1995.
3. Covit J, Pinaridi ME, Rondón AJ. Diffuse cutaneous leishmaniasis: a disease due to an immunological defect of the host. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993; 87: 444-8.
4. Azadeh B, Samad A, Ardehali S. Histological spectrum of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmaniatrópica*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985; 79: 631-6.
5. Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system. *Immunol Today* 1986; 7: 235-40.
6. Langerhans P. Über Die Nerven der menschlichen Haut. *Virchows Arch*. 1986; 44: 325-37.
7. Campo-Aasen I, Pearse AGE. Enzimología de la célula de Langerhans. *Med Cut* 1986; 1: 35-44.
8. Stingl G, Wolff-Schreiner EC, Pichler WJ, Gschnait F, Knapp E, Wolff K. Epidermal Langerhans cells bear Fc and C3 receptors. *Nature* 1977; 268: 245-8.
9. Klareskop L, Tjernlund UM, Forsumpeterson PA. Epidermal Langerhans Cells express la antigen. *Nature* 1977; 286: 248-50.
10. Rowden G, Lewis MG, Sullivan AK. La antigen expression on human epidermal Langerhans cells. *Nature* 1977; 268: 247-8.
11. Stingl G, Katz SI, Clement L, Green I, Shevach EM. Immunologic functions of the bearing epidermal Langerhans cells. *J. Immunol* 1978; 121: 2005-13.
12. Romani N, Koide S, Crowley M, WitnerPack M, Livingstone AM, Fathman CG, et al. Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to T cells clones. Intact protein is presented best

- in immature epidermal Langerhans cells. *J Exp Med* 1989; 169: 1169-78.
13. Streilen JW, Grammer SF. In vitro evidence that Langerhans cells can adopt two functionally distinct forms capable of antigen presentation to T lymphocytes. *J Immunol* 1989; 143:3925-33.
 14. Breathnach SM. Origin, cell lineage, ontogeny, tissue distribution, and kinetics of Langerhans cells. En: Schuler G, editors. *Epidermal Langerhans Cells*. Boca Ratón: CRC Press. 1990: 23-48.
 15. Streilen JW, Grammer SF, Yoshikawa T, Demidem A, Vermeer M. Functional dichotomy between Langerhans cells that present antigens to naive and to memory/effector T lymphocytes. *Immunol Rev* 1990; 117: 159-83.
 16. Steinman RM. The Dendritic Cell System and its Role in Immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 1991; 9: 271-96.
 17. Moll H. Epidermal Langerhans cells are critical for immunoregulation of cutaneous leishmaniasis. *Immunol Today* 1993; 14 (8): 383-6.
 18. Barker JNWN, Mitra RS, Griffiths CEM, Dixit VM, Nickoloff BJ. Keratinocytes as initiators of inflammation. *Lancet* 1991; 337: 211-4.
 19. Shimizu Y, Newman W, Tnaka Y, Shaw S. Lymphocyte interaction with endothelial cells. *Immunol Today* 1992; 13: 106-12.
 20. Hibbs ML, Xu H, Stacker SA, Springer TA. Regulation of adhesion to ICAM-1 by the cytoplasmic domain of LFA-1 integrin Beta subunit. *Science* 1991; 251: 1611-13.
 21. Nickoloff B. Role of interferon-gamma in cutaneous Trafficking of lymphocytes with emphasis on molecular and cellular events. *Arch Dermatol* 1988; 124: 1835-43.
 22. Convit J. Leprosy and leishmaniasis. Similar clinical-immunological-pathological models. *Ethiop Med* 1974; 12: 187-95.
 23. Hofman FM, Billing RJ, Parker JW, Taylor CR. Cytoplasmic as opposed to surface la antigens expressed on human peripheral blood lymphocytes and monocytes. *Clin Exp Immunol* 1982; 49: 355-63.
 24. Gross A, Weiss E, Tapia FJ, Aranzazu N, Gallinoto ME, Convit J. Leukocyte subsets in the granulomatous response produced after inoculation with *Mycobacterium leprae*-BCG in lepromatous patients. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38: 608-12.
 25. Tapia FJ, Rojas E, Kraal G, Mosca W, Convit J. Immunocytochemical analysis of Langerhans cells in murine cutaneous leishmaniasis. En: "The Langerhans Cell", Thivolet J Schmitt D (eds). *Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd. Londres*, pp 479-90.
 26. Barral A, Barral-Netto M, Almeida R, Ribeiro De Jesus A, Grimaldi G, Netto E, et al. Lymphadenopathy Associated with *Leishmania Braziliensis* Cutaneous Infection. *Am J Trop Med* 1992; 47 (5): 587-92.
 27. Harvey JE, Hogg N, Clive Landis, R. LFA-1 and the ICAMs. En: Shimizu Y, editor. *Lymphocyte Adhesion Molecules*. Austin: R.G Landers Company. 1993: 26-53.
 28. Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Acuña L, Mosca W. Epidermal Langerhans cells in infectious diseases. *Histol Histopath* 1989; 4: 499-508.

CALENDARIO DE EVENTOS CIENTIFICOS 1995 (PRELIMINAR)

FECHA	EVENTO
02 Septiembre	Encuentro Dermatológico Latinoamericano
Coordinador:	Dr. Antonio José Rondón Lugo Electricidad de Caracas
16 Septiembre	Curso Educación Médica Continua
Coordinador	Dr. Rolando Hernández Pérez Barinas
30 Septiembre	Reunión Mensual
Coordinadores:	Dra. Lenya López Rojas Dr. Edgar Belfort Hospital Domingo Luciani

FECHA	EVENTO
07 Octubre	Curso Educación Médica Continua
Coordinadores:	Dr. Hernán Vargas Montiel Dra. Anairma Durango Dra. Esther Wakszol de Schmidmajer Maracaibo
15 al 18-11-95	XXXI Reunión Anual