

## MARCADORES TUMORALES E ENMUNOHISTOQUIMICA EN PATOLOGIA QUIRURGICA

F. J. CAVANZO

### INTRODUCCION

En años recientes y particularmente en lo que va corrido de esta década, la práctica de la histopatología diagnóstica ha experimentado cambios fundamentales que han revolucionado la especialidad y le han señalado nuevos rumbos y muy interesantes perspectivas. Hasta hace muy poco la histopatología diagnóstica diaria estuvo en buena parte limitada a la interpretación puramente morfológica y frecuentemente subjetiva de los hallazgos histológicos y la histoquímica convencional (PAS, tricromo, etc.) aunque ha sido muy útil en el proceso interpretativo, su inespecificidad constituye su más grande limitación. El advenimiento de las técnicas de inmunohistoquímica ha producido este cambio por cuanto ellas permiten identificar en forma absolutamente específica componentes tisulares (marcadores), los cuales le confieren al estudio histopatológico un carácter eminentemente funcional y dinámico y permiten la objetivización máxima del diagnóstico.

Estas técnicas se hacen más valiosas si se tiene en cuenta que se pueden utilizar tejidos procesados y tratados de manera rutinaria y convencional. Ellas comprenden en general el uso de anticuerpos específicos contra el antígeno tisular buscado y de enzimas, usualmente peroxidasas que se unen a estos mismos anticuerpos. Las enzimas actúan sobre substratos y toda la reacción se hace visible mediante el uso de agentes cromógenos. El uso de anticuerpos específicos, frecuentemente monoclonales, aseguran la especificidad de la reacción, y las enzimas, gracias a su capacidad amplificadora determinan la gran sensibilidad de estos métodos.

Dr. Francisco J. Cavanzo, M.D., jefe departamento de Patología y Laboratorios, Centro Médico de Los Andes, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, Colombia.

Solicitud de separatas al Dr. Cavanzo.

La figura No. 1 esquematiza la técnica indirecta de inmunohistoquímica, la cual nos permite entender los principios básicos usados en estas pruebas.

El propósito de esta publicación es el de revisar los marcadores más usados en la actualidad y hacer referencia a su aplicabilidad en la histopatología diagnóstica diaria.

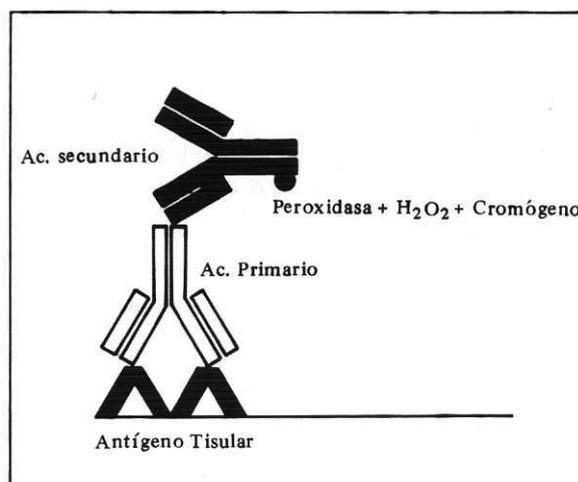


Figura 1. Técnica indirecta de Inmunoperoxidasa.

### MARCADORES TUMORALES

Hay componentes o productos celulares específicos para un órgano o tejido o para un grupo de ellos que permiten determinar su identidad funcional o su linaje. Estos marcadores son frecuentemente compartidos por las neoplasias originadas en estas estructuras. Esta propiedad permite en muchos casos el diagnóstico preciso del tipo de neoplasia y nos deja explorar su capacidad funcional. Es importante aclarar que hasta ahora no se ha identificado ni aislado componente alguno, que sea sólo producido por células neoplásicas benignas o malignas y no esté presente en

el tejido normal adulto o embrionario de donde se originó la neoplasia. Por esta razón el término "marcador tumoral" debe ser siempre entendido en este contexto.

#### MARCADORES EPITELIALES

**Queratina.** El microesqueleto de las células epiteliales tiene como estructuras fundamentales filamentos que miden entre 7 y 11 nanómetros de diámetro, compuestos por proteínas de tipo queratina y de pesos moleculares que van de los 40 a los 67 kilodaltons. Estas queratinas son antigénicamente específicas y se han constituido en el mejor marcador existente para identificar células de linaje epitelial o mesotelial. Las queratinas de bajo peso molecular se han identificado en prácticamente todos los epitelios normales y en la gran mayoría de los carcinomas. Battifora ha informado una serie de más de 700 carcinomas de muy diversos orígenes y grados de diferenciación, en todos los cuales fue posible identificar queratina en los citoplasmas de las células tumorales. La queratina ha sido consistentemente negativa en tumores de origen hemático o linfóide lo mismo que en sarcomas y melanomas. La utilidad práctica de su identificación es muy grande, particularmente en tumores indiferenciados, por cuanto su presencia permite comprobar el origen epitelial de la neoplasia. Esta precisión tiene, como es obvio, implicaciones terapéuticas definitivas.

La única limitación la constituye la positividad encontrada en células de origen mesotelial, lo cual impide por este medio la diferenciación entre carcinomas y mesoteliomas. Este hecho también parece explicar la positividad encontrada en sarcomas sinoviales y en los llamados sarcomas epitelioides, ambas neoplasias de muy posible origen mesotelial.

**Antígeno Carcino-embrionario (CEA).** El CEA es una glicoproteína compleja, considerada inicialmente como verdadero marcador del carcinoma de colon. Hoy se sabe que este antígeno tisular se encuentra en una gran variedad de carcinomas incluyendo ováricos, pulmonares, mamarios, tiroideos, etc. También se encuentra en epitelios normales y en lesiones benignas especialmente del tracto gastrointestinal. El CEA tiende a desaparecer

a medida que los carcinomas se indiferencian. Este antígeno no tiene la universalidad de la queratina como marcador epitelial y por lo tanto su identificación en tejidos por técnicas inmunohistoquímicas no tiene el valor inicialmente considerado. Su determinación en el suero sigue siendo de gran utilidad en el seguimiento y control de pacientes con carcinomas, particularmente con neoplasias de colon.

**Antígeno Epitelial de Membrana (EMA).** El EMA se aísla principalmente de las membranas de los glóbulos de grasa de las secreciones mamarias. Está presente en numerosas células epiteliales y en muchos carcinomas de diferentes orígenes, especialmente en los mamarios. Es menos sensible como marcador epitelial que la queratina de bajo peso molecular, pero suele ser negativo en células mesoteliales por lo cual podría ser útil para diferenciar carcinomas de mesoteliomas.

**Antígenos Prostéticos.** El Antígeno Prostético Específico (PSA) y la Fosfatasa Ácida Prostética son excelentes marcadores de tejido prostético. La gran mayoría de los carcinomas prostéticos expresan en sus citoplasmas uno de estos antígenos y frecuentemente ambos. La demostración de cualquiera de los dos es de gran utilidad para determinar el origen prostético de carcinomas, especialmente cuando se trata de lesiones metastásicas.

**Antígenos Mamarios.** La literatura informa de varios antígenos con grados variables de especificidad entre los cuales se cuentan el EMA, la lacto-albúmina, la lacto-ferrina, la caseína, etc. Hasta ahora, ninguno de ellos ha demostrado utilidad práctica definida. De todos ellos el EMA es el más constante pudiéndose demostrar en cerca del 100% de los carcinomas de seno.

**Alfa-1 -Antitripsina.** Esta anti-enzima constituye el componente más importante de la fracción alfa-globulínica del suero y representa el 90% de la actividad antiproteolítica del mismo. Inhibe una gran variedad de enzimas proteolíticas y se encuentra en casi todas las secreciones orgánicas. El saco vitelino es el primer sitio de síntesis de esta anti-enzima y en el adulto sólo el hígado la produce. Como marcador tumoral se destaca su positividad en los llamados tumores del seno en-

dermático o del saco vitelino, derivados de células germinales primitivas de localización ovárica, testicular o extragonadal. Estas neoplasias ocurren en forma pura o como parte de teratomas. La alfa-1-antitripsina es también frecuentemente positiva en tumores hepáticos benignos y malignos y en una variedad de adenocarcinomas.

**Alfa-Feto-Proteína.** Esta proteína es el equivalente fetal de la albúmina del adulto y ha sido por buen tiempo marcador serológico del carcinoma embrionario gonadal, o extragonadal. También está presente en las células de los tumores del seno endodérmico, frecuentemente asociada a la alfa-1-antitripsina. Es comúnmente demostrada en hepatomas en cuyo caso se usa también como marcador serológico.

**Antígenos ABH.** Los antígenos ABH de grupos sanguíneos son macro-glicolípidos y glicoproteínas que se expresan no sólo en la superficie de los eritrocitos sino que lo hacen en muchas otras células, particularmente en los endotelios vasculares y prácticamente en todas las células epiteliales. También se ha observado que estos antígenos pueden ser igualmente expresados por células tumorales de neoplasias derivadas de epitelios. A este respecto existe cierta relación entre el grado de diferenciación tumoral y la persistencia de estos antígenos. Esta relación ha sido particularmente estudiada en carcinomas transicionales de vejiga, en los cuales varios grupos de investigadores han encontrado que la persistencia antigénica se asocia con menos posibilidades de recurrencia y una menor tendencia a la invasión. El estudio rutinario de antígenos de grupo sanguíneo en el material quirúrgico de tumores transicionales vesicales, aguarda los resultados definitivos de las numerosas series actualmente en estudio.

#### HORMONAS

La utilidad de la inmunohistoquímica se hizo realmente aparente y ha demostrado su dinamismo y proyección funcional en el estudio del sistema neuroendocrino. Las hormonas son productos altamente antigénicos, lo cual facilita la producción de anticuerpos específicos.

El concepto de que una hormona sólo podía ser sintetizada por un tipo de célula y que una célula determinada sólo podía producir una hormona, ha sido totalmente revaluado gracias a la inmunohistoquímica la cual además ha comprobado la multipotencialidad y versatilidad de la célula endocrina.

En patología quirúrgica diagnóstica estas técnicas nos permiten identificar por ejemplo las hormonas producidas por adenomas hipofisarios, haciendo posible una verdadera correlación anatomo-clínica y no sólo un diagnóstico puramente morfológico de adenoma cromóforo, eosinófilo o basófilo, según el caso, los cuales no tienen relación alguna con la capacidad funcional de las células como lo han demostrado la microscopía electrónica y la inmunohistoquímica.

Estas técnicas son muy útiles también en el estudio de la actividad hormonal de un buen número de tumores endocrinos o neuroendocrinos, tales como carcinomas medulares de tiroides, tumores carcinoides, tumores indiferenciados o pobremente diferenciados de células pequeñas de pulmón, tumores endocrinos pancreáticos, etc. Mediante ella es también posible demostrar la producción de hormonas esteroideas en tumores gonadales o la identificación de gonadotrofina coriónica humana (hCG) en tumores derivados de células germinales primitivas o neoplasias trofoblásticas. Los anteriores son sólo ejemplos del campo ilimitado de la inmunohistoquímica en el estudio de lesiones endocrinas.

#### MARCADORES MESENQUIMALES

**Vimentina y Desmina.** La Vimentina es el filamento intermedio característico de las células mesenquimales, así como la queratina lo es de las células epiteliales. No se le conocen subclases y sus filamentos son fácilmente demostrados con inmunohistoquímica. Se encuentran regularmente en fibroblastos, células névicas, células de Schwann, células musculares e histiocitos. La Desmina se encuentra en el citoplasma de células musculares lisas y estriadas y en miofibrillas. Este filamento intermedio no se encuentra en fibroblastos o histiocitos, lo cual ha causado que para algunos

sea un marcador útil en el diagnóstico diferencial de sarcomas derivados de músculo y otros tejidos mesenquimales.

La utilidad práctica de la identificación de estos dos marcadores es discutible y no parece ser parte fundamental de la batería con que se debe contar en el laboratorio corriente de diagnóstico.

**Proteína S-100.** Es un compuesto ácido cuyo nombre se deriva de su solubilidad en sulfato de amonio al 100%. Fue inicialmente aislada de cerebro de bovino y se consideró como un marcador de células gliales. Posteriormente se ha demostrado en una gran variedad de células incluyendo células de Schwann, células mioepiteliales, células dendríticas reticulares de los ganglios linfáticos y células de Langerhans de la piel. La gran utilidad de su demostración tisular radica en su positividad en prácticamente el 100% de los melanomas malignos y es particularmente valiosa en aquellos tumores amelanóticos. Su antisuero debe formar parte de los reactivos usuales en el laboratorio de histopatología diagnóstica.

**Mioglobina.** Esta proteína HEM sólo está presente en músculo estriado. Su aparición en el músculo fetal antecede la formación de estriaciones. Su demostración inmunohistoquímica puede ser de gran utilidad en el diagnóstico de rhabdomyosarcoma, particularmente en aquellos de tipo embrionario, poco diferenciados.

**Antígeno relacionado al Factor VIII.** Este antígeno se ha convertido en el mejor y más confiable marcador de células endoteliales. Está presente en endotelios reactivos y tumorales y usualmente no se demuestra en endotelios linfáticos o en pericitos. Su demostración puede ser de gran utilidad en tumores derivados de endotelios vasculares.

#### MARCADORES VIRALES

Una gran variedad de antígenos virales pueden ser demostrados en tejidos. En nuestro laboratorio nos ha sido de particular utilidad la identificación de virus del papiloma en lesiones cervicales uterinas, tanto en material quirúrgico como en citologías vaginales. También usamos con frecuencia los antisueros para

demostración de virus citomegálico, de antígeno de superficie de hepatitis B y de virus del grupo herpes.

#### MARCADORES PARA SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

En el estudio de lesiones del sistema nervioso central y periférico, los marcadores más usados son la proteína S-100, la proteína ácida glial fibrilar PAGF, los neurofilamentos NF, la enolasa neuronal específica ENE y la proteína mielínica básica PMB. En el cuadro No. 1 se resume la positividad de estos marcadores en los diferentes elementos celulares neuroectodérmicos. Nuestra experiencia con estos marcadores es limitada pero hemos encontrado útil la demostración de PAGF en neoplasias pobremente diferenciadas de origen glial, que en algunos momentos pueden causar dificultades en su diagnóstico diferencial.

Tabla 1. Marcadores celulares neuroectodérmicos.

	PAGF	S100	NF	PMB	ENE
Astroцитos	+	+	-	-	-
Neuronas	-	-	+	-	+
Melanocitos	-	+	-	-	±
Cel. de Schwann	-	+	-	+	+

#### MARCADORES DE TEJIDO LINFOIDE

Existen una gran variedad de marcadores en las células de linaje linfóide, dependiendo de su naturaleza T o B, de su grado de diferenciación o de su función. La identificación de estos marcadores ha sido de extrema utilidad no solamente en el estudio e investigación del sistema linfóide sino en la caracterización y definición de muchas de las neoplasias derivadas de estas células. La precisión diagnóstica no sólo morfológica sino inmunológica y funcional de estas neoplasias, se hace cada vez más necesaria dadas las implicaciones pronósticas y de manejo que esto conlleva en

un buen número de casos, con el consiguiente beneficio para los pacientes. El uso y aplicaciones de estos marcadores en el diagnóstico de neoplasias del sistema linfóide y hematopoyético será motivo de la próxima publicación en esta revisión sobre inmunohistoquímica.

#### COMENTARIO

Hemos discutido algunos de los aspectos de interés general relativos a la aplicabilidad y usos de la inmunohistoquímica en la histopatología diagnóstica moderna y la trascendencia e importancia que estas técnicas tienen en la identificación de componentes tisulares y celulares que hacen posibles diagnósticos mucho más precisos y permiten verdaderas correlaciones morfológicas y funcionales.

La posibilidad de efectuar la gran mayoría de estas técnicas en tejidos manejados en forma rutinaria y tradicional las hacen aún más valiosas. Desde el punto de vista técnico y económico ellas están al alcance de nuestras posibilidades. Es preciso entonces y muy aconsejable que nuestros departamentos de Patología las desarrollen y las hagan accesibles

para así beneficiar al mayor número de pacientes posible.

#### ABSTRACT

The purpose of this review is to emphasize the importance of the new immunohistochemical techniques in the study and diagnosis of pathological material as we see it in our hospital laboratories. The tissue markers most frequently used for diagnostic purposes are also discussed. Special mention is made of those cases in which the application of these techniques has shown a definitive value in diagnostic pathology.

#### BIBLIOGRAFIA

- BATTIFORA H. Recent progress in the immunohistochemistry of solid tumors - Seminars in diagnostic pathology 1984; 1:251.
- DE LELLIS RA. Diagnostic immunohistochemistry. Masson Publishing Inc. USA. 1981.
- DE LELLIS RA. Advances in immunohistochemistry. Masson Publishing Inc. USA. 1984.
- ESCOBAR G, HANSEN H, URIBE G. Técnicas de inmunoperoxidasa. Biomédica 1982; 2:140.
- POLAK JM, VAN NOORDEN S. Immunocytochemistry. Wright. PCS. 1983.
- RUSSO J. Proceedings, Immunocytochemistry workshop in tumor diagnosis. Detroit, 1984.
- TUBBS RR, SHEIBANI K. Immunohistology of lymphoproliferative disorders. Seminars in Diagnostic Pathology 1984; 1:272.