

11201

244



**Universidad Nacional Autónoma de México**

Facultad de Medicina

División de Estudios de Postgrado

Hospital Centro Médico La Raza

**I M S S**



**ESTUDIO EXPERIMENTAL HISTOQUIMICO  
E INMUNOHISTOQUIMICO EN 550  
NEOPLASIAS**

**Tesis de Postgrado**

Que para obtener la especialidad en:

**ANATOMIA PATOLOGICA**

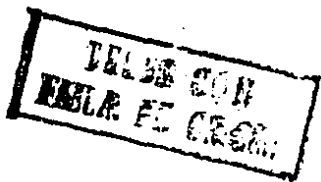
**P r e s e n t a :**

**Dra. Luz M. del C. Llanos Vega**



**IMSS**

México, D. F.



1988



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	2
MATERIAL Y METODOS .....	25
RESULTADOS .....	26
DISCUSION .....	38
CONCLUSIONES .....	50
BIBLIOGRAFIA .....	75

## RESUMEN

Se estudiaron 550 casos de tumores malignos y lesiones pre-neoplásicas con el fin de determinar o descartar su naturaleza epitelial; se escogieron como base del estudio aquellos casos a los que se les habían realizado reacciones para ACE, antígenos tumor específicos KC2, KC3 y KC4, en combinación con tinciones histoquímicas de HC y PAS. Los casos correspondieron en su mayoría a material de la Unidad de Patología del Hospital General de México SS. y de la Facultad de Medicina UNAM y parte al Departamento de Patología del Hospital Centro Médico La Raza, IMSS.

Se agruparon los casos de acuerdo a las reacciones inmunohistoquímicas y tinciones histoquímicas que se les habían realizado, luego del análisis de cada grupo concluimos que la fórmula ACE+KC4+HC+PAS es de gran utilidad en el laboratorio de patología quirúrgica para el diagnóstico de las neoplasias epiteliales malignas.

Esta fórmula puede ser aplicada a carcinomas de próstata y mama para obtener un indicador sobre el posible comportamiento biológico; cuando se utilizan las reacciones para ACE y KC4 y las tinciones de HC y PAS se obtienen mayores porcentajes de positividad en tumores epiteliales porque se complementan.

El antígeno tumor específico KC4 es frecuentemente positivo en tumores indiferenciados, aún en ausencia de positividad para ACE, dicho antígeno sirve para identificar colangiocarcinomas y se complementa verdaderamente con el HC. El papel que juega el antígeno tumor específico en carcinoma papilar de tiroides y en tumores del sistema nervioso, queda por investigarse.

El antígeno tumor específico KC4 es un excelente marcador en neoplasias epiteliales malignas metastásicas.

## INTRODUCCION

Actualmente los laboratorios de anatomía patológica se están volviendo muy complejos, debido al rápido y constante desarrollo de nuevas técnicas - que permiten la identificación más precisa y segura de un tipo celular o de un tejido, de su actividad secretora, de sustancias extracelulares o de marcadores específicos celulares.

La necesidad de la identificación precisa del tipo celular es decisiva cuando el patólogo tiene que diagnosticar y clasificar a una neoplasia, ya que el tratamiento del paciente, su pronóstico y la correlación clinicopatológica dependen de la exacta identificación de la célula o del origen de un tumor dado.

El arsenal con el que tradicionalmente ha contado el patólogo quirúrgico ha sido de técnicas histoquímicas aplicadas en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina, mientras que la detección de marcadores sofisticados, como inmunoglobulinas u hormonas, estaba relegada al laboratorio clínico para su identificación y cuantificación sérica. El reconocimiento de una célula de acuerdo a su constitución antigénica ha tenido gran éxito desde la introducción de las técnicas de inmunofluorescencia por Coons y cols. en 1941, sin embargo, las desventajas propias de la inmunofluorescencia (como son: la necesidad de un tejido congelado, el uso de microscopio de fluorescencia, la pérdida del detalle morfológico y la naturaleza transitoria de la reacción) impidieron una aplicación amplia del método, el cual permaneció limitado a laboratorios más especializados (1), creando la necesidad de un método alternativo, preciso y sensible que evitara las desventajas del método de inmunofluorescencia (2).

El desarrollo durante las últimas dos décadas de métodos que utilizan anticuerpos conjugados a enzimas, permitieron la localización celular de numerosas sustancias y se pudo reemplazar en muchas aplicaciones a la inmunofluorescencia. Se buscaron otros marcadores, además del isotiocianato de fluoresceína, de naturaleza enzimática como la peroxidasa de raíz fuerte, glucosa oxidada y la fosfatasa alcalina, que junto con diferentes sustratos demostraran los sí

tios de localización del anticuerpo unido a la enzima en los cortes del tejido. Posteriormente con la introducción del puente inmunológico de Masson y cols. (3) y el método de peroxidasa-antiperoxidasa (PAP) de Sternberger y cols. (4) se demostró que muchos antígenos característicos de tejidos normales y enfermos así como de agentes causales de enfermedades, podían ser detectados objetivamente por medio de anticuerpos específicos, originándose así formalmente la inmunohistoquímica (5). En 1974 se dió el paso final al hacer disponibles los métodos inmunohistoquímicos al patólogo quirúrgico. Este método explota la exquisita especificidad de los anticuerpos como reactivos diagnósticos, para la visualización de una gran variedad de antígenos unidos a células o tejidos, y puede ser aplicado en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina, dando una reacción permanente cuyos resultados pueden observarse con un microscopio de luz ordinaria.

#### MARCADORES CELULARES Y TISULARES

Las células tumorales pueden poseer antígenos que no son detectables o que están presentes en mínimas cantidades en las células normales. Basados en esto, los anticuerpos en el suero de pacientes o de animales inmunizados contra estos antígenos, pueden ser utilizados para discriminar entre células tumorales y normales o para detectar marcadores tumorales asociados circulantes. Para ser útiles en inmunodiagnóstico los antígenos tumorales deben ser comunes a varios tumores, al menos del mismo tipo histológico. Estudios en modelos animales han demostrado que los tumores inducidos por carcinógenos químicos y algunos tumores espontáneos tienen antígenos de tipo trasplante tumor asociados que son individualmente distintos y que no están presentes en otros tumores inducidos por el mismo agente (6).

Los marcadores tisulares representan un grupo heterogéneo de sustancias que están presentes en extractos de tejidos o en el plasma de pacientes con diferentes neoplasias. Los marcadores tumorales incluyen aquellas sustancias como: hormonas, enzimas e inmunoglobulinas que son producidas normalmente por células adultas y que están aumentadas en el suero o en los tejidos de pa-

cientes con tumores derivados de células específicas. Otro grupo de marcadores tisulares incluye a los llamados antígenos oncofetales, que son sustancias que se producen normalmente durante el desarrollo embrionario en el saco alantoideo, epitelio intestinal e hígado, pero que en general no se detectan en los tejidos adultos normales. Estos antígenos pueden expresarse de nuevo en forma discreta en los tejidos que sufren alteraciones inflamatorias y regenerativas o de manera amplia en tejidos con cambios neoplásicos. Los antígenos oncofetales más importantes son el antígeno carcinoembrionario (ACE) y la alfa feto proteína (AFP), aunque la hormona gonadotropina coriónica humana (GCH) ectópica también se ha considerado como un antígeno del desarrollo de los tejidos neoplásicos. Este grupo incluye además una variedad de hormonas e isohormonas que pueden ser sintetizadas por tumores endocrinos y no endocrinos (5).

Los avances en inmunología han permitido preparar antisueros contra los antígenos de un tejido o contra los antígenos específicos de un tumor en particular; se han llamado antígenos tumor específico o antígenos tumor asociados que son únicos para un tipo particular de neoplasia por ejemplo: melanomas, antígenos asociados a sarcoma, tumores de próstata, ovario, cervix, mama, páncreas y otros. Las áreas de mayor interés en el diagnóstico inmunohistoquímico en la patología tumoral incluyen: los estudios de varias clases de inmunoglobulinas en los tumores de origen linforeticular y en los procesos linfoproliferativos atípicos; la identificación de hormonas esteroides y polipéptidos así como sus receptores específicos en tumores endocrinos y no endocrinos; y estudios de marcadores tumorales y del desarrollo como el ACE en lesiones neoplásicas y preneoplásicas del colon y de otros tejidos. Además de los estudios sobre la caracterización de diferentes tumores, en base a la presencia o ausencia de marcadores, las investigaciones recientes se han enfocado a la pérdida o modificación de ciertos antígenos de diferenciación en biopsia y material de autopsia. Por ejemplo los antígenos de grupo sanguíneo de los eritrocitos pueden ser demostrados en muchas células epiteliales normales, por la prueba de adherencia específica de eritrocitos o por métodos de inmunoperoxidasa. La pérdida parcial o completa de estos antígenos ha sido interpretada como evidencia de dediferenciación bioquímica, la cual es paralela a la dediferenciación morfológica. En algunos casos la pérdida de estos antígenos puede observarse -

antes de que las alteraciones morfológicas sean evidentes (7). Desde un punto de vista clínico, la aplicación de estas técnicas ayudará para el diagnóstico temprano, seguimiento y pronóstico, así como para la predicción de la respuesta a varias formas de tratamiento. La aplicación de métodos inmunohistoquímicos para la solución de problemas diagnósticos en patología quirúrgica de neoplasias ha progresado considerablemente en los últimos años, en gran medida esto se debe al advenimiento de la técnica de hibridización para la fabricación de anticuerpos monoclonales (8), lo que ha permitido la producción de anticuerpos monoespecíficos. Es posible ya preparar anticuerpos que detectan grados variables de diferenciación celular específica, usando células intactas (y por lo tanto una mezcla compleja de antígenos) como fuente de los inmunógenos.

El desarrollo de la técnica de hibridomas ha dado ímpetu a los inmunólogos para definir los antígenos expresados en las células tumorales y para valorar la relevancia de estos antígenos en el comportamiento biológico de las células tumorales.

Los avances metodológicos en el campo de la inmunohistoquímica junto con la producción de anticuerpos monoclonales prometen un diagnóstico específico y cuidadoso al patólogo quirúrgico.

Numerosos anticuerpos se conocen actualmente y cada día se incrementa su número, se encuentran al alcance del patólogo hasta en "kits" comerciales (Tabla 1) (2).

#### TECNICAS BASICAS EN INMUNOHISTOQUIMICA

**INMUNOFLUORESCENCIA:** La facilidad para realizar una amplia variedad de tinciones especiales verdaderamente específicas estuvo disponible de manera potencial con el advenimiento de la técnica de inmunofluorescencia. Los primeros ensayos de estas técnicas datan de 1930, en 1933 Hopkins y también Fieser comenzaron a probar las sustancias fluorescentes con poco éxito debido a que alteraban la molécula de anticuerpo. A partir de 1941 Coons logra, utilizando



isocianato de fluoresceína, marcar antígenos neumocócicos; en 1958 Rigg y cols. desarrollan al isotiocianato de fluoresceína, compuesto muy estable que se utiliza en la actualidad.

La fluorescencia es la emisión por una sustancia de una luz de determinada longitud de onda cuando dicha sustancia es excitada por una luz de una longitud de onda diferente. La energía de una radiación es directamente proporcional a su frecuencia e inversamente proporcional a su longitud de onda. Esta es la ley de Stock y según ella la longitud de onda de la radiación absorbida - debe ser menor que la de la radiación emitida. De ahí que cada sustancia fluorescente tiene su espectro de absorción y de emisión característicos.

Existen sustancias fluorescentes naturales en algunos tejidos vegetales (ej: clorofila) y animales. Los compuestos fluorescentes artificiales o fluorocromos son moléculas orgánicas que presentan dobles ligaduras conjugadas, a los que se debe la capacidad de fluorescer; los más usados son el isotiocianato de fluoresceína, la rhodamina, el naranja de acridina, la sulfoflavina, - etc. Tienen la característica de unirse a las moléculas tisulares sin alterar su estructura, se les puede utilizar para teñir en forma directa o conjugados con anticuerpos.

En la técnica de inmunofluorescencia se combinan métodos histoquímicos e inmunológicos, utilizando anticuerpos conjugados con compuestos fluorescentes para poner en evidencia distintas sustancias (antígenos) presentes en células, tejidos, microorganismos etc.

La alta especificidad (capacidad de reaccionar con una sustancia específica) y la alta sensibilidad (demostración de pequeñas cantidades de dicha sustancia) de las técnicas inmunohistoquímicas, se deben al uso de anticuerpos, que como participan en una reacción inmunológica su eficacia estará en relación directa con la calidad y pureza de los mismos. Con estas técnicas es posible - identificar una gran variedad de productos celulares incluyendo inmunoglobulinas, hormonas, enzimas y varios antígenos oncofetales u otros marcadores tumorales. Para su aplicación existen distintas variantes técnicas que se eligen -

según los requerimientos de cada caso. Estas son: técnicas de inmunofluorescencia directa, técnica de inmunofluorescencia indirecta, técnica del complemento y la técnica de doble marcación. En el método directo el fluorocromo se conjuga directamente al anticuerpo primario, consta de un solo paso en el que se hacen reaccionar el antígeno y el anticuerpo marcado, con lo que resulta un complejo Ag/AC fluorescente. Es una técnica sencilla y muy práctica, pero de menor especificidad que los métodos indirectos y para cada antígeno se necesita el correspondiente antisuero marcado.

En la técnica de inmunofluorescencia indirecta el antígeno en estudio se hace reaccionar primero con su anticuerpo específico (Ig) no conjugado con fluorocromo, para poner en evidencia esta reacción en un segundo paso se agrega una antiinmunoglobulina fluorescente que al unirse a la primera indicará la localización del antígeno; es decir, que en un primer paso y con el primer anticuerpo se produce un complejo no visible, que se pone en evidencia en un segundo paso a través de una antiinmunoglobulina marcada. Esta técnica tiene la ventaja de que se necesita un solo antisuero fluorescente para evidenciar cualquier antígeno, tiene mayor sensibilidad por amplificación de la reacción al aumentar el número de determinantes antigénicos a los que se unirá el antisuero marcado.

La técnica del complemento es una variante de las anteriores que se utiliza cuando se cuenta con suero anticomplemento marcado. Se basa en la marcación de complejos antígeno-anticuerpo-complemento. En un primer paso se hace reaccionar al antígeno en estudio con el anticuerpo correspondiente y luego se agrega complemento para dar lugar a la formación del complejo; en un segundo paso se agrega la inmunoglobulina anticomplemento marcada y así se obtiene un producto final fluorescente.

Las técnicas de doble tinción se utilizan cuando se quiere marcar dos antígenos distintos en la misma preparación; se usa un antisuero marcado con fluoresceína y otro con rodamina. Ambos antisueros a las diluciones adecuadas se mezclan y aplican sobre el espécimen; o bien se aplican sucesivamente, primero el marcado con rodamina, que tarda más en reaccionar, y luego el conjugado

do con fluoresceína. Los demás pasos se realizan como en las otras técnicas. - Durante la observación debe tenerse en cuenta que se deben usar filtros adecuados para cada fluorocromo.

Sin embargo, la técnica de inmunofluorescencia tuvo poco impacto sobre la patología diagnóstica practicada por el patólogo quirúrgico, por las dificultades para aplicar el método en material procesado rutinariamente e incluido en parafina y por la necesidad de un microscopio para inmunofluorescencia.

Posteriormente se buscaron otros marcadores fuera del isotiocianato de fluoresceína; se utilizaron anticuerpos unidos a una enzima como la peroxidasa de raíz fuerte, glucosa oxidasa, fosfatasa alcalina, que junto con diferentes sustratos permitían la demostración del sitio de localización del anticuerpo marcado por la enzima dentro del tejido.

La peroxidasa de raíz fuerte, en conjunción con diaminobenzidina y agua oxigenada como sustrato tuvieron ventaja sobre los otros métodos, y ha llegado a usarse ampliamente.

El paso crítico final para hacer disponibles los métodos inmunohistológicos se dió en 1974, cuando se demostró que usando las técnicas de inmunoperoxidasa era posible demostrar al menos algunos antígenos en tejidos fijados.

Las técnicas inmunohistológicas han tenido un intento principal en común, alcanzar la máxima cantidad de marcación en el sitio de localización del antígeno dentro del tejido con un grado mínimo de tinción inespecífica en la porción marcada. Esto se ha intentado con varios métodos, los que describiremos a continuación.

#### METODO DIRECTO

La peroxidasa de raíz fuerte es un potente antígeno, cuando se introduce en un animal de experimentación induce una potente respuesta inmune con

la formación de anticuerpo antiperoxidasa de raíz fuerte. Esta secuencia de eventos se ha utilizado en animales de experimentación como un medio para demostrar los sitios de producción de anticuerpos en microscopía de luz y electrónica; los sitios de localización del anticuerpo antiperoxidasa en los cortes del animal inmunizado pueden demostrarse por adición de peroxidasa libre, la que se unirá específicamente al anticuerpo antiperoxidasa que se ha formado dentro de las células productoras de inmunoglobulinas.

Este método dió buenos resultados en tejidos congelados, puede ser adaptado para cortes de tejido incluido en parafina o para microscopía electrónica. Ha sido valioso para estudios ultraestructurales de los sitios de producción de las inmunoglobulinas dentro de los inmunoblastos y precursores de células plasmáticas (9) (10), pero no es aplicable en enfermedades humanas porque requiere de inmunización in vivo con peroxidasa de raíz fuerte.

#### METODO INDIRECTO

El anticuerpo primario o específico no está conjugado con peroxidasa, ésta se halla conjugada a un segundo anticuerpo, el cual está dirigido contra la inmunoglobulina del animal en el cual se obtuvo el antisuero primario o específico, de este modo el antisuero secundario se unirá al primario.

#### METODO DEL ANTICUERPO HIBRIDO

Es una técnica por la cual dos anticuerpos distintos, que tienen diferente especificidad, son divididos químicamente en dos mitades longitudinales y son recombinados entre sí, las dos especificidades distintas llegan a juntarse dentro de una molécula única (Fig. 1). La molécula hibridizada es representada como que tiene especificidad directa contra el antígeno en cuestión (ejemplo: anticonejo) y la segunda especificidad dirigida contra la peroxidasa de raíz fuerte (conejo antiperoxidasa). El anticuerpo hibridizado se

añade al corte de tejido, la especificidad anti  $\Delta$  causa unión al antígeno dentro de los tejidos, permitiendo que el anticuerpo antiperoxidasa específica se combine con la peroxidasa de raíz fuerte cuando ésta es añadida subsecuente mente. Los sitios de localización de la peroxidasa son entonces demostrados - con un sustrato cromógeno, como para cada uno de los otros procedimientos de inmunoperoxidasa.

El método tiene la ventaja teórica de una alta especificidad y es rápido; la desventaja es el problema de la preparación del anticuerpo híbrido, - particularmente la eliminación de los anticuerpos no hibridizados del reactivo final. La sensibilidad del método se considera baja y no es económico en térmi nos del uso del anticuerpo. El uso del anticuerpo híbrido ha sido bien revisa do por Sternberger (11), quien describe la preparación de anticuerpos con do ble especificidad por la recombinación de fracciones univalentes, las cuales se obtienen después de tratar con pepsina A dos anticuerpos con diferente es pecificidad.

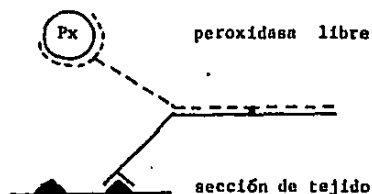


Fig. 1.- Método del anticuerpo híbrido: un sitio específico de la molécula híbrida se une al antígeno del tejido; el segundo sitio sirve para unir a la peroxidasa marcada libre (Px). (Tomado del Texto de Inmunomicroscopía de Taylor).

## METODO DIRECTO DEL ANTICUERPO MARCADO CONJUGADO

El método de ligadura de un marcador por medios químicos a un anticuerpo y aplicación directa de este conjugado marcado al tejido, ha sido ampliamente usado en inmunohistoquímica e inmunohistología. Varios marcadores se han utilizado incluyendo sustancias fluorescentes como el isotiocianato de fluoresceína, la rodamina; varias enzimas como la peroxidasa de raíz fuerte, fosfatasa alcalina, glucosa oxidasa y marcadores electrodenso como la ferritina.

En la preparación del conjugado con anticuerpo marcado la intención es ligar el mayor número de moléculas de marcador a cada molécula de anticuerpo individualmente. Es deseable que el ciento por ciento de moléculas de anticuerpo estén marcadas y ninguna se encuentre inmunológicamente inactiva por el proceso de marcación. El método conjugado directo tiene la ventaja de la rapidez y facilidad de realización; con este método la pureza del antisuero (anticuerpo) es de crítica importancia para evitar errores de interpretación al dar falsos positivos.

Este método promete ser particularmente adecuado para el uso de anticuerpos monoclonales que son verdaderamente monoespecíficos para un determinado antígeno y no contaminados con otros anticuerpos que tengan diferentes especificidades. Una de las desventajas de este método es que para detectar los diferentes antígenos es necesario aplicar por separado el anticuerpo primario apropiado. Esto puede consumir tiempo y además es un problema el precio de los anticuerpos disponibles en cantidad limitada; además este método requiere que el anticuerpo primario esté a una alta concentración, en comparación con el método indirecto en el que por lo regular los anticuerpos se usan a altas diluciones.

## METODO INDIRECTO "EN SANDWICH"

Es una modificación del método conjugado directo y tiene las siguientes

tes ventajas:

- a) Un anticuerpo único conjugado puede ser usado con algunos anticuerpos primarios diferentes para detectar distintos antígenos en varios cortes de tejido.
- b) Los procesos de conjugación solo se aplican al anticuerpo secundario, no al costoso anticuerpo primario.
- c) El anticuerpo primario puede ser usado a menudo a una alta dilución de trabajo para alcanzar una reacción útil.
- d) El anticuerpo secundario se produce en contra de la inmunoglobulina de la especie animal en la cual se prepara el anticuerpo primario, se obtiene con una alta especificidad y afinidad, hay muchos anticuerpos secundarios comerciales disponibles.
- e) El método permite un control adicional de especificidad comparado con el método directo, en el cual el anticuerpo primario específico puede ser omitido o sustituido por otro anticuerpo, lo que permite estimar la autenticidad de cualquier patrón de tinción observado. El método conjugado indirecto es el más usado en inmunofluorescencia, se utilizó mucho en inmunoperoxidasa - pero más tarde fué reemplazado por métodos con anticuerpos no marcados.

#### METODO DEL ANTICUERPO NO MARCADO

##### Técnica del Puente Inmunológico

Las desventajas del procedimiento de conjugación química, (que implican la necesidad de preparar un conjugado en el que haya mínima desnaturalización del anticuerpo y casi nada de inactivación del marcador, pero en el que se alcance un ciento por ciento de marcaje de anticuerpo), pueden ser evitadas usando técnicas en las que la porción marcada se una al antígeno únicamente -

por unión inmunológica. Este problema comienza a tener solución a partir de los trabajos de Masson y cols. (3) en 1969, con el uso del anticuerpo secundario llamado anticuerpo-puente y luego con el anticuerpo antiperoxidasa. Es decir que se emplearon anticuerpos preparados en tres anticuerpos diferentes, - dos una misma especie, los cuales se unían por medio de un anticuerpo puente derivado de una segunda especie. La molécula de peroxidasa se une al anticuerpo por una simple reacción antígeno-anticuerpo a PH fisiológico, sin que exista ninguna manipulación que pudiera alterar ni la actividad del anticuerpo ni la enzimática. Este método demostró mayor sensibilidad que los usados anteriormente, en parte debido al mayor número de moléculas de la enzima marcadora que se acoplaban al sitio antigénico. Pero subsistían algunos problemas: la reacción antígeno-anticuerpo no es una reacción unidireccional sino reversible. La separación del complejo antígeno anticuerpo en cada uno de sus componentes depende en parte del grado de afinidad del anticuerpo por la molécula de antígeno. Como el antisuero primario es usado en exceso y durante un cierto tiempo, existen mayores probabilidades de que la unión se efectúe con anticuerpos de alta afinidad de modo que no exista luego pérdida en los lavados subsiguientes a los que se deberá someter el tejido. Lo mismo es válido para el antisuero secundario y también para la unión del secundario con el terciario. Pero esta última unión no selecciona anticuerpos con gran afinidad por la peroxidasa, y en realidad gran parte de la enzima se pierde en los lavados finales. Por otro lado, la purificación del anticuerpo antiperoxidasa constituye un trabajo muy dificultoso por la excepcional fortaleza de la unión del anticuerpo con la molécula de peroxidasa aún a Ph bajo. Si se efectúa su disociación a ph cercanos a los fisiológicos, con la idea de no desnaturar el anticuerpo, aquellos que se disocian son los de más baja afinidad y aún así la cantidad recuperada es escasa. Estos problemas fueron solucionados con el método de PAP.

#### METODO DEL COMPLEJO PEROXIDASA-ANTIPEROXIDASA (METODO PAP)

Este método, uno de los más sensibles y que se origina en los trabajos de Sternberger y cols. (4), fue usado para demostrar anticuerpos anti-tré



ponema de conejo en frotis. Su alta sensibilidad permite utilizar altas diluciones de los antisueños, lo que da una menor tinción inespecífica. El principio del método es similar al del puente inmunológico. La abreviatura PAP indica el reactivo peroxidasa antiperoxidasa, que consta de un anticuerpo contra peroxidasa de raíz fuerte y antígeno de peroxidasa de raíz fuerte en la forma de un complejo inmune estable. Este complejo consta de dos moléculas de anticuerpo y de tres moléculas de peroxidasa de raíz fuerte.

El anticuerpo primario se añade al corte del tejido problema a una dilución determinada, después del lavado se agrega el anticuerpo secundario el que se unirá por competitividad al anticuerpo primario; la unión del anticuerpo secundario ocurre solamente en una de sus valencias (sitio antigénico), la segunda valencia que queda libre potencialmente es capaz de unirse específicamente con más inmunoglobulinas de la misma especie que las del anticuerpo primario lo cual puede ocurrir con la molécula de peroxidasa antiperoxidasa. Este complejo inmune es tomado específicamente por los sitios de unión libre del anticuerpo bivalente, los cuales sirven para unir el anticuerpo primario y el PAP. Por supuesto que el anticuerpo primario y el PAP son derivados de la misma especie animal.

Este método ha llegado a ser el más ampliamente usado, particularmente en cortes de tejidos procesados e incluidos en parafina, su uso en parte es debido a su especificidad y estabilidad de reactivos. Una limitación del método PAP ha sido que el anticuerpo incorporado dentro del reactivo de PAP debe ser de la misma especie animal que el anticuerpo primario. Frecuentemente éste ha sido un PAP de conejo combinado con un anticuerpo primario hecho en conejo.

#### TECNICAS INMUNOHISTOQUIMICAS QUE UTILIZAN LA INTERACCION BIOTINA-AVIDINA (METODO ABC)

En 1979 Guesdon y cols. (12) describieron dos métodos para la localización de antígenos basados en la interacción de biotina con avidina, este sistema explota la alta afinidad de unión que existe entre la biotina y la avidi-

na. La avidina es una glicoproteína con un peso molecular de 68,000 daltons, está presente en la clara de huevo, cuando se une con gran afinidad a la biotina se liga en cuatro sitios de unión. La biotina es una vitamina del grupo de la vitamina B<sub>7</sub> con un peso molecular de 244 daltons, que puede ser conjugada con la enzima peroxidasa, de modo que una molécula de peroxidasa puede ligarse a varias de biotina. Lo fundamental de este método estriba en la formación de un enorme complejo que incluye numerosas moléculas de peroxidasa, muchas más de las que se logran con las otras técnicas. Esta amplificación de la inmunomarcación otorga al método una gran sensibilidad, lo que permite trabajar con altas diluciones del anticuerpo primario Hsu y cols. (13) han desarrollado una modificación al sistema avidina-biotina, la cual puede ser usada como método directo e indirecto. En la técnica indirecta, después del anticuerpo primario se añade un anticuerpo secundario biotinilado y luego complejos preformados de avidina-biotina-peroxidasa. Este complejo sirve para depositar algunas moléculas de peroxidasa en el sitio del antígeno del tejido. El método ABC ha probado ser de mucho valor, especialmente cuando se usa el indirecto para inmunoreacción con anticuerpos monoclonales de ratón, en virtud de su alta sensibilidad.

#### MÉTODOS INMUNOHISTOQUÍMICOS QUE UTILIZAN PROTEÍNA A

Esta proteína es extraída de la pared celular del *Staphylococcus aureus* y reacciona uniéndose con gran facilidad a las fracciones Fc de las moléculas de inmunoglobulinas de numerosos mamíferos (hombre, rata, ratón, cerdo, cobayo y conejo). Esta propiedad permite utilizarla para reemplazar anticuerpos dirigidos específicamente contra el primer antígeno, o bien para actuar como puente entre por lo menos dos moléculas de inmunoglobulinas. Puede ser usada: a) la proteína A acoplada a peroxidasa puede ser utilizada como reactivo para localizar el sitio de depósito del anticuerpo y b) puede también actuar como puente entre el anticuerpo primario y la peroxidasa antiperoxidasa. Las técnicas con proteína A producen una sensibilidad de inmunoreacción similar o un poco inferior a la técnica de PAP, su desventaja es que reacciona con inmunoglobulinas intrínsecas (Ig G), por lo que producen una intensa tinción inespecífica. Por lo tanto su uso no es recomendable en tejidos que tienen

abundantes inmunoglobulinas en el intersticio o numerosas células plasmáticas dotadas de inmunoglobulina G (14).

#### MARCADORES DE CELULAS EPITELIALES

El antígeno carcinoembrionario (ACE), la queratina, el antígeno de membrana epitelial (AME), los isoantígenos de grupo sanguíneo y la alfa lacto albúmina, son sustancias que, con raras excepciones, se encuentran exclusivamente en epitelios y en tumores derivados de ellos. Los antígenos tumor específico KC2, KC3, KC4 son anticuerpos para carcinomas. El valor primordial de los marcadores epiteliales estriba en que la demostración de alguno de ellos o todos, ayudan a distinguir carcinomas indiferenciados de linfoma, melanomas o sarcomas. Otra aplicación importante de estos anticuerpos es con respecto al hecho de que los patrones de diferenciación de lesiones premalignas y malignas pueden alterar los patrones normales de diferenciación, y por lo tanto pueden encontrarse modificaciones cuantitativas y cualitativas de estos marcadores y cambios en su localización en lesiones diferentes. Usando una batería de anticuerpos contra productos de diferenciación de estos epitelios se puede llegar a una clasificación racional de las lesiones displásicas y neoplásicas, y eventualmente también ayudan a investigar la célula progenitora y el órgano de origen de los tumores poco diferenciados.

#### ANTIGENO CARCINOEMBRIÓNARIO (ACE)

El antígeno carcinoembrionario es una glicoproteína con peso molecular entre 180,000 y 200,000 daltons, es una sustancia heterogénea cuya composición de hidratos de carbono oscila del 50 al 75%, y uno de sus componentes, la N-acetil glucosamina, es parcialmente responsable de su antigenicidad. Su estructura proteica es muy constante, depende de 24 residuos de aminoácidos y posee los determinantes antigénicos específicos. Fue descubierto por Gold y Freedman en 1965 (15) (16) lo identificaron en extractos de carcinoma colorectal, en tubo digestivo fetal normal, en hígado, en páncreas y en el suero

de los pacientes con carcinoma colorectal. Después del informe inicial Gold y Freedman (17) utilizando técnicas de inmunofluorescencia demostraron que el ACE estaba situado en la superficie de las células y posteriormente con estudios ultraestructurales lo identificaron en el glicocálix (18). Inicialmente se pensó que el ACE era un marcador específico para colon fetal normal y adenocarcinoma de colon (15) (17) y que su presencia en tumores probablemente representaba expresión genética de desarrollo temprano o fetal por las células neoplásicas. Estudios subsecuentes han revelado, sin embargo, que el ACE es producido en pequeñas cantidades por una variedad de derivados endodérmicos - normales en el adulto (19), se han encontrado niveles elevados de ACE en asociación con diversos tumores malignos no gastrointestinales, así como en padecimientos no neoplásicos como colitis ulcerativa e ileocolitis granulomatosa (20) (21) (22) (23) (24) (25).

Pascal y cols (26) informaron reacciones positivas para ACE en una serie de casos de carcinoma broncogénico, en estos casos la reacción positiva estuvo confinada a las áreas tumorales antes que a los tejidos adyacentes al tumor. Recientemente se ha llamado la atención sobre la presencia de concentraciones séricas elevadas de ACE en pacientes con tumores primitivos con origen en la cresta neural, incluyendo neuroblastomas y retinoblastomas (27) (28). En una pequeña serie de pacientes con retinoblastoma los niveles séricos de ACE bajaron significativamente después de la enucleación e irradiación sugiriendo, que el tumor era el responsable de la producción de ACE (28).

Se piensa que el antígeno carcinoembrionario es sintetizado normalmente en grandes cantidades solo por tejidos fetales, por lo que su presencia en tumores probablemente representa una expresión genética de desarrollo celular temprano o fetal por las células neoplásicas. La exacta implicación biológica y diagnóstica de la distribución de ACE en una neoplasia dada no se conoce, la íntima relación entre ACE y la diferenciación celular en tumores humanos aún no ha sido aclarada en detalle.

El hecho de que el ACE no es cualitativamente único para cáncer implica que no puede ser usado como un marcador de desdiferenciación, pero puede

ser usado como marcador biológico de actividad de la enfermedad; con técnicas de inmunoperoxidasa se identifican a los pacientes cuyos tumores contienen altos niveles de ACE y ellos son por lo tanto quienes se beneficiarían de determinaciones subsecuentes del ACE en el plasma. Así la inmunohistoquímica parece ofrecer al clínico un simple y rápido medio para determinar cuales casos definitivamente requieren regulares y repetidas determinaciones séricas de ACE.

#### ANTIGENOS DE REACCION CRUZADA NO ESPECIFICA

Hay muchas glicoproteínas normales o antígenos semejantes al ACE y que están presentes en las células y tejidos normales, que muestran reacción cruzada con los anticuerpos anti-ACE debido a sus epítopes correspondientes. Los principales antígenos de reacción cruzada son el NCA (29), glicoproteína normal (NCP), CCA-II (30), BGPI (glicoproteína biliar I) (4) y el NCA<sub>2</sub> (31). La presencia de estos antígenos en tejidos normales, con lesiones benignas (31) - (32) (29) (33) (34) (35) (36) y con transformación maligna (37) (38) (39) hacen difícil o imposible interpretar la inmunoreacción para ACE, porque el suero anti-ACE contiene también los anticuerpos de reacción cruzada.

Se puede asegurar la especificidad de un anticuerpo luego de la estandarización de la preparación del anticuerpo y del intercambio de los anticuerpos entre diferentes investigadores para pruebas. La mayoría de las preparaciones comerciales de anticuerpo contra ACE contienen considerables cantidades de anticuerpos de reacción cruzada, y no son adecuados para su uso en inmunohistoquímica sin la apropiada adsorción en polvo de bazo de ratón. Nap y cols. (40) demostraron que con la adsorción previa de los antiseros anti-ACE para remover toda la actividad anti-NCA cambian considerablemente los patrones de inmunoreacción que se observan antes de la adsorción. Como una guía para buscar la presencia posible de actividad contra NCA, se debería observar la positividad en los granulocitos en los vasos sanguíneos, si la positividad está presente es probable que el anticuerpo anti-ACE contenga significativa reactividad también contra NCA.

## ANTIGENOS DE GRUPO SANGUINEO

La identificación de los antígenos de grupo sanguíneo es de importancia en oncología clínica ya que ciertos grupos sanguíneos han sido asociados con neoplasias malignas, esto se ha documentado especialmente en neoplasias gástricas en pacientes con grupo sanguíneo A, y observaciones similares se han informado para otras neoplasias (41) (42). Recientemente se ha dicho que la expresión de los antígenos de grupo sanguíneo en la superficie de las células neoplásicas se asocia con largas sobrevividas especialmente en cáncer de vejiga (43) (44) (45). La presencia de antígenos del grupo sanguíneo en el urotelio y en el cáncer de vejiga se demostró inicialmente utilizando métodos de adherencia de células rojas. Con la disponibilidad de anticuerpos monoclonales para antígenos ABO (H), es posible demostrar antígenos A, B en cortes de tejido por técnicas de inmunoperoxidasa. El método trabaja bien en grupos A, B, y pacientes AB, pero hay aún dificultades con el grupo O (los tumores aparecen como falsos negativos) debido a la baja expresión del antígeno O (H). Ernst y cols. (46) detectaron antígeno A, B en epitelio normal de la vejiga, estómago y páncreas, en colon proximal, otros han reportado antígenos ABO (H) en el epitelio del esófago, vesícula biliar, en riñón, trompa de Falopio y cervix. Ernst observó falta de antígeno en el carcinoma de vejiga, colon, páncreas y estómago. Interesantemente el colon distal, el cual habitualmente es ABO (H) negativo en el cáncer frecuentemente (85%) llega a ser positivo.

Los antígenos del grupo sanguíneo que han recibido mayor atención entre los patólogos quirúrgicos son el A, B, H (O) (47), se han identificado en tejidos fetales y adultos normales (48), en lesiones benignas (49) y en un amplio espectro de neoplasias primarias y metastásicas (50) (51) (52).

## ANTIGENOS TUMOR ESPECIFICOS KC2, KC3 y KC4

Aproximadamente en 1980 la compañía Coulter Immunology decidió obtener antígenos específicos del carcinoma cervicouterino para crear anticuerpos específicos contra dichos antígenos. La idea de crear estos antígenos serviría

para tratar de sustituir a la citología exfoliativa cérvico vaginal por una prueba más sencilla y confiable. Se creía que si se contaba con los anticuerpos, éstos después de marcarlos podrían servir para unirlos específicamente a células descamadas en una ducha vaginal, que al pasarlas por un citómetro de flujo serían detectadas por el aparato y su computadora. De esta manera la paciente se podría hacer su propio lavado vaginal, lo enviaría al laboratorio y la prueba se esperaba que fuera altamente específica. Otra aplicación de los antígenos específicos del carcinoma cérvico uterino, se pensaba que podría ser por medio de su detección en el suero sanguíneo con los anticuerpos específicos o buscando los mismos anticuerpos por medio de los antígenos. Sin embargo las cosas resultaron muy diferentes, se detectaron tres fracciones antigénicas que correspondieron a glicoproteínas, que se demostró no correspondían a ACE, a las que se les denominó KC2, KC3 y KC4. Contra estas tres fracciones de antígeno tumor específico se crearon los anticuerpos monoclonales correspondientes, los anticuerpos obtenidos se probaron con todo tipo de tejidos normales - por medio de técnicas de inmunoperoxidasa y se encontró que en general los resultados eran negativos excepto en caso de que hubieran cambios de hiperplasia o displasia; también se probaron por medio de técnicas de inmunoperoxidasa - (sistema ABC) los mismos anticuerpos contra todo tipo de neoplasias -epiteliales, mesenquimatosas, malignas y benignas- y los resultados fueron casi siempre positivos en las neoplasias epiteliales malignas. Algunas neoplasias epiteliales benignas resultaron positivas y excepcionalmente algunas neoplasias mesenquimatosas también dieron resultados positivos. Por lo tanto, la compañía Coulter Immunology concluyó que los antígenos tumor específico KC2, KC3 y KC4 no eran específicos de carcinoma cervicouterino, sino que eran específicos de tumores en general preferentemente epiteliales y malignos. Teniendo en consideración que los resultados más intensos y constantes se obtuvieron con el antígeno tumor específico KC4, se decidió solamente utilizar esta fracción antigénica para producir anticuerpos monoclonales en forma comercial (53).

#### ANTIGENO DE MEMBRANA EPITELIAL (AME)

Las células epiteliales de la glándula mamaria humana en su estado

más diferenciado funcionalmente, son capaces de la síntesis y secreción de leche. Los glóbulos grasos de leche son secretados por un proceso de pinocitosis contraria, están rodeados por una membrana epitelial adquirida de la porción apical de las células de la glándula mamaria (54). Se ha visto que la membrana de los glóbulos grasos de leche, aislada de la leche desgrasada, son inmunógenos altamente efectivos para la producción de anticuerpos mono y policlonales específicos (55) (56). Inicialmente se creyó que estos sueros poliespecíficos reaccionarían únicamente con el epitelio de la mama (55), sin embargo - posteriormente se demostró inmunoreactividad contra epitelios simples normales de otros sitios como páncreas, estómago, intestino, glándulas salivales, conductos biliares, endometrio, trompas de Falopio, tracto urinario y respiratorio y glándulas sudoríparas (57) (58). En cambio el epitelio escamoso normal, hepatocitos, tejidos derivados de neuroectodermo y del mesénquima, gónadas, tejido linfohematopoyético y hematopoyético fueron negativos. No se ha determinado su naturaleza química aún, estudios disponibles hablan de que no es una molécula única, sino tal vez un grupo de moléculas con alto peso molecular, bajo contenido proteico, alto contenido de carbohidratos (casi el 50%) y un alto contenido de material inorgánico. El antígeno reconocido por los anticuerpos anti-AME parece que es distinto de los reconocidos por anticuerpos para ACE, - alfa lactoalbúmina, proteína del fluido de la enfermedad fibroquística, el componente secretorio de la Ig A y la muramidasa (57).

La inmunoreactividad para AME queda bien preservada en tejidos fijados e incluidos en parafina (58), es de gran ayuda para establecer una derivación epitelial en neoplasias poco diferenciadas, y es útil para definir la naturaleza epitelial de los tumores, incluyendo aquellos con patrones de crecimiento con células fusiformes y los carcinomas anaplásicos de células pequeñas.

Estudios iniciales de tejidos humanos y neoplásicos, usando anticuerpos policlonales anti-membrana epitelial, demostraron patrones de inmunoreactividad relacionados con la histogénesis y el grado de diferenciación (58) (59) (60).



### ALFA LACTOALBUMINA

Es una proteína de la leche que se sintetiza únicamente en las células epiteliales de la mama (61) (62) (63) y que puede ser útil como marcador de diferenciación epitelial de la glándula mamaria. Por técnicas de inmunoperoxidasa se ha detectado en cortes de tejido de carcinomas de mama y en sus metástasis (64) (65) (66) (67). Estudios con hibridización han demostrado una porción antigénica determinante para alfa lactoalbúmina en el carcinoma de la mama (68). Se ha sugerido una relación entre la positividad para alfa lactoalbúmina y la presencia de receptores estrogénicos, pero esto aún es controversial. La lactoalbúmina parece ser de valor limitado, ya que su síntesis y su secreción dependen de la estimulación hormonal durante el embarazo avanzado y la lactancia. La experiencia de investigadores revela alarmantes discrepancias en sus positividades en carcinoma de mama, fluctuando entre 0%, 100% en carcinoma lobular y 75% en otros tipos de carcinoma. Tales resultados traducen la heterogeneidad del antisuero empleado, su uso e interpretación deben ser tomados con precaución.

### FILAMENTOS INTERMEDIOS

Los filamentos intermedios son una familia de proteínas relacionadas con la diferenciación del citoesqueleto, están presentes virtualmente en todas las células eucarióticas; se describieron durante los primeros estudios de microscopía electrónica de la estructura celular, por lo que se vio que tenían un tamaño intermedio entre los microtúbulos y los microfilamentos. Aunque la expresión de los filamentos intermedios parece estar regulada por el desarrollo, su función no es conocida; se cree que tienen función en el equilibrio y soporte de la célula, en la motilidad, organización intracelular, interacción entre célula y célula y en la regulación de eventos celulares tal como la mitogénesis (69). Recientemente han sido reconocidos como una familia de elementos intracelulares dinámicos.

Hay cinco clases de filamentos intermedios química y antigénicamen-

te distintivos, cuya expresión está relacionada con la embriogénesis de células. La citoqueratina que es expresada por las células epiteliales, la vimentina que está en las células del mesodermo y de origen neuroectodérmico, la desmina que se encuentra en las células miógenas, la proteína ácida gliofibrilar y los neurofilamentos que son expresados por las células de origen neuroectodérmico.

La expresión de los filamentos intermedios está relativamente bien conservada durante la transformación maligna, y debido a su distinta distribución celular ellos son muy importantes en la identificación y clasificación de tejidos normales y malignos. Estos filamentos miden entre 8 y 12 nanómetros. La mayoría de las células adultas normales contienen solo un tipo de filamento intermedio (excepto algunas células musculares que contienen vimentina y desmina y algunas células epiteliales de las glándulas salivales y del riñón que contienen vimentina y queratina). Los filamentos intermedios pueden ser usados como marcadores para determinar el origen embriológico de los tejidos y en algunos casos para definir el tipo de célula o el estado de diferenciación de una célula, hallazgo particularmente útil en la identificación de tumores de origen desconocido. Sin embargo la expresión de los filamentos intermedios puede cambiar cuando la célula metastatiza (vimentina-citoqueratina, coexpresión en las células epiteliales malignas presentes en el líquido pleural o ascítico), y cuando los tumores crecen en cultivos (pierden su expresión de proteína ácida gliofibrilar los gliomas en cultivo). Con el uso de anticuerpos monoclonales para los filamentos intermedios se alcanza mayor precisión.

#### QUERATINA

La citoqueratina es uno de los filamentos intermedios más complejos, pertenece a una familia de proteínas intracelulares insolubles en el agua cuyo peso molecular varía entre 40,000 y 68,000 daltons. Se han identificado al menos 19 proteínas diferentes (70) las que se expresan en varias combinaciones en las células epiteliales. Las queratinas de bajo peso molecular predomina-

minan durante la embriogénesis temprana y en la división celular de la piel - (71) (72); la maduración de las células epidérmicas se acompaña de un incremento en el peso molecular de la queratina (73) (74). El epitelio escamoso - estratificado contiene principalmente queratinas de alto peso molecular, mientras que el epitelio simple y glandular contienen frecuentemente queratinas de bajo peso molecular. Las diferentes clases de queratina son expresadas por varios epitelios y los patrones característicos de una célula epitelial dada generalmente son retenidos en las neoplasias derivadas de ellas y en sus metástasis, a menudo sin tomar en cuenta el grado de diferenciación.

Existen muchos anticuerpos monoclonales anti-citoqueratina por ejemplo: KGB.13 (queratina general de ratón 8, híbrido 13) (75); Ker A; híbrido ma clona 80 del callo humano (76) (77) que no dan inmunoreacción con células mioepiteliales; el anticuerpo monoclonal 3B BetaH11 (78) reconoce virtualmente todos los epitelios no escamosos; los anticuerpos monoclonales AE1, AE2 y AE3 (79) en combinación reconocen todas las queratinas epidérmicas humanas y muchas células epiteliales simples que expresan solo polipéptidos de citoqueratina entre 40-46 y 52 Kd; el CK1 y CK4 (76) reaccionan solo con epitelios no escamosos.

Los anticuerpos monoclonales son muy útiles para distinguir los carcinomas de los sarcomas y para subclasificar los tumores epiteliales y sus metástasis, ya que se reconocen los patrones de citoqueratina característicos de un epitelio específico.

#### TINCIONES HISTOQUIMICAS

La histoquímica ordinaria permite identificar productos de células y tejidos por medio de reacciones químicas específicas, las cuales al ser positivas producen o fijan una sustancia cromógena que sirve de marcador. Entre los productos intracelulares que pueden identificarse histoquímicamente están los mucopolisacáridos, queratina, glucógeno, melanina, grasas, mielina, gránulos - neuroendócrinos, ciertas hormonas, etc. Entre los productos extracelulares la

colágena, reticulina, fibras elásticas, membrana basal, amiloide, calcio, hemo siderina, etc. En la práctica al demostrar mucopolisacáridos se pueden diagnosticar adenocarcinomas, mesoteliomas y liposarcomas; identificando melanina nevos y melanomas, sarcoma de células claras y al progonoma melanótico; al demostrar gránulos neuroendócrinos con tinciones de plata se pueden diagnosticar tumores de la familia de los carcinoides, así como el carcinoma medular de tiroi des, feocromocitomas, quimiodectomas, neuroestesioblastomas y tumores pancreáticos de células A y gástricos de células B; al demostrar glucógeno por ejemplo en un tumor primario de un niño se apoya el diagnóstico de sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, hepatoblastoma y tumor de células pequeñas toracopulmonar. Las tinciones como la de hierro coloidal y PAS pueden demostrar las glicoproteínas de un carcinoma, que con inmunohistoquímica probarán ser antígeno carcinoembrionario o antígeno tumor específico KC4 (80). El antígeno carcinoembrionario contiene al menos el 50% de carbohidratos y deberá ser PAS positivo diastasa resistente. Con métodos histoquímicos puede anticiparse la existencia de antígeno carcinoembrionario o antígeno tumor específico KC4.

#### MATERIAL Y METODOS

Se revisó en los archivos del laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, SS y de la Facultad de Medicina de la UNAM, el material (laminillas e informes) que correspondió al período comprendido entre el 10. de enero de 1984 y el 30 de marzo de 1988; para coleccionar todos aquellos casos de tumores y lesiones preneoplásicas que fueron estudiados para tratar de determinar o descartar su naturaleza epitelial. Todos los casos fueron estudiados con técnicas de inmunoperoxidasa, con la técnica de PAP (4) y con el sistema biotina-avidina (13) revelado permanente en diaminobenzidina y contraste con hematoxilina de Harris. Los anticuerpos primarios que se usaron fueron de tipo comercial: contra el antígeno carcinoembrionario (ACE) fué de la marca Dako, contra los antígenos tumor específico KC4, KC3 y KC2 fue de la casa Coulter Immunology. Todos los reactivos que se usaron para las reacciones de KC2, KC3 y KC4 nos fueron proporcionados gratuitamente en su fase experimental por el Dr. Kenneth H. Kortright, Gerente general de

Coulter Immunology. Nuestro agradecimiento por tan generosa ayuda.

En algunos casos (33%) se complementaron los estudios con tinciones histoquímicas de hierro coloidal de Hale (HC) y ácido peryódico de Schiff (PAS).

Se colectaron 550 casos, a los que se agrupó de acuerdo a las reacciones inmunohistoquímicas y tinciones histoquímicas que se les habían practicado, de la siguiente manera:

Grupo I	ACE, KC4, PAS, HC
Grupo II	ACE, KC4
Grupo III	ACE
Grupo IV	KC4
Grupo V	KC3
Grupo VI	KC2
Grupo VII	ACE, PAS, HC
	KC4, PAS, HC
	ACE, PAS
	ACE, HC
	KC4, HC

## RESULTADOS

Los resultados de este estudio no pueden ser analizados en conjunto, precisamente porque los diferentes grupos de casos descritos en Material y Métodos no se estudiaron con la misma metodología. Por lo tanto los resultados de cada grupo serán analizados independientemente.

## GRUPO I: ACE, KC4, PAS, H.C.

Con esta metodología se estudiaron 180 casos, de los cuales 149 (83%) correspondieron a neoplasias epiteliales malignas, 23 (13%) a neoplasias malignas mesenquimatosas y 8 (4%) a tumores malignos no clasificados. Los casos se subclasificaron de acuerdo al diagnóstico histológico y la positividad se evaluó en base a la inmunoreacción a uno o ambos anticuerpos y a una o ambas tinciones. Se estudiaron 33 hepatocarcinomas que presentaron una positividad del 70%; 26 tumores metastásicos con 88%; 17 carcinomas de próstata con 77%; 16 hepatoblastomas con 38%; 14 colangiocarcinomas con 85%; 10 carcinomas de tiroides con 40%; 8 tumores malignos no clasificados con el 12%; 4 carcinomas de colon con 100%; 7 carcinomas de cervix con 100%; 3 adenocarcinomas de vesícula con 100%; 3 carcinomas de mama con 100%; 2 carcinomas de estómago con 100%; 2 carcinomas de ovario con 100%; 4 carcinomas neuroendócrinos con un 25%; 3 tumores rabdoides con un 67%; 5 tumores ginecológicos con un 40% de positividad; en el carcinoma de riñón, mesoteliomas, carcinoma de vejiga y ependimomas se alcanzó un 50% de positividad. La reacción fue negativa para los linfomas, sarcomas, melanomas (Tabla No. 2).

## GRUPO II: ACE, KC4

Se estudiaron 29 casos tanto con antígeno carcinoembrionario (ACE) como con antígeno tumor específico KC4, los resultados logrados se resume en la Tabla 3. La positividad que se alcanzó fue de 70% en los tumores metastásicos, 60% en tumores de próstata, 50% en carcinoma de páncreas. Las reacciones fueron negativas en los tumores malignos no clasificados y en los carcinomas indiferenciados.

## GRUPO III: ACE

Se practicaron técnicas de inmunoperoxidasa para antígeno carcinoembrionario solamente en 62 neoplasias malignas y en 13 condilomas de cervix, -

obteniéndose los siguientes resultados: un 50% de positividad en tumores metastásicos; 100% en carcinoma de cérvix, 100% en carcinoma de colon y 100% en condiloma atípico de cérvix. La reacción resultó negativa en carcinoma de pulmón, sarcomas y tumores malignos no clasificados (Tabla 4).

#### GRUPO IV: KC4

En 29 tumores malignos y en 23 lesiones benignas se utilizó antígeno tumor específico KC4, se obtuvo una positividad del 100% en los carcinomas epidermoides; 93% en carcinoma de cérvix, 68% en condiloma atípico de cérvix y 25% en cervicitis crónica. La reacción fue negativa en linfomas, sarcomas, melanomas (Tabla 5).

#### GRUPO V: KC3

Con este antígeno se estudiaron 108 casos de tumores, la positividad obtenida se resume en la tabla 6. Se obtuvo un 80% de inmunoreacción positiva en cáncer de cérvix; 73% en carcinoma de colon; 66% en carcinoma de estómago; 50% en carcinomas de mama, ovario tiroides y en los carcinomas epidermoides. La reacción fue negativa en linfomas, sarcomas, melanomas.

#### GRUPO VI: KC2

Ciento siete tumores se procesaron con técnica de inmunoperoxidasa para antígeno tumor específico KC2. En carcinoma de endometrio se alcanzó positividad del 100%; en carcinoma de colon 80% en carcinoma de cervix 75%; en neoplasias del sistema nervioso central 66%; en cáncer de estómago 66%; en carcinoma papilar de tiroides, carcinoma de mama, carcinoma de vesícula biliar y en carcinomas metastásicos 50%; en carcinoma de próstata 34%; y en sarcomas 8%. La reacción fue negativa en las neoplasias testiculares, carcinomas epidermoides, melanomas, linfomas, hepatocarcinoma y tumores malignos no clasificados.

ficados (Tabla No. 7).

GRUPO VII: ACE, PAS, HC; KC4, PAS, HC; ACE, PAS; ACE, HC; KC4, HC.

A este grupo correspondieron 16 casos en los que se realizaron tinciones y reacciones, sin que se llegara a conformar un grupo homogéneo. Se consideró positivo un caso cuando una reacción inmunohistoquímica resultó positiva.

Los hepatocarcinomas, el carcinoma de la próstata y el cordoma tuvieron una positividad del 100%; en los carcinomas metastásicos 66%; los sarcomas, carcinoma anaplásico de glándula salival, mesotelioma, carcinoma basocelular, linfoma de testículo y tumor maligno no clasificado fueron negativos (Tabla No. 8).

Al agrupar las neoplasias de acuerdo al diagnóstico histopatológico se formaron los siguientes grupos:

CARCINOMA DE ESTOMAGO E INTESTINO

Se estudiaron 10 neoplasias malignas de estómago, de las cuales 9 eran adenocarcinomas (dos poco diferenciados, un mucosecretor, uno de células en anillo de sello y cinco moderadamente diferenciados); tres de cuatro dieron una reacción intensamente positiva para ACE; dos de tres reaccionaron positivamente para KC4; uno de dos fue PAS positivo; dos de dos fueron positivos para HC; y cuatro de cinco fueron positivos para KC2 y KC3. El patrón de inmunoreacción del ACE se localizó tanto en el citoplasma celular como en el glicocálix y en el contenido luminal. El patrón de inmunoreacción para KC4 se localizó preferentemente hacia el glicocálix. Las tinciones de PAS y de hierro coloidal fueron intensamente positivas en el adenocarcinoma de células en anillo de sello, en cambio solo fue positiva la reacción para HC en un adenocarcinoma moderadamente diferenciado. Una lesión no clasificada de estómago resultó negativa tanto para ACE como para KC4.



## NEOPLASIAS MALIGNAS DE INTESTINO

Se estudiaron 17 casos, 10 adenocarcinomas de colon, 3 adenocarcinomas de recto, 1 adenocarcinoide de fleon, 1 sarcoma inmunoblástico y 2 carcinomas epidermoides anorectales. Se procesaron 10 adenocarcinomas de colon: para ACE se alcanzó un 100% de positividad, la reacción más intensa (+++) se observó en un adenocarcinoma bien diferenciado de colon; con antígeno tumor específico KC4 se obtuvo el 66% de positividad; las tinciones de HC y PAS fueron positivas en los tres casos estudiados. Para antígenos tumor específico KC2 y KC3 se obtuvieron positivities de moderadas a intensas (++, +++) en los adenocarcinomas poco y moderadamente diferenciados; en cambio la reacción resultó negativa para los dos anticuerpos en el adenocarcinoma bien diferenciado que resultó intensamente positivo para ACE. De recto se procesaron 3 adenocarcinomas, dos moderadamente diferenciados y uno mucinoso, uno moderadamente diferenciado fué positivo para ACE (+) y el otro fué intensamente positivo para KC2 (+++) y moderadamente positivo para KC3 (++) . El adenocarcinoma mucinoso fué KC2 negativo y KC3 moderadamente positivo (++) . Los carcinomas epidermoides ano-rectales fueron estudiados con antígenos tumor específicos KC2 y KC3, resultaron 100% positivos para KC2 y 50% para KC3. El adenocarcinoide de fleon fue positivo para ACE, KC4, PAS, KC2 y KC3, pero resultó negativo para HC. El sarcoma inmunoblástico fué positivo para cadenas ligeras kappa y negativo para ACE, KC2, KC3 y cadenas ligeras lambda.

La localización de inmunoreactividad fue tanto en la luz glandular como en el glicoclix y en el citoplasma de las células neoplásicas, en los adenocarcinomas poco diferenciados se identificaron ocasionales células positivas en el estroma (Tabla 9).

## CARCINOMA DE LA VESICULA BILIAR

Se estudiaron 8 casos, 7 de los cuales fueron ACE positivos, la reacción resultó más intensa en un adenocarcinoma bien diferenciado (++) . Para KC4 se estudiaron 4 casos, todos resultaron positivos. Tinciones de PAS y HC

se hicieron en tres casos las que resultaron positivas. Para KC2 y KC2 se estudiaron dos casos, uno fué intensamente positivo (+++) y el otro (el adenocarcinoma bien diferenciado que resultó moderadamente positivo para ACE) resultó negativo. El adenocarcinoma de vesícula negativo para ACE resultó positivo para KC4 (+++), PAS (+), HC (+) y citoqueratina (++) .

#### CARCINOMA DE PANCREAS

Se estudiaron 5 casos, la inmunoreacción para ACE fué positiva en el 60%; para antígeno tumor específico KC4 la reacción fué del 60%; con PAS se tiñó un solo carcinoma indiferenciado que resultó positivo; la tinción de HC fué negativa en los dos casos estudiados. También se realizaron reacciones para queratina y gonadotropina coriónica humana, las cuales fueron negativas. El anticuerpo contra queratina se utilizó en el caso del carcinoma indiferenciado que fué ACE (-) y KC4 (+). La gonadotropina coriónica se usó en el caso de carcinoma de páncreas que resultó positivo para ACE y KC4 (Tabla 11).

#### TUMORES MALIGNOS PRIMARIOS DE HIGADO

Se estudiaron 36 hepatocarcinomas, 17 hepatoblastomas y 15 colangiocarcinomas. En los hepatocarcinomas las reacciones dieron un 72% (26/36) de positividad para ACE, un 29% (10/35) para KC4, un 76% (26/34) para PAS y 17% (6/35) para hierro coloidal; para KC2 y KC3 las reacciones fueron negativas. En los hepatoblastomas 41% (7/17) fueron positivas para ACE, 6.2% (1/16) para KC4, 6.2% (1/16) para la tinción de PAS y un 56% (9/16) para la de hierro coloidal; las reacciones para KC2 y KC3 también fueron negativas. En los colangiocarcinomas la reacción para ACE fue positiva en un 66% (10/15); para KC4 en 85% (12/14), para PAS en un 85% (12/14) y para hierro coloidal en un 92%.

Otras reacciones. En tres hepatocarcinomas se realizó inmunoreacción para buscar alfa 1 antitripsina, la cual dió un 66% de positividad; en los mismos 3 hepatocarcinomas se realizaron reacciones para alfa feto proteí-

na (AFP), resultaron dos negativas y una positiva. En un hepatoblastoma resultó la alfa 1 antigripina positiva y la alfa feto protefna negativa. En otro hepatoblastoma se realizaron reacciones para cromogranina y enolasa que resultaron negativas (Tabla 12).

#### CARCINOMA DE TIROIDES

Se estudiaron 17 carcinomas tiroideos, 7 de tipo papilar dieron una reacción negativa para ACE, en 4 se obtuvo reacción positiva para KC4; todos los casos dieron positiva la tinción de PAS y en 3 hubo positividad para el HC. Con KC2 se alcanzó un 75% de positividad y con KC3 un 60%. Se procesaron 4 carcinomas foliculares que fueron negativos tanto para ACE como para los anticuerpos tumor específico KC2, KC3 y KC4. El PAS fue positivo en dos casos y el HC dió positividad en un caso. Sólo se examinó un caso de carcinoma medular que resultó positivo para ACE.

Otras reacciones. El carcinoma medular también dió reacción positiva para la calcitonina. El carcinoma folicular que fué negativo para ACE, KC2, KC3 y KC4, resultó positivo para tiroglobulina y negativo para calcitonina y somatostatina. Otro carcinoma folicular fué ACE negativo, calcitonina negativo y tiroglobulina débilmente positivo; el carcinoma etiquetado como insular resultó ACE y KC4 negativo y tiroglobulina positivo (Tabla No. 13).

#### CARCINOMA DE LA GLANDULA MAMARIA.

Se estudiaron 15 casos. Un carcinoma canalicular infiltrante resultó positivo para ACE, KC4, PAS y HC. Para KC2 y KC3 se obtuvo 60% de positividad con 10 carcinomas infiltrantes. Un carcinoma mucinoso fué negativo para KC2 y KC3. Un carcinoma metaplásico también fué negativo para KC2 y KC3. Un carcinoma apócrino mostró reactividad positiva para ACE y KC4. Un carcinoma indiferenciado fue positivo para KC4, PAS y HC, en este tumor también se realizaron reacciones para cromogranina y enolasa neurona específica que resulta

ron negativas (Tabla No.14).

#### CARCINOMA DE PULMON

Se estudiaron 3 carcinomas epidermoides con KC2 y KC3 que resultaron positivos (100%). Un carcinoma indiferenciado fué negativo para ACE, y un adenocarcinoma a células gigantes resultó positivo para ACE, KC4, PAS, HC y negativo para citoqueratina (Tabla No.15).

#### MESOTELIOMAS

Se estudiaron 8 casos. Un mesotelioma epitelial resultó ACE y KC4 negativo, hierro coloidal negativo, PAS positivo y queratina positivo. De los dos mesoteliomas pleurales el primero fué ACE (-) y queratina (+) y el segundo fué ACE (+) y queratina (-). Cuatro mesoteliomas peritoneales fueron negativos para ACE y KC4, uno de ellos fué positivo para queratina. Un mesotelioma de la vaginal testicular resultó negativo para ACE y positivo para KC4 y queratina - (Tabla No. 16).

#### CARCINOMA NEUROENDOCRINO

Cinco carcinomas neuroendócrinos fueron negativos para ACE, en un caso se obtuvo positividad, el PAS también fué positivo en un caso, pero el HC - fué negativo en todos. En cuatro casos se realizaron además reacciones para una neurona específica, se obtuvo un 75% de positividad; en tres casos se hizo reacción para proteína S100 y sólo fué positiva en un caso (33%). En dos casos la reacción para citoqueratina resultó negativa (Tabla No. 17).

## TUMORES GINECOLOGICOS

Se estudiaron 64 casos. Un carcinoma de células claras de vagina fue positivo para ACE, KC4, PAS y HC; un carcinoma in situ de vulva resultó negativo para ACE y PS100; carcinoide vulva fue negativo para ACE, KC4, PAS y HC y positivo para enolasa obtuvo un 86% de positividad para ACE, 88% para KC4, 75% para PAS, y 25% para HC. En 21 casos de carcinoma epidermoide invasor de cervix se obtuvo un 66% de reacción para KC2, 75% para KC3, 50% para ACE, 92% para KC4, 100% para PAS, HC; el caso positivo para ACE fue también positivo para queratina. Se estudió también un caso de un carcinoma adenoescamoso que fue positivo para ACE y KC4 y citoqueratina; 3 casos de adenocarcinoma de cervix fueron ACE, KC4, KC3 y KC2 positivos; un adenoacantoma fue ACE positivo; un carcinoma adenoescamoso de endometrio fue KC2 positivo y KC3 negativo; otro carcinoma adenoescamoso de endometrio fue KC2 y KC3 positivo; un tumor mixto mulleriano fue KC2 y KC3 negativo; otro tumor mixto mulleriano resultó ACE y KC4 positivo, pero la citoqueratina y la mioglobina fueron negativas. Dos cistadenocarcinomas mucinosos de ovario resultaron ACE positivo el uno y KC2, KC3 positivo el otro; 3 cistadenocarcinomas serosos de ovario dieron un 66% de positividad para KC2 y KC3; 2 casos de carcinoma epidermoide de ovario resultaron positivos para KC2 y KC3; de 2 carcinomas endometrioides el primero fue KC2 y KC3 negativo y el segundo fue ACE y KC4 positivo; un adenocarcinoma poco diferenciado resultó ACE positivo; un tumor de células de la granulosa fue KC2 y KC3 negativo; un tumor de células de Sertoli-Leydig resultó KC2 y KC3 negativo; un sarcoma de ovario fue KC2, KC3 y KC4 negativo; y un carcinoide fue ACE negativo y KC4 positivo, mientras que la enolasa neurona específica y la cromogranina fueron positivas (Tabla No. 18).

## LESIONES PRENEOPLASICAS

Se estudiaron 13 condilomas atípicos con displasia para buscar inmunoreacción para ACE, todos fueron positivos; en 19 condilomas se buscó KC4 y en 13 (68%) los resultados fueron positivos (Tabla 19).

### CARCINOMA DE RIÑÓN Y VEJIGA

Se estudiaron 6 casos, 4 neoplasias de riñón y dos de vejiga. En el carcinoma renal de células claras se alcanzó un 50% de positividad para KC2 y KC3; un carcinoma de pelvícula fue positivo para ACE y negativo para KC4, HC y PAS; un carcinoma anaplásico de riñón fue ACE negativo y KC4 positivo. En el carcinoma de células trasicionales de vejiga se obtuvo un 50% de positividad para ACE y 0% para KC4 (Tabla No. 19).

### TUMORES DE TESTICULO Y PENE

Se estudiaron 9 casos. Dos seminomas fueron negativos para KC2 y - KC3; 3 carcinomas embrionarios resultaron negativos para KC2 y KC3; un tumor de senos endodérmicos fue negativo para ACE y positivo para alfa feto proteina; otro tumor de senos endodérmicos fue negativo para KC2 y KC3; un teratoma inmaduro fue negativo para KC2 y KC3; un carcinoma de pene resultó ACE negativo y KC4 positivo (Tabla No. 20).

### CARCINOMA DE PROSTATA

Se analizaron 35 casos de carcinomas de la próstata. Con ACE se alcanzó un 62% (16/26) de positividad, con KC4 un 75% (21/28), con PAS 63%; un 73% con hierro coloidal y con KC3 y KC2 un 66% (2/6). En 25 casos se realizaron reacciones para antígeno prostático, se obtuvo un 100% de positividad (Tabla 21).

### CARCINOMA EPIDERMÓIDE

Se estudiaron 12 casos. Un carcinoma epidermoide de la boca resultó negativo para KC2 y KC3; dos carcinomas epidermoides de fosa nasal dieron un

50% de positividad para ACE y KC4; dos carcinomas de antro maxilar alcanzaron un 50% de positividad para KC2 y KC3; un tumor anaplásico de glándula salival fué negativo para KC2 y KC3, en este se realizó también una reacción para ACE que resultó negativa; un tumor mixto maligno de glándula salival fué intensamente positivo para ACE y negativo para queratina; un carcinoma de conductos de parótida fué débilmente positivo para ACE y KC4; un tumor mixto maligno de glándula salival fué ACE, KC4, PAS y HC positivos; un carcinoma epidermoide de antebrazo fué ACE, KC4 y PAS positivos; un carcinoma epidermoide de talón fué KC4 y queratina positivos. El carcinoma de antebrazo también resultó queratina y citoqueratina positivo (Tabla No. 22).

#### CARCINOMAS DE PIEL

Se estudiaron 11 casos. Un carcinoma epidermoide resultó ACE, KC4 y queratina positivos; 3 carcinomas basocelulares resultaron ACE, KC4, KC2 y - KC3 negativos; 7 carcinomas de glándulas sudoríparas resultaron positivos para ACE (Tabla No. 23).

#### TUMORES METASTASICOS

Se analizaron 63 tumores que se agruparon según el órgano al que han bñan metastatizado. De 5 carcinomas metastáticos en pleura y pulmón 3 fueron ACE positivos, 3 resultaron KC4 positivos, los 3 fueron PAS positivos y dos - positivos para HC. En uno de los casos ACE positivos la queratina resultó negativa; en el segundo, que fué positivo para ACE y KC4, el antígeno prostático resultó negativo; el tercero que fué intensamente positivo para ACE y KC4, resultó negativo para antígeno prostático y citoqueratina; en el último que fué ACE negativo la queratina fué positiva y la alfa feto proteína negativa.

De carcinoma metastático a ganglio linfático se colectaron 13 casos, para ACE se obtuvo positividad de un 69% (9/13) y para KC4 de 77% (7/9). Dos casos que fueron positivos para ACE también fueron positivos para calcitonina;

a cinco casos se les realizaron además reacciones para tiroglobulina, de las cuales solo una resultó positiva (1/5); un caso que fué ACE negativo resultó AFP positivo; en un caso que fué ACE positivo y KC4 negativo la queratina resultó positiva; otro caso que fué ACE Negativo y KC4 positivo también fué positivo para queratina.

De carcinomas metastásicos a hígado se analizaron 9 casos: para ACE se obtuvo una positividad de 62% (5/8), para KC4 de 100% (5/5); para KC2 y - KC3 de 33%. A un caso que fué ACE negativo se le realizó AgP que fué negativo; otro caso que fué ACE y KC4 positivo, para queratina fue negativo; y al último caso que fué ACE y KC4 positivo al investigarle alfa feto proteína la reacción fué positiva. Los resultados de otros tumores metastásicos se pueden ver en la Tabla No. 24.

#### TUMORES MALIGNOS NO CLASIFICADOS

Se analizaron 17 casos y en todos el ACE fué negativo. El KC4 resultó positivo en un tumor maligno de cuello 7% (1/14). Además se realizaron reacciones para tiroglobulina, antígeno prostático que resultaron negativas. Al único caso que fue positivo para KC4 se le realizó citoqueratina que resultó positiva y PS100 que fué negativa (Tabla No.25).

#### SARCOMAS

Se estudiaron 20 casos. Un fibrohistiocitoma maligno resultó negativo para ACE, lisozima y queratina; de 7 sarcomas sinoviales 6 fueron negativos para ACE, KC4, PAS y HC, sólo uno resultó positivo para KC2 y KC3; dos sarcomas osteogénicos, un schwannoma maligno y un liposarcoma mixoide resultaron negativos; para KC2 y KC3; 6 rhabdiosarcomas embrionarios fueron negativos para ACE, KC4, KC2 y KC3, en uno de ellos la mioglobina resultó positiva; un condrosarcoma embrionario fué negativo para KC4; un sarcoma no clasificado resultó negativo para ACE y KC4 (Tabla No. 26).



### TUMOR RABDOIDE

Se estudiaron 3 casos que proporcionaron los siguientes resultados: ACE negativo (0/3); KC4 positivos el 66% (2/3); PAS positivos los tres; HC positivos 2/3 (66%), Vimentina 2/3 (66%) y negativos para mioglobina los tres. (Tabla No. 27).

### MELANOMAS

Se estudiaron 7 casos de melanoma, todos resultaron negativos para KC4, KC2 y KC3, uno fue positivo para ACE (Tabla No. 28).

### LINFOMAS

Se revisaron 11 casos de linfomas, unos u otros fueron negativos para ACE, KC4, KC2 y KC3. Dos linfomas histiocíticos verdaderos fueron alfa 1 - antitripsina positivos (Tabla No. 29).

### TUMORES DEL SISTEMA NERVIOSO

Se estudiaron 7 casos. Dos astrocitomas dieron un 50% (1/2) de positividad para KC2 y KC3; de 2 meningiomas el primero fué KC2 positivo y KC3 negativo, el segundo fué ACE negativo; un ependimoma resultó ACE negativo, KC4 positivo, PS100 positivo y PAGF positiva; un neuroestesioblastoma fue ACE negativo y queratina negativo; un cordoma resultó KC4 positivo y alfa 1 antitripsina positivo (Tabla No. 30).

### DISCUSION

Este estudio presenta la primera evidencia inmunohistoquímica de com

plementación entre los resultados de las inmunoreacciones para el antígeno carcinoembrionario (ACE) y para el antígeno tumor específico KC4, con la combinación de las tinciones histoquímicas de HC y PAS en tumores epiteliales. No se encuentra en la literatura informe alguno relacionado con esta metodología.

Sobre la localización del ACE en los tejidos por medios inmunohistoquímicos, ha habido una considerable variación en los informes publicados, la presencia de ACE se ha identificado en muchos tejidos de origen endodérmico y en sus neoplasias; por lo que la identificación de ACE en una neoplasia maligna prácticamente establece que es de origen epitelial y se utiliza en inmunohistoquímica para el diagnóstico diferencial con los linfomas, melanomas, sarcomas, tumores del sistema nervioso (5).

Muchos informes han aparecido desde la primera descripción del ACE por Gold y Freedman (15) (16), que originalmente se enfocó a detectar niveles séricos de ACE en pacientes con neoplasias malignas, principalmente colorectales. Sin embargo, uno de los problemas del ACE para su uso clínico ha sido la falta de especificidad, la cual es causada en parte por una expresión variable en neoplasias y por su reacción cruzada con otros antígenos o grupos antigénicos. En cuanto al antígeno tumor específico KC4 se sabe que es un marcador monoclonal de carcinomas que está aún en investigación. Inicialmente se creyó, que el ACE y el antígeno tumor específico KC4 eran el mismo antígeno; por lo que se practicaron reacciones inmunohistoquímicas con hígado y piel normales, que se conoce tienen ACE en los canalículos biliares y en las glándulas sudoríparas. La reacción para KC4 fue negativa en ambos sitios y positiva, como debe ser, para ACE. Esto demostraba que los dos antígenos eran diferentes. Sin embargo, como ambos antígenos son glicoproteínas de alto peso molecular pueden ser teñidas con tinciones de HC y PAS. Por lo tanto, lo lógico era practicar las reacciones para buscar ACE y KC4 en un conjunto de tumores que podrían ser positivos o negativos a las tinciones de HC y PAS. Los resultados iniciales rápidamente demostraron que ambos marcadores se presentaban en los tumores de estirpe epitelial, que las reacciones podrían ocurrir positivas por separado o positivas simultáneamente, siempre en presencia de positividad de las tinciones histoquímicas de HC y PAS, y que por lo tanto se trataban de reacciones

complementarias para antígenos diferentes de células principalmente epiteliales (53).

En este estudio se analizan 550 casos de tumores y lesiones preneoplásicas, en los que se investigó su naturaleza epitelial aplicando como metodología básica los estudios de inmunoperoxidasa para buscar ACE y KC4 y las tinciones de HC y PAS. Describiremos por separado nuestros hallazgos y comentarios. La presencia de ACE en el cáncer de estómago y colon ha sido frecuentemente reconocida, inicialmente hubo optimismo ya que se creía que la determinación de los niveles séricos de ACE podrían ayudar a la detección temprana del carcinoma de colon, sin embargo, se encontraron niveles elevados en pacientes con otros tumores y en condiciones no neoplásicas. En carcinoma gástrico se alcanzaron en este estudio porcentajes parecidos a los informados en la literatura (66/75%), los antígenos tumor específico KC2 y KC3 no fueron positivos en los adenocarcinomas bien diferenciados. En carcinoma de colon el ACE resultó intensamente positivo en los adenocarcinomas bien diferenciados, lo que correlaciona bien con lo expresado por algunos autores (81) (82) (83). Con KC4 se alcanzó un 66% de inmunoreactividad, porcentaje que se eleva cuando se analiza en conjunto con el ACE, lo que quiere decir que el KC4 es un marcador menos útil en carcinoma de colon y estómago cuando se le utiliza individualmente.

Los patrones de distribución de la inmunoreactividad del ACE, en este grupo de tumores correlaciona bien con los informados en la literatura, aunque muestra considerable variación porque no es uniforme en todas las glándulas tumorales (81) (82) (83) (84). Según unos autores el patrón de inmunoreacción sugiere síntesis diferencial del antígeno y simplificación del mismo por las células tumorales (83) (84). La inmunoreacción del ACE en tejidos de colon y recto es de valor estrictamente limitado para el diagnóstico de cáncer, aunque es cierto que la reactividad intensa para ACE en el citoplasma de todas las células debería ser altamente sugestivo de malignidad, estos hallazgos deberían ayudar al diagnóstico que se hace sobre bases citológicas. Por otro lado, la falta de reactividad para ACE no comprueba la naturaleza benigna de una lesión. Sin embargo, Isaacson y Le Van (22) llegaron a la conclusión de que la -

positividad para ACE en colon indica malignidad, carcinoma in situ o premalignidad. Hasleton y cols. (85) piensan que la inmunoreacción para ACE en pólipos de colon y recto representa malignidad funcional previa a la evidencia histológica, la pérdida de la distribución apical debería reforzar este punto de vista. Según O'Brien y cols. (86) la falta de inmunoreacción en las formaciones glandulares de un carcinoma hace menos probable que sea de origen colorectal.

En los casos estudiados de adenocarcinoma de recto el ACE fué débilmente positivo en los tumores moderadamente diferenciados, en cambio KC2 fué intensamente positivo. Para el adenocarcinoma mucinoso KC2 no fué útil, pero ayudó a identificar los carcinomas epidermoides anorrectales (100%).

En carcinoma de vesícula biliar los métodos inmunohistoquímicos tienen poco uso práctico, ya que la mayoría de los tumores de vesícula son fácilmente identificables por los patólogos (87), la reacción para ACE permite la separación de carcinomas pleomórficos de células gigantes de los sarcomas, porque estos últimos no contienen ACE. Hay poca información sobre la presencia de ACE en la vesícula biliar, De Boer y cols (88) lo demostraron en cuatro casos de colecistitis crónica con metaplasia glandular y en 2 de 3 adenocarcinomas. Albores y cols. (89) revisaron 8 lesiones de vesícula biliar, observaron mayor intensidad de la reacción en adenocarcinomas bien diferenciados. En adenocarcinomas de células claras el ACE fué positivo, así como en un caso de carcinoma epidermoide puro especialmente en las áreas queratinizadas. Por tanto la distribución de ACE en mucosa normal, inflamatoria, preneoplásica y con carcinoma muestra el patrón observado en lesiones similares de colon (81) (82) - (83) (84).

Se analizaron 8 casos de carcinoma de vesícula biliar, la reacción para ACE resultó más intensa en los adenocarcinomas bien diferenciados, los antígenos tumor específicos KC2 y KC3 fueron negativos en el adenocarcinoma bien diferenciado; KC4 fué intensamente positivo cuando ACE resultó negativo, probablemente porque el antígeno tumor específico KC4 reacciona más en los adenocarcinomas menos diferenciados.

En carcinoma de páncreas la positividad para ACE se encuentra a menudo, pueden expresar ACE en un 50% de los casos, pero la reacción positiva no facilita la separación entre el carcinoma de origen pancreático y el colónico, gástrico, mamario, pulmonar o de otros órganos. En los casos analizados se alcanzó un 60% de positividad para ACE y KC4; el KC4 fué positivo en el carcinoma indiferenciado y negativo en el citadenocarcinoma seroso. Probablemente en neoplasias de páncreas el antígeno tumor específico KC4 sea útil en la identificación de tumores indiferenciados.

En Hígado la separación entre tumores benignos y malignos, y entre tumores primarios y secundarios, puede ser a veces muy difícil. El uso de técnicas inmunohistológicas puede ser aplicado ya sea para reconocer el tumor primario o metastásico, para detectar deficiencia de alfa 1 anti-tripsina o para detectar antígenos del virus de la hepatitis B.

En el estudio de Koelma y cols. (90) solo los anticuerpos contra ACE pudieron discriminar entre tumores primarios hepáticos y metastásicos. Las características de inmunoreacción del ACE y uno de sus antígenos de reacción cruzada glicoproteína biliar I (BGPI), los ayudó a identificar al 80% de los tumores del hígado y separar a los tumores primarios de los metastásicos. Según Koelma y cols. el patrón de reacción de los canalículos biliares es debido a reacción cruzada con el BGPI y puede usarse como parámetro diagnóstico si se utiliza ACE no absorbido y además anticuerpo anti-ACE monoespecífico. Si un patrón "pseudoglandular" de hepatocarcinoma se encuentra, la ausencia de ACE apoyará su origen hepatocelular, mientras que la positividad para el ACE en la superficie luminal de las estructuras glandulares probará su origen metastásico.

Los resultados de Roncalli y cols. (91) muestran semejanza con los de Koelma y cols, aunque difiere en su interpretación de que el ACE es el antígeno responsable del patrón de reacción de los canalículos biliares en tejido hepático normal y displásico así como en los hepatocarcinomas.

Según Rodríguez-Martínez y cols. (92) los canalículos biliares del hígado normal y del hígado con prácticamente todos los padecimientos tienen - el ACE como marcador inmunohistoquímico, lo que no sorprende, ya que se ha detectado ACE en bilis, aunque su producción se ha atribuido al epitelio de - las vías biliares y a la excreción hepática. El ACE en canalículos biliares - contribuye a la identificación de hepatoblastomas epiteliales y de carcinoma hepatocelular, el ACE marca a los colangiocarcinomas como a los demás adeno- carcinomas.

En la serie de casos colectados de hepatocarcinoma obtuvimos un 72% de positividad para ACE y un 29% para KC4; KC2 y KC3 fueron negativos. En hepatoblastomas la positividad fue para ACE 41%, KC4 6.2%, KC2 y KC3 negativos. Para el colangiocarcinoma la positividad fue para ACE 66% y KC4 85%.

Las tinciones histoquímicas parecen ser muy útiles en colangiocarci- noma (85% y 92%); la tinción de HC es intensamente positiva en hepatoblastomas (56%). Estos hallazgos son similares a los ya descritos (92), corroboran lo ya expresado anteriormente en el sentido de que KC4 sirve para identificar co- langiocarcinoma y que la tinción de HC demuestra a las glicoproteínas donde se encuentra el ACE y KC4. Tal vez convendría aclarar que los antígenos tumor es- pecíficos KC2 y KC 3 no fueron útiles para el diagnóstico de neoplasias hepáti- cas primarias y metastásicas.

En neoplasias tiroideas se ha informado positividad para ACE única- mente en el carcinoma medular, su presencia sugiere que la producción de ACE en el carcinoma medular no es iniciada por la carcinogénesis sino que refleja una función de las células C normales, aunque la carcinogénesis puede tener - alguna influencia en la localización y cantidad de ACE en las células con car- cinoma y en la secreción de ACE hacia el torrente sanguíneo. Es probable que la síntesis de ACE esté restringida a la fase de crecimiento de las células C, como Drawinko y cols. (93) lo encontraron en cultivos de células de carci- noma de colon humano. La relación entre la localización de ACE y la síntesis de calcitonina, su almacenamiento y secreción permanecen desconocidas, estu- dios en pacientes con carcinoma medular sin embargo sugieren que la estimula

ción de la secreción de calcitonina no tiene efectos en la concentración sérica de ACE (94), la célula C es la primera célula del sistema APUD que se ha confirmado que tiene actividad de ACE. En carcinomas papilar, folicular y otros no se ha encontrado inmunoreactividad para ACE.

En la serie revisada para esta investigación el carcinoma folicular resultó negativo para ACE, KC2, KC3 y KC4. El carcinoma papilar fue ACE negativo, pero los antígenos tumor específicos KC2 (76%), KC3 (60%), KC4 (57%) fueron positivos. Esta positividad en este tipo de tumor queda por explicarse, acaso dan estos antígenos reacción cruzada con algún antígeno del carcinoma papilar, o pueden ser catalogados como específicos de esta variedad de carcinoma tiroideo (?). En un carcinoma medular en el que se investigó el ACE fue positivo.

El ACE inmunohistoquímicamente es positivo en tejido mamario menos a menudo que en colon, la intensidad de la reacción y el porcentaje de células positivas también es menor. La reactividad informada varía entre el 30-90% en la mayoría de los casos. Aún en casos aceptados como positivos el porcentaje de células inmunoreactivas es bajo (10/30%). El carcinoma in situ y el lobular en raras ocasiones son positivos, el carcinoma ductal infiltrante comunmente es positivo.

Shousha y cols. (95) obtuvieron un 66% de inmunoreacción positiva en los tumores malignos de la mama, mientras que las lesiones benignas fueron negativas. En su trabajo relacionaron la positividad para ACE y el grado de malignidad así como la capacidad de metastatizar, el 40% de los tumores positivos para ACE mostraron ganglios metastásicos, en comparación con el 8% de los negativos para ACE. Posteriormente Shousha y cols. (96) en un estudio retrospectivo correlacionaron la ausencia de ACE con un buen pronóstico, independientemente de la presencia o no de metástasis, del tratamiento post-operatorio y del tipo histológico de tumor. De modo que la detección de ACE en carcinoma de la mama puede ser útil en la predicción del comportamiento biológico. Comparando los resultados de Goldenberg y cols. (83) (97) con los de Shousha y cols. (95) (96) y con los de Heyderman y cols. (98) se encuentra que son contradictorios,

pero las discrepancias se pueden atribuir a la sensibilidad del método.

En los casos revisados para esta investigación el carcinoma canalicular infiltrante fué positivo para ACE Y KC4 (100%), así como para KC2 y KC3 (60%). El carcinoma mucinoso fué negativo para KC2 y KC3; el carcinoma indiferenciado fué intensamente positivo para KC4 y negativo para ACE. Nuevamente podemos concluir que KC4 es útil para identificar carcinomas indiferenciados, y que KC2 y KC3 son negativos en carcinomas mucinosos. En cuanto a carcinomas in situ convendría realizar algunas inmunoreacciones para compararlas con las de la literatura.

El ACE está presente en una variedad de carcinomas de pulmón y puede ser demostrado por técnicas inmunohistoquímicas. Pascal y cols. (26) estudiaron 58 lesiones pulmonares y hallaron que en la mayoría de los adenocarcinomas se detectaba ACE, pero que ésta no se presentaba en carcinomas epidermoides. Los carcinomas epidermoides bien diferenciados mostraron ACE en las áreas queratinizantes y en las zonas de neoplasia intraepitelial epidermoides; la explicación a esto es que como la mucosa bronquial es un derivado endodérmico el hallazgo de ACE en el carcinoma broncogénico in situ es probablemente una aberración química temprana de estas células transformadas. Aceptando que los cambios morfológicos intraepiteliales en el epitelio bronquial son un estado de la evolución del carcinoma broncogénico, entonces los cambios morfológicos subsecuentes durante la invasión pueden correlacionar con la síntesis de ACE. Los tumores que se indiferencian pueden perder la capacidad para sintetizar antígeno oncofetal. Una explicación alterna para el hallazgo de ACE o material parecido a ACE en las áreas epidermoides queratinizantes, es que el ACE tiene reacción cruzada con la queratina o con precursores de la queratina, cosa que creemos poco probable. En los casos estudiados el carcinoma epidermoide de pulmón resultó positivo 100% para KC2 y KC3, mientras que el carcinoma indiferenciado fué ACE, KC2 y KC3 negativo; los resultados son similares a los de la literatura.

Frecuentemente es difícil distinguir los mesoteliomas de los adenocarcinomas, para tratar de distinguirlos se ha usado la histoquímica. Kanorstein



y cols. (99) demostraron que la predigestión con hialuronidasa podía disolver un material intracitoplasmático, intraluminal e intercelular que se tiñe con hierro coloidal en los mesoteliomas. Por inmunolectroforesis de homogenizados de mesoteliomas se ha identificado que casi todos los glicosaminoglicanos obtenidos corresponden a ácido hialurónico, por lo tanto se ha sugerido a este procedimiento como útil para distinguir el adenocarcinoma del mesotelioma (100). La ausencia de inmunoreactividad para ACE puede ayudar a diferenciar a los mesoteliomas de los tumores de pulmón derivados del endodermo. Corson y cols. (101) informaron que la mayoría de los mesoteliomas que ellos estudiaron fueron ACE negativos, aunque algunos dieron reacción débil y moderada; según ellos sus resultados pueden proporcionar un criterio diagnóstico para la identificación cuidadosa de los mesoteliomas. Por ejemplo, en los mesoteliomas mixtos predominantemente sarcomatosos, el componente epitelial puede ser mal definido y el diagnóstico dudoso. El reconocimiento de un componente epitelial ayuda a establecer la presencia de un patrón bifásico y confirma el diagnóstico de un mesotelioma mixto sarcomatoso y epitelial.

En los casos analizados sólo un mesotelioma pleural fué positivo para ACE, y un mesotelioma de la vaginal testicular fué positivo para KC4, el HC en ambos casos resultó negativo. Posiblemente el KC4 tenga alguna significación en mesoteliomas, se necesitaría estudiar otros casos y comparar con la tinción de HC. En los carcinomas neuroendócrinos el ACE resultó negativo y el KC4 fué positivo en un caso (25%), el mismo en el que la enolasa neuronal específica fué intensamente positiva. No hay mayor experiencia con carcinoma neuroendócrino.

Ciertos tumores del aparato genital femenino tienen probabilidad de expresar actividad para ACE, se ha detectado en cortes de neoplasias cervicales y en el suero de las pacientes afectadas (100, 103). La literatura, sin embargo, contiene datos contradictorios, por ejemplo en lesiones preinvasoras el ACE se ha informado negativo (83) y positivo hasta en un 60% (104). En carcinoma invasor la positividad tisular ha variado de 45-85% (97, 104, 105). Lindgren y cols. (104) observaron incremento en la positividad para ACE en relación con la severidad de la neoplasia cervical, se observaron 25% en dis-

plasia moderada, 37% en displasia severa, 60% en carcinoma in situ y carcinoma epidermoide estadio I, 80% en carcinoma invasor (estadio II). Nuestros datos indican que al utilizar ACE y KC4 complementariamente en displasia leve se alcanza 68% de positividad, en carcinoma in situ un 87% y en carcinoma invasor un 100%, la metodología utilizada puede influir sobre esta variación. Se ha visto que hay poca diferencia en la expresión de ACE en neoplasias intraepiteliales de cervix, comparándolas con las invasoras. En adenocarcinoma de endocervix ACE y KC4 mostraron 100% de positividad, lo cual es similar a lo informado por Wahlstrom (106) y Fenoglio y cols. (107). Sus positivities varían entre 80-100%. Según estos autores los resultados pueden ayudar a determinar la naturaleza de una neoplasia poco diferenciada que puede ser de endocervix o de endometrio, un adenocarcinoma que es ACE Positivo es más factible que sea de origen endocervical antes que endometrial. Según Shevchuk y cols. (108) los tumores de Brenner son los que más probabilidades tienen de expresar ACE, los dos casos estudiados en nuestra serie fueron ACE Y KC4 negativos.

En tumores de ovarios los resultados inmunohistoquímicos son muy variables, diferencia que puede ser atribuible a la diferencia en el método y a la especificidad del anticuerpo. en los casos analizados en este estudio los cistadenocarcinomas serosos fueron positivos para KC2 y KC3 (66%); en cistadenocarcinomas mucinosos las reacciones fueron positivas para ACE, KC2 y KC3 (100%). Heald y cols. (109) refieren un 27%, Rutanen y cols (110) 29%, Marchand y cols. (111) 38%, sin embargo Goldenberg y cols. (102) y Puri y cols. (112) encontraron negatividad. Las discrepancias en los resultados pueden deberse a los tipos de antígenos y a la metodología utilizada, probablemente la complementación entre ACE Y los antígenos tumor específicos aumente nuestro porcentaje de positivities. El tumor endometriode clásico expresa ACE aunque en menor proporción que en el cistadenocarcinoma mucinoso, Heald (109) encontró un 75%. Los casos estudiados fueron KC2 y KC3 negativos y ACE y KC4 positivos (100%). Los tumores del estroma ovárico generalmente son ACE negativos, la determinación de ACE puede ser útil para diferenciar los tumores estromales de los adenocarcinomas poco diferenciados.

El carcinoma de células claras del riñón resultó positivo para KC2 y

y KC3 (50%); el carcinoma de la pelvis resultó ACE positivo KC4 negativo; el carcinoma anaplásico fué ACE negativo y KC4 positivo; el carcinoma de células transicionales mostró 50% de positividad para ACE. Los resultados son similares a los descritos en la literatura, Jautzke y Altheaehr encontraron un 57% de positividad para ACE en carcinoma de células transicionales, se ha visto que la positividad se incrementa con el incremento de la malignidad.

En seminoma testicular no se ha informado positividad para ACE, Jacobsen y cols. (113) demostraron que los seminomas son ferritina positivos y AFP, GCH, alfa 1 antitripsina y ACE negativos. Los carcinomas embrionarios - también son ACE negativos; en los teratomas puede encontrarse positividad para ACE dentro del epitelio de tipo gastrointestinal; los tumores de senos endodérmicos son ACE negativos. Los casos analizados fueron negativos tanto para ACE como para KC2 y KC3.

Un carcinoma de pene fué ACE negativo y KC4 positivo lo mismo que tumor paratesticular que resultó KC4 positivo; no se puede concluir que utilidad preste el antígeno KC4 en estas lesiones.

La proporción de carcinomas prostáticos que dan inmunoreacción para ACE varía enormemente en los diferentes estudios, de menos del 10% al 80% y más. Es probable que esto sea explicable por la posibilidad de que el antígeno anti-ACE tenga reacción cruzada con el anti-NCA. Purnell y cols. (114) - describieron actividad anti-NCA en casi el 50% de casos, la mayoría un ausencia de actividad anti-ACE. Algunos creen que los tumores positivos para ACE de esta región del cuerpo, son más probablemente una extensión de un tumor - primario de colon que un primario de próstata.

La serie de casos revisados para esta investigación mostraron reactividad positiva para ACE 62%, KC4 75%, PAS 63%, HC 73%, y para KC2 y KC3 66%. A algunos casos se les investigó antígeno prostático que alcanzó un 71% de positividad. Rodríguez-Martínez y cols. (115) han demostrado que la presencia de KC4, ACE, PAS y HC en tumores prostáticos, se observa con más frecuencia en pacientes que van a tener una corta sobrevida.

El ACE ha sido utilizado en el diagnóstico diferencial de los tumores de los anexos de la piel. Los tumores de las glándulas sudoríparas son ACE positivos, mientras que otros tumores de los anexos son negativos. El ACE comunmente se encuentra en los carcinomas epidermoides, pero no en los carcinomas basocelulares. En los casos revisados aquí los hallazgos son similares.

Uno de los mayores desafíos en el diagnóstico histológico es para determinar el sitio de origen de los tumores metastásicos poco diferenciados, el patólogo quirúrgico frecuentemente se enfrenta con el problema de clasificar a los tumores metastásicos o de origen desconocido. Las tinciones histoquímicas han probado ser de algún valor en algunos casos, como la demostración de material PAS positivo o mucina en sospecha de adenocarcinoma, o el uso de tinciones de plata en el melanoma, o de verde metil pironina frente a un linfoma B, etc. Sin embargo, estos tipos de tinciones frecuentemente son insuficientes cuando se necesita definir el tipo de célula o tumor (2). El advenimiento de la inmunohistoquímica promete claras ventajas por la precisa definición del tipo de célula que escapa al reconocimiento morfológico, actualmente hay una gran cantidad de anticuerpos disponibles poli y monoclonales.

El criterio morfológico, correlacionando con la historia clínica del paciente y varias tinciones histoquímicas, es un pre-requisito para tener una guía en cuanto a qué reacciones inmunohistoquímicas a realizar ante la sospecha de una u otra lesión. Hay muchas alternativas con las que juega el inmunopatólogo, que desde luego son para cada caso y a su mejor criterio.

En la serie que se revisó con motivo de este trabajo, se colectaron 63 casos de tumores metastásicos, en estos casos el antígeno tumor específico sí parece tener mucho valor, ya que aún considerándolo como único marcador fue positivo en casi el 100% de tumores estudiados, excepto en tumores metastásicos a ganglio (77%), a la pared de vejiga (0%), y a hueso (33%). Cuando se complementan la reacción es para ACE y KC4 y con las tinciones de HC y PAS, se logra concluir que la metástasis es de origen epitelial. KC2 y KC3 resultaron buenos marcadores de tumores del tubo digestivo.

En melanomas, sarcomas, linfomas y tumores del sistema nervioso todos los informes existentes demuestran negatividad para ACE, razón por la que el ACE puede ser considerado como un marcador epitelial. En el grupo de tumores analizados para esta investigación los resultados fueron negativos, excepto en dos tumores del sistema nervioso que resultaron positivos para KC2, - KC3 y KC4. Queda aún mucho por investigar en cuanto a los antígenos tumor es pecíficos y sus probables reacciones cruzadas.

#### CONCLUSIONES

1. Cuando se utilizan las reacciones para ACE Y KC4 y las tinciones de HC y PAS, se obtienen mayores porcentajes de positividad en tumores epiteliales porque hay complementación.
2. El antígeno tumor específico KC4 es un marcador epitelial "excelente" para tumores metastásicos.
3. El antígeno tumor específico KC4 frecuentemente es positivo en tumores indiferenciados, aún en ausencia de positividad para ACE.
4. El antígeno tumor específico KC4 sirve para identificar colangiocarcinoma, se complementa verdaderamente con la tinción de HC.
5. Los antígenos tumor específicos KC2 y KC3 pueden ser útiles como marcadores de carcinoma epidermoide del pulmón.
6. Los antígenos tumor específicos KC2 y KC3 son útiles solo en tumores bien diferenciados del tubo digestivo, aunque siempre son negativos en tumores mucinosos.
7. El papel que juega el antígeno tumor específico KC4 en carcinoma papilar de tiroides y en tumores del sistema nervioso, queda por investigarse.

8. La fórmula ACE + KC4 + HC + PAS es de gran utilidad en el laboratorio de patología quirúrgica para el diagnóstico de las neoplasias epiteliales ma lignas.
9. La combinación ACE + KC4 + HC + PAS puede ser aplicada a carcinomas de próstata y mama para obtener un indicador sobre el posible comportamiento biológico.
10. Para obtener mejores y más claros resultados falta homogeneidad en los gru pos de casos estudiados, aunque el estudio fue retrospectivo.

TABLA 1  
 ANTICUERPOS USADOS PARA LA DEMOSTRACION DE ANTIGENOS EN TEJIDOS  
 INCLUIDOS EN PARAFINA

HORMONAS

ACTH

GH

LH

LTH

FSH

TSH

Parathormona

Calcitonina

Tirosina

Tioglobulina

Gonadotrofina coriónica humana

Beta-gonadotrofina coriónica h.

Testosterona

Estradiol

Progesterona

Insulina

Glucagon

Somatostatina

Polipéptido intestinal vasoactivo (VIP)

Gastrina

Secretina

Motilina

Neurotensina

Colecistoquinina

Renina

Vasopresina

Ocitocina

Neurofisiina

Bombesina

RECEPTORES

Proteína receptora de transferrina

Proteína receptora de estrógeno

OTROS COMPONENTES TISULARES

Laminina

Fibrinectina

Colágena

Proteína amiloide A.

OTROS COMPONENTES CELULARES

Lisozima (muramidasa)  
Lactoferrina  
Transferrina  
Ferritina  
Hemoglobina A  
Hemoglobina F  
Mioglobina  
Actina  
Miosina  
Queratina  
Alfa 1 antitripsina  
Alfa 1 anti-quimotripsina  
Alfa feto protefna  
Antígeno carcinoembrionario (ACE)  
Antígeno de membrana epitelial (AME)  
Antígeno hepatorenal  
Antígeno pancreático  
Antígeno contra melanoma  
Fosfatasa ácida prostática  
Antígeno prostático específico  
Proteína ácida gliofibrilar  
Tyrosina hidroxilasa  
Proteína básica de mielina  
Antígeno encefalina  
Substancia P  
Enolasa  
Adenosin deaminasa  
Transferasa terminal  
Anhidrasa carbónica



Catepsina D

Enzima convertasa

Antígeno relacionado con el vector VIII

Crestinquinasa

Antígenos de mucina intestinal

Antígenos HLA

Antígenos de grupo sanguíneo

Apoproteína surfactante

Proteína S 100

Queratinas

Neurofilamentos

Vimentina

Desmina

Antígenos de la mucina

Antígenos celómicos

Antígeno leucocitario común

Antígeno común de la leucemia linfoblástica aguda (CALLA)

Antígenos de gránulos endócrinos

Antígenos de células B y T

Antígenos de monocitos

COMPONENTES DE INMUNOGLOBULINAS

Cadenas ligeras kappa y lambda

Cadenas pesadas Gamma, alfa, mu, delta, epsilon

COMPONENTES SECRETORIOS

C1, C2, C3, C4

TABLA N° 2.- ACE, KC4, PAS y HC.

Diagnóstico	N° de casos	ACE	KC4	PAS	HC.	% Positivos
Hepatocarcinoma	33	23	10	25	6	70
T. metastásicos	25	16	22	19	11	92
Ca. de próstata	17	10	13	10	11	77
Hepatoblastoma	16	6	1	9	0	38
Colangiocarcinoma	14	10	12	12	13	85
Ca. de tiroides	10	0	4	9	4	40
Tumor maligno no clasif.	8	0	1	2	2	12
Linfomas	5	0	0	1	0	0
Ca. de colon	4	4	3	4	3	100
Ca. de cérvix	7	7	6	5	5	100
Ca. neuroendócrino	4	0	1	1	0	25
Adenocarcinoma de vesícula	3	2	3	3	3	100
Carcinoma de mama	3	2	3	3	3	100
Tumor rabdoide	3	0	2	3	2	67
Rabdomiosarcoma	3	0	0	2	0	0
Ca. de estómago	2	2	2	1	2	100
Carcinoma de vagina y vulva	5	2	2	2	2	40
Carcinoma de ovario	2	1	2	2	1	100
Carcinoma de riñón	2	1	1	1	1	50
Mesotelioma	2	0	1	2	0	50
Ca. de pulmón	1	1	1	1	1	100
Ca. de vejiga	1	1	0	1	0	100
Tumor paratesticular	1	0	1	0	0	100
Adenoca. ampula Vater	1	1	0	1	1	100
T. maligno glándula salival	1	1	1	1	0	100
Ca. epidermoide piel	1	1	1	1	0	100
Melanoma	1	0	0	0	0	0
Ependimoma	1	0	1	1	0	100

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 3.- ACE y KC4

Diagnóstico	N° de casos	ACE	KC4	% POSITIVOS
Ca. insular tiroides	1	0	0	0
Ca. próstata	5	3	3	60
Adenoca. de vesícula	1	1	1	100
Adenoca. de estómago	3	1	1	66
Carcinoma de páncreas	2	1	2	50
Carcinoma no clasificado	1	0	0	0
Tumores metastásicos	10	6	7	70
Adenocarcinoma de cérvix	1	1	1	100
Carcinoma de pene	1	1	1	100
Tumor maligno no clasif.	2	0	0	0
Ca. epidemolde de piel	1	1	1	100
Ca. indiferenciado	1	0	0	0

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 4.- ACE

Diagnóstico	N° de Casos	ACE	% Positivos
Condiloma atípico cérvix	13	13	100
Ca. In situ vulva	1	0	0
Cistadenoca. mucinoso ovario	2	2	100
Ca. céls. transicionales	1	0	0
T. senos endodérmicos testic.	1	0	0
Meningioma	1	0	0
Neuroestesioblastoma	1	0	0
T. maligno no clasificado	2	0	0
Mesotelioma	4	1	25
Ca. basocelular piel	2	0	0
Ca. glándulas sudoríparas	5	4	66
Ca. indiferenciado	1	0	0

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, SS

TABLA N° 4.- ACE

Diagnósticos	N° de Casos	ACE	% POSITIVOS
Ca. tiroides	2	1	50
Ca. próstata	1	1	100
Hepatocarcinoma	1	1	100
Hepatoblastoma	1	1	100
Adenoca. vesícula	3	3	100
Ca. estómago	2	1	50
Ca. de colon	5	5	100
Tumor nasal	1	1	100
T. metastásicos	10	5	50
Ca. pulmón	1	0	0
Ca. neuroendócrino	1	0	0
Melanoma	1	1	100
Fibrohistiocitoma maligno	1	0	0
Rabdomiosarcoma	1	0	0
Plasmocitoma	1	0	0
Ca. cérvix	8	8	100

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México,SS

TABLA N° 5.- KC4

Diagnóstico	N° de casos	KC4	% POSITIVOS
Ca. próstata	2	1	50
Hepatocarcinoma	1	0	0
Ca. epidermoide mucosa nasal	1	1	100
T. mixto maligno parótida	1	1	100
Ca. epidermoide talón	1	1	100
Melanoma maligno	1	0	0
Sarcoma	3	0	0
Linfoma	1	0	0
Ca. de cérvix	15	14	93
Cervicitis crónica	4	1	25
Conditoma-displasia	19	13	68
Ca. de ovario	1	1	0
T. maligno no clasificado	2	0	0

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 6.- ANTIGENO TUMOR ESPECIFICO

Diagnóstico	N° de casos	KC3	% Positivos
Ca. de mama	12	6	50
T. metastásicos	12	5	42
Sarcomas	12	1	8
Ca. de colon	11	8	73
Ca. de ovario	10	5	50
Neoplasias testiculares	7	0	0
Ca. de estómago	6	4	66
Ca. papilar tiroides	6	3	50
Ca. de próstata	6	2	34
Ca. de cérvix	5	4	80
Melanoma	4	0	0
Linfomas	4	0	0
Ca. epidermolde (varios)	4	2	50
Hepatocarcinoma	2	0	0
Ca. de vesícula	2	1	50
Ca. de endometrio	2	1	50
Neoplasias del SNC	2	1	50
T. maligno no clasificado	1	0	0

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 7.- ANTIGENO TUMOR ESPECIFICO KC2

Diagnóstico	N° de casos	KC2	% Positivos
Ca. mamario	12	6	50
Metastásicos	12	6	50
Ca. de colon	10	8	80
Sarcomas	12	1	8
Ca. ovárico	10	6	60
Neoplasias testiculares	7	0	0
Ca. de tiroides (papilar)	6	3	50
Ca. prostático	6	2	34
Ca. gástrico	6	4	66
Ca. cérvicouterino	4	3	75
Ca. epidermoide (varios)	4	0	0
Melanoma	4	0	0
Linfomas	4	0	0
Neoplasias del SNC	3	2	66
Ca. endometrial	2	2	100
Hepatocarcinoma	2	0	0
Ca. de vesícula	2	1	50
T. maligno no clasificado	1	0	0

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.



TABLA No. 8.- ACE,PAS,H.C.; KC4,PAS,H.C.;ACE,PAS.;

ACE,H.C.; KC4,H.C.

Diagnóstico	#casos	ACE	KC4	PAS	H.C.	%positivos
Hepatocarcinoma	1	1		1		100%
T.metastásicos	6	4		4	1	66
Sarcomas	2	0		0	1	0
Ca. prostático	1		1		1	100
Ca. anaplásico de glánd.salival	1	0		1	1	0
Mesotelioma	1	0		1		0
Ca. basocelular	1	0	0	0	0	0
Cordoma	1		1	1	1	100
Linfoma de test.	1	0	0	0	0	0
T.mal.no clasif.	1			1	1	0

Fuente :Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la  
Unidad de Patología del Hospital General de México.

TABLA N° 9.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4, PAS,  
HC, KC2 y KC3 EN CARCINOMA DE ESTOMAGO E INTESTINO

	ACE	KC4	PAS	HC	KC3	KC2
Adenocarcinoma gástrico	3/4	2/3	1/2	2/2	4/5	4/5
T. no clasif. de estómago	0/1	0/1				
Adenocarcinoma de colon	6/6	3/4	4/4	3/4	4/5	4/5
Sarcoma Inmunoblástico	0/1					
Adenocarcinoma de recto	1/1				1/2	2/2
Ca. epidermoide ano-rectal					2/2	1/2

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

**TABLA N° 10.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA  
DE ACE, KC4, PAS, HC, KC2 y KC4 EN  
CARCINOMA DE VESICULA BILIAR**

ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
6/7	4/4	3/3	3/3	1/2	1/2

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

**TABLA N° 11.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE,  
KC4, PAS, HC, QUER. y GCH EN CARCINOMA  
DE PANCREAS .**

Diagnóstico	ACE	KC4	PAS	HC	QUER.	GCH
Clastadenocarcinoma	1/1	0/1				
Carcinoma	1/2	1/2				0/1
Ca. indiferenciado	1/2	2/2	1/1	0/1	0/1	

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 12.- DISTRIBUCION DE ACE, KC4, KC3, KC2,  
PAS Y HC EN TUMORES PRIMARIOS DE HIGADO.

Diagnóstico	ACE	KC4	KC3	KC2	PAS	HC
Hepatocarcinoma	26/36	10/35	0/2	0/2	26/34	6/35
Hepatoblastoma	7/17	1/16	0/1	0/1	1/16	9/16
Colangiocarcinoma	10/15	12/14			12/14	13/14

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunoistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 13.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,  
HC, PAS, KC2 y KC3 EN CARCINOMA EN CARCINOMA  
DE TIROIDES

Diagnóstico	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Ca. papilar	0/7	4/7	7/7	3/7	3/4	3/5
Ca. folicular	0/4	0/3	2/2	1/2	0/2	0/2
Ca. medular	1/1					

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunoistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 14.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,

HC, PAS, KC2 y KC3 EN CARCINOMA DE LA MAMA

Diagnóstico	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Ca. canalicular	1/1	1/1	1/1	1/1	6/10	6/10
Ca. mucinoso					0/1	0/1
Ca. metaplásico					0/1	0/1
Ca. apócrino	1/1	1/1	1/1	1/1		
Ca. indiferenciado	0/1	1/1	1/1	1/1		

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 15.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,

PAS, HC, KC2 y KC3 EN TUMORES DE PULMON

Diagnóstico	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Ca. epidermoide					1/1	1/1
Ca. indiferenciado	0/1					
Adenoca. células Gig.	1/1	1/1	1/1	1/1		

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 16.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,

PAS, HC, CKE-QUER EN MESOTELIOMAS

	ACE	KC4	PAS	HC	CKE	Quer
Epitelial	0/1	0/1	1/1	0/1		1/1
Pleural	1/2		1/1	0/1		1/2
Peritoneal	0/4	0/1	1/1	0/1	0/1	1/2
Vaginal testic.	0/1	1/1	1/1	0/1		1/1

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 17.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,

PAS Y HC EN CARCINOMA NEUROENDOCRINO

ACE	KC4	PAS	HC
0/5	1/4	1/4	0/4

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de Mex.,SS.

TABLA N° 18.- RESULTADOS DE INMUNOREACCION PARA ACE, KC4,

KC3 y KC2 EN TUMORES GINECOLOGICOS .

	ACE	KC4	KC3	KC2
Carcinoma de Cél. claras vagina	1/1	1/1		
Carcinoma in situ vulvar	0/1			
Carcinoma de vulva	0/1	0/1		
Carcinoma in situ de cérvix	12/14	7/8		
Carcinoma epidermoide Invasor	1/2	15/16	3/4	2/3
Carcinoma adenoescamoso	1/1	1/1		
Adenocarcinoma de cérvix	2/2	2/2	1/1	1/1
Adenoacantoma	1/1			
Ca. adenoescamoso endometrial			1/2	2/2
Tumor mixto Mulleriano	1/1	1/1	0/1	0/1
Cistadenoca. mucinoso ovario	1/1		1/1	1/1
Cistadenoca. seroso ovario			2/3	2/3
Ca. epidermoide de ovario			2/2	2/2
Ca. endometriode de ovario	1/1	1/1	1/1	1/1
Adenoca. poco diferenciado	1/1			
Tumor Cél. granulosa			0/1	0/1
Tumor Cél. de Sertoli-Leydig			0/1	0/1
Sarcoma de ovario		0/1	0/1	0/1
Carcinoma de ovario	0/1	1/1		

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 19.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,  
PAS, HC, KC2 Y KC3, EN NEOPLASIAS DE RINON Y VEJIGA .

	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Ca. de células claras					1/2	1/2
Ca. de pelvícula	1/1	0/1	0/1	0/1		
Ca. anaplásico de riñón	0/1	1/1	1/1	1/1		
Ca. Cél. transicionales de vejiga	1/2	0/1	1/1	0/1		

Fuente : Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 20.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,  
PAS, HC, KC2 Y KC3, EN TUMORES DE TESTICULO Y PENE

	ACE	KC4	PAS	HAC	KC2	KC3
Seminoma					0/2	0/2
Ca. embrionario					0/3	0/3
T. de senos endodérmicos	0/1				0/1	0/1
Teratoma Inmaduro					0/1	0/1
Tumor paratesticular	0/1	1/1	0/1	0/1		
Carcinoma de pene	0/1	1/1	0/1	1/1		

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.



TABLA N° 21.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE,  
KC4, PAS, HC, KC2, KC3 y AgP EN CARCINOMA DE PROSTATA

ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3	AgP
16/26	21/28	14/19	12/19	2/6	2/6	25/25

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hosp. General de Méx.SS.

TABLA N° 22.- DISTRIBUCION DE INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,  
PAS, HC, KC2 Y KC3 EN VARIOS CARCINOMAS EPIDERMOIDES :

	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Ca. epidermoide de boca					1/1	1/1
Ca. epidermoide de fosa nasal	1/2	1/2				
Ca. epidermoide de antro					1/2	1/2
Ca. de glándula salival	2/3	3/3	2/2	1/2	0/1	0/1
Ca. epidermoide de antebrazo	1/1	1/1	1/1	0/1		
Ca. epidermoide de talón		1/1				

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

**TABLA N° 23.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE  
ACE, KC4, HC y PAS EN CARCINOMA DE PIEL**

	ACE	KC4	HC	PAS
Ca. epidermoide	1/1	1/1		
Ca. basocelular	0/3		0/1	0/1
Adenoca. de Glándulas sudoríparas	7/7		1/1	1/1

Fuente: Archivo del Lab. de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología, Hosp. Gral. Méx., S.S.

**TABLA N° 24.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,  
PAS, HC, KC2 Y KC3 EN TUMORES MALIGNOS METASTASICOS**

	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Carcinoma en pleura y pulmón	3/5	3/3	2/3	2/3		
Carcinoma en ganglio linfát.	9/13	7/9	3/9	7/10		
Carcinoma en hígado	5/8	5/5	2/6	4/5	1/3	1/3
Carcinoma en páncreas	1/2	1/1			1/1	1/1
Carcinoma en intestino	2/2	2/2	1/1	1/1		
Ca. en peritoneo-epiplón	3/4	3/3		2/2	2/2	
Carcinoma en pared abdominal	1/2	2/2	1/1	2/1	1/1	1/1
Sarcoma en cerebro	0/1	0/1			0/1	0/1
Carcinoma en ovario	2/2	2/2	1/2	2/2	2/2	2/2
Carcinoma en vejiga	2/2	0/2				
Carcinoma en prepucio	1/1	1/1				
Carcinoma en piel de mama	0/1	1/1	0/1	1/1		
Carcinoma en hueso	4/7	1/3	1/3	2/2		
Adenoca. en Tej. blandos	1/2	1/1				
Melanoma metastásico	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

**TABLA N° 25.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4**

**PAS, HC, KC2 y KC3 EN TUMORES MALIGNOS NO CLASIFICADOS**

ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
0/14	1/14	3/9	2/8	0/2	0/2

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

**TABLA N° 26.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,**

**PAS, HC, KC2 y KC3 EN SARCOMAS**

	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Fibrohistiocitoma maligno	0/1					
Sarcoma sinovial	0/2	0/1	0/1	0/1	1/5	1/5
Sarcoma osteogénico					0/2	0/2
Schwannoma maligno					0/1	0/1
Liposarcoma mixoide					0/1	0/1
Rabdomiosarcoma	0/4	0/3	1/3	0/3	0/2	0/2
Condrosarcoma embrionario		0/1			0/1	0/1
Sarcoma de partes blandas	0/1	0/1	1/1	0/1		

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 27.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,  
PAS y HC EN TUMORES RABDOIDES

ACE	KC4	PAS	HC	Mgl	VIm
0/3	2/3	3/3	2/3	0/3	2/3

Fuente: Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de  
Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 28.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,  
PAS, HC, KC2 Y KC3 EN MELANOMAS

ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
1/2	0/2	0/1	0/1	0/4	0/4

Fuente: Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de  
Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 29.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,

PAS, HC, KC2 Y KC3 EN LINFOMAS

	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Linfoma gástrico	0/1	0/1	0/1	0/1		
Linfoma histiocítico verdadero.	0/3	0/3	1/3	0/3		
Linfoma difuso	0/2	0/1	0/2	0/1	0/2	0/2
Linfoma nodular		0/1			0/1	0/1
Linfoma de Hodgkin		0/1			0/1	0/1

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

TABLA N° 30.- DISTRIBUCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ACE, KC4,

PAS, HC, KC2 Y KC3, EN TUMORES DEL SIST. NERV. CENTRAL

	ACE	KC4	PAS	HC	KC2	KC3
Astrocitoma					1/2	1/2
Meningioma	0/1				1/1	0/1
Ependimoma	0/1	1/1	1/1	0/1		
Neuroesthesioblastoma	0/1					
Cordoma		1/1	1/1	1/1		

Fuente: Archivo del Laboratorio de Inmunohistoquímica de la Unidad de Patología del Hospital General de México, S.S.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Russo H.: Immunocytochemistry In Tumor Diagnosis Michigan, 1984.
- 2.- Taylor C.R.: Immunomicroscopy: a diagnosis tool for the surgical pathologist. Pag. 1-4, Boston, 1986
- 3.- Masson T.E., Phifer R.F., Spicer S.S., Swallow R.A., and Dreskin R.B.: An Immunoglobulin-enzyme bridge method for localizing tissue antigens. J. -- Histochem Cytochem 17:563-569, 1969.
- 4.- Sternberger L.A., Hardy PH Jr., Cuculis JJ et al The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in the identification of spirochetes. J. Histochem Cytochem 18:315-333, 1970
- 5.- Rodríguez H.A., Gómez A.M., Orozco H., Alcántara A., Cruz H.: La Inmunoperoxidasa: generalidades y evaluación de 500 casos. Rev Fac Med UNAM 1986:29(4):155-166
- 6.- Harberman R.B.: Immunological test in the diagnosis of cancer. Am J Clin Pathol 68: 688-698-1977
- 7.- Weinstein, R.S., Alroy, J., Farrow G.H., Miller A.W. and Davidsohn I.: Blood group isoantigen deletion in carcinoma in situ of the urinary bladder. - Cancer 43:661-668, 1978
- 8.- Kohler G and Milstein, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature (Lond) 256:495-497, 1975
- 9.- Nakane P.K.: Recent progress in the peroxidase labeled antibody method. Ann NY Acad Sci: 254: 203-210, 1975
- 10.- Nakane P.K., and Pierce, G.B.: Enzyme labeled antibodies. Preparation and application for localization of antigens J. Histochem Cytochem 14:929-938, 1966
- 11.- Sternberger L.A. Immunocytochemistry, 2nd ed. New York John Wiley and Sons, 1979
- 12.- Guesdon J.L., Ternynck T., Avrameas S.: The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. J. Histochem. Cytochem 27: 1131, 1979

- 13.- Hsu S.H., Raine I., and Fanger H.: Use of avidin-biotin Peroxidase -- Complex(ABC) in Immunoperoxidase Techniques. J. Histochem Cytochem 29: 577-580,1981
- 14.- Hsu S.H., Raine L.: Protein A, avidinand biotin in Immunohistochemistry, J. Histochem Cytochem, 29: 1349-1353, 1981
- 15.- Gold P., and Freedman S.O.: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption -- techniques.J.Exp. Med. 121: 439-462,1965
- 16.- Gold.P., and Freedman S.O.: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J.Exp. Med.122: 467-481, 1965
- 17.- Gol P., Gold.H., and Freedman S.O.; Cellular location of carcinoembryo nic antigens of the human digestive system.Cancer Res. 28: 1331-1333,- 1968.
- 18.- Gold P., Krupcy J.,and Ansari.H.: Position of the carcinoembryonic anti gen of the human digestive system in ultrastructure of tumor cell sur- face. J.Natl. Cancer Inst 45:219-222,1970.
- 19.- Shuster J., Freedman S.Q., Gols.P.: Oncofetal antigens increasing the specificity of the CEA radioimmunoassay Am. J. Clin.Pthol 68: 679-687, 1977
- 20.- Laurence D.J.R., and Neville A.H.: Foetal antigens and their role in - the diagnosis and clinical management of human neoplasms-A review Br. J. Cancer 26:335-355,1972
- 21.- Isaacson P.: Tissue demonstration of carcinoembryonic antigen ACE in -- ulcerative colitis .J.Br.Soc.Gastroenterol (GUT) 17:561-567,1976
- 22.- Isaacson P., Le Vann P.: The demonstration of carcinoembryonic antigen in colorectal carcinoma and colonic polyps using an immunoperoxidase - thecnique.Cancer 38: 1348-1356,1976
- 23.- Moore T.L., Kantrowltz P.A., Zamchek N.: Carcinoembryonic antigen in-- flammatory bowel disease : JAMA 222: 944-947, 1972
- 24.- Reynoso G., Chu T.H., Holyoke D.: Carcinoembryonic antigen in patients with different cancers.JAMA 220: 361-365,1972
- 25.- Zamcheck N.: The present status of ACE in diagnosis, prognosis and eva luation of therapy. Cancer 36:2460 -2468,1975.

- 26.- Pascal R.P., Mesa-Tejada R., Bennett S.J.: Carcinoembryonic antigen. Immunohistologic identification in invasive and intraepithelial carcinomas of the lung. Arch Pathol Lab Med: 101: 568-571, 1977
- 27.- Filberg N.T., Michelson J.B., Shields J.A.: CEA family syndrome. Abnormal carcinoembryonic antigen (CEA) levels in asymptomatic retinoblastoma family members. Cancer 37: 1397-1402, 1976
- 28.- Michelson J.B., Felberg N.Y., Shields J.A.: Fetal antigens in retinoblastoma. Cancer 37: 719-723, 1976
- 29.- Von Kleist S, Chavanel G., Burtin P.: Identification of a normal antigen that cross-reacts with the carcinoembryonic antigen (CEA) Proc. Natl -- Sci USA 69: 2492-2494, 1972
- 30.- Turberville G., Darcy D.A., Laurence DJR.: Studies on carcinoembryonic antigen (CEA) and a related glycoprotein, CCA-2: preparation and chemical characterization. Immunochemistry 10: 841, 1973
- 31.- Burtin P., Chavanel G., Hirsch Marie H.: Characterization of a second - normal antigen that cross-reacts with CEA. J. Immunol 111: 1926-1928, 1973
- 32.- Khoo S.K., Warner N.L., Lie J.T., Mackay I.R.: Carcinoembryonic antigenic activity of tissue extracts. A quantitative study of malignant - and benign neoplasms, cirrhotic liver, normal adult and fetal organs. - Int J Cancer 11: 681-687, 1973
- 33.- LoGerfo P., Herter F.P.: Demonstration of tumor associated antigen in normal colon and lung. J Surg Oncol. 4: 1-7, 1972
- 34.- Mach J.P., Pusztaszert G.: Carcinoembryonic antigen (CEA). Demonstration of a partial identity between CEA and a normal glycoprotein. Immunochemistry 9: 1031-1034, 1972
- 35.- O'Brien M.J., Zamcheck N., Burke B., Kirkham SE., Saravis CA., Gottlieb LS.: Immunocytochemical localization of carcinoembryonic antigen in benign and malignant colorectal tissues. Am J Clin Pathol 75: 283-290, 1981
- 36.- Svenberg T.: Carcinoembryonic antigen-like substances of human bile -- Isolation and partial characterization. Int J Cancer 17: 588-596, 1976
- 37.- Burtin P., Calmettes C., Fondaneche MC.: CEA and non-specific cross-reacting antigen (NCA) in medullary carcinomas of the thyroid Int J -- Cancer 23: 741-745, 1979



- 38.- Burtin B.: The carcinoembryonic antigen of the digestive system (CEA) and the antigen cross-reacting with it. *ANN Immunol* 129C: 185-198, 1978
- 39.- Kuo T., Rosal J., Tillack T.W.: Immunological studies of membrane glycoproteins isolated from human breast carcinoma. *Int J. Cancer*. 12:532---542, 1973.
- 40.- Nap H., Keuning H., Burtin P.: CEA and NCA in benign and malignant breast tumors. *AM J Clin Pathol* 82: 526, 1984
- 41.- Aird I., Bental H.H., Roberts A.F.: A relationship between cancer of the stomach and the ABO blood group. *Lancet* 1:799-801, 1953.
- 42.- Vogel F.: ABO blood groups and disease. *Am J Hum Gen* 22:464, 1970
- 43.- Bergman S and Javadpour N.: The cell surface antigen A.B. or O(H) as a indicator of malignant potential in stage A bladder carcinoma: preliminary report. *J Urol* 119:49-51, 1978
- 44.- Emmott R.C., Javadpour N., Bergman S, and Soares T.: Correlation of the cell surface antigens with stage and grade in cancer of the bladder. *J Urol* 121:37-39, 1979
- 45.- Limas C., Lange P., Fraley E., and Vasella R.L.: A,B,H antigens in transitional cell tumors of the urinary bladder. Correlation with the clinical course. *Cancer* 44: 2099-2107, 1979
- 46.- Ernst C., Thurin J., Atkinson B.: Monoclonal antibody localization of A and B isoantigens in normal and malignant fixed human tissue. *AM J Pathol* 117:451, 1984
- 47.- Davidsohn I., The loss of blood group antigens A,B, and H from cancer cells. In *Immunodiagnosis of Cancer*. R.B. Heherman and K.R. McIntire Eds Marcel Dekker, New York 1979, pp 644-669
- 48.- Davidsohn I.: Early immunologic diagnosis and prognosis of carcinoma. *AM J Clin Pathol* 57: 715-730, 1972
- 49.- Alroy J., Miller A.W., Loon J.S., James KK, and Gould V.E. Inverted papilloma of the urinary bladder. Ultrastructural and immunological studies. *Cancer* 46: 64-70, 1980
- 50.- Davidsohn I and Nily.: Loss of isoantigens A.B. and H in carcinoma of the lung. *Am J Pathol* 57:307-334, 1969
- 51.- Davidsohn I., Ni L.Y and Stejskal R.: Tissue isoantigens A.B. and H in carcinoma of the pancreas. *Cancer Res* 31: 1244-1250, 1971

- 52.- Davidsohn I., Norris H.J., Stejskal R.: Metastatic squamous cell carcinoma of the cervix. The role of immunology in its pathogenesis. Arch Pathol - 95:132-134, 1973
- 53.- Rodriguez-Martinez H.A.: Comunicaci3n personal.
- 54.- Dowben R.M., Brunner J.R., Philippott D.E.: Studies of milk fat globule membranes. Biochem Biophys Acta 135:1, 1967.
- 55.- Ceriani R.L., Thompson K., Peterson J.A.: Surface differentiation antigens of human milk fat globule. Proc Natl Acad Sci USA 74:582, 1977
- 56.- Taylor-Papadimitriou J., Peterson J.A., Arkile J.: Monoclonal antibodies - to epithelium-specific components of the human milk fat globule membrane: production and reaction with cells in culture. Int J Cancer 28: 17, 1981
- 57.- Heyderman E., Steele K., Ormerod M.G.: A new antigen on the epithelial -- membrane; its immunoperoxidase localization in normal and neoplastic tissue J Clin Pathol 32:35, 1979
- 58.- Sloane JP., Ormerod MG.: Distribution of the epithelial membrane antigen in normal and neoplastic tissue and its value in diagnostic tumor pathology Cancer 47:1786, 1981
- 59.- Sloane JP., Ormerod MG., Imrie SF.: The use of antisera to epithelial membrane antigen in detecting micrometastases in histological sections. Br J Cancer 42:392, 1980
- 60.- Sloane JP., Ormerod MG., Carter RL.: An immunocytochemical study of the - distribution of epithelial membrane antigen in normal and disordered -- squamous epithelium. Diagn Histopathol 5:11, 1982
- 61.- Bahu RM., Mangkornkanok-Mark.H., Albertson D., Fors E., Molteni A and Battifora H.: Detection of alpha-lactalbumin in breast lesions and relationship to estrogen receptors and serum prolactin. Cancer 46:1775, 1980
- 62.- Bailey AJ., Sloane JP., Trickey B.S., and Ormerod MG.: An immunohistochemical study of alpha-lactalbumin in human breast tissue. J Pathol. 137: 23,- 1982
- 63.- Bussolati G, and Pich A.: Mammary and extramammary Paget's disease. An immunocytochemical study. AM J Pathol 80:117-128, 1975
- 64.- Findlay JB.: and Brew K.: The complete amino acid sequence of alpha-lactalbumin, Eur J Biochem 27:65-86, 1972

- 65.- Fishleder A., Tubbs R.R. and Levin H.S.: An immunoperoxidase technique to aid in the differential diagnosis of metastatic carcinoma. *Clev Clinic Q* 48:331-335, 1981
- 66.- Fitzgerald DK., Brodbeck U., Kiyosawa I., Mawal R., Colvin B and Ebner K.E.: Alpha lactalbumin and the lactose synthetase reaction. *J Biol Chem* 245:2103-2108, 1970
- 67.- Gugliotta P., Botta G., and Bussolati G.: Immunocytochemical detection of tumor markers in bone metastases from carcinoma of the breast. *Histochem - J*, 13:953-959, 1981
- 68.- Hall L., Graig R K., Davies M S, Raiphs D.N.L, Campbell P.N.: Alpha-lactalbumin is not a mark human hormone dependent breast cancer. *Nature* 290: 602 604, 1981
- 69.- Lazarides E.: *Ann Rev Biochem* 51: 219-250, 1982
- 70.- Banks-Schlegel SP.: Keratin alterations during embryonic epidermal differentiation: A presage of adult epidermal maturation *J. Cell Biol* (93) : -- 551-559, 1982
- 71.- Moll R., Franke WW., Schiller DL, Gelger B and Krepler R.: *Cell* 31:11-24, 1982
- 72.- Moll R., Moll I., and West W.: Changes in the pattern of cytoqueratin - polypeptides in epidermis and hair follicles during skin development in human fetuses. *Differentiation* 23:170-178, 1982
- 73.- Nelson W G., and Sun TT.: The 50 and 58 Kdaltons keratin classes as molecular markers for stratified squamous epithelial: *Cell Biol* 97:244-251, - 1983.
- 74.- Sun TT., Eichner R., Nelson W.G.: Keratin classes: Molecular markers for different types of epithelial differentiation, *J Invest Dermatol* 81: 109s-115s, 1983.
- 75.- Gigo O., Gelger BI, Eshhar Z., Moll R., Schmid E., Winter S., Schiller DL - and Franke WW.: Detection of a cytokeratin determinant common to diverse epithelial cells by a broadly cross-reacting monoclonal antibody EMB0 J 1: 1429-1437, 1982
- 76.- Debus E., Moll R., Franke WW., Weber K., and Osborn M.: Immunohistochemical distinction of human carcinomas by cytokeratin typing with monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 114:121-130, 1984

- 77.- Van Mulgen G.N.P., Ruiter D.J., Ponac M., Hulskens vander Mey C., and Warnaar S.O.: Monoclonal antibodies with different specificities against cytokeratins AM J Pathol 114:9-17,1984
- 78.- Gown A.M., and Vogel A.M.: Monoclonal antibodies to Intermediate filaments of human cells. Unique and cross-reacting antibodies J Cell Biol 95:414-424 1982.
- 79.- Tseng S.C.G., Jarvinen M.J., Nelson W.G., Huang J.W., Woodcock-Mitchell J., and Sun T.T.: Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: Monoclonal antibody studies Cell 30:361-372 1982
- 80.- Rodríguez-Martínez H.A.: Avances tecnológicos en Patología diagnóstica. - Rev Méd. Hosp. Gral. de Méx. 55. 49: 2,69-76,1986
- 81.- Borde H., Michiels R., and Martin F.: Detection by Immunofluorescence of - carcinoembryonic antigen in colonic carcinoma, other malignant or benign tumours and non-cancerous tissue. Digestion 9:106-115,1973
- 82.- Dank H., Tappelner G., Echerstorfer R. and Holsner JH.: Carcinoembryonic antigen (CEA) in gastrointestinal Tumours and its relationship to tumor-cell differentiation Int J Cancer 10:262-272,1972
- 83.- Goldenberg D.H., Sharkey R.H. and Primus FJ.: Carcinoembryonic antigen in histopathology. Immunoperoxidase staining of conventional tissue sections J Natl. Cancer Inst: 57:11-22,1976
- 84.- Rogalsky V.Y.: Variations in carcinoembryonic antigen localization in tumors of the colon. J Natl. Cancer Inst 54:1061-1071,1975
- 85.- Hasleton P.S., Shah S., Buckley CH.: Ampullary carcinoma associated with multiple duodenal villous adenomas Am. J. Gastroenterol: 73:418,1980
- 86.- O'Brien M., Zamchek N., Burke B., Kirkham E., Saravis C.: Immunocytochemical localization of carcinoembryonic antigen in benign and malignant - colorectal tissue. Am J Clin. Pathol. 75: 283-290,1981
- 87.- Albores-Saavedra J., Cruz H., Alcántara A., Henson D.: Unusual types of -- gallbladder carcinoma: A report of 16 cases. Arch Pathol Lab Med 105:287-293,1981
- 88.- De Boer WGRM., Rees JW., Nayman J., Inappropriate mucin production in --- gallbladder metaplasia and neoplasia An Immunohistological study. Histopathology 5:295-303,1981

- 89.- Albores-Saavedra J., Nadji H., Morales AR.: Carcinoembryonic antigen in normal, preneoplastic and neoplastic gallbladder epithelium *Cancer* 52: 1069-1072,1983
- 90.- Koelma I.A., Nap H., Huitema S., Krom R., Houthoff J.: Hepatocellular carcinoma, adenoma, and focal nodular hyperplasia. *Arch Pathol Lab Med* Vol 110:1035-1040,1986
- 91.- Roncalli H., Borzio H., De Biagi G.: Liver cell displasia and hepatocellular carcinoma. A histological and immunohistochemical study. *Hystopathology* 9:209-221,1985
- 92.- Rodríguez-Martínez, H.A., Avila-Casado. M.C., Gómez-Ramírez, A.H. Aguirre García, J. y Orozco-Estevés, H.: Estudio histoquímico e inmunohistoquímico del carcinoma primario del hígado. Trabajo presentado en la XXIX Reunión Anual en Provincia de la Asociación Mexicana de Patólogos, A.C., --- Oaxaca, Oax., Mayo 4, 1986
- 93.- Drewinko B., and Ying Yang L.: Restriction of ACE synthesis to the stationary phase of growth of culture human colon carcinoma cells *Exp Cell Res* 101:414-416,1976
- 94.- Calmettes C., Moukhtar M.S., nad Milhaud G.: Correlation between calcitonin and carcinoembryonic antigen levels in medullary carcinoma of the thyroid *Blomedicina* 27:52-54,1977
- 95.- Shousha S., and Lyssiotis T.: Correlation of carcinoembryonic antigen in tissue sections with spread of mamary carcinoma. *Histopathology* 2:433-447, 1978
- 96.- Shousha S, Lyssiotis T, Godfrey VM., Scheuer PJ: Carcinoembryonic antigen in breast-cancer tissue: a useful prognostic indicator. *Brit Med Journal* 1:777-779,1979
- 97.- Goldenberg DM., Sharkey RH., Primus J F: Immunocytochemical detection of carcinoembryonic antigen in conventional histopathology specimen. *Cancer* 42:1546-1553,1978
- 98.- Geyderman E., and Neville A.H.: A shorter Immunoperoxidase technique for the demonstration of carcinoembryonic antigen and other cell products. *J Clin Pathol* 30:138-140,1977

- 99.- Kanerstein H., Churg J., McCaughey WTE, Slinoff IJ.: Histochemistry in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Ann Clin Lab Sci.* 1975;3:207-211
- 100.- Eaxler B., Eisenstein R., Battifora H.: Electrophoresis of tissue glucosaminoglycans as aid in the diagnosis of mesotheliomas *Cancer* 44:221-227, 1979
- 101.- Corson JH., Pinkus GS.: Mesothelioma profile of keratin proteins and carcinoembryonic antigen. An immunoperoxidase study of 20 cases and comparison with pulmonary adenocarcinoma *Am J Pathol* 180:80-87, 1982
- 102.- Goldenberg DM., Pletsch QE., Van Nagell JR.: Characterization and localization of carcinoembryonic antigen in a squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 4:204-211, 1976
- 103.- Malkin A., Kellen J., Lickrish G.M., Bush R.S.: Carcinoembryonic antigen (CEA) and other tumor markers in ovarian and cervical cancer *Cancer* 42: 1452-1456, 1978
- 104.- Lindgren J., Walstrom T., Seppala M.: Tissue CEA in premalignant epithelial lesions and epidermoid carcinoma of the uterine cervix. Prognostic significance *Int J Cancer* 23:448-453, 1979
- 105.- Van Nagell, J.R., Donaldson E.S., Gay E.C., Rayburn P., Powell D.F. Carcinoembryonic antigen in carcinoma of the uterine cervix, 2 Tissue localization and correlation with plasma antigen concentration *Cancer* 44:944-948, 1979
- 106.- Walstrom T., Lindgren J., Korhonen M., Seppala M.: Distinction between endocervical and endometrial adenocarcinoma with immunoperoxidase staining of carcinoembryonic antigen in routine histological tissue specimens. - *Lancet* 8153 1159-1160, 1979
- 107.- Fenoglio C.H., Takashi H., Crum C., The simultaneous expression of human chorionic gonadotropin and carcinoembryonic antigen in the female genital tract. Localization by immunohistochemistry *Diagnostic Gynecol and Obst.* 3. 309-314, 1981
- 108.- Shevchuck M.M., Fenoglio C.H., and Richart R.M.: Histogenesis of Brenner tumours: Histology and ultrastructure *Cancer* 46:2617-2622, 1980
- 109.- Heald J., Buckley C.H., Fox., An immunohistochemical study of the distribution of carcinoembryonic antigen in epithelial tumors of the ovary. -- *Journal Clin. Pathol* 32: 918-926, 1979

- 110.- Rutanen E.H., Lindgren J., Sipponen P., Stenman U.H., Saksela., Seppala H., Carcinoembryonic in malignancy and non malignant gynecology tumor. Cancer 42: 581-590,1978
- 111.- Marchand A., Fenoglio C.M., Pascal. R., Richart R.H., Bennet S.: Carcinoembryonic antigen in human ovarian neoplasms Cancer Res 35: 3807-3810,1975
- 112.- Puri A., Mesa-Tojada R., Husami N., Bonnet S, Richard R., Fenoglio C.M.: - Carcinoembryonic antigen in gynecologic patient, Gynecol Oncol 5:331-337, 1977
- 113.- Jacobsen G.K., Jacobsen M., Clausen P.P.: Distribution of tumor associated antigens in the various histologic components of germ cell tumors of the testis. Am J Surg Pathol 5:257,1984
- 114.- Purnell D.H., Heatfield B.H. Trump B.F., Immunocytochemical evaluation of human prostatic carcinomas for carcinoembryonic antigen, nonspecific cross-reacting, beta chorionic gonadotrophin and prostate-specific antigen. Cancer Res 44:285,1984
- 115.- Rodriguez-Martínez H.A., Gómez-Ramírez A.M., González-Barcenas D., Pérez-Sánchez P., Henrique-Ortega J.J., Medina-Cruz A., y Llanos-Vega L.: Propiedades histoquímicas e inmunohistoquímicas del adenocarcinoma de la próstata en relación a diagnóstico y comportamiento biológico. Rev. Patología -- (aceptado para publicación).