

IMÁGENES EN BIOMEDICINA

Utilización de análisis de imágenes para cuantificar células dendríticas S100 positivas en piel con lepra

Luz H. Camargo ¹, María Leonor Caldas ¹, Marcela Neira ², Ladys Sarmiento ¹

¹ Unidad de Microscopía y Análisis de Imágenes, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia.

² Laboratorio de Patología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia.

Se realizó un análisis morfométrico de células dendríticas de piel, que incluyó la determinación de la cantidad y el área ocupada, empleando un anticuerpo anti-S100 en biopsias de pacientes con diferentes tipos de lepra. El análisis reveló las diferencias entre los pacientes que presentaban una mejor respuesta inmune al bacilo, reflejada en una mayor cantidad de células dendríticas en los casos de lepra dimorfa tuberculoide y lepra tuberculoide con respecto a aquellos pacientes con lepra dimorfa lepromatosa y lepra lepromatosa.

Palabras clave: análisis de imágenes, procesamiento de imágenes, morfometría, células de Langerhans.

Image analysis to quantify S100-positive dendritic cells in leprosy-affected skin

A morphometric analysis of skin dendritic cells was done on biopsies of patients with different forms of leprosy. An anti S100 antibody was used to determine dendritic cell quantity and extension. Patients with a better immune response to the bacillus showed a greater number of dendritic cells in the cases of dimorphic tuberculoid leprosy and tuberculoid leprosy. This result contrasted with that from patients with dimorphic lepromatous leprosy and lepromatous leprosy.

Key words: image analysis, image processing, morphometry, Langerhans cells.

El anticuerpo anti-S100 detecta una familia de proteínas ligadoras de calcio presentes en las células de Schwann, en astrocitos y condrocitos, y en la piel, en melanocitos, conductos de glándulas sudoríparas, células dendríticas dérmicas y células de Langerhans (1). Si bien se ha empleado en la identificación inmunohistoquímica de células dendríticas (presentadoras de antígenos profesionales) en piel (2,3), su uso como único marcador en este tejido no es muy frecuente, dada la variedad de otros tipos celulares que presentan inmunorreactividad. En general, el anticuerpo presenta marcación para diferentes subpoblaciones de células dendríticas, mientras que marcadores como el anti-CD1a detectan células de Langerhans; otros anticuerpos

como el anti-Lag y el DCGM4 reconocen una proteína asociada con el gránulo de Birbeck de las células de Langerhans (4,5). Sin embargo, la facilidad de marcación de estas células con el anticuerpo anti S-100 en tejido fijado en formol lo hace útil en estudios histopatológicos en los que no se cuenta con el tejido congelado que se requiere para el uso de anticuerpos más específicos.

El objetivo de este estudio es mostrar la aplicación de un sistema de análisis de imágenes para determinar el número y área ocupada por las células dendríticas S100 positivas en piel con diferentes ejemplos del espectro histopatológico de la lepra.

Se estudiaron 10 biopsias de piel de pacientes que tenían marcación inmunohistoquímica para S100; se incluyeron tres casos de lepra dimorfa tuberculoide (BT), tres de lepra tuberculoide (LT), dos casos de lepra dimorfa lepromatosa (BL) y dos de lepra lepromatosa (LL). Se seleccionaron

Correspondencia:

Ladys Sarmiento, Avenida calle 26 No. 51-60, Bogotá, D.C., Colombia.

Teléfono: (571) 220 7700, extensión 453

lsarmiento@hemagogus.ins.gov.co

Recibido: 31/01/03; aceptado: 06/03/03

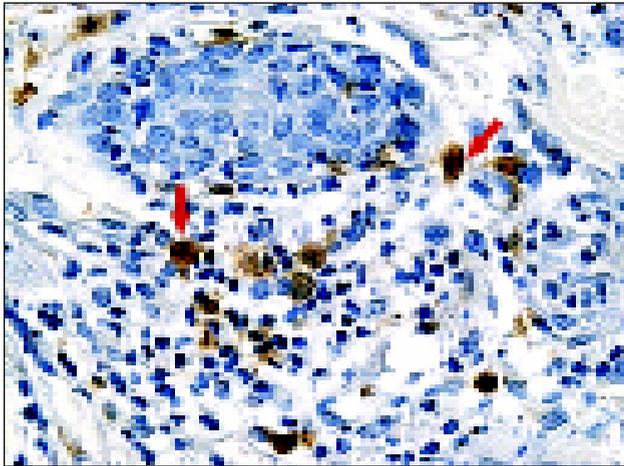


Figura 1. Células dendríticas S100 positivas en la dermis de un paciente con lepra dimorfa tuberculoide (↑). Técnica inmunohistoquímica de avidina-biotina-peroxidasa, 80X.

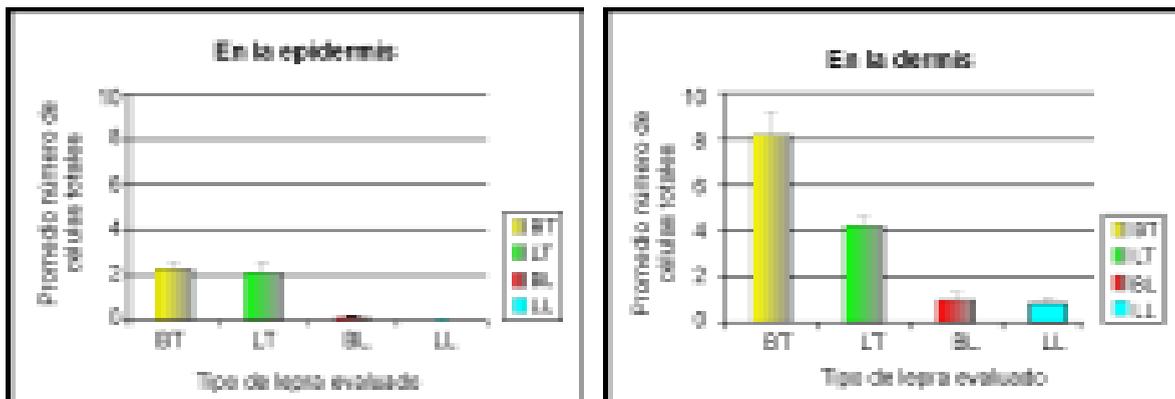


Figura 2. Comparación del número de células dendríticas en los diferentes tipos de lepra (barra, error estándar de la media).

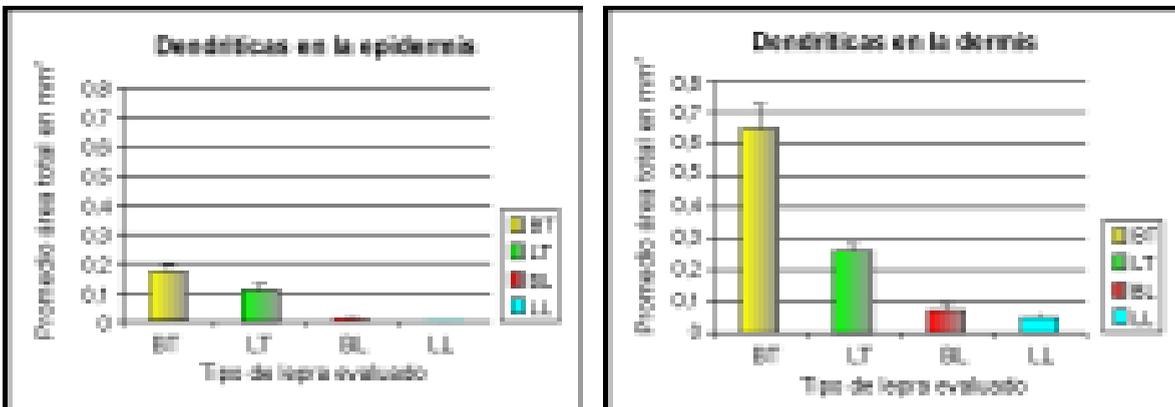


Figura 3. Comparación del área ocupada por las células dendríticas en los diferentes tipos de lepra (barra, error estándar de la media).

células dendríticas S100 positivas tanto en la dermis como en la epidermis. En esta última se incluyeron solamente células de la capa suprabasal. De cada caso, se observaron 10 campos al azar en el microscopio Zeiss Axiophot a un aumento de 80X. Estos campos se capturaron con una cámara de vídeo CCD Iris/RGB acoplada a un computador que contiene el programa de análisis de imágenes KS300 (*Kontron Elektronik System*), con el cual se realizó el procesamiento y análisis de las imágenes adquiridas.

Las imágenes fueron digitalizadas a 640 x 480 píxeles que cubre 0,03 mm² y almacenadas en formato jpg; luego, se realizó el procesamiento digital, el cual incluye: contraste de las imágenes, selección de las áreas con inmunorreactividad positiva como objetos de interés (segmentación), eliminación del ruido de fondo, calibración y medición automática de cada imagen.

Los estudios encaminados a cuantificar células dendríticas han permitido encontrar, en algunos casos, un grado de correlación entre el número de células presentes en una lesión y la posterior evolución de la misma. Así, cuantas más células dendríticas se hallen en una lesión tumoral, mejor puede ser el pronóstico (6). También se ha encontrado en las lesiones de piel ocasionadas por micobacterias una variación en el número de células de Langerhans. Éstas se encuentran en mayor proporción en el caso de pacientes con la variedad más resistente a la lepra (BT y LT) con respecto a aquéllos que presentan la variedad menos resistente (BL y LL) (7).

En este caso, el análisis morfométrico revela las diferencias entre los pacientes que presentan una mejor respuesta inmune al bacilo como lo evidencia la mayor cantidad de células dendríticas en los casos de lepra BT y LT con respecto a aquellos pacientes con lepra BL y LL. Esto se confirma con los recuentos en epidermis, en los que, aunque los melanocitos también presentan marcación, la inclusión sólo de la capa suprabasal en el recuento de células permite afirmar que

corresponden a células de Langerhans. Esta célula juega un papel muy importante en el inicio de la respuesta inmune al presentar los antígenos que penetran por piel a los linfocitos T que, luego, proliferan y se diferencian (8).

Para la detección inmunohistoquímica en tejido fijado en formol es importante tener en cuenta que la sobreexposición (más de 18 horas) a la sustancia fijadora causa una pérdida exponencial de los antígenos celulares (1).

El programa de análisis de imágenes KS300 provee una herramienta útil para determinar en las biopsias de piel de pacientes con lepra, el número y área de inmunorreactividad positiva para S100 que corresponde a células dendríticas.

Referencias

1. **Nadji M, Morales A.** Inmunoperoxidase techniques: a practical approach to tumor diagnosis. Chicago: American Society of Clinical Pathologists Press; 1994. p.41-3.
2. **Wang L, Hilliges M, Talme T, Marcusson JA, Wetterberg L.** Rearrangement of S100 immunoreactive Langerhans cells in human psoriatic skin treated with peptide T. *J Dermatol Sci* 1995;9:20-6.
3. **Vera-Sempere FJ, Rubio L, Massmanian A.** Counts and areas of S100 positive epidermal dendritic cells in atypical molluscum contagiosum affecting HIV+ patients. *Histol Histopathol* 2001;16:45-51.
4. **Jacobs J, Lehe C, Cammans K, Yoneda K, Das P, Elliott G.** An automated method for the quantification of immunostained human Langerhans cells. *J Immunol Methods* 2001;247:73-82.
5. **Valladeau J, Duvert-Frances V, Jacques J, Dezutter C, Vincent J.** The monoclonal antibody DCGM4 recognizes langerin, a protein specific of Langerhans cells, and is rapidly internalized from the cell surface. *Eur J Immunol* 1999;29:2695-704.
6. **Golman S, Baker E, Weyant R, Clarke M, Myers, Lotze M.** Peritumoral CD1a positive dendritic cells are associated with improved survival in patients with tongue carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124:641-6.
7. **Mathur N.** Epidermal Langerhans cells in subtypes of leprosy. *Int J Leprosy* 1984;52:92-3.
8. **Abbas A, Lichtman A, Pober J.** Cellular and molecular immunology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994. p.223-35.