

169



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

INMUNOHISTOQUÍMICA
EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL
DE NEOPLASIAS DE TEJIDOS BLANDOS

T E S I S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANA DENTISTA
P R E S E N T A

160
[Handwritten signature]

MARTHA MAYELA ORTIZ GARCIA

DIRECTORA: M.O. BEATRIZ C. ALDAPE BARRIOS
MÉXICO, D.F.

2000

273998





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Esta tesina fue realizada bajo la dirección y asesoría de la
M.O Beatriz C. Aldape Barrios.

M.O Beatriz C. Aldape Barrios.

Por brindarme sus conocimientos, consejos, asesoramientos,
regaños y por haberme permitido ser su alumna.

GRACIAS.

DEDICATORIAS

A DIOS

Por haberme dado la mejor familia y por colmarla de bendiciones.

A MI MADRE

Por tu inmenso apoyo e inigualable ejemplo de seguir adelante, aún en las adversidades de la vida.

A MI PADRE

Por su apoyo y cariño para realizar esta meta tan anhelada.

A DIANA

Aunque la inmensa distancia nos separa, se que en este momento has permanecido a mi lado. Gracias por haberme mostrado este camino.

A MIS HERMANAS

Edith, Deny, Laura y Aby.

Por toda su comprensión y por haber confiado en mi.

A MIS SOBRINOS

Annali, Eliud y Gaby.

Por ser la felicidad de la familia.

A MIS AMIGOS

Eliseo y Héctor

Por que más que mis cuñados son mis amigos.

A LAS FAMILIAS

Quezada García

García Hernández

A esa personita que me ha brindado su amor, cariño, comprensión
Y todo su apoyo en este trabajo.



ÍNDICE

Pags.

INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	4
FUNDAMENTOS BIOLÓGICOS DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA	
ANTÍGENO.....	7
ANTIGENICIDAD.....	7
AUTOLISIS.....	7
BLOQUEO DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.....	7
FIJACIÓN.....	8
CONGELACIÓN.....	8
ALCOHOL.....	9
FORMOL.....	9
ALDEHIDOS.....	9
OSMIO.....	9
COMPUESTOS MERCURIALES.....	9
INCLUSIÓN.....	10
CONGELACIÓN.....	10
PARAFINAS.....	10
PLÁSTICOS.....	11
CONTROLES.....	11
CONTROL NEGATIVO.....	11
CONTROL POSITIVOS.....	11
CAUSAS DE FALSOS NEGATIVOS.....	11
CAUSAS DE FALSOS POSITIVOS.....	11
ANTICUERPOS.....	12
ESTRUCTURA GENERAL DE LAS MOLÉCULAS DEL ANTICUERPO.....	12
ANTICUERPOS POLICLONALES.....	13
OBTENCIÓN DE ANTICUERPOS POLICLONALES.....	14
LIMITACIONES DE LOS ANTICUERPOS POLICLONALES.....	14
ANTICUERPOS MONOCLONALES.....	14
VENTAJAS DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES.....	14



AFINIDAD	15
MARCAJE DE ANTICUERPOS	15
METALES	15
COMPUESTOS FLUORESCENADOS	15
ENZIMAS	16
PEROXIDASA	16
FOSFATASA ALCALINA	16
GLUCOSA OXIDASA	16
SISTEMAS DE DETECCIÓN.....	17
TÉCNICA DIRECTA	17
TÉCNICA INDIRECTA	18
TÉCNICAS DE ANTICUERPOS NO MARCADOS Y METODOS DE PEROXIDASA-ANTIPEROXIDASA (PAP)	19
TÉCNICA CON FOSFATASA ALCALINA Y GLUCOSA OXIDASA, ENZIMAS TRAZADORAS	22
TÉCNICA DE AVIDINA BIOTINA.....	23

MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

MARCADOR MESENQUIMATOSO	
VIMENTINA	26
MARCADORES NEURONALES DE FIBRAS NERVIOSAS Y MELANOCITOS	
PROTEINA S - 100.....	27
HMB45.....	28
PROTEÍNA NEUROFILAMENTOSA	28
LEU-7 (CD57).....	29
SINAPTOFISINA.....	29
ENOLASA ESPECÍFICA DE NEURONA	29
PROTEÍNA BÁSICA DE MIELINA	29
CROMOGRANINA	30
MARCADORES ENDOTELIALES/VASCULARES	
CD31.....	30
FACTOR ANTIGÉNICOVIII (FBI)	31
ANTÍGENOS DEL GRUPO SANGUÍNEO (ABO)	31
CD34	31



MARCADORES MUSCULARES	
DESMINA.....	32
ACTINA.....	33
MIOGLOBINA	33
MARCADORES FIBROHISTIOCITICOS	
CD68.....	33
FACTOR XIII (FXIIIa).....	34
MARCADORES EPITELIALES	
ANTÍGENO DE MEMBRANA EPITELIAL (EMA).....	34
CITOQUERATINAS	35
MISCELÁNEA	
PRODUCTO DEL GEN P30p32/MIC-2	35

INMUNOPERFILES DE LAS NEOPLASIAS DE TEJIDOS BLANDOS

NEOPLASIAS FIBROSAS	36
NEOPLASIAS FIBROHISTIOCITICAS.....	36
NEOPLASIAS DE TEJIDO ADIPOSO	37
NEOPLASIAS DE MÚSCULO LISO	37
NEOPLASIAS DE MÚSCULO ESTRIADO	37
NEOPLASIAS VASCULARES	37
NEOPLASIAS PERIVASCULARES	38
NEOPLASIAS SINOVIALES	38
NEOPLASIAS MESOTELIALES	39
NEOPLASIAS DE NERVIOS PERIFÉRICOS	39

NEOPLASIAS NEUROECTODERMICAS PRIMITIVAS Y LESIONES RELACIONADAS

NEUROBLASTOMA	40
PARAGANGLIOMAS	41
NEOPLASIAS ÓSEAS Y CARTILAGINOSAS EXTRAESQUELÉTICAS.....	41
NEOPLASIAS DE ORIGEN INCIERTO	42



INMUNOHISTOQUÍMICA EN EL DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE NEOPLASIAS DE CABEZA Y CUELLO

CARCINOMA NASOFARÍNGEO vs. CARCINOMA DE ALTO GRADO, LINFOMA DE CÉLULAS GRANDES MALIGNAS Y MELANOMA DE LA MUCOSA RESPIRATORIA	47
CARCINOMA DE CÉLULAS PEQUEÑAS vs. LINFOMA MALIGNO DE CÉLULAS PEQUEÑAS, RABDOMIOSARCOMA EMBRIONAL Y MELANOMA MALIGNO DE CÉLULAS PEQUEÑAS	47
CORDOMA vs. CARCINOMA MUCINOSO vs. NEOPLASIA MIXOIDE vs. CONDROSARCOMA	48
NEOPLASIAS DE CÉLULAS EMBRIONARIAS vs. ADENOCARCINOMA vs. LINFOMA MALIGNO vs. CARCINOMA NASOFARÍNGEO	48
ADENOMA PITUITARIO ECTÓPICO vs. ADENOMA MONÓRFICO DE GLANDULAS SALIVALES	48
CARCINOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES vs. SARCOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES vs. MELANOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES	
ANGIOSARCOMA EPITELIOIDE vs. CARCINOMA PARAGANGLIOMA vs. HEMANGIOMA EPITELIOIDE vs. ADENOMA DE OIDIO MEDIO	49
NEOPLASIA NEUROCRINA vs. PLASMOCITOMA	50
CARCINOMA TIROIDEO INSULAR vs. CARCINOMA TIROIDEO NEUROENDOCRINO	50
NEOPLASIA FOLICULAR DE TIROIDES vs. CARCINOMA /ADENOMA TIROIDEO	50
CARCINOMA TIROIDEO FOLICULAR POBREMENTE DIFERENCIADO vs. CANCER MEDULAR DE TIROIDES	50
CARCINOMA DE ORIGEN DE GLANDULAS SALIVALES vs. CARCINOMA CON OTRA DERIVACIÓN ANATÓMICA	51
CONCLUSIONES	58
GLOSARIO	59
BIBLIOGRAFÍA	64



ÍNDICE

ESQUEMAS	pags.
ESQUEMA 1.- Representación esquemática de la técnica directa de Inmunohistoquímica	17
ESQUEMA 2.- Representación esquemática de la técnica de inmunoperoxidasa mediante el uso de anticuerpos marcados (método directo)	19
ESQUEMA 3.- Representación esquemática del método peroxidasa-antiperoxidasa con anticuerpos no marcados	21
ESQUEMA 4.- Representación esquemática del método avidina-biotina ...	24
ESQUEMA 5.- Representación esquemática de las técnicas Inmunohistoquímicas	25
ESQUEMA 6.- Diagnóstico inmunohistoquímico de neoplasias de células pequeñas de cabeza y cuello.....	52
ESQUEMA 7.- Diagnóstico Inmunohistoquímico de neoplasias malignas de células grandes de cabeza y cuello.....	53
ESQUEMA 8.- Diagnóstico inmunohistoquímico de neoplasias malignas de células fusiformes de cabeza y cuello	54
ESQUEMA 9.- Diagnóstico inmunohistoquímico de neoplasias malignas pleomórficas de cabeza y cuello	55
ESQUEMA 10.- Inmunofenotipo de alteraciones hematopoyéticas malignas seccionadas con parafina	56
ESQUEMA 11.- Diagnóstico inmunohistológico de neoplasias epiteliales de cabeza y cuello	57



FIGURAS

FIGURA 1.- Estructura molecular de la inmunoglobulina	13
FIGURA 2.- Marcador vimentina demostrando un carcinoma en el bazo	26
FIGURA 3.- Marcador proteína S-100 demostrando un condrosarcoma de hueso .	27
FIGURA 4.- Marcador proteína neurofilamentosa mostrando una neoplasia de células de Merkel en piel	28
FIGURA 5.- Marcador cromogranina demostrando un carcinoma de estómago	30
FIGURA 6.- Marcador factor antigénico VIII demostrando un hemangioendotelioma de hueso	31
FIGURA 7.- Marcador desmina demostrando un carcinoma de intestino	32
FIGURA 8.- Marcador EMA demostrando un carcinoma de mama en la enfermedad de Paget's	34
FIGURA 9.- Marcador citoqueratina demostrando un carcinoma en intestino	35
FIGURA 10.- Marcador proteína ácido fibrilar glial demostrando un astrocitoma Maligno	41

TABLAS

TABLA 1.- Marcadores más utilizados para correlacionar la histogénesis	43
TABLA 2.- Patrones histológicos más comunes de neoplasia de tejidos blandos ...	44
TABLA 3.- Expresión de marcadores en mesoteliomas y carcinomas	46



INTRODUCCIÓN

Los inicios de la inmunohistoquímica se remontan a 1941, cuándo Coons identificó al pneumococcus usando un método directo de fluorescencia. Entonces prosiguió con el método indirecto, la adición de peroxidasa extraída del rábano, la técnica de peroxidasa-antiperoxidasa en 1979 y el uso del complejo de Avidina y Biotina en 1980. Esta secuencia de acontecimientos puede ayudar a apreciar las diferencias en estas técnicas y aumenta la sofisticación y la sensibilidad.

La técnica se ha aplicado en el campo de la evaluación de nuevos productos farmacéuticos, así como el uso de anticuerpos para detectar la célula de proliferación antígeno nuclear.

La evaluación preclínica de anticuerpos destinados para el uso terapéutico en el hombre requiere inmunohistoquímica, para ser usados en la identificación de algunos tejidos humanos que muestran una actividad cruzada y ha probado ser útil en la identificación de neoplasias en el estudio rutinario de carcinógenos.

Las neoplasias malignas de tejidos blandos, son neoplasias raras y comparados con las neoplasias benignas tienen una incidencia anual de 300 por una población de 100,000. Las neoplasias malignas de tejidos blandos, por lo tanto, constituyen menos del 1% de todos los cánceres. Debido a su rareza, así como a su amplia variación y frecuente confusión en cuanto a sus características histopatológicas, diagnóstico preciso y tratamiento, es un constante desafío para los patólogos. Por esta razón, es esencial una estrecha comunicación entre patólogos, radiólogos y cirujanos en la evaluación de las neoplasias de tejidos blandos como lo es en la evaluación de neoplasias óseas. En muchos casos, un diagnóstico puede ser obtenido con seguridad sólo por histopatología, pero en ciertos casos, aún la aplicación de un armamento completo de métodos de diagnóstico disponible lleva a los patólogos a un desconcierto sobre la naturaleza exacta de la neoplasia.

En muchas situaciones, sin embargo, el tratamiento no puede diferir para neoplasias de grado histológico similar, a pesar del origen celular, y el clínico queda satisfecho conociendo el grado histológico y el nivel de los márgenes de resección. Sin embargo los avances de hoy en día en el diagnóstico de imágenes y estrategias terapéuticas requieren más que una clasificación precisa de las neoplasias de tejidos blandos, para propósitos



estadísticos y para la aplicación correcta de nuevos protocolos terapéuticos que están en desarrollo.

La clasificación de neoplasias de tejidos blandos puede ser abordada desde un punto de vista histológico (basado en su posible histogénesis o diferenciación celular) o desde un punto de vista clínico (basado en la identificación de subgrupos de importancia terapéutica). En muchos casos, es importante adquirir tanta información como sea posible, concerniente a los siguientes factores:

- Información clínica general (ejemplo: edad, sexo, historia médica previa, etc.),
- Información específica a cerca de las neoplasias mismas (localización, tamaño, relación entre tejidos periféricos, velocidad de crecimiento, etc.),
- Características patológicas (tipo celular, patrón de crecimiento, tamaño celular, forma, atipia y anaplasia, mitosis, necrosis, etc.), y
- Cuando sea necesario, aspectos de microscopía electrónica y datos moleculares.

Los estudios auxiliares no son requeridos en todos los casos, sin embargo, el sentido común y el conocimiento acerca de las ventajas y limitaciones de cada procedimiento, reduciría el uso innecesario de fuentes limitadas. Además, el uso de estudios auxiliares generalmente juega un papel de apoyo y siempre debe de estar subordinado a la evaluación de todos los datos implicados en el caso.

Por años el papel de uno de estos procedimientos auxiliares, como la inmunohistoquímica ha mejorado enormemente las capacidades para clasificar ciertas entidades propiamente. La interpretación de los resultados de la inmunohistoquímica, sin embargo depende de la técnica propia, el uso estricto y la interpretación de los testigos(control) positivos y negativos bien caracterizados, así como del conocimiento detallado acerca de la interpretación de los reactivos.

Los patólogos deben proceder cuidadosamente y considerar los resultados de la inmunohistoquímica en el contexto de todos los datos disponibles en un caso dado. Esto es debido en parte al conocimiento limitado de la ontogénesis de las neoplasias de tejidos blandos y para la tendencia demostrada a la expresión de antígenos en neoplasias en general y en neoplasia de tejidos blandos en particular. Por lo tanto, los patólogos deben estar conscientes no sólo del perfil típico y variantes antigénicas reportadas de una entidad



en particular, sino también de los errores que pueden ser introducidos por factores técnicos, tales como el procesamiento y fijación del tejido,

Se estima que la inmunohistoquímica es confirmatoria de un diagnóstico en un 30 al 40% de los casos, es útil para determinar un diagnóstico diferencial en 50 a 60% de los casos y no contribuye en 1 a 2% de los casos y produce confusión en el diagnóstico de un 5 a 10% de los casos.

Por años, el número de reactivos de alta calidad disponibles comercialmente se han incrementado muy lentamente. Los marcadores que inicialmente se creían ser específicos para un tipo celular en particular, han demostrado ser marcadores de otros grupos celulares. Aproximadamente 30 marcadores diferentes son usados regularmente en el diagnóstico diferencial de neoplasias de tejidos blandos.



ANTECEDENTES

La inmunohistoquímica desde su inicio en 1940, se utilizó como una herramienta en todos los aspectos de investigación de materias biológicas. En muchos campos esto pronto pasó de un experimento a un método de elección. La identificación de depósitos de complejos-inmunes en el riñón humano era una de las primeras áreas de investigación. Una breve observación a la historia de esta técnica ayuda a diferenciar varios métodos disponibles.^{1,6,8}

Los métodos usados han llegado a ser más sofisticados para una mejor precisión en la localización y especificidad. El concepto básico de usar un anticuerpo directo contra un componente antigénico en un tejido, simultáneamente con un método para visualizar este complejo, ha permanecido igual. Marrack (1934) usó primero anticuerpos químicamente modificados para la tifoidea y cólera para demostrar estos organismos.¹

Siguiendo este trabajo Coons (1941) usó un método directo, en el cual conjugó antrilisocianato con un anticuerpo contra el organismo del pneumococcus tipo III, entonces fue capaz de diferenciar, usando un microscopio de fluorescencia, entre las reacciones del tipo III y el marcador del pneumococco tipo II. Esta reacción directa da una unión uno a uno y tiene una sensibilidad débil para detectar niveles bajos de antígeno.^{1,8}

Posteriormente desarrolló el método indirecto, usando un anticuerpo primario no marcado dirigido contra el antígeno del tejido, seguido por un segundo anticuerpo marcado dirigido contra el primero, produciendo una capa en la reacción y una gran respuesta favorable. Esta ampliación ocurre porque los anticuerpos secundarios son capaces de reaccionar en diferentes sitios en el anticuerpo primario. Prácticamente, esta técnica permite al anticuerpo secundario ser usado con varios anticuerpos primarios creados de la misma especie.^{1,8}

Los marcadores fluorescentes usados eran inestables en muchas condiciones. Las uniones covalentes de enzimas, requerían a la peroxidasa que es un derivado del rábano, propuesto por Avrameas y Uriel (1966), siendo un sustituto para los fluorocromos tanto en el método directo como en el indirecto. Esta enzima peroxidasa unida, entonces se podría detectar usando una técnica histoquímica: la reacción de diaminobenzidina (DAB) que es comúnmente usada, con peróxido de hidrógeno como sustrato, da un depósito estable



sólido café en el sitio antigénico. Este marcador también permite al tejido ser deshidratado y ser preparado permanentemente por lo que puede ser archivado para ser preparado. Otras enzimas como fosfatasa alcalina puede ser usada pero esta nunca ha logrado la popularidad como la peroxidasa.^{1,5}

La amplificación de la respuesta fue mejor al introducir a la tercera fase de la reacción al complejo peroxidasa-antiperoxidasa (PAP) el trabajo fue seguido por Sternberger (1979) y por Nadji y Azorides (1983) así se incremento la cantidad de la enzima disponibles para la reacción final de DAB. Un marcador equivalente de fosfatasa alcalina – antifosfatasa alcalina es también aprovechable, pero con menores resultados.¹

En primera instancia los marcadores eran para uso con tejidos humanos, pero con las presiones de investigaciones, pronto llegaron a ser utilizada para más especies de laboratorio. El desarrollo de la tecnología clonal añadió a estos mejor eficacia. La llegada de paquetes establecidos por las marcas comerciales, de marcadores impulso el procedimiento para que estuviera al alcance de los laboratorios más pequeños de histopatología.^{1,5}

La diferenciación entre algunos tipos de neoplasia es extremadamente difícil por un microscopio de luz y en algunos casos puede ser imposible comprobarlo. Esto es particularmente aplicable para el diagnóstico de sarcomas subcutáneos tanto en animales como en humanos.¹

Las técnicas de inmunohistoquímica han resultado muy útiles en el diagnóstico de neoplasias en humanos. Gatter (1992) clasifica una serie de marcadores para varias neoplasias, tal como los componentes del citoesqueleto, que pueden proporcionar la diferenciación entre dos neoplasias morfológicamente similares. Esto es por supuesto importante para las neoplasias en los humanos ya que los dos tipos pueden tener comportamientos y pronósticos diferentes. En animales de laboratorio puede que el diagnóstico diferencial no sea de vital importancia, pero puede ser importante en la identificación precisa de neoplasias inducidas en animales. La identificación de varios componentes celulares, tal como la proteína ácido glial fibrilar(GFAP) y las proteínas citoesqueletales, han sido sugeridas para el diagnóstico preciso de neoplasias del sistema nervioso central (Solleveld., 1991) y en tejidos blandos (Greaves., 1992) en estudios de bioensayos a largo plazo.¹



La importancia de la inmunohistoquímica radica en su uso en estudios rutinarios de carcinogénesis, así como también por su utilidad en inmunotoxicología para clasificar los efectos de las drogas en el sistema inmune; otro uso importante es en el estudio de reacciones de hipersensibilidad y efectos irritantes; y por último en nuevas tecnologías terapéuticas como es la terapia hormonal, génica e inmunológica con anticuerpos.¹



FUNDAMENTOS BIOLÓGICOS DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA

ANTIGENO

Un antígeno es una molécula que ha generado la respuesta de un anticuerpo responsable. La parte del antígeno que reacciona con un anticuerpo es el antígeno específico determinante o epitope (epitopo). Una molécula típica tiene múltiples epítopes potencialmente diferentes, aunque un anticuerpo se une a un solo epitope específico. La mayoría de los antígenos son proteínas, aunque algunas sustancias químicas o sintéticas llamadas haptenos pueden ser unidas a una proteína acarreadora para servir como determinantes antigénicos.^{2,3,4,5,11,12}

ANTIGENICIDAD

La antigenicidad es la presencia de anticuerpos enlazados activamente, ya que la antigenicidad depende de la naturaleza fisicoquímica de la estructura tridimensional del antígeno, esto está influenciado por la fuerza física y química del tejido procesado. La preservación antigénica "óptima" implica la retención de un antígeno con anticuerpos disponibles. La posibilidad de alterar la antigenicidad depende en particular del antígeno y del efecto del manejo de los tejidos procesados, autólisis, fijación e inclusión.³

AUTOLISIS

La isquemia y la muerte celular, cuando ocurre después que el tejido es desvitalizado, inicia la liberación de enzimas proteolíticas lisosomales por componentes celulares metabolizantes, estas enzimas alteran irreversiblemente la estructura molecular y como consecuencia altera su antigenicidad. Para aminorar la autólisis del tejido desvitalizado, las enzimas endógenas proteolíticas deben ser rápidamente inactivadas por fijación o manteniendo el tejido a temperaturas suficientemente bajas.^{3,4}

BLOQUEO DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ENDÓGENA

Si en las técnicas inmunoenzimáticas se utiliza como marcador una enzima, presente normalmente en el tejido que se examina, debe inhibirse su actividad endógena antes de la inmunotinción; de lo contrario la enzima endógena reaccionará con el sustrato empleado para localizar la enzima marcadora, dando lugar a falsos-positivos.^{3,4}



FIJACIÓN

El propósito de la fijación es inactivar el mecanismo autolítico, con la conservación de la arquitectura del tejido, inmovilización de moléculas para prevenir el recambio de otros compartimentos celulares, e incrementar la rigidez del tejido para su posible sección sin ser incluido.^{3,4,5,8}

La precisión con que se fija las moléculas varía con el antígeno, la fijación y las condiciones de fijación. Estas condiciones pueden disminuir la pérdida de proteínas. En la división de la fase (donde el tejido está en la fase orgánica y el fijador de aldehído está en la fase acuosa), no ocurre ninguna pérdida de proteínas.^{3,4}

Una consecuencia de la reacción química de la fijación es alterar la antigenicidad. El formaldehído altera en gran manera la antigenicidad de los filamentos intermediarios de la queratina. En contraste con el formaldehído, el etanol no altera la antigenicidad de hormonas peptídicas. Además, el alargamiento de la fijación se relaciona con el grado de alteración de la antigenicidad. La fijación en una solución isotónica con un pH neutro, optimiza la conservación de la antigenicidad original. Los agentes de fijación más comunes son los siguientes:

CONGELACIÓN:

La congelación optimiza la conservación de la antigenicidad original y se puede localizar rápidamente el antígeno. La principal desventaja de la inmunotinción por congelamiento son las siguientes:

- Puede haber difusión de antígenos, especialmente de moléculas pequeñas a diferentes compartimentos celulares o producir desigualdad del tejido.
- La inactivación de enzimas endógenas es reversible.
- La estructura puede ser significativamente distorsionada por la formación de cristales de hielo; pero el congelamiento ultrarápido con deshidratación puede corregir estos problemas.
- Requiere de una labor intensiva, especialmente con criosección ultradelgada.
- Los cortes congelados son más fáciles de separar por deslizamiento.^{3,4}



ALCOHOL: Los alcoholes se recomiendan para la determinación de filamentos tales como la vimentina, desmina, citoqueratinas, proteína ácida fibrilar glial y neurofilamentos. El alcohol y la acetona fijan antígenos y enzimas por desnaturalización.^{3,4}

La antigenicidad es menos alterada, pero las desventajas son similares al congelamiento, pueden ocurrir traslocación de antígenos, y los materiales endógenos no son inactivados. Como con el tejido congelado, la preservación ultraestructural es pobre.³

FORMOL. En la mayor parte de los estudios inmunohistoquímicos el formol al 10% y la solución de Zenker dan buenos resultados. Sin embargo en otros casos especiales pueden emplearse otras soluciones como el paraformaldehído al 4% en fosfato amortiguado al 0.05 M con un pH de 7.2.^{3,4}

ALDEHIDOS: El más común de los aldehídos usados para fijación es el formaldehído y glutaraldehído. Ambos fijan proteínas por uniones covalentes primarias. Sin embargo la preservación ultraestructural es mejor con glutaraldehído, aunque retarda la penetración del tejido, las uniones cruzadas proporcionan una fijación completa del tejido. En contraste las uniones cruzadas del formaldehído son más lentas y por lo tanto fijan más lentamente. La combinación de estos dos grupos aldehídos pueden ser usados para maximizar la preservación estructural y mantener la antigenicidad original.^{3,4}

OSMIO: El tetróxido de osmio es un componente tetrapolar que proporciona uniones cruzadas de proteínas y lípidos, aunque produce quelación en múltiples sitios, y puede alterar la antigenicidad original.³

COMPUESTOS MERCURIALES: Las sales de mercurio proporcionan buena fijación, pero mala preservación estructural. El cloruro mercúrico penetra lentamente al tejido y puede encogerse el tejido ya marcado, sin embargo a menudo es combinado con otros fijadores:

1. B5 es una mezcla de Formalina-clorhidrato mercúrico neutralizado con acetato de sodio.
2. Zenker's es una solución de clorhidrato mercúrico, dicromato potásico y ácido acético. El mercurio negro se precipita, lo cual puede potencializar la confusión en la interpretación de las inmunotinciones.^{3,4}



Los factores que influyen en la elección de los fijadores son:

- eficacia
- preservación de la morfología al observarse al microscopio de luz,
- preservación de la antigenicidad original,
- preservación de la morfología ultraestructural,
- retención de proteínas.³

De cualquier modo cuando el objetivo es la maximización en la focalización precisa del antígeno, el fijador usado y el método de fijación debe ser considerado cuidadosamente. Se concluye que el fijador más usado comúnmente es el formaldehído por sus cualidades de eficacia y preservación morfológica.^{3,4}

INCLUSION

Las condiciones de incluido y el tipo del medio de inclusión, potencialmente alteran la antigenicidad. El calor es necesario para la infiltración del tejido con parafina y también es producto de la polimerización de las resinas epóxicas, pudiendo alterar la antigenicidad. El tipo de medio de incluido también puede tener un afecto diferencial en la retención de moléculas. Métodos más comunes de inclusión:

CONGELAMIENTO. El tejido fijado no necesita ser incluido para obtener la rigidez suficiente para el corte, ya que el congelamiento proporciona la rigidez adecuada. Esto es una ventaja sobre otros medios por que altera menos la antigenicidad; el uso de este método es aprovechado para aumentar la posibilidad de identificar antígenos pobremente caracterizados, las desventajas del congelamiento como método de inclusión son:

1. para congelarse necesitan ser almacenados,
2. para seccionar se requiere de una intensa labor,
3. la morfología al observarse al microscopio es deficiente.^{3,4}

PARAFINAS. Las parafinas son hidrocarburos compuestos que son escogidos por su punto de fusión, dureza y facilidad de eliminarse. La gran ventaja de las parafinas es la facilidad de corte del tejido. La inclusión en parafina no es una causa de alteración en la antigenicidad.^{3,4}



PLASTICOS. De los medios de inclusión usados más frecuentemente, los metacrilatos y las resinas epóxicas tienen los mejores efectos en la antigenicidad. El glicol metacrilato es de gran interés, ya que mantiene preservada la antigenicidad y permiten que sean ejecutadas otras reacciones histoquímicas. La ventaja de los plásticos es que poseen gran rigidez, facilitando los cortes delgados.³

CONTROLES

Se dice que una tinción inmunohistoquímica es específica si se demuestra que:

1. No ocurre tinción si se omite el anticuerpo primario.
2. Se inhibe la tinción si se absorbe el suero primario con el antígeno frente al cual se ha obtenido, pero no con otros antígenos.⁴

Para un buen desarrollo de la técnica es conveniente realizar siempre los siguientes controles:

Control negativo: se omite el anticuerpo primario o se sustituye por suero no inmune o amortiguado, utilizando el mismo tejido para el control positivo; si el resultado técnico es positivo será debido a una positividad inespecífica.⁴

Control positivo: se utiliza una sección de tejido del que se tenga certeza absoluta de que contiene al antígeno por determinar. De este modo, si con un control positivo la técnica es negativa en la preparación problema, será debido a un defecto en la fijación o cualquier fallo en el procedimiento técnico.⁴

Causas de falso - negativos

1. Enmascaramiento de los antígenos,
2. Desnaturalización de los antígenos por el color, lo que impide que los anticuerpos los reconozcan.^{4,6}

Causas de falso – positivos

1. presencia de peroxidasa endógena por mala inhibición,
2. Reacciones cruzadas inespecíficas entre antígenos y anticuerpos: antígenos problema y, sobre todo, existe la posibilidad de que se produzca una fijación química no inmune entre los anticuerpos y la colágena del tejido conectivo.^{4,6}



ANTICUERPOS

Los anticuerpos son moléculas producidas por células plasmáticas, que constituyen el estadio de diferenciación terminal de los linfocitos B del sistema inmunitario adaptativo. Para que se induzca la producción de anticuerpos es necesario que el antígeno y los linfocitos B entre en contacto.^{3,4,6,11,12}

Cuando los fagocitos son incapaces de reconocer al agente infeccioso, es necesario algún elemento que conecte por un extremo con el microorganismo y por el otro lado al fagocito. Esa es una de las funciones que desempeñan las moléculas de anticuerpos, las cuales se unen por su extremo variable al tipo de agente infeccioso frente al cual han sido construidas y por su extremo constante, a los fagocitos que poseen un receptor específico para dicha fracción.^{4,11,12}

De esta forma, en las moléculas de anticuerpos pueden distinguirse dos zonas con función distinta: a) una porción denominada variable al ser distinta para cada tipo de anticuerpo, por lo que se une a una gran variedad de antígenos que penetran al organismo, y b) otra porción, denominada región constante, que se une a los receptores Fc de las células y se activa el complemento o a células inflamatorias como macrófagos, células cebadas o linfocitos.^{3,4,8,11,12}

Estructura general de las moléculas de anticuerpos. Las moléculas con la actividad de anticuerpo reciben la designación genérica de "inmunoglobulinas". Todas las moléculas de inmunoglobulinas poseen una estructura común que consiste en cuatro cadenas polipeptídicas, dos grandes y dos pequeñas. Las cadenas polipeptídicas grandes se denominan cadenas pesadas, las más pequeñas se denominan ligeras. Las inmunoglobulinas humanas se dividen en cinco clases, atendiendo a su estructura primaria de sus respectivas cadenas pesadas; estas clases se designan IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, siendo sus respectivas cadenas pesadas las gamma, alfa, mu, delta y epsilon. En cuanto a las cadenas ligeras solo existen dos tipo: Kappa y lambda.^{3,4,7,8,11,12}

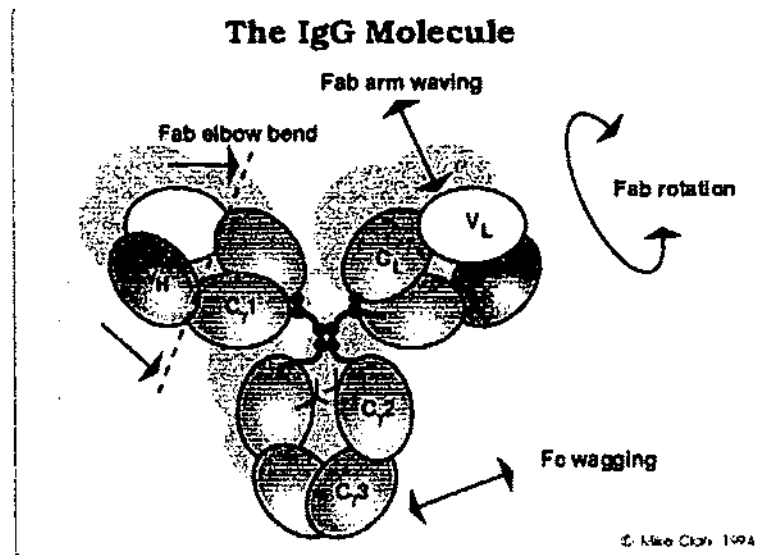


Fig. 1.- Estructura molecular de la inmunoglobulina¹³

ANTICUERPOS POLICLONALES

Un animal es capaz de elaborar millones de moléculas diferentes de anticuerpos que reaccionan con la mayor parte de los antígenos presentes en la naturaleza. La teoría de la selección clonal, desarrollada por Burnet en 1950, explica cómo un animal puede producir anticuerpos que reaccionan de manera específica ante cada uno de los antígenos posibles. Cada célula productora de anticuerpos está programada para la producción de un tipo de molécula de anticuerpo, que tiene la capacidad de reconocer uno o varios determinantes antigénicos de estructura similar. Por ello, sólo una pequeña fracción de células B es capaz de reconocer a un determinado antígeno. Este reconocimiento se efectúa a través de la inmunoglobulina de superficie del linfocitos T colaboradores.^{3,4,7,8}

Después de la unión del antígeno con su linfocito B específico, esta célula comienza a proliferar y a diferenciarse hacia célula secretora de anticuerpos (célula plasmática) dando lugar a una clona, es decir, a un grupo de células que procede de una célula madre y produce el mismo tipo de anticuerpo.^{3,4}

Cuando un antígeno macromolecular se introduce en un animal, desencadena la reacción y proliferación de varias clonas de linfocitos B que reconocen de forma específica cada uno de sus determinantes antigénicos. El resultado es la producción de una gran variedad de anticuerpos que difieren en tamaño, carga y afinidad.^{3,4}



Obtención de anticuerpos policlonales

Se realiza inmunizando a un animal huésped con una molécula específica (inmunógeno) en la que se encuentra el antígeno frente al cual se pretende obtener anticuerpos. El animal desarrolla una reacción humoral frente al inmunógeno, generando anticuerpos que se pueden recolectar obteniendo el suero. El animal produce numerosas clonas de células plasmáticas; cada una de ellas es capaz de sintetizar un anticuerpo con especificidad diferente para cada uno de los epitopes presentes en el inmunógeno. Además, el animal puede albergar en el suero otros anticuerpos y proteínas capaces de provocar reacciones cruzadas o tinciones no específicas.^{3,4,7}

Limitaciones de los anticuerpos policlonales:

- Imposibilidad de reproducir los resultados,
- Obtención de cantidades limitadas,
- Purificación laboriosa.
- Incapacidad para discriminar determinantes antigénicos diferentes dentro de una misma molécula o célula.^{3,4,7}

ANTICUERPOS MONOCLONALES

La técnica de obtención de anticuerpos monoclonales fue desarrollada por Kohler y Milstein. El objetivo inicial de su trabajo era estudiar el mecanismo de regulación de los genes que codifican las inmunoglobulinas. Para ello se realizan fusiones celulares entre mielomas murinos. Un mieloma es un tipo de tumor constituido por células plasmáticas y pueden o no secretar inmunoglobulinas. Cuando el mieloma es secretante produce un único tipo de inmunoglobulina: la causa de ello es que las células del tumor son de origen clonal, es decir, provienen de una única célula madre que sufrió la transformación maligna.^{3,4,7}

Ventajas de los anticuerpos monoclonales

El empleo de anticuerpos monoclonales es más ventajoso que el de los policlonales por que:

- Monoespecificidad (de un solo epítipo).
- Los anticuerpos monoclonales son homogéneos y, a diferencia de los policlonales no varía con cada inmunización o sangría realizada al animal.
- No se requiere del uso de antígenos purificados para las inmunizaciones; a pesar de ello, se obtienen anticuerpos de gran pureza.
- Los cultivos permanentes pueden proporcionar el anticuerpo de forma ilimitada.^{3,4,7}



AFINIDAD

La afinidad es la fuerza de unión de un anticuerpo a un antígeno específico. Esta afinidad es característica como una afinidad constante. La inmunohistoquímica busca la alta afinidad y el mejor anticuerpo, puesto que el anticuerpo es más probable que se quede unido al antígeno durante el procesado.³

MARCAJE DE ANTICUERPOS

Tanto los anticuerpos monoclonales como los policlonales se pueden unir a moléculas marcadoras que permiten visualizar el lugar de reacción con sus respectivos antígenos. El uso de estos marcadores es el fundamento de las técnicas de inmunolocalización, de gran utilidad en el campo de la biología en general y del diagnóstico histopatológico en particular. Las moléculas que se emplean como marcadores son de diversos tipos: enzimas, metales, sustancias fluorescentes, etc.^{3,4,7,8}

Metales:

Las sustancias tal como los compuestos mercuriales, ferritina y oro, pueden ser conjugados con anticuerpos que proporcionan marcadores ultraestructurales, sin embargo de estos marcadores sólo el oro pudo ser realmente observado por microscopio de luz.³

Compuestos fluoresceinados:

Son sustancias químicas que tienen la propiedad de absorber fotones de alta energía procedentes de la radiación ultravioleta o del espectro visible, ello provoca una redistribución de los electrones de las moléculas fluorescentes, puesta de manifiesto por la emisión de una radiación luminosa de longitud de onda distinta, aunque dentro del espectro visible. En este proceso siempre existe una pérdida de energía.^{1,3,4,8}

Los fluorocromos más utilizados en las técnicas de inmunofluorescencia son la fluoresceína, la rodamina y la ficoeritrina; debido a que ambas tienen una longitud de onda emitida, pueden ser usadas como marcadores independientes en una doble tinción inmunofluorescente.^{3,4,8}



Enzimas:

Peroxidasa:

La enzima peroxidasa extraída del rábano es el marcador enzimático más utilizado. Puede emplearse en técnicas con anticuerpos marcados (técnica directa o indirecta) o con anticuerpos sin marcar (técnica de peroxidasa - antiperoxidasa).^{1,3,4,7,8}

Existen múltiples sustratos para la peroxidasa. Los siguientes factores influyen para la selección de los sustratos:

1. Color: el color debe contrastar con otros colores. Por ejemplo puede ser escogido un cromógeno (que no sea café) que contraste con la melanina, y después elegir un segundo cromógeno (doble inmunohistoquímica).
2. Solubilidad en deshidratante, sólo la forma DAB (diaminobenzidina) precipita; los cromógenos son solubles en solventes inorgánicos.
3. Sensibilidad
4. Adaptabilidad para el microscopio inmunoelectrónico.⁴

Fosfatasa alcalina:

Fue usada primeramente por Avrameas como una enzima maracadora conjugada con un anticuerpo primario (Avrameas, 1969), la fosfatasa alcalina es usada solo en protocolos de inmunotinciones dobles. El sustrato incluye sales de naftotol como agente de acoplamiento y sales de diazonido como agente cromógeno.^{1,3,4,8,9}

Glucosa oxidasa:

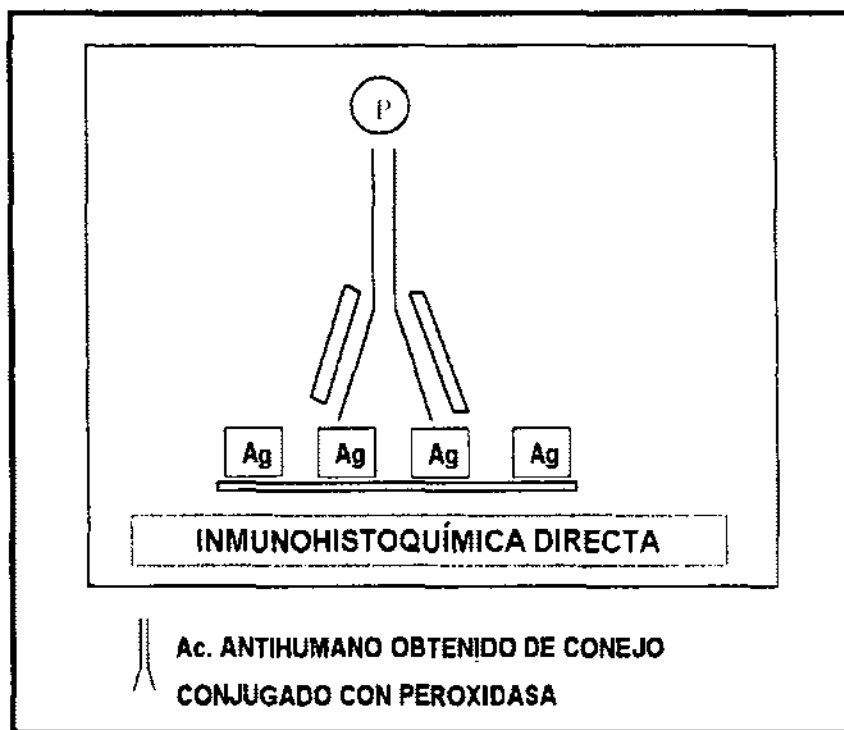
La glucosa oxidada tiene poco uso y como enzima marcadora, tiene la ventaja de desaparecer como una enzima endógena en el tejido y de proporcionar un cromógeno de color diferente para el uso de la doble inmunotinción.^{1,3,4,8}



SISTEMAS DE DETECCIÓN

TÉCNICA DIRECTA

Es el procedimiento más sencillo, pero también el menos sensible para la detección de antígenos. En él, el anticuerpo primario se conjuga directamente con la enzima peroxidasa. El método presenta las siguientes dificultades: a) se puede dificultar la conjugación entre el anticuerpo y el marcador; b) durante el procedimiento de conjugación puede destruirse en parte la actividad del anticuerpo, la de la enzima o ambas; y c) es posible que se produzca una mezcla de anticuerpos conjugados y no conjugados, de forma que es casi imposible purificar los primeros.^{1,3,4,8}



Esquema 1.- Representación esquemática de la técnica directa de inmunohistoquímica.⁴



TÉCNICA INDIRECTA

En este procedimiento el anticuerpo primario o específico sin conjugar se une en un primer paso con el antígeno presente en la sección de tejido. En una segunda fase se añade un anticuerpo marcado con un marcador enzimático, obtenido de un animal diferente al primario y específico para el animal y la clase de inmunoglobulina que constituye el anticuerpo primario. Este anticuerpo recibe el nombre de anticuerpo secundario. El complejo así formado puede visualizarse incubando el corte de tejido con un sustrato cromógeno adecuado.^{3,4}

En resumen, para la técnica de inmunoperoxidasa indirecta se utilizan dos anticuerpos:

- Uno primario sin marcar.
- Uno secundario dirigido frente al primario, marcado con peroxidasa y obtenido de un animal distinto.^{1,3,4}

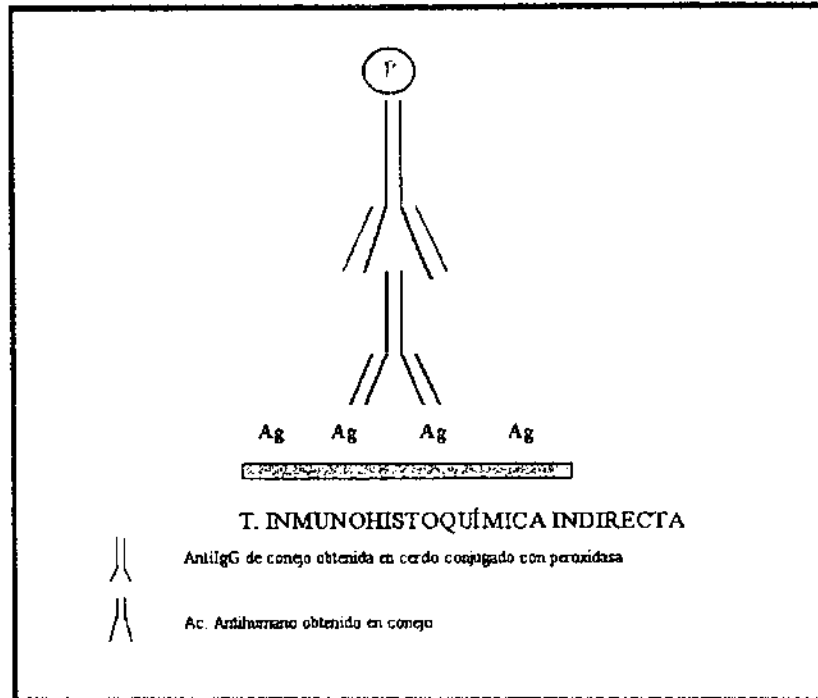
La técnica indirecta posee las siguientes ventajas :

- a) Es más sensible que la técnica directa.
- b) El anticuerpo secundario puede utilizarse para todos los anticuerpos primarios posibles obtenidos de una misma especie. Por ejemplo un anticuerpo de cabra anticonejo puede emplearse siempre que el anticuerpo primario para múltiples antígenos sea obtenido de este último animal, lo cual evita tener que marcar sistemáticamente todos los anticuerpos primarios.⁴

Conviene destacar dos características de las técnicas directa e indirecta:

En los dos existe una sola molécula de peroxidasa por cada una de anticuerpo, es decir se trata de métodos estequiométricos, puesto que los dos anticuerpos están en proporción 1/1,

La gran toxicidad que como agente carcinogénico posee el cromógeno diaminobencidina (DAB), utilizado para revelar la reacción, hace que deba ser manipulado con muchas precauciones.⁴



Esquema 2.- Representación esquemática de la técnica de inmunoperoxidasa mediante el uso de Ac. Marcados (método indirecto)⁴

TÉCNICAS CON ANTICUERPOS NO MARCADOS. MÉTODO DE PEROXIDASA-ANTIPEROXIDASA (PAP)

Este procedimiento, desarrollado por Sternberger y cols. En 1970, utiliza como trazador inmunocomplejos formados por la enzima peroxidasa mediante un proceso de purificación y se inocula a un animal para obtener los anticuerpos dirigidos frente a la enzima. De este modo, al poner en contacto "in vitro" los anticuerpos con la peroxidasa, se forman complejos antígeno-anticuerpo (complejo peroxidasa-antiperoxidasa o complejo PAP) a través de una reacción de precipitación. Estos complejos están formados por tres moléculas de peroxidasa y dos de anticuerpo antiperoxidasa.^{3,4}

Para este procedimiento de inmunotinción se utilizan sucesivamente tres reactivos inmunes diferentes:

- Anticuerpo primario, semejante a los empleados para los métodos de inmunoperoxidasa directa e indirecta (p. ej. IgG de conejo frente a un antígeno humano).



- Anticuerpo puente o secundario, que unirá el anticuerpo primario al complejo PAP (p. ej. inmunoglobulina de cerdo frente a conejo). El anticuerpo puente se aplica en exceso, de tal forma que uno de los dos lugares posibles de Unión se asocie al anticuerpo primario y el otro quede libre para fijarse posteriormente al complejo PAP.
- Complejo PAP, que contiene la enzima que actuará como trazador de la reacción inmune.

Este procedimiento de inmunolocalización es de 100 a 1000 veces más eficaz que los métodos indirectos que emplean anticuerpos marcados con fluorocromos o peroxidasa, y 20 veces más sensible que las técnicas en que el anticuerpo antiperoxidasa y la peroxidasa se aplican como soluciones separadas.

Con respecto al procedimiento de PAP, es importante tener en cuenta que:

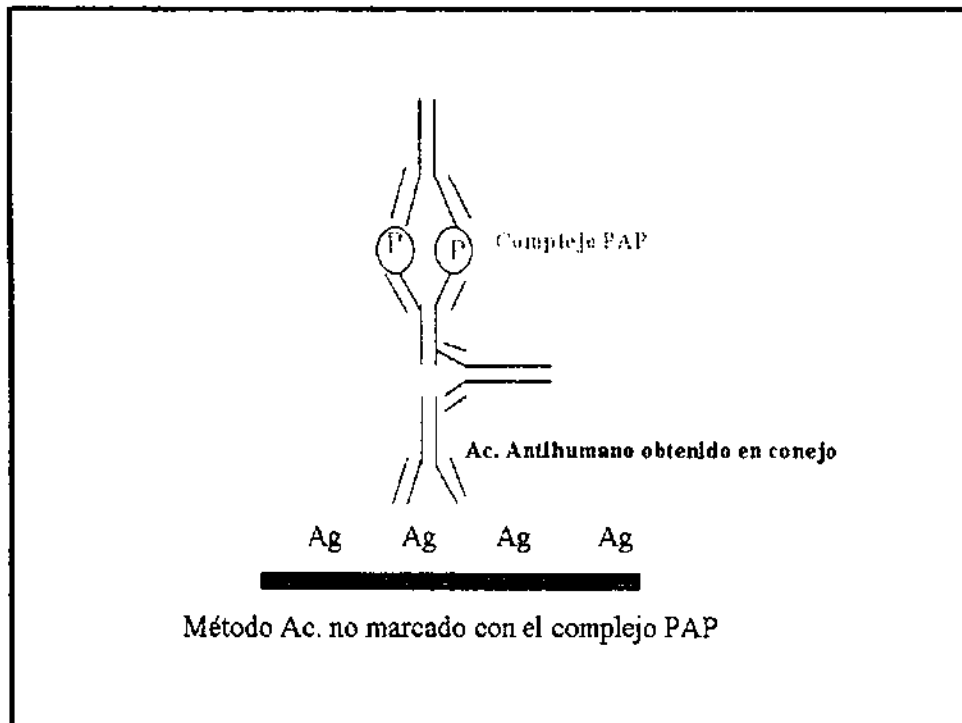
1. El anticuerpo primario se obtendrá siempre del mismo animal (generalmente conejo o ratón) que el complejo PAP, ya que ambos han de quedar ligados por el anticuerpo puente.
2. El anticuerpo puente o secundario ha de ser de cabra o cerdo cuando el primario es de conejo, o de conejo si el primario es un monoclonal de ratón. Como norma, se aplicará siempre en exceso para que uno de sus dos lugares activos quede libre y puedan unirse a él los complejos PAP.
3. El complejo PAP se une, por la fracción constante Fc de los anticuerpos que lo componen, a la porción variable del anticuerpo secundario debido a que todas las IgG de los anticuerpos primarios de conejo o ratón tienen una fracción idéntica.
4. Cuando la triple reacción inmune se ha completado, se procede al revelado de la peroxidasa mediante agua oxigenada y diaminobencidina o cualquier otro de los cromógenos adecuados para esta enzima.
5. El revelado es el procedimiento histoquímico por el cual se visualizan los lugares de reacción antígeno-anticuerpo. Se realiza añadiendo el sustrato natural de la peroxidasa, en este caso agua oxigenada (peróxido de hidrógeno), más una sustancia denominada



cromógeno. Cuando la peroxidasa actúa sobre su sustrato liberando oxígeno nascente, el cromógeno se oxida para originar un producto insoluble y de color pardo.^{3,4}

Las ventajas más relevantes del método de PAP son:

1. Con él pueden demostrarse antígenos sin necesidad de marcar los anticuerpos empleados para el procedimiento inmune, de forma que se evita su manipulación y la consiguiente pérdida de actividad.
2. Por cada molécula de anticuerpo primario ligada al antígeno existen al menos tres de peroxidasa en, el complejo final, lo cual incrementa considerablemente la sensibilidad de la técnica.



Esquema 3.- Representación esquemática del método peroxidasa - antiperoxidasa con anticuerpos no marcados⁴



TÉCNICAS CON FOSFATASA ALCALINA Y GLUCOSA OXIDASA, ENZIMAS TRAZADORAS

La fosfatasa alcalina es una enzima capaz de hidrolizar los ésteres de fosfato en un medio alcalino. Debido a la mayor dificultad de su manejo, se utiliza menos que la peroxidasa. La demostración de actividad o revelado de esta enzima se realiza empleando naftol-AS-fosfato como sustrato y sales de diazonio tipo *fist red* TR o *fast blue* BB como agente de copulación; el resultado de la reacción es un colorante azoico rojo o azul. El principal inconveniente de los métodos que utilizan la fosfatasa alcalina como trazador es la necesidad de utilizar un medio de montaje acuoso para la confección definitiva de las preparaciones. Sin embargo, con los nuevos procedimientos de revelado mediante neofucsina al 5 por 100 combinada con nitrito sódico al 4 por 100, se obtiene un compuesto también de color rojo e insoluble tanto en agua como en disolventes orgánicos.

La mayor ventaja para la utilización de la fosfatasa alcalina como trazador es que debido a la escasa proporción de tejidos que en condiciones normales la contienen, no suele ser necesario inhibir su actividad endógena.^{3,4}

La glucosa oxidasa es una enzima aislada del "aspergillus niger" y de la que no existe actividad endógena en los mamíferos. Histoquímicamente se demuestra por oxidación de la glucosa con reducción simultánea de una sal de tetrazolio incolora que se transforma en un azul formazán estable y no difusible.^{3,4}

Los métodos que utilizan estas enzimas como trazador pueden emplear anticuerpos marcados según procedimiento directo o indirecto o anticuerpos no marcados, como la técnica de fosfatasa alcalina-antifosfatasa alcalina (APAAP) equivalente a la peroxidasa-antiperoxidasa.^{3,4}



MÉTODOS DE AVIDINA-BIOTINA

Se trata de procedimientos técnicos muy sensibles que utilizan anticuerpos marcados y se basan en la gran afinidad que entre sí poseen las moléculas de biotina y las de avidina, de forma que se genera un fuerte enlace no inmune.^{3,4}

La avidina es una glicoproteína de alto peso molecular que está presente en la clara de huevo y en la bacteria *Streptomyces avidinii*. En este último caso, la molécula recibe la denominación de estreptavidina y presenta algunas ventajas sobre la obtenida del huevo, tales como carecer de residuos oligosacárido y poseer un punto isoelectrico neutro. En ambos casos, la molécula está formada por cuatro subunidades, que configuran una estructura terciaria con cuatro regiones hidrofóbicas de unión con la biotina.^{3,4}

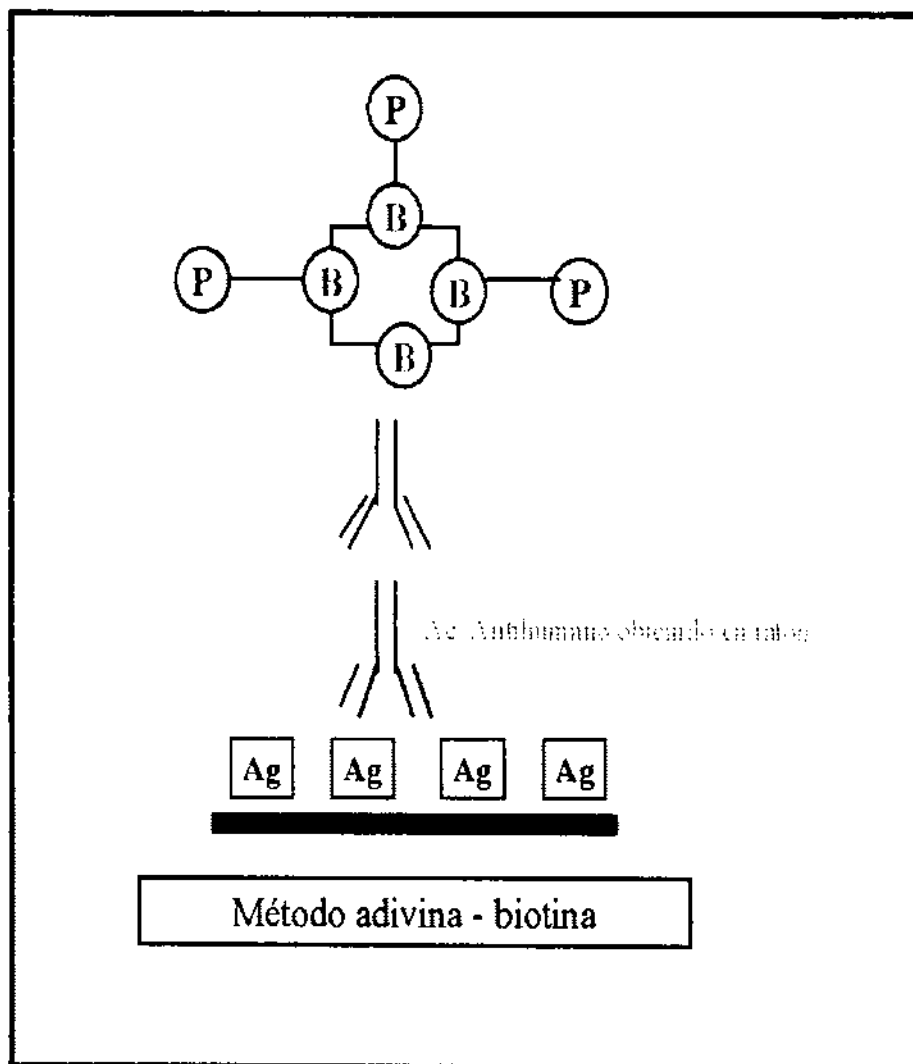
La biotina es una vitamina de bajo peso molecular perteneciente al complejo B (vitamina H) que se encuentra en la yema de huevo. Se conjuga fácilmente con anticuerpos y enzimas trazadoras por ligarse de forma covalente a cadenas laterales amino o carbonilo de residuos aminoácidos o de azúcares de proteínas y glicoproteínas. Se considera que pueden unirse hasta 150 moléculas de biotina a una sola molécula de anticuerpo.^{3,4}

Por otra parte, la avidina puede combinarse, covalentemente con una gran variedad de proteínas, glicoproteínas y polisacáridos, y al oro coloidal. Aunque como se ha dicho, tanto la avidina como la biotina pueden unirse a anticuerpos o moléculas enzimáticas, es la biotina la que normalmente se conjuga con los primeros debido a su pequeño tamaño.^{3,4}

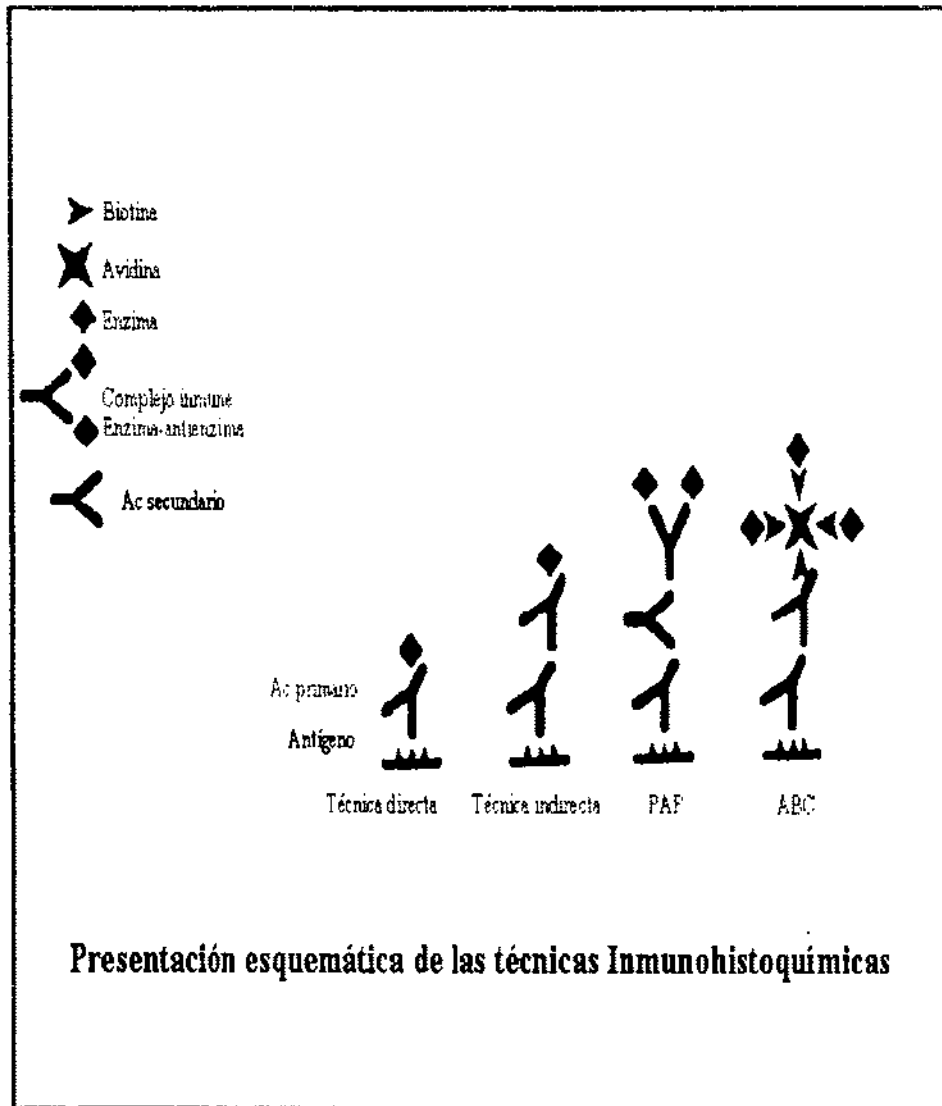
En todos los métodos inmunoenzimáticos que utilizan el procedimiento de avidina y biotina para poner de manifiesto una reacción antígeno-anticuerpo, es posible realizar el marcaje con biotina del anticuerpo primario (técnica directa) o, lo que es mucho más habitual, del anticuerpo secundario (técnica indirecta). La fase no inmunológica del proceso puede implicar: a) realizar una unión del anticuerpo biotinilado con avidina sin marcar para ligar a continuación el complejo con una enzima también biotinilada (método puente avidina-biotina), o b) aplicar un complejo de avidina y trazador enzimático biotinilado que contenga lugares de unión libres en la avidina para que se produzca la fijación sobre el anticuerpo primario o secundario biotinilado (método de complejo avidina-biotina o ABC). En todas las variantes expuestas puede unirse un gran número de moléculas de biotina a un anticuerpo único, por lo que la proporción trazador/anticuerpo es muy elevada. Esto hace que la



sensibilidad de este tipo de métodos sea muy alta y permite que el anticuerpo primario pueda emplearse muy diluido.^{3,4,6}



Esquema 4.- Representación esquemática del método de la avidina – biotina. ⁴



Esquema 5.- Representación esquemática de las técnicas inmunohistoquímicas. ¹



MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

MARCADOR MESENQUIMATOSO

Vimentina.

A pesar del valor limitado en el valor diagnóstico, un filamento intermedio mesenquimatoso puede estar demostrado en la mayoría de los tejidos fijados adecuadamente y por lo tanto es usada para identificar la pérdida de antígenos durante el procesamiento. Así si la vimentina no es identificada en tejidos que deberían expresarla, esta muestra a probar debe ser interpretada cuidadosamente o desecharla completamente.^{5,6,9,14}

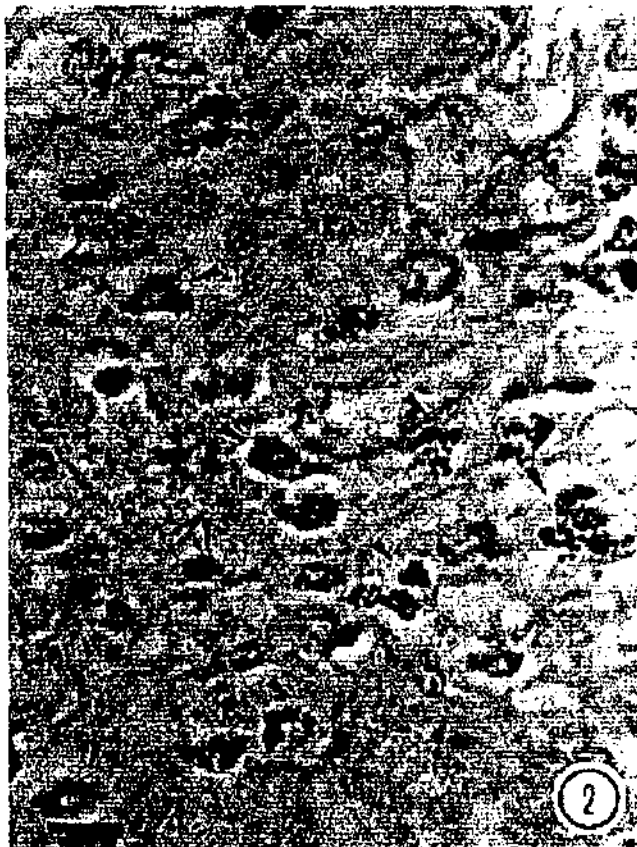


Fig. 2.- Marcador vimentina demostrando un carcinoma en el bazo¹⁴



MARCADORES NEURONALES DE FIBRAS NERVIOSAS Y MELANOCITOS

Proteína S-100

Esta proteína está distribuida ampliamente en el sistema nervioso central y periférico, la proteína S-100 juega un papel en la regulación iónica. Se localiza tanto en el núcleo como en el citoplasma dando la histología apropiada y un diagnóstico diferencial específico, la S-100 es uno de los marcadores más utilizados. Se expresa en astrocitos, oligodendrocitos, células de Schwann, adenohipófisis, médula adrenal, y una variedad de otras células incluyendo condrocitos, adipocitos, histiocitos y células del retículo interdigitante de los nódulos linfáticos. Los neurofibromas y neurilemomas expresan S-100 difusamente, y del 50 al 70% de las neoplasias malignas en las fibras nerviosas periféricas, expresan a S-100 focalmente. La S-100 también es expresada en un 90% en células claras de sarcomas o en partes blandas del melanoma, expresándose ocasionalmente en leiomioma y leiomiomas, liposarcomas, en neoplasias fibromixoides osificantes, y se expresa raramente en sarcomas sinoviales y condrosarcomas. Los melanomas expresan S-100, un hecho que ayuda en el diagnóstico diferencial de melanoma similares a los sarcomas.^{5,9}

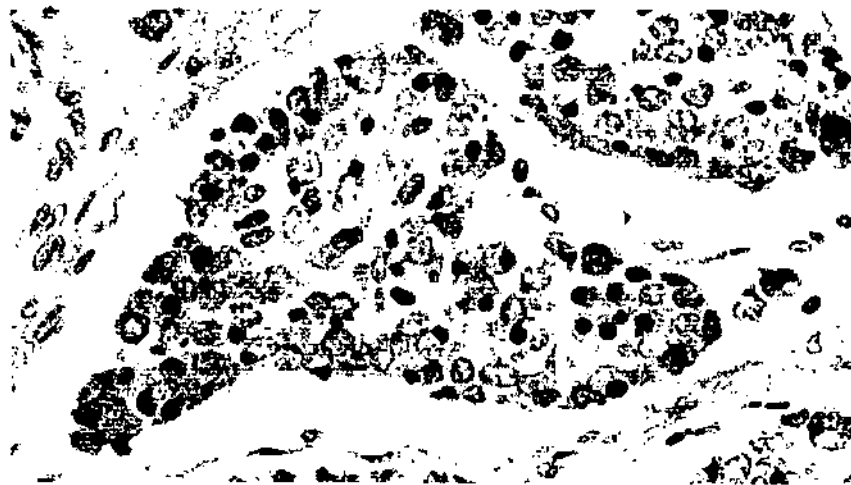


Fig. 3.- Marcador proteína S-100 demostrando un condrosarcoma de hueso⁹



HMB45

El antígeno reconocido por este anticuerpo se localiza en vesículas premelanosomales. HMB45 es muy útil para lesiones melanocíticas y entidades relacionadas ya que esta se expresa en un 89% de los melanomas, casi todos sarcomas de células claras, y en neoplasias relacionadas a esclerosis tuberosa (rabdomioma, angiomiolipoma y linfangiomatosis).^{5,6}

Sin embargo, se expresa solo en el 22% de melanomas de células fusiformes neurotópicas. HMB45 no es expresado por sarcomas alveolares de partes blandas, lipoma condroide, leiomioma, leiomiosarcoma, neoplasias malignas de las fibras nerviosas periféricas o neoplasias fibromixoides osificantes.^{5,6}

Proteína neurofilamentosa

Es útil en el diagnóstico diferencial de neoplasias de células pequeñas redondas, la proteína neurofilamentosa es expresada por muchos neuroblastomas, meduloblastomas, retinoblastomas y neuroepiteliomas periféricos y es expresada focalmente en rabdomiosarcomas y ocasionalmente en histiocitomas fibroso maligno. También se ha demostrado en neoplasias de células de Merckel y en neoplasias de origen endocrino.^{5,9}

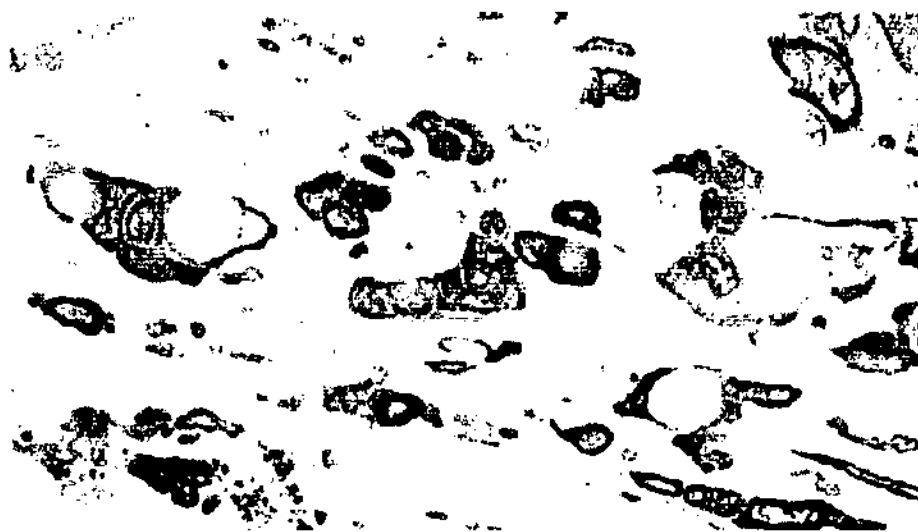


Fig.4.- Marcador proteína neurofilamentosa una neoplasia de células de Merckel en piel.⁹



Leu-7 (CD57)

Es un marcador antigénico para células natural Killer, Leu-7 puede ser expresada por una variedad de neoplasias neuroendocrinas y no neuroendocrinas. Aunque es expresado en neoplasias de las fibras nerviosas y en neoplasias de células pequeñas redondas de la infancia tales como neuroblastoma, la expresión prominente en rhabdomyosarcoma limita su uso en la diferenciación de neoplasias de células pequeñas redondeadas.^{5,9}

Sinaptofisina

Está presente en las vesículas presinápticas de las células nerviosas, la sinaptofisina es expresada por neoplasias de origen neuronal incluyendo neuroblastoma, neuroblastoma olfatorio, ganglioneuroblastoma y neoplasia neuroectodérmica melanótica de la infancia, neuroepitelioma periférico y rhabdomyosarcomas raros.^{5,9}

Enolasa específica de neurona

El uso de la enolasa específica de la neurona es limitado debido a la frecuente tinción de fondo no específica, particularmente cuando los anticuerpos usados son policlonales. Esta es expresada por arriba del 50% en neuroblastomas, paragangliomas, y varias neoplasias endocrinas, en un tercio de los melanomas malignos y en 2% de las neoplasias no neurales.⁵

Proteína básica de la mielina

Esta proteína constituye un tercio de las fibras de mielina y puede ser identificada en neoplasias de células Schwann malignas y benignas. Puede ser útil para distinguir schwannoma maligno de melanoma maligno.⁵



Cromogranina

Esta proteína es de la familia de las glicoproteínas ácidas (la más abundante es la cromogranina A), localizada en la fracción libre de los gránulos neurosecretorios. Esta es usada como un marcador panendócrino ya que es expresada en la mayoría de las neoplasias neuroendócrinas.^{5,9}



Fig. 5.- Marcador cromogranina demostrando un carcinoma de estómago⁹

MARCADORES ENDOTELIALES/VASCULARES

CD31

El antígeno, GPIIa, la molécula de adhesión celular PECAM-1 (molécula de adhesión de células plaquetarias endoteliales), pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas y es expresada por algunas células endoteliales y hematopoyéticas. Este marcador tiene una sensibilidad y especificidad del 100% para lesiones endoteliales. Esta es expresada de un 80% a 100% por los angiosarcomas y hemangiomas. Sin embargo, también es expresada débilmente por carcinomas raros, mesoteliomas y en artritis reumatoide.⁵



Factor antigénico VIII (FVIII)

Este es un complejo de factor VIII-C (anti-hemofílico) y antígeno asociado al factor VIII (factor Von Willebrand). Está restringido a células endoteliales y megacariocitos, éste es menos específico para neoplasias endoteliales que CD31 y CD34. Sin embargo, éste es útil como marcador confirmatorio, particularmente en neoplasias bien diferenciadas.^{5,9}

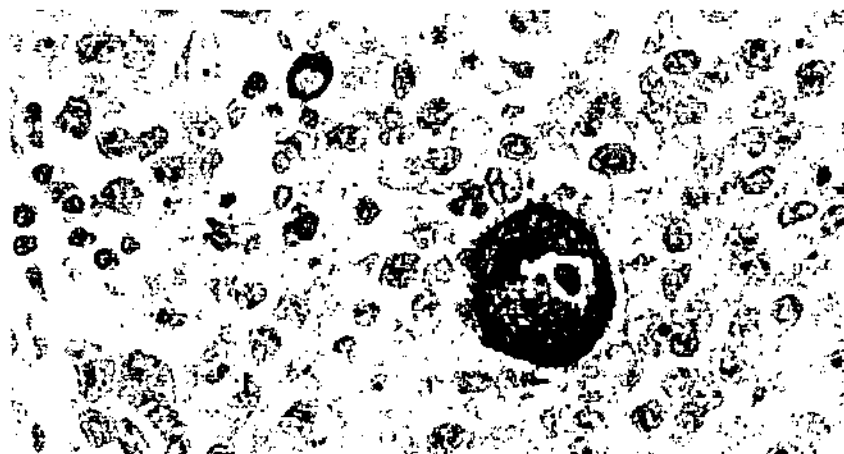


Fig. 6.- Marcador factor antigénico VIII demostrando un hemangioendoteloma de hueso⁹

Antígenos del grupo sanguíneo (ABO)

Lectin *Ulex*, derivada de *Ulex europaeus*, se une a la sustancia H del sistema ABO. Parece ser más sensible que el factor VIII en el reconocimiento de endotelio y angiosarcoma. Sin embargo, es menos específico ya que también reconoce una variedad de células normales y algunos sarcomas.⁵

CD34

El antígeno CD34, una glicoproteína transmembranal presente en las células humanas progenitoras y células endoteliales, es un marcador muy sensible para la diferenciación endotelial, tiñendo endotelio neoplásico más fuertemente que el endotelio normal. Este se expresa en un 70% en los angiosarcomas, 90% en sarcomas de Kaposi y 100% en hemangioendotelomas epiteliales. Sin embargo, CD34 tiene una reactividad amplia. Es expresado en ciertas células alrededor de estructuras de piel y por lesiones en las fibras nerviosas, en neoplasias malignas fibrosas solitarias, neoplasias gastrointestinales y en el 50 % de los sarcomas epitelioides. La coexpresión de CD34 y citoqueratina es observado en sarcomas epitelioides, angiosarcomas epitelioides y schwannoma glandular. También, el 88% de las dermatofibrosarcomas protuberantes expresaron CD34 comparado



con los casos raros de histiocitoma fibroso benigno y dermatofibroma. CD34 en conjunción con F13a es usado en el diagnóstico diferencial de lesiones superficiales de las células fusiformes. Ambos marcadores son expresados por sarcoma de Kaposi y están ausentes en queloides. En dermatofibrosarcoma protuberantes, Cd34 es expresado, mientras que F13a no. Lo opuesto es cierto para histiocitoma fibrosa benigno y dermatofibroma.⁵

MARCADORES MUSCULARES

Desmina (Des)

Esta proteína de los filamentos intermedios de células de músculo esquelético (zona Z), liso (cuerpos densos) y cardíaco, es expresada en un 95% en rabdomiosarcomas (algunas veces solo focalmente) y variablemente por neoplasias de músculo liso. Es también expresada en miofibroblastos, células del retículo de nódulos linfáticos, células del estroma endometrial, mesotelio fetal, células del estroma del riñón y vellosidades coriónicas; es expresada en 17% de neoplasias de tejido blando no miogénicas tales como un histiocitoma fibroso maligno, algunas fibromatosis y carcinomas del pulmón.^{5,9,14}



Fig. 7.- Marcador desmina demostrando un carcinoma de intestino¹⁴



Actina

Estas proteínas contráctiles son clasificadas como alfa (músculo esquelético, cardíaco y liso), beta (citoplasmática) y gamma (músculo liso y citoplasmático). *Actina específica de músculo* reconoce todas las alfa actinas (esquelético, cardíaco y liso) y la actina gamma de músculo liso. Esta no reacciona con actinas no musculares. El patrón de la reactividad está usualmente en la periferia del citoplasma. La fibromatosis, lesiones fibrohistiocíticas, histiocitoma fibrosa maligna y lesiones mioepiteliales pueden expresar actina específica de músculo. La especificidad de la actina de músculo liso es más restringida que *la actina específica de músculo*. Esta no detecta músculo esquelético y cardíaco (alfa actina) o la gama actina de músculo liso. Esta es expresada en neoplasias de músculo liso y en lesiones de músculo no liso con diferenciación mioide, tales como fascitis nodular y lesiones miofibroblásticas, las cuales son caracterizadas por la expresión de la actina de músculo liso y la actina específica de músculo, pero carecen de la expresión de la desmina.⁵

Mioglobina

Este marcador es expresado sólo en músculo esquelético y en la mitad de rabdomiosarcomas aproximadamente. Se requiere de una interpretación cuidadosa por que puede estar liberado del músculo dañado adyacente y fagocitado por células neoplásicas y no neoplásicas.⁵

MARCADORES FIBRO-HISTIOCITICOS

CD68

Esta glicoproteína de 110-kDa se encuentra en los lisosomas de los monocitos y macrófagos y en los gránulos primarios de neutrófilos encontrados en hepatocitos normales, tubulo renal y melanoma, así como potencialmente en cualquier neoplasia conteniendo gránulos lisosomales o fagolisosomas. Ya que se expresa variablemente en un 50% aproximadamente de casos de histiocitomas fibrosos malignos, ésta no es considerada específica para este diagnóstico. La expresión de CD68 no debería ser usada como evidencia del linaje histiocítico.⁵



Factor XIIIa (F13a)

Esta forma intracelular del factor estabilizante de la fibrina se encuentra en el suero y pueden ser encerradas por células neoplásicas en lugar de ser producido activamente. Este es expresado por células histiocíticas tales como los dendrocitos dermales (cel. Langerhans), los cuales también expresan CD34. F13a puede ser usado en el diagnóstico diferencial de histiocitoma fibroso/dermatofibroma contra dermatofibroma protuberante y xantogranuloma juvenil contra histiocitosis X (enfermedad de células de Langerhans).⁵

MARCADORES EPITELIALES

Antígeno de membrana epitelial (EMA)

Este antígeno representa un complejo de citoqueratinas de alto peso molecular aisladas de la membrana de los glóbulos de la leche humana (HMFG). Aproximadamente el 75% de los sarcomas similares a los epiteliales (sarcomas sinoviales y epitelioides) expresan EMA. EMA también es expresada en tejidos perineurales, neoplasias de fibras nerviosas periféricas malignas, leiomiomas, células plasmáticas de superficie, histiocitos y linfomas de células T.^{5,6,9}

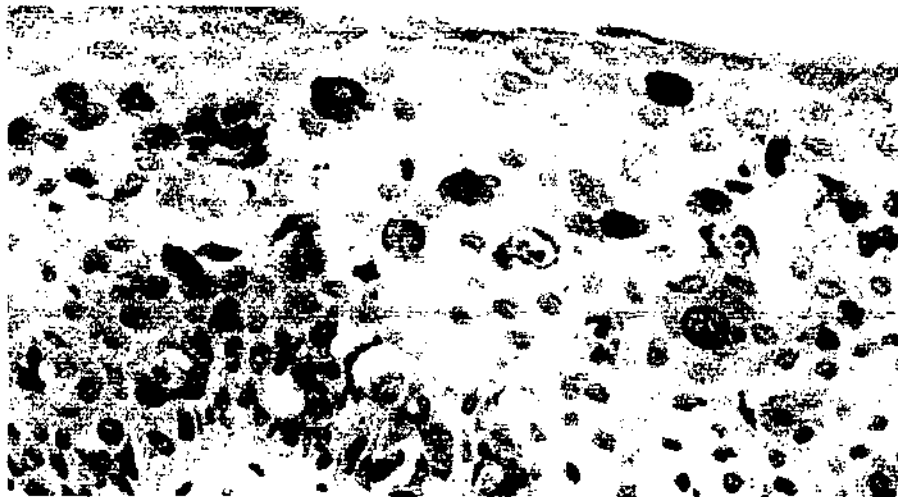


Fig. 8.- Marcador Antígeno epitelial de membrana (EMA) demostrando un carcinoma de mama en la enfermedad de Paget's⁹



Citoqueratinas

Las citoqueratinas consisten de un grupo de 19 polipéptidos con peso molecular que va de 40 a 67 kDa. Las citoqueratinas son expresadas en una gran mayoría, si no todas, sarcomas similares a los epiteliales tales como epitelioides y sarcomas sinoviales, en muchas neoplasias rabdoideas y en mesoteliomas. Las citoqueratinas, particularmente la 8 y 18 son expresados en muchas células mesenquimatosas, un fenómeno más aparente en secciones congeladas y son demostrados a nivel del RNAm. Si esto representa una regresión al estado embrionario, un resultado de la proliferación celular, o alguna otra razón no es clara. Para complicar más el problema, muchos carcinomas sarcomatoides carecen de la expresión difusa de queratinas y pueden expresar aberrantemente otros marcadores mesenquimatosos.^{5,9,14}



Fig. 9.- Marcador citoqueratina demostrando un carcinoma en intestino¹⁴

MISCELANEA

Producto del gen P30p32/MIC-2

Localizado en el brazo corto del cromosoma sexual, este codifica para la proteína de superficie descrita por primera vez en células T y en la leucemia linfoblástica aguda. Dos recientes anticuerpos que detectan los epítopes MIC-2, HBA-71 y O13, son utilizados en el diagnóstico del sarcoma de Ewing y neuroepiteliomas periféricos.⁵



INMUNOPERFILES DE LAS NEOPLASIAS DE TEJIDOS BLANDOS

La interpretación de los perfiles de IHQ requiere el conocimiento acerca del rango fenotípico de cada marcador y el rango de reacción en cada entidad. El uso de un panel de marcadores predefinido se recomienda ampliamente, aunque dados los costos del cuidado de la salud, la inclusión o exclusión de un reactivo en particular debería ser considerada en el contexto de los aspectos histopatológicos de la neoplasia (Tabla 3).⁵

NEOPLASIAS FIBROSAS

Los principales componentes de los tejidos fibroconectivos son los fibroblastos y los miofibroblastos (una modificación de los fibroblastos) y la matriz extracelular conteniendo colágena y una sustancia similar a un gel. Los fibroblastos y los miofibroblastos producen procolágena y colágena y expresan vimentina, actina y en menor grado la desmina. Estos marcadores también son expresados por neoplasias fibrosas, tanto malignas como benignas. En algunas entidades tales como la fibromatosis, otros marcadores (ejemplo: actina del músculo liso, factor XIIIa, miosina) también se pueden encontrar.⁵

NEOPLASIAS FIBROHISTIOCITICAS

Las neoplasias histiocíticas probablemente se derivan de los fibroblastos. Las neoplasias benignas, los histiocitomas fibrosos frecuentemente se confunden con otras lesiones (ej: fasciitis nodular, neurofibroma, leiomioma) o con otras neoplasias fibrohistiocíticas (ej: dermatofibrosarcomas protuberantes). Debido a la carencia de marcadores específicos para las lesiones fibrohistiocíticas, el diagnóstico se basa generalmente en la ausencia de marcadores para otros linajes. Los dermatofibrosarcomas protuberantes, por instancia, expresan fuertemente a CD34 y S-100 es expresada en neurofibromas. Las neoplasias malignas tales como los histiocitomas fibroso malignos han sido sujetos de un largo debate no solo acerca de si ellos son de origen histiocítico – una hipótesis que ahora está seriamente disputada—sino también si ellos representan una entidad homogénea o una colección de sarcomas en los cuales la diferenciación todavía no es evidente. La IHQ ayuda a diferenciarlos de otras neoplasias pleomórficas tales como carcinoma anaplásicos, melanoma o sarcomas pleomórficos. La inmunoreactividad focal se puede encontrar por marcadores tales como la queratina, desmina, la proteína neurofilamentosa. Esto no se debería interpretar como evidencia de una ontogénesis particular. En general, el diagnóstico inicial de un histiocitoma fibroso es mantenido en solo



un 50% aproximadamente de los casos una vez que se utilizan métodos de diagnóstico sofisticado.⁵

NEOPLASIAS DE TEJIDO ADIPOSO

Los adipocitos normales y los lipoblastos expresan S-100. Aunque el uso de S-100 se ha recomendado en el diagnóstico diferencial con histiocitoma fibroso maligno, es importante notar que los liposarcomas varían en intensidad de expresión y neoplasias pobremente diferenciadas pueden carecer de la expresión completamente. La actina de músculo liso puede indicar la diferenciación de músculo focal.⁵

NEOPLASIAS DE MUSCULO LISO

A pesar de que la calidad de los reactivos se han mejorado constantemente, la interpretación de los perfiles de IHQ en neoplasias de músculo liso considera la expresión de estos marcadores como aberrantes en las neoplasias de músculo no liso. La actina específica de músculo se expresa constantemente en la mayoría de los leiomiomas, pero la desmina se expresa más variablemente. La expresión focal de cualquier marcador no se debería interpretar como evidencia de la diferenciación muscular. Además, otros antígenos como las citoqueratinas, EMA, S-100, Leu-7 y aún CD34 han sido demostrados en leiomiomas.⁵

NEOPLASIAS DE MUSCULO ESTRIADO

Las células estriadas expresan la mioglobina, la desmina, la alfa actina de músculo liso y ocasionalmente a la S-100, vimentina y Leu-7. Otros antígenos como la miosina, la cinasa creatinina, la beta enolasa y la titina, son menos sensibles. En general, la intensidad de la expresión correlaciona con el grado de la diferenciación rabiomioblástica. S-100 y las citoqueratinas han sido encontradas escasamente en neoplasias diferenciadas.⁵

NEOPLASIAS VASCULARES

Los marcadores vasculares tales como la CD34, proteínas asociadas al factor VIII ó *Ulex europaeus* se expresan variablemente. La mayoría de los hemangioendoteliomas expresan factor VIII, aunque el tipo caposiforme puede no expresar este marcados ó *Ulex europaeus* mientras que expresa a CD34. Estos marcadores algunas veces no son expresados por los angiosarcomas más agresivos. Para estas neoplasias, CD31 ha sido reportado para ser más específico. Los endotelios linfáticos expresan al factor VIII, CD31 y *Ulex europaeus*, complicando así el diagnóstico diferencial del linfangioma/linfangiosarcoma



y hemangioma/angiosarcoma. Por lo que el diagnóstico debería ser realizado histológicamente cuando sea posible.^{5,6}

NEOPLASIAS PERIVASCULARES

La histología es muy característica en esta categoría de neoplasias, haciendo poco probable un diagnóstico confuso. Sin embargo, las neoplasias celulares pueden ser mal interpretados por neoplasias de los anexos cutáneos. Estas neoplasias expresan citoqueratinas, antígeno carcinoembrionario (CEA) ó EMA, marcadores no solo encontrados en hemangiopericitomas. Nevi puede ser distinguido de neoplasias perivasculares por la expresión de S-100. Las neoplasias glomus expresan vimentina e isoformas de actina muscular y en un grado variable a la desmina. La laminina y la colágena IV, constituyen la lámina basal, pueden ser encontradas en células periféricas ó grupos de células. Los hemangiopericitomas, expresan variablemente a la vimentina, CD34 y al factor XIIIa, pero no expresan al factor VIII, *Ulex europaeus* o actina del músculo liso. Ocasionalmente expresan a S-100, Leu-7 y glicoproteínas asociadas a mielina.⁵

NEOPLASIAS SINOVIALES

Las células de neoplasias benignas sinoviales y tenosinoviales probablemente son las más relacionadas a monocitos y macrófagos y expresan a marcadores de la superficie celular tales como HLA-A, B, C y DR, LCA, Leu-M3 y Leu-3. Esto se ha interpretado como un linaje osteoclastico potencial. Los sarcomas sinoviales contienen varios grados de células epiteliales y elementos celulares fusiformes. Ambos elementos, generalmente expresan citoqueratinas de alto y bajo peso molecular y EMA, encontrados aún en tipos fibrosos monofásicos donde la examinación histopatológica no revela evidencias de elementos epiteliales. La citoqueratina 7 y 19 parecen ser específicas de este neoplasia y Leu-7 y S-100 también se pueden encontrar. Otra neoplasia, el sarcoma epitelioides, también coexpresa marcadores epiteliales y mesenquimatosos. Estas dos neoplasias se han encontrado para coexistir en la misma posición y pueden estar relacionados. La histología ayuda en el diagnóstico diferencial ya que, en el sarcoma epitelioides, elementos epiteliales y mesenquimatosos no están claramente demostrados y la mucina no se produce. Sin embargo, los sarcomas sinoviales puros son difíciles de distinguir de los carcinomas metastásicos ó anexos cutáneos.⁵



NEOPLASIAS MESOTELIALES

Los mesoteliomas pueden presentar una variedad de patrones histológicos (epitelial, fibroso, bifásico) y por lo tanto, presentan problemas en el diagnóstico, particularmente con los sarcomas y los adenocarcinomas. En general, un panel extensivo es necesario para apoyar el diagnóstico de mesotelioma con base en la expresión negativa de varios de estos marcadores. Un panel recomendado incluye la vimentina, citoqueratina CEA, EMA, Leu-M1, Ver-EP4 y B72.3. Otros anticuerpos están todavía bajo evaluación (HMFG2, ME1, ME2 calretinina y K1) (Tabla 3).⁵

NEOPLASIAS DE NERVIOS PERIFERICOS

En contraste a los neurofibromas, los cuales contienen una mezcla de células, los neurilemomas consisten predominantemente de células de Schwann (schwannoma) y por lo tanto expresan la proteína S-100, variablemente a Leu-7 y ocasionalmente la proteína ácida de la glia fibrilar. Los leiomiomas pueden mostrar algunas semejanzas histológicas, pero ellos generalmente no expresan a la proteína S-100. La proteína neurofilamentosa ayuda en la distinción del neurilemomas y neurofibromas. Las neoplasias malignas que surgen de nervios ó fibras nerviosas mostrando diferenciación, son mejor designados como "neoplasias de las fibras nerviosas periféricas" ya que ellos frecuentemente recapitulan a células de Schwann, fibroblastos perineurales, ó fibroblastos. La diferenciación de las fibras nerviosas puede ser identificada por el uso de marcadores tales como la proteína S-100, Leu-7 y proteína básica de la mielina. La S-100 es expresada aunque focalmente, de un 50 a un 90% en las neoplasias de las fibras nerviosas periféricas malignas, Leu-7 en un 50 % aproximadamente y la proteína básica de la mielina en un 40%. Ninguno de estos marcadores es específico; por lo tanto, es mejor utilizar un panel completo. Con la excepción de formas raras de schwannomas glandulares, la citoqueratina no se expresa. Una confusión potente puede surgir con los sarcomas sinoviales, pero estas neoplasias muy raramente expresan a S-100. Esta proteína está expresada focalmente en neurilemomas, mientras que neurofibromas expresa a S-100 difusamente.⁵

Los sarcomas de células claras, o melanomas de partes blandas, son neoplasias que producen melanina y están íntimamente asociados a tendones o a aponeurosis. Ellos expresan a S-100 y frecuentemente a HMB45, enolasa específica de neuronas y a Leu-7. La ausencia de mucina y la presencia de melanina los distinguen de sarcomas sinoviales.⁵



NEOPLASIAS NEUROECTODERMICAS PRIMITIVAS Y LESIONES RELACIONADAS

Los estudios moleculares recientemente han demostrado que el neuroepitelioma periférico (neoplasia neuroectodermal primitivo o PNET) y el sarcoma de Ewing, entidades que una vez se consideraron no relacionadas, son quizá, los miembros más considerados de la misma familia. De hecho, el sarcoma de Ewing y el neuroepitelioma comparten la translocación cromosomal 11/12 y son actualmente considerados grados diferentes de diferenciación de la misma neoplasia. Las neoplasias desmoplásicas de células pequeñas redondeadas, los ectomesenquimomas malignos, los sarcomas de células claras y los condrosarcomas mixoide extraesquelético también son considerados como miembros de la familia del sarcoma de Ewing.⁵

Los neuroepiteliomas periféricos expresan la enolasa específica de neuronas y el antígeno de la superficie celular p30/32 (CD99), codificado por el gen *myc-2* y son detectados con los anticuerpos HBA71 y O13. Este antígeno también es detectado en el sarcoma de Ewing y en algunos linfomas y rhabdomyosarcomas. Aunque Leu-7, sinaptosina, proteína S-100, proteína neurofilamentosa y cromogranina son expresadas variablemente, la proteína ácida de la glía fibrilar es negativa consistentemente. Los reportes aislados indican que el sarcoma de Ewing puede expresar citoqueratinas de bajo peso molecular.⁵

NEUROBLASTOMAS

Aunque un número de antígenos se pueden encontrar en los neuroblastoma, la enolasa específica de neuronas es la más sensible. Está presente por lo menos focalmente, en la mayoría de los neuroblastomas y con gran intensidad en la mayoría de las neoplasias diferenciadas. Sin embargo, también es expresada en muchas otras neoplasias de células pequeñas redondeadas tales como el sarcoma de Ewing y el rhabdomyosarcoma, por lo tanto su uso es limitado en el diagnóstico diferencial. Otro marcador encontrado en neuroblastomas cuya expresión depende del grado de diferenciación y de las condiciones de fijación es la proteína neurofilamentosa, la cual se localiza en células que muestran diferenciación ganglionar. S-100 se encuentra en áreas de diferenciación ganglioneuromatosa, siguiendo quizá el grado de neoplasias de acuerdo al patrón de expresión como una correlación de la diferenciación. Otros marcadores tales como la cromogranina, sinaptocina y peptovasointestinal, también se pueden encontrar en la mayoría de las neoplasias diferenciadas.⁵



PARAGANGLIOMAS

El paraganglio es una colección de células de la cresta neuronal surgiendo en la asociación con el ganglio. Los paragangliomas expresan enolasa específica de la neurona, S-100 y en algunos casos la proteína ácida de fibrilar glial, gastrina y serotonina. En los paragangliomas, la S-100 esta expresada en la periferia de los grupos de células. Varios péptidos también pueden ser identificados, incluyendo a Leu-enkefalina(76%), la Met-enkefalina, (75%), la sustancia P(31%), peptido vasointestinal (30%), el polipéptido pancreático (51%), la somatostatina (67%); la bombecina (15%), la calcitonina (23%), la neurotensina (12%), y la corticotropina (28%).^{5,8}

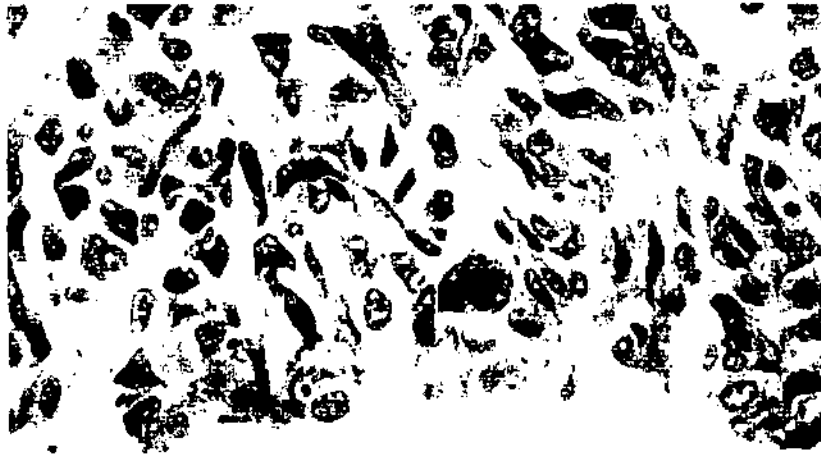


Fig. 10.- Marcador proteína ácido fibrilar glial demostrando un astrocitoma maligno.⁹

NEOPLASIAS ÓSEAS Y CARTILAGINOSAS EXTRAESQUELÉTICAS

El condrosarcoma mixoide (sarcoma condroide), una forma de condrosarcoma esquelético, expresa proteína S-100 y, raramente citoqueratina y Leu-7. En general, de cualquier modo, el papel de la IHQ en el diagnóstico diferencial de neoplasia cartilaginosa permanece en la demostración de ausencia de marcadores específicos para otros linajes. El papel de la IHQ también es limitado en neoplasias óseo esqueléticas para eliminar otros linajes neoplásico, particularmente en el contexto de neoplasias pequeñas de células redondas, en donde el diagnóstico de osteosarcoma de células pequeñas y el sarcoma de Ewing son considerados.⁵



NEOPLASIAS DE ORIGEN INCIERTO

La neoplasia mixoide tal como algunos mixomas son distinguidos de otras entidades mixoides, por ejemplo, liposarcoma mixoide, lesiones cartilaginosas mixoides o histiocitoma fibroso mixoide maligno. Mixomas no expresan la proteína S-100. La proteína S-100 es expresada por lipoblastos y condroblastos. Los sarcomas alveolares de partes blandas son considerados que se originan de músculo estriado, dada su expresión por vimentina, actina músculo específica, MioD1, desmina, y la falta de marcadores para otros linajes. El sarcoma epiteloide, comparte otras características con sarcoma sinovial, como se discutió previamente, y aunque el origen exacto de las células es desconocido, un probable origen en el mesenquima sinovioblástico. La IHQ juega un papel importante en el diagnóstico de otra entidad de origen dudoso, neoplasia rabdoide extrarenal maligno el cual se puede diferenciar de otras neoplasias que son escasamente diferenciadas, tales como el rhabdomiosarcoma, sarcoma sinovial, mesotelioma, sarcoma epiteloide, carcinoma y melanoma. neoplasias desmoplásicas de células pequeñas de la infancia expresan citoqueratina, EMA. Desmina, vimentina y ocasionalmente a la proteína S-100, leu 7, leuM1, y sinaptocina. La proteína neurofilamentosa, la cromogranina y la CEA no son expresadas. El origen celular es desconocido.⁵



MARCADORES MÁS UTILIZADOS PARA CORRELACIONAR LA HISTOGÉNESIS

HISTOGENESIS	MARCADORES
MESENQUIMATOSO	VIMENTINA
EPITELIAL	CITOQUERATINAS, EMA
MÚSCULO LISO	DESMINA, HHF35, ACTINA DE MÚSCULO LISO
MÚSCULO ESQUELÉTICO	MIOGLOBINA
FIBROHISTIOCITICO	CD68, FACTOR XIIIa
NERVIO PERIFÉRICO	Leu7, PROTEÍNA ÁCIDA FIBRILAR GLIAL
MELANOCITICO	HMB45
NEURONAL	NEUROFILAMENTO
ENDOTELIAL PERIVASCULAR	FACTOR VIII, CD34, CD31, ULEX EUROPAEUS
HEMATOPOYETICO	ANTIGENO COMUN LEUCOCITARIO, CD3, CD20
LIPOMATOSO	NO SE USA INMUNOHISTOQUIMICA
NEUROENDOCRINO	ENOLASA ESPECÍFICA DE NEURONA, CROMOGRANINA, SINAPTOSINA
SARCOMA DE EWING/ PRET	MIC-2 (O-13)

PRET = neoplasia neuroectodermica primitiva

TABLA 1.- Marcadores más utilizados para correlacionar la histogénesis.⁵



PATRONES HISTOLÓGICOS MÁS COMUNES DE NEOPLASIAS DE TEJIDOS BLANDOS

FASCICULAR (CÉLULAS FUSIFORMES)	FASCITIS NODULAR	LEIOMIOMA	
	FIBROMATOSIS	LEIOMIOSARCOMA	
	FIBROSARCOMA	SARCOMA SINOVIAL	
	NEOPLASIA DE FIBRAS NERVIOSAS	RABDOMIOSARCOMA DE CELULAS FUSIFORMES (embrional)	
EMPALIZADAS	LEIOMIOSARCOMA		
	NEOPLASIA DE FIBRAS NERVIOSAS		
	NEOPLASIAS DE FIBRAS NERVIOSAS		
PLEXIFORME	HISTIOCITOMA FIBROSO PLEXIFORME		
	DERMATOFIBROSARCOMA		
ESTORIFORME	PROTUBERANTE		
	HISTIOCITOMA FIBROSO		
	NEUROFIBROMA		
	NEOPLASIA FIBROMIXOIDE	LIPOMA MIXOIDE	
	OSIFICANTE	LIPOBLASTOMA	
	MIXOMA	LIPOSARCOMA MIXOIDE	
	ANGIOMIXOMA	CONDROSARCOMA MIXOIDE	
	HISTIOCITOMA FIBROSO MIXOIDE	RABDOMIOSARCOMA	
	MALIGNO	EMBRIONAL	
	NEUROFIBROMA MIXOIDE	LEIOMIOSARCOMA MIXOIDE	
MIXOIDE	NEUROTEQUEOMA	CONDROSARCOMA MIXOIDE	
	DERMATOFIBROMA MIXOIDE		
	PROTUBERANTE		
	LIPOSARCOMA MIXOIDE		
	FASCITIS NODULAR		
	VASCULAR, ARBORIZANTE	HISTIOCITOMA FIBROSO	
		MIXOIDE MALIGNO	
		HISTIOCITOMA FIBROSO MALIGNO	NEOPLASIA PLEOMORFICA DE NERVIOS PERIFÉRICOS
	PLEOMORFICO	LIPOSARCOMA PLEOMORFICO	
		RABDOMIOSARCOMA PLEOMORFO	LEIOMIOSARCOMA PLEOMORFO

CONTINUA



EPITELIOIDE	SARCOMA ALVEOLAR DE PARTES BLANDAS	LEIOMIOSARCOMA EPITELOIDE SCHWANOMA EPITELOIDE MALIGNO	
	SARCOMA SINOVIAL	NEOPLASIA RABDOIDE MALIGNA	
	SARCOMA EPITELOIDE	MESOTELIOMA MALIGNO	
	ANGIOSARCOMA EPITELOIDE	NEOPLASIA	
	HEMANGIOENDOTELIOMA EPITELOIDE	NEUROECTODERMICA MALIGNA	
LOBULAR	CONDROSARCOMA MIXOIDE		
	SARCOMA DE CELULAS CLARAS		
	SARCOMA EPITELOIDE		
ALVEOLAR	SARCOMA ALVEOLAR DE PARTES - BLANDAS		
	RABDOMIOSARCOMA ALVEOLAR		
	RABDOMIOSARCOMA	CONDROSARCOMA MESENQUIMATOSO	
	NEUROBLASTOMA	SARCOMA DE EWING	
CÉLULAS REDONDAS	HEMANGIOPERICITOMA	EXTRAESQUELETAL	
	LINFOMA	NEOPLASIA	
	NEOPLASIA DESMOPLASICA MALIGNA DE CELULAS PEQUEÑAS DE LA INFANCIA	NEUROECTODERMICA PERIFERICA	
		LIPOSARCOMA DE CELULAS REDONDAS	
	GLANDULAR	SARCOMA SINOVIAL	
CARCINOMA METASTÁSICO			
NEOPLASIA DE GLANDULAS ANEXAS SUDORIPARAS.			

TABLA 2.- Patrones histológicos más comunes de neoplasias de tejidos blandos.⁵



EXPRESIÓN DE MARCADORES EN MESOTELIOMAS Y CARCINOMAS

ANTÍGENO	Mesoteliomas	Carcinomas
CEA	100	100
CA 19.9	80	100
CA 125	100	8
CA 15.01	10	75
CA 15.02	10	85
CA 22.01	0	15
CA 22.02	0	65
CA 22.03	40	30
CA 22.04	0	80
CA 22.05	90	30
CA 22.06	0	70

TABLA 3.- Expresión de marcadores en mesoteliomas y carcinomas.⁵



INMUNOHISTOQUÍMICA EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE NEOPLASIAS DE CABEZA Y CUELLO

En algunas situaciones, las neoplasias de cabeza y cuello pueden ser extremadamente difícil diferenciarlas las unas con las otras ante un microscopio de luz, por lo que se tiene que recurrir a microscopios electrónicos o a inmunohistología para resolver estos problemas. A continuación se presentan diagnósticos diferenciales usando estudios inmunohistoquímicos para resolver la interpretación incierta de estas neoplasias.¹⁰

CARCINOMA NASOFARÍNGEO vs. CARCINOMA DE ALTO GRADO, LINFOMA DE CÉLULAS GRANDES MALIGNO Y MELANOMA DE LA MUCOSA RESPIRATORIA

El carcinoma nasofaríngeo es definido como una variante del carcinoma escamoso, es reactivo para queratina y antígeno de membrana epitelial (EMA). El adenocarcinoma de alto grado se origina de las glándulas salivales menores, el linfoma de células largas y el melanoma amelanótico maligno, todos pueden semejarse al carcinoma nasofaríngeo con sorprendente similitud histológica. Estos pueden ser diferenciados usando los siguientes reactivos: el carcinoma nasofaríngeo es negativo para CEA, a diferencia del adenocarcinoma; el linfoma es positivo para CD45, y negativo para el carcinoma nasofaríngeo; y el melanoma es reactivo para protelna S-100, HMB-45 y negativo para carcinoma nasofaríngeo.^{10,5}

CARCINOMA DE CELULAS PEQUEÑAS vs. LINFOMA MALIGNO DE CELULAS PEQUEÑAS, RABDOMIOSARCOMA EMBRIONAL Y MELANOMA MALIGNO DE CÉLULAS PEQUEÑAS

Este grupo de neoplasias son microscópicamente similares, el carcinoma de células pequeñas (tanto neuroendocrino o de origen escamoso), sólo es demostrado con EMA y queratina. Con melanoma CD57 es positivo. El rabadomiosarcoma es el único del grupo que reacciona con desmina o actina específica de músculo, y el linfoma de células pequeñas es positivo sólo para CD45.^{10,5}



CORDOMA vs. CARCINOMA MUCINOSO vs. NEOPLASIA MIXOIDE vs. CONDROSARCOMA

El cordoma demuestra un diferente inmunofenotipo en el que es reactivo para queratina, EMA y proteína S-100. el carcinoma mucinoso comparte los dos primeros de estos antígenos, pero carece de proteína S-100, al mismo tiempo el condrosarcoma reacciona con S-100, pero esta exento de marcadores epiteliales. Otro problema en este grupo de neoplasias envuelve neoplasias mixtas de glándulas salivales menores ectopias, que pueden presentarse en la línea media de la faringe posterior. El adenoma pleomorfo que comparte los rasgos inmunocitoquímicos del cordoma, pero presenta positividad para proteína ácido fibrilar glial, siendo negativo para neoplasias cordomatosas.¹⁰

NEOPLASIA DE CÉLULAS EMBRIONARIAS vs. ADENOCARCINOMA vs. LINFOMA MALIGNO vs. CARCINOMA NASOFARÍNGEO

La neoplasia de células embrionales a menudo produce dificultad en el diagnóstico de cabeza y cuello por su rareza exterior de las gónadas. Estas probablemente se confunden con otras neoplasias como son seminomas y carcinomas embrionales que semejan linfomas malignos, carcinoma somático de alto grado y carcinoma nasofaríngeo. Las neoplasias de células embrionarias son reactivas para fosfatasa alcalina de placenta, pero estas carecen de EMA y CD45. El linfoma sólo con los últimos 3 antígenos. Finalmente, el carcinoma nasofaríngeo y adenocarcinoma son positivos para EMA.¹⁰

ADENOMA PITUITARIO ECTÓPICO vs. ADENOMA MONOMÓRFICO DE GLANDULAS SALIVALES

Debido a que ambos están compuestos de células monomórficas, el adenoma pituitario ectópico de la nasofaringe y el adenoma monomórfico de glándulas salivales menores, puede ser difícil separarlos uno de otro microscópicamente. Estos problemas son resueltos por tinciones como enolasa específica de neurona, sinaptofisina, cromogranina y EMA. Mínimo uno de los tres primeros antígenos es reactivo con el adenoma pituitario, pero no en neoplasias de glándulas salivales. Tanto la neoplasia de pituitaria como de las glándulas salivales son positivas a queratina.¹⁰



CARCINOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES vs. SARCOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES vs. MELANOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES

El carcinoma de células fusiformes (sarcomatoide) puede semejarse a sarcomas o a melanomas malignos en los tejidos blandos, nasofaringe y cavidad bucal y senos paranasales. Estas neoplasias pueden ser separadas por inmunotinción con queratina, EMA, proteína S-100, vimentina, NSE y NK1/C3, ante este grupo de reactivos, el carcinoma es reactivo sólo con queratina; el melanoma es positivo con proteína S-100 vimentina, NSE y NK1/C3, y los sarcomas (excepto el sarcoma sinovial) presentan sólo vimentina en ausencia de otros determinantes específicos.^{10,5}

ANGIOSARCOMA EPITELIOIDE vs. CARCINOMA

El angiosarcoma epitelioide, en ocasiones imita a un carcinoma. La primera neoplasia es reactiva para el antígeno Factor VIII unido a Ulex europeaus, expresa CD31 y CD34. por otro lado carece de positividad para queratina y esta ausente EMA. El carcinoma pseudo - angiosarcomatoso puede unirse a Ulex, pero en adicción estos son difusamente positivos para EMA y queratina, en contraste con los angiosarcomas.^{10,5}

PARAGANGLIOMA vs. HEMANGIOMA CELULAR EPITELIOIDE vs. ADENOMA DE OÍDO MEDIO

En los tejidos blandos profundos del cuello, y en el oído medio, el paraganglioma puede parecer un hemangioma o apariencia microscópica adenomatoide respectivamente. NSE, sinaptofisina y cromogranina son positivas para el paraganglioma, pero estos marcadores están ausentes en el hemangioma y adenomas verdaderos del oído medio. A la inversa, las neoplasias endoteliales muestran uniones de Ulex europaeus lectina, y expresan CD31, CD34 o antígeno Factor VIII. Ninguno de los posteriores determinantes expresa en el paraganglioma. Los adenomas de oído medio son fácilmente identificados de estos tres grupos de neoplasias, por que estos son reactivos a queratina y positivos a lisozima.^{10,5}



NEOPLASIAS NEUROENDOCRINAS vs. PLASMOCITOMA

Tanto el plasmocitoma como la neoplasia neuroendocrina epitelial, manifiestan patrones similares de cromatina nuclear y pueden adoptar patrones de crecimiento celular medular. Las primeras lesiones pueden demostrar CD45, EMA, ninguna o ambas; igualmente, la cadena ligera de las inmunoglobulinas puede ser monotípica en el origen sobre neoplasias plasmocíticas o pueden estar ausentes en su totalidad, contribuyendo más a la confusión del diagnóstico. En estos casos, las neoplasias neuroendocrinas sólo presentan reactividad para queratina, sinaptofisina, y cromatina, marcando su identificación directamente.¹⁰

CARCINOMA TIROIDEO INSULAR vs. CARCINOMA TIROIDEO NEUROENDOCRINO

El carcinoma tiroideo insular pobremente diferenciado, es muy semejante a las neoplasias neuroendocrinas. Esta semejanza en la tiroides relativamente no provoca problemas. En este caso, donde el carcinoma insular se presenta con metástasis a sitios a distancia, puede ser difícil encontrarlos en esta identificación. Estas neoplasias son caracterizadas por su reactividad con tiroglobulina, pero no responde a NSE, cromogranina, antígeno carcinoembrionario y sinaptofisina. Los carcinomas neuroendocrinos (incluyendo al carcinoma medular de tiroides) presentan la conversión de este marco.¹⁰

NEOPLASIA FOLICULAR DE TIROIDES vs. CARCINOMA/ADENOMA TIROIDEO

El diagnóstico desafía confundiendo por neoplasia paratiroidea no funcional, con neoplasias tiroideas (benignas y malignas). Las inmunotinciones por tiroglobulina, hormona paratiroidea, cromogranina y sinaptosina son útiles en este contexto.¹⁰

CARCINOMA TIROIDEO FOLICULAR POBREMENTE DIFERENCIADO vs. CANCER MEDULAR DE TIROIDES

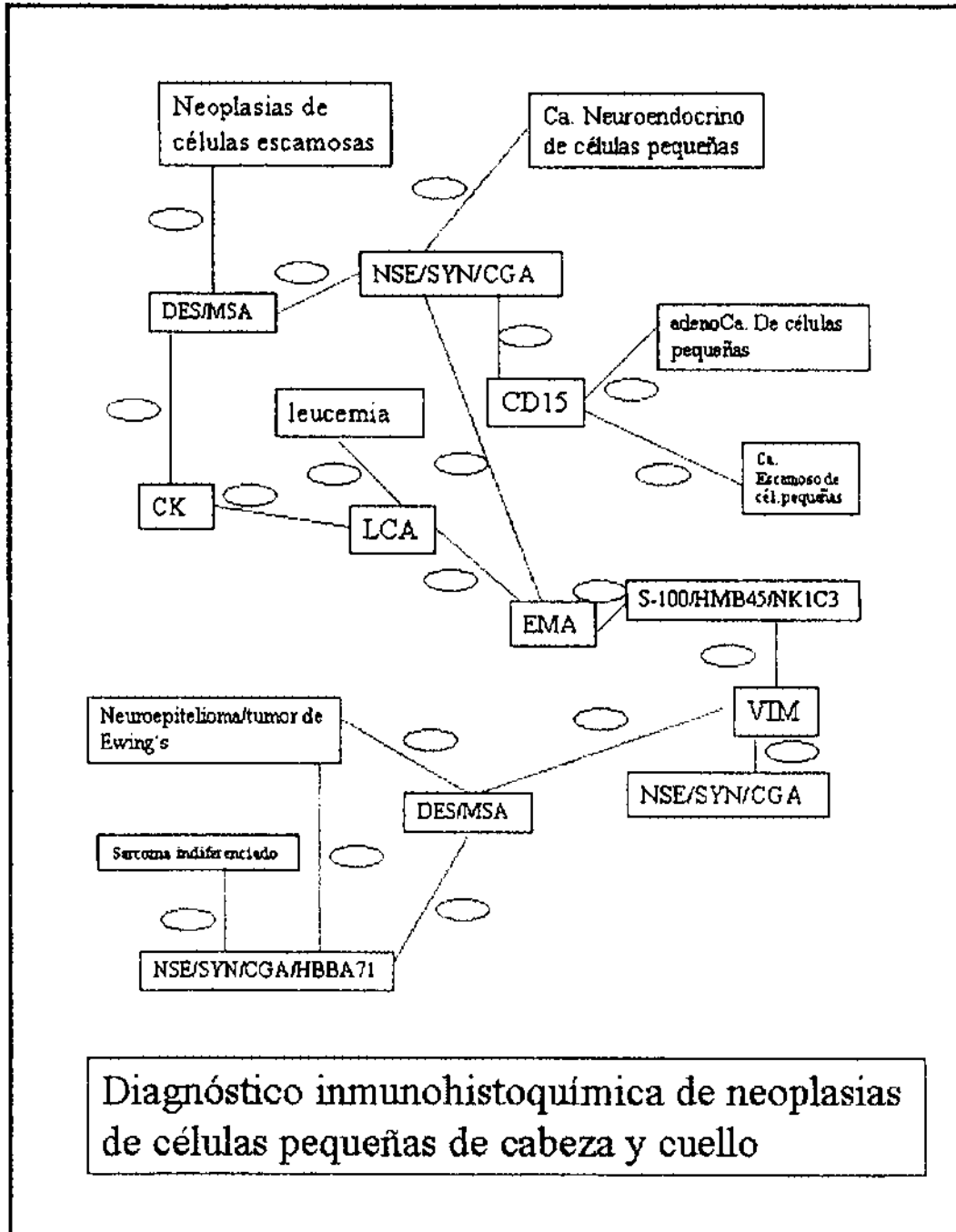
El carcinoma folicular pobremente diferenciado y el carcinoma medular de tiroides, puede dificultarse la diferenciación entre ambos con estudios de rutina, debido a que da un traslape en su apariencia histológica. Con inmunohistoquímica, el carcinoma folicular es positivo para tiroglobulina, sin embargo también puede ser presentada en ocasiones por el carcinoma medular tiroideo. Por esta razón, la distinción entre estas neoplasias se realiza



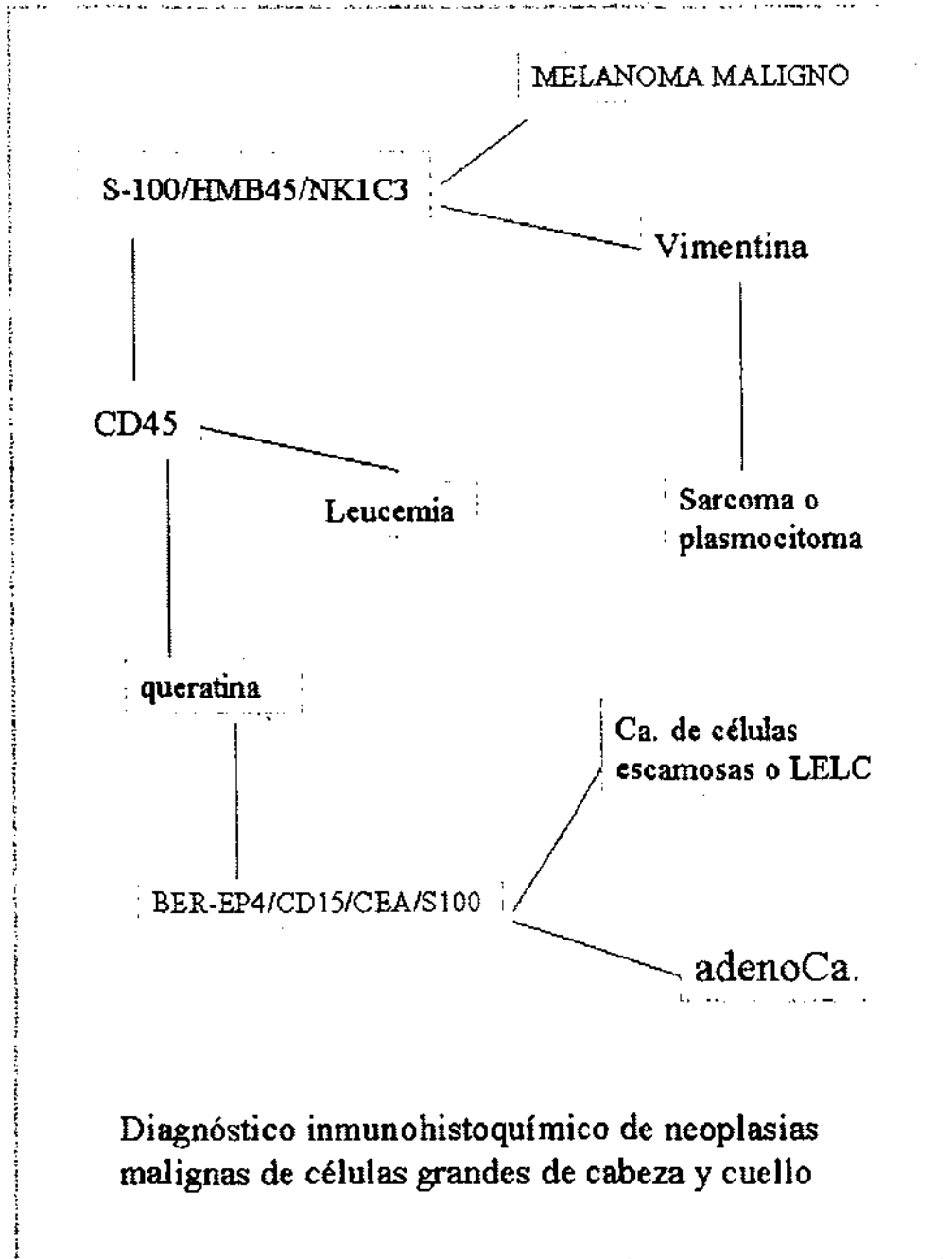
con inmunotinciones como la NSE, cromogranina, sinaptosina, calcitonina y CEA. Todos estos marcadores están presentes en el carcinoma medular, pero no en el carcinoma folicular tiroideo.¹⁰

CARCINOMA DE ORIGEN DE GLÁNDULAS SALIVALES vs. CARCINOMA CON OTRA DERIVACIÓN ANATÓMICA

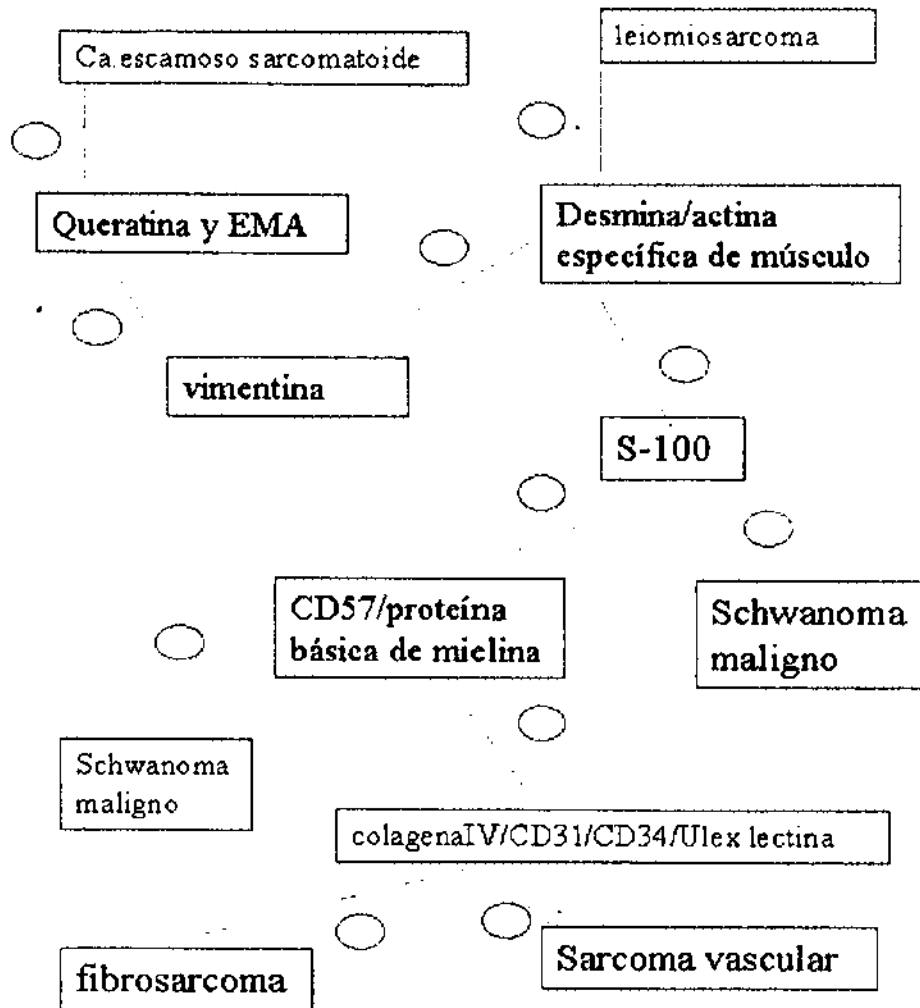
El carcinoma papilar tiroideo contra el carcinoma papilar de glándulas salivales contra las neoplasias primarias de células claras de la tiroides; pueden ser diferenciadas unas de otras por la presencia de tiroglobulina, son derivados anatómicos de neoplasias malignas epiteliales de cabeza y cuello, cuyas formas finalmente son determinadas por estudios convencionales. La proteína S-100, alfa-lactoalbumina, amilasa, CA19.9, y SEA.¹⁰



Esquema 6.- diagnóstico inmunohistoquímico de neoplasias de células pequeñas de cabeza y cuello.¹⁰

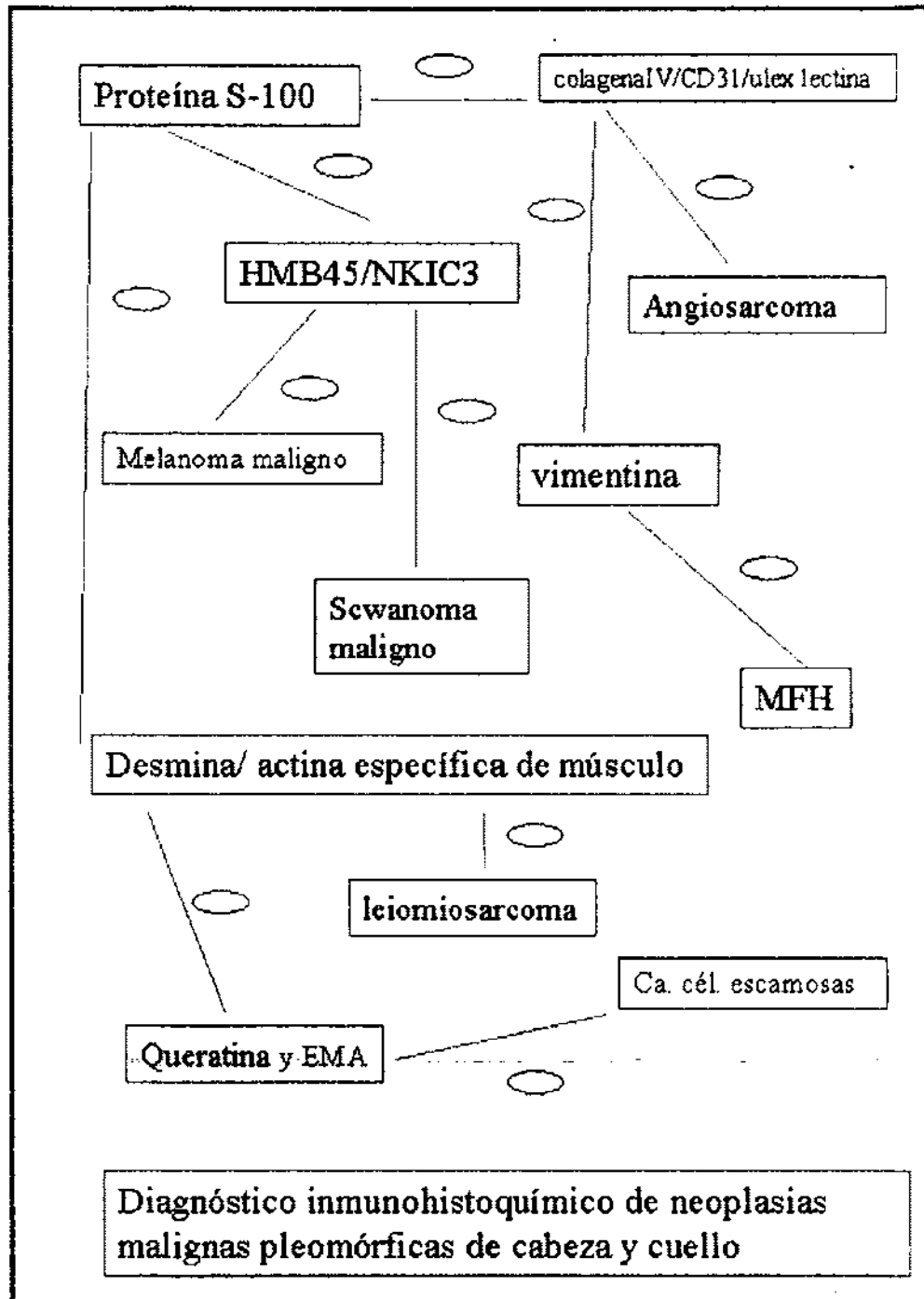


Esquema 7.- Diagnóstico inmunohistoquímico de neoplasias malignas de células grandes de cabeza y cuello.¹⁰

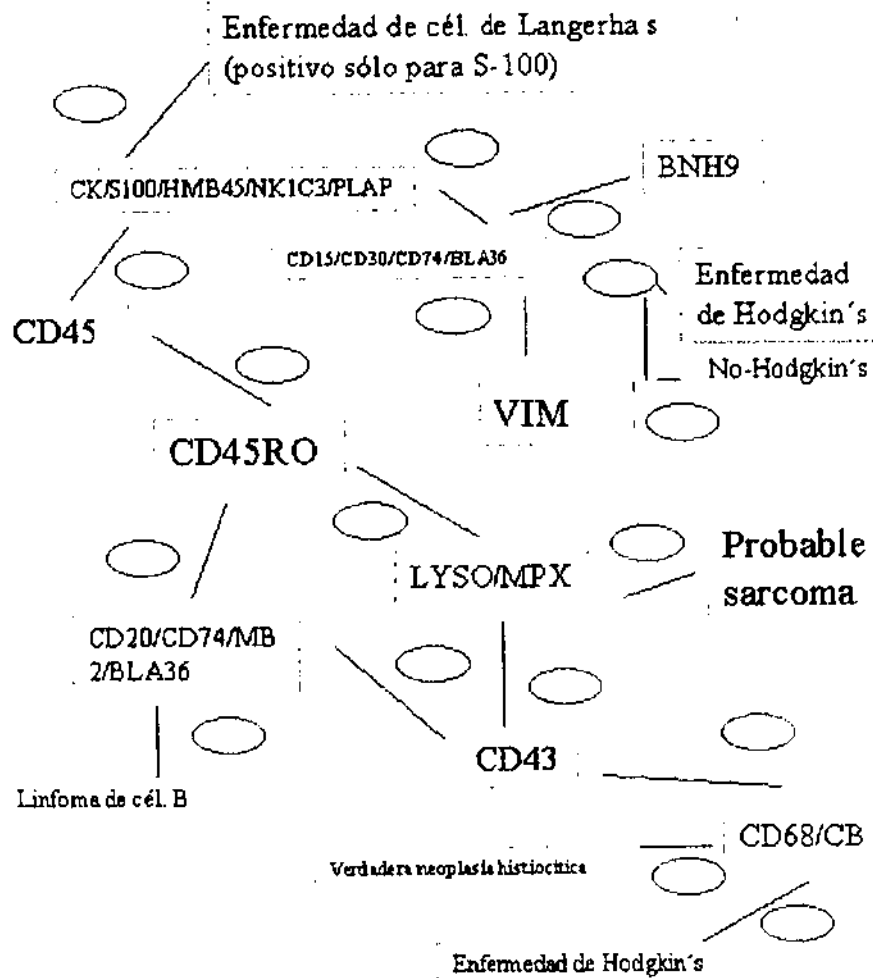


Diagnóstico inmunohistoquímico de neoplasias malignas de células fusiformes de cabeza y cuello

Esquema 8.- Diagnóstico inmunohistoquímico de neoplasias malignas de células fusiformes de cabeza y cuello.¹⁰

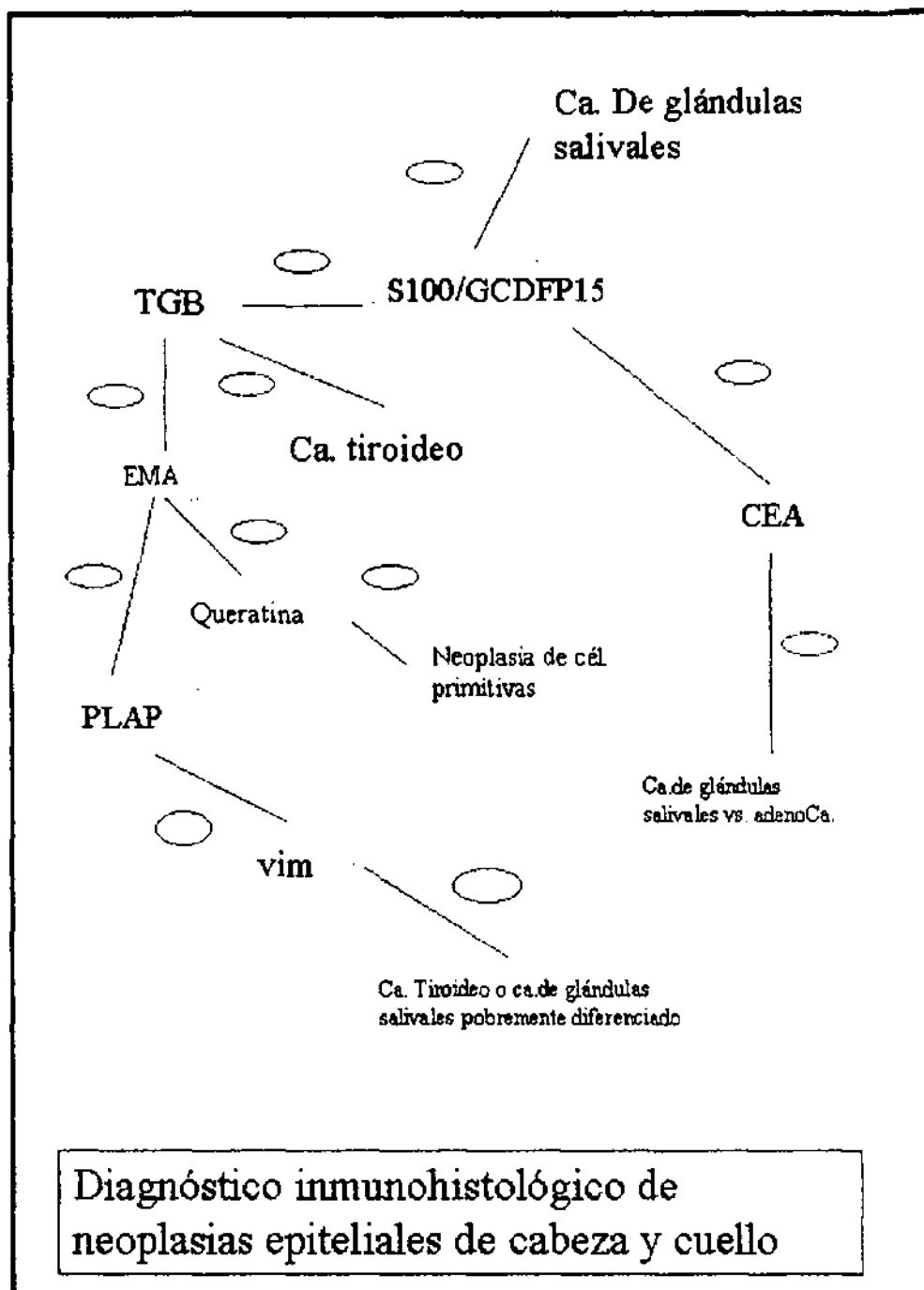


Esquema 9.- Diagnóstico inmunohistoquímico de neoplasias malignas pleomórficas de cabeza y cuello.¹⁰



Inmunofenotipo de alteraciones hematopoyéticas malignas seccionadas con parafina

Esquema 10.- inmunofenotipo de alteraciones hematopoyéticas malignas seccionadas con parafina.¹⁰



Esquema 11.- Diagnóstico inmunohistológico de neoplasias epiteliales de cabeza y cuello. ¹⁰



CONCLUSIONES

Los reactivos eficaces de alta calidad, el mejoramiento, simplificación y automatización de procedimientos, hacen a la inmunohistoquímica un instrumento indispensable para la solución de parámetros desafiantes en el diagnóstico patológico.

En el campo de la patología de tejidos blandos, la inmunohistoquímica, asume el papel en el diagnóstico exacto, considerando que en algunas ocasiones no se puede determinar un diagnóstico solamente basados en la morfología, para hacer un juicio de alguna entidad en particular.

En la actualidad, el papel de la inmunohistoquímica esta firmemente establecido, considerando que de acuerdo al diagnóstico final del patólogo será el tratamiento a seguir del clínico, y por lo tanto el pronóstico y calidad de vida del paciente.

El incremento en el número aplicaciones y el uso innecesario de marcadores puede en primer lugar, generar costos innecesarios, sin embargo esto se reduce si se tiene un buen conocimiento de la sensibilidad, especificidad y potencialidad de los reactivos, obteniéndose así resultados óptimos.

Es imprescindible el buen manejo de los procedimientos a seguir durante el procesado de los tejidos, considerando que si por algún motivo hubiera alteración en la fijación, inclusión y/o aplicación de anticuerpos o marcadores, como resultado obtendríamos falsos positivos o falsos negativos.



GLOSARIO

Adenocarcinoma: Neoplasia perteneciente a un gran número de tumores epiteliales malignos que tienen su localización en glándulas.

Adipocitos: Célula que origina al tejido graso

Anaplasia: Cambio en la estructura celular y en su orientación recíproca, caracterizado por la pérdida de diferenciación y la vuelta a una forma más primitiva. La anaplasia es característica de la malignidad.

Angiolipoma: Neoplasia benigna constituida por vasos sanguíneos y tejido adiposo. También es denominado lipoma cavernoso, lipoma telangiectásico.

Angiosarcoma: Neoplasia maligna rara, formado por tejido endotelial y fibroblástico. Denominado también hemangiosarcoma.

Astroцитos: Célula grande estrellada que forma parte de la neuroglia del tejido nervioso.

Carcinogénesis: Proceso de iniciación e inducción de la formación de cáncer.

Carcinógenos: Sustancia que provoca o induce el desarrollo de cáncer.

Citoesqueleto: Estructura de la célula.

Condrocitos: Cada una de las células polimorfas que forman cartilago en el organismo. Presentan un citoplasma relativamente grande y de color claro.

Condrosarcoma: Neoplasia maligna de células cartilaginosas o de sus precursores que se la mayoría de las veces en huesos largos, cintura pélvica o escápula. La neoplasia es de gran tamaño, blanda y exhibe un crecimiento lobulado compuesto de múltiples nódulos de cartilago hialino que puede mostrar calcificaciones ligeras o intensas.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



Cordoma: Neoplasia congénita rara del cerebro que se desarrolla en la notocorda fetal. Habitualmente se localiza en la línea media detrás de la silla urca y el crecimiento es lento pero muy invasivo.

Dermatofibroma: Neoplasia benigna que se origina en la piel y del tejido fibroblástico.

Dermatofibrosarcoma: Neoplasia maligna originaria de tejido fibroblástico en piel.

Enzima: Proteína producida por las células vivas que cataliza las reacciones químicas en la materia orgánica. La mayoría son producidas en cantidades mínimas que catalizan las reacciones que tienen lugar en el interior de las células.

Epitope: Determinante antigénico que produce una reacción específica con una inmunoglobulina. Consta de un grupo de aminoácidos sobre la superficie del antígeno.

Fagocito: Célula que es capaz de rodear, engullir, y digerir microorganismos y detritus celulares. Los fagocitos fijos, que no circulan, comprenden los macrófagos fijos y las células del sistema reticuloendotelial; los fagocitos libres, que circulan en la sangre, comprenden los leucocitos y los macrófagos libres.

Fibromixoide: Proliferación de células que dan la apariencia de ser de origen fibroblástico.

Fibrosarcoma: Sarcoma que contiene tejido conectivo. Se desarrolla súbitamente a partir de pequeños nódulos cutáneos; es frecuente que se produzcan metástasis a antes de que de que los nódulos experimenten cambios apreciables.

Ganglioneuroblastoma: Neoplasia maligna constituida por ectodermo derivado de la placa neural embrionaria. Se origina en el grupo de células nerviosas que forman un nódulo macroscópico, especialmente las situadas fuera del sistema nervioso central.

Glicoproteína: Proteína conjugada en la cual los lípidos forman parte integral de la molécula. Son sintetizados sobre todo en el hígado, conteniendo cantidades variables de triglicéridos, colesterol, fosfolípidos y proteínas y se clasifican de acuerdo a su composición y densidad.



Glomus: Grupo pequeño de arteriolas que se comunican directamente con las venas y poseen una rica inervación.

Hapteno: Sustancia no proteica que se combina con el anticuerpo en los puntos de unión de éste con el antígeno. A diferencia del antígeno verdadero, no es capaz de inducir la formación de anticuerpos, sin embargo, al unirse a una proteína portadora, si puede inducir una respuesta inmunitaria.

Hemangioendotelioma: Neoplasia constituida por células endoteliales que crece en torno a una arteria o a una vena. Puede malignizarse.

Histiocito: Célula fagocítica del sistema reticuloendotelial, como las células de Kupffer del hígado, los esplenocitos del bazo, etc.

Histogénesis: Origen de los tejidos.

Leiomioma: Neoplasia benigna que se origina en el músculo liso y puede aparece en el estómago, esófago e intestino delgado. Únicamente se hace necesaria la recesión quirúrgica en el caso.

Leiomiosarcoma: Neoplasia maligna que se origina a partir del músculo liso.

Linfangiomatosis: Neoplasia benigna de color amarillento, esta compuesta por una masa de vasos linfáticos dilatados.

Linfoma: Neoplasia de tejido linfoide, en algunos casos benigna, pero por lo general maligna. Existen diversos tipos de linformas que se distinguen por su contenido celular y el grado de diferenciación de sus células.

Liposarcoma: Neoplasia maligna de células grasas primitivas.

Meduloblastoma: neoplasia benigna escasamente diferenciada compuesta por células muy apretadas de origen espongioblástico y neuroblástico. Esta neoplasia suele originarse en el cerebelo, aparece con frecuencia entre los 5 y 9 años de edad y su incidencia es mayor en niños; es de crecimiento rápido.



Mesotelioma: Neoplasia maligna rara del mesotelio pleural o peritoneal, relacionado con la exposición al asbesto. Se compone de células fusiformes o de tejido fibroso y puede formar gruesas láminas que cubren las vísceras. El pronóstico es malo.

Mieloma: Sufijo que significa neoplasia en la médula ósea, globomieloma, linfomieloma.

Mixoma: Neoplasia de tejido conjuntivo constituida por células estrelladas incluidas en una matriz mucosa cruzada por finas fibras reticulares.

Neoplasia: Crecimiento anormal de un tejido nuevo, benigno o maligno.

Neurilemoma: Neoplasia benigna, solitaria, encapsulada que se origina en el neurilema (cubierta de Schwann) de los nervios periféricos craneales o autónomos.

Neuroblastoma: Neoplasia maligna constituido por ectodermo derivado de la placa neural embrionaria. Puede originarse en cualquier parte del sistema nervioso simpático, pero se da sobre todo en la médula adrenal de los niños. Metastatiza rápidamente, afectando ganglios linfáticos, hígado, pulmones y hueso.

Neuroepitelioma: Neoplasia poco frecuente del neuroepitelio de un nervio sensitivo.

Neurofibroma: Neoplasia fibrosa del tejido nervioso debido a anormal proliferación de células de Schwann. Gran número de estas neoplasias del sistema nervioso periférico van asociados a la presencia de anomalías en otros tejidos.

Oligodendrocitos: Células del sistema nervioso central que producen mielina.

Oncogénesis: Proceso que inicia y promueve el desarrollo de una neoplasia.

Ontogénesis: Historia de la vida de un organismo desde el óvulo hasta el momento del nacimiento.



Paraganglioma: Neoplasia benigna originada en cualquiera de los pequeños grupos de los pequeños grupos de células cromafines relacionadas con los ganglios del tronco nervioso simpático y situados por fuera de la médula adrenal.

Polisacáridos: Hidrato de carbono que contiene tres o más moléculas de carbohidratos simples.

Rabdomioma: Neoplasia benigna de músculo esquelético que puede localizarse en útero, vagina, faringe o lengua o bien en el corazón, en forma de nódulos neoplásicos congénitos.

Rabdomiosarcoma: Neoplasia maligna, derivado de las células primitivas del músculo estriado; de localización preferente en cabeza y cuello, tracto genitourinario.

Retinoblastoma: Neoplasia congénita, hereditaria originada a partir de las células germinales de la retina. Tiene carácter maligno. Se manifiesta en la infancia. Los síntomas son disminución de la visión, estrabismo, desprendimiento de retina y reflejo pupilar anormal.

Sarcoma: Neoplasia maligna poco frecuente del tejido blando. Se desarrolla en los tejidos fibrosos, sinovial, muscular, graso, vascular o nervioso. Tiende a ser muy vascular e invasivo.

Sarcoma alveolar de partes blandas: Neoplasia del tejido subcutáneo o fibromuscular formado por numerosas células grandes redondas inmersa en una matriz reticular de tejido conectivo.

Sarcoma sinovial: neoplasia maligna compuesta por sinovioblastos que aparecen como una zona hinchada blanda y suele metastatizar por vía sanguínea al pulmón antes del diagnóstico.

Schwanoma: Neoplasia fibrosa del tejido nervioso debido a anormal proliferación de células de Schwann. Gran número de estas neoplasias del sistema nervioso periférico van asociados a la presencia de anomalías en otros tejidos.

Xantogranuloma: Neoplasia o nódulo de tejido de granulación que contiene depósitos de lípidos.



BIBLIOGRAFÍA:

1. Burnett, R. *Toxicology*. 119, pp. 83-93, 1997.
2. Silverstein, A. M. *Cellular Immunology*. 132, pp. 515-531, 1991.
3. True L. D. *Atlas of diagnostic immunohistopathology*. Editorial J.B. Lippincott company, Philadelphia, pp. 1.1-2.10, 1990.
4. García del Moral, R. *Laboratorio de anatomía patológica*. Edición 19ª. Interamericana Mc. Graw – Hill. pp. 321-368, 1993.
5. Muro – Cacho, C. A. *Cancer Control: JMCC*. 5(1):53-63, 1998.
6. Damjanor, I. *Anderson's Pathology*. Tenth edition. Volumen 1, Mosby, St. Louis Missouri, pp. 136-175, 1996.
7. Koss, L. G. *Diagnostic Cytology*. Ed. 4ª. J.B. Lippincott Co., Philadelphia, pp. 1532-1540, 1992.
8. DeLellis, R. A. *Basic techniques of immunohistochemistry*, Boston, Massachusetts, pp 7-16, 1996.
9. Rosai, J., *Akerman's Surgical Pathology*. 8ª edition, Mosby-Yearbook, Inc., pp. 31-51, 1996.
10. Wick, M. R. *immunohistological findings in tumors and tumor-like conditions of the head and neck*. St. Louis, Missouri, 1995.
11. Neville J.B. *Laboratory immunology and serology*. Second edition, WB. Saunders company, Ontario Canada, pp. 37-58. 1986.
12. Lewin, B. *Genes VI*, Oxford University Press, Inc, New York, pp. 995-1000, 1997.
13. <http://www.uslabs.net/immuno.htm>
14. <http://www.conganat.org/iicongreso/comunic/com105/biblio/posters/indice.htm>