
*Trabajo Presentado en el
V Congreso Venezolano de Dermatología,
Caracas, Noviembre de 1991*

INMUNOFENOTIPOS LEUCOCITARIOS EN EL VITILIGO

Lic. Angela Giordano*
Dra. María Esther Chirinos R.*
Dr. Ricardo Pérez - Alfonso*
Lic. Félix Tapia*

Giordano A, Chirinos ME, Pérez-Alfonzo R, Tapia- F: inmunofenotipos leucocitarios en el vitiligo. *Dermatología Venezolana* 30: 4-6, 1992.

RESUMEN

El vitiligo es una enfermedad pigmentaria, que afecta al sistema melanocítico y acarrea como consecuencia la no producción de melanina, definido clínicamente como máculas acrómicas.

En el presente estudio se evaluaron los distintos inmunofenotipos que participan en esta patología. Para ello se emplearon diversos anticuerpos monoclonales utilizando la técnica de inmuperoxidasa.

En este contexto, se estudiaron 10 pacientes con vitiligo, excluyendo otras enfermedades hipomelanoécticas. Las biopsias fueron congeladas en nitrógeno líquido y cortadas en un criomicrotomo (3-4 micromicras de espesor) y posteriormente cuantificados los siguientes anticuerpos monoclonales: CD4, CD8, CD1, ICAM-1, alfa-beta y gamma-delta. Los resultados obtenidos muestran una elevada densidad de células mononucleares que expresan en fenotipo CD4+, CD8+, CD1+, y alfa-beta en comparación con otros trabajos previos realizados en piel normal.

El incremento de células de Langerhans (mayor o igual 1433 cel/mm²), como células presentadoras de antígeno y accesorias de la piel, podría jugar un papel importante en el control de la generación de la respuesta inmune cutánea. Por otro lado, los linfocitos T que expresan fenotípicamente CD4+ y CD8+, mostraron una acumulación selectiva hacia la zona basal y la relación CD4/CD8 en los infiltrados fue de 1,38 considerado dentro de los valores normales. Por otro lado la expresión del ICAM-1 por los queratinocitos en la epidermis (n=8 de un total de 10), sugiere un estado pro-inflamatorio que puede contribuir con la patología de la enfermedad.

ABSTRACT

Vitiligo is a pigmentary disorder, that affects the melarocitic system the abscence of production of melanin is reflected' by acromic macules.

The present study evaluates the different immunophenotypes that take place in this disease. For used differents monoclonal antibodies and the inmuperoxidasa technic.

Palabras Claves: Vitiligo, Monoclonal, Antibodies

* Instituto de Biomedicina, UCV.

INTRODUCCION

El vitiligo viene del latín vitillum o mancha, clínicamente puede ser definido como una

anomalía pigmentaria de la piel y del pelo, idiopática, adquirida y circunscrita, que se manifiesta por máculas acrómicas, habiendo excluido otras causas de hipomelanosis, como la post-inflamatoria o por exposición a determinados productos químicos. Aún cuando su origen no es conocido, existen hasta el presente 3 teorías, las cuales postulan los diferentes mecanismos que se encuentran involucrados en este tipo de trastorno pigmentario.

La primera teoría denominada hipótesis neural, en donde sugiere que algún mediador neuroquímico puede ser el causante de la destrucción del melanocito o el inhibidor en la producción de melanina (Lerner et al; 1986 y Nellhaus, 1970).

Otra hipótesis es la de autodes-trucción o autocitotóxica, propone que un metabolito intermediario en la síntesis de la melanina causa desórdenes en el melanocito o que el mecanismo normal de destrucción de la melanosoma se lleva a cabo por una disfunción o muerte del melanocito (Lerner, AB; 1971).

Y por último la hipótesis inmune, la que sugiere algún tipo de alteración inmunológica que trae como consecuencia una destrucción y/o disfunción del melanocito.

La patogénesis del vitiligo continúa siendo un enigma, los factores inmunológicos junto con los genéticos, neurales y químicos deben jugar un papel importante en su aparición.

OBJETIVO

Debido a que el vitiligo es un desorden adquirido y progresivo de la pigmentación, el cual constituye un excelente modelo inmunológico para el estudio de las hipopigmentaciones, en el presente trabajo se evaluaron los distintos inmunofenotipos leucocitarios que participan en esta patología.

MATERIALES Y METODOS

PACIENTES

Se estudiaron diez pacientes (n=10), que presentaban un diagnóstico clínico de vitiligo. Los pacientes fueron biopsiados respectivamente (ver tabla de datos clínicos), la muestra fue en OCT y congelada en nitrógeno líquido a (-70 °C), para su posterior análisis.

PROCESAMIENTO DE LAS BIOPSIAS

Los tejidos congelados fueron cortados en un criomicrotomo, obteniéndose cortes de 3 a 4 micro-micras de espesor, procediéndose a realizar las inmunotinciones respectivas.

PRUEBAS DE INMUNOPEROXIDASA

Las inmunotinciones se realizaron por duplicado y como se describe a continuación (ver tabla de anticuerpos monoclonales utilizados):

- 1.- Fijación en acetona fresca, durante cinco minutos.
- 2.- Hidratación en PBS, durante cinco minutos.
- 3.- Anticuerpo Monoclonal Primario (dilución óptima), durante treinta minutos.
- 4.- Lavado con PBS durante cinco minutos.
- 5.- Anticuerpo Monoclonal Biotinado, durante treinta minutos.

DATOS CLINICOS DE PACIENTES ESTUDIADOS

Paciente	Edad	Sexo	Años de Evolución	Localización de Toma de Bx*
N° 1	22	F	11	Brazo
N° 2	41	F	10	Brazo
N° 3	50	M	0,33	Brazo
N° 4	13	F	2	Espalda
N° 5	30	F	3	Abdomen
N° 6	19	F	2	Labios
N° 7	45	M	1	Región Sacra
N° 8	14	M	1,5	Pierna
N° 9	34	M	1	Tórax
N° 10	32	F	7	Región Axilar

* Todas las Bx se orientaron en sentido transversal al borde de la acromía.

ANTICUERPOS MONOCLONALES EMPLEADOS

Molécula CD	Anticuerpo	Especificidad
CD4	HP 2,6	Linf. T Coop-Induc
CD8	B 116,1	Linf. T Supr-Citox
CD1	LEU-6	Cel. de Langerhans
4	TCR-2	Cel- Alfa-Beta
ya	TCR-1	Cel Gamma-Delta
ICAM-1	RRR/1	Ligando LFA1

- 6.- Lavado con PBS durante cinco minutos.
- 7.- Anticuerpo avidina - biotina - peroxidasa, durante treinta minutos.
- 8.- Lavado con PBS durante cinco minutos.
- 9.- El revelado se realizó utilizando noventa nM H₂O₂ y tres-amino-9-etil-carbazol (AEC), diluidas en 9,5 ml de buffer acetado Ph 5,3 con una concentración de 0,88 nM, durante diez minutos.
- 10.- Lavado en agua corriente durante cinco minutos.
- 11.- Contraste con Hematoxilina de Mayers durante dos a cinco minutos.
- 12.- Lavado en agua corriente, durante cinco minutos.
- 13.- Montaje en gelatina - glicerina.

Los controles consistieron en la omisión del anticuerpo monoclonal primario en cada uno de los casos.

CUANTIFICACION CELULAR

El conteo celular se efectuó utilizando un microscopio de luz con escala milimétrica (ZEISS CARL, ALEMANIA), calibrado para determinar el número de células por milímetro cuadrado en cada zona

epidérmica e infiltrados dérmicos. Todas aquellas células que presentaban núcleo visible y una coloración rojiza en la inmunotinción realizada fueron contadas como positivas.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los resultados obtenidos (Ver tabla de resultados), muestran una elevada densidad de células mononucleares que expresan el fenotipo CD4+, CD8+, CD1+ y alfa-beta+ en comparación con trabajos previos realizados en piel normal.

RESULTADOS	
Molécula CD	Cel/mm ²
CD4	1882,81
CD8	1368,30
CD1	1433,41
αβ	1566,75
γβ	682,66
CD4/CD8	1,38

El incremento de células de Langerhans (mayor o igual 1433 cells/mm²), como células presentadoras de antígenos y accesorias de la piel, podría jugar un papel importante en el control de la generación de la respuesta inmune cutánea.

Por otro lado, los linfocitos T que expresan el fenotipo CD4+ y CD8+,

mostraron una acumulación selectiva hacia la zona basal y la relación CD4/CD8 en los infiltrados fue de 1,38, considerado dentro de los valores normales.

Por otro lado, la expresión del ICAM-1 por los queratinocitos en la epidermis (n=8 de un total de 10), sugiere un estado pro-inflamatorio que puede contribuir con la patología de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Oriol O, Tapia FJ: Células Gamma-Delta y su función en la respuesta inmunológica. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica 9:88-99, 1990.
- 2.- Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Acuña L, Mosca W: Epidermal Langerhans Cells in infectious diseases. Histol Histopath 4:499-508, 1989.
- 3.- Giordano Tapia FJ, Pérez RM, Arosemena R, Halmai O, Convit J: Caracterización de inmunofenotipos leucocitarios en la respuesta al BCG de pacientes con vitiligo. Characterization of leukocyte immunophenotypes to BCG response in vitiligo patients. Acta Científica Venezolana 41:209, 1990.
- 4.- Gross A, Tapia FJ, Mosca W, Pérez RM, Briceño L, Henrique, Convit J: Mononuclear cell subpopulations and infiltrating lymphocytes in erythema dyschromicum perstans and vitiligo. Histol Histopath 2:277-283, 1987.