

CONFERENCIAS

MARCADORES INMUNOCITOQUIMICOS EN PATOLOGIA CUTÁNEA

Guillermo A. Planas-Girón*
Félix Jacobo Tapia**

INTRODUCCION

Si bien es cierto que una amplia serie de tipos celulares pueden ser identificados por sus características morfológicas en el microscopio de luz, después de teñir las preparaciones histológicas con colorantes de rutina (H-E, Giemsa, Coloraciones especiales), también es cierto que ocasionalmente se plantean al patólogo, problemas diagnósticos en ciertas afecciones cutáneas, especialmente tumorales, donde varios tipos celulares embriológicamente diferentes, pueden aparentar un patrón histológico similar, y de esta forma inducir al especialista a errores de diagnóstico con sus consecuencias obvias.

Aunque diversas técnicas y métodos de investigación han contribuido a precisar mejor los diagnósticos histológicos (histoquímica y microscopía electrónica), los avances más espectaculares se han logrado con la utilización de técnicas inmunocitoquímicas, usando anticuerpos convencionales policlonales o bien anticuerpos más específicos del tipo monoclonal, con los cuales ha aumentado la posibilidad de identificación de diferentes tipos celulares "in situ".

En esta modesta contribución al estudio de marcadores inmunocitoquímicos aplicados a la patología cutánea, revisaremos en líneas generales, la importancia en la determinación de algunos antígenos en diversas estructuras celulares cutáneas (Proteína S-100, CEA, Antígeno relacionado con el Factor VIII, NSE, etc.) y la patología neoplásica derivada de ellas. De igual forma analizaremos el explosivo crecimiento informativo sobre la distribución, estructura y síntesis de los polipéptidos o sub-unidades polipeptídicas, las cuales representan los compo-

nentes moleculares de la estructura del citoesqueleto, común a todas las células epiteliales. Trataremos de hacer una síntesis de la caracterización y utilización de algunos de los numerosos anticuerpos monoclonales, que se han producido recientemente para la identificación de diversos tipos celulares infiltrativos de la piel (infiltrados linfocitarios de la piel).

La excelente contribución que aportaron Kohler y Milstein en el año 1975, con el desarrollo de la técnica del hibridoma, ha marcado una pauta importante en el extraordinario avance que ha adquirido la inmunocitoquímica, con la utilización de los anticuerpos monoclonales como relevante guía diagnóstica, así como por su futura aplicación terapéutica en algunas enfermedades.

APUDOMAS

En la piel existen elementos neuroendocrinos en una cantidad relativamente grande y estrictamente hablando, nevus y melanomas pudieran ser clasificados, según algunos autores, como tumores neuroendocrinos. Las **células de Merkel** (descritas por Merkel en 1875), se encuentran en la piel y en algunas superficies mucosas. Su relación frecuentemente íntima con estructuras neurales y su componente de gránulos secretores observados con el M.E., se conocen desde hace cierto tiempo, pero sus características APUD y su posible incorporación **al sistema neuro-endocrino difuso**, fue sugerido

relativamente reciente (Winkelman, 1977). Chi-Kwun y Tocker, 1978, describieron carcinomas primarios de la piel con un patrón trabecular, los cuales con M.E., muestran hallazgos neuroendocrinos y que se presume se derivan de células de Merkel, Gould y De Lellis, han estudiado varios casos aparentemente similares de **carcinomas cie piel "tipo anexa"**. Estos tumores eran argirofílicos y mostraban abundantes gránulos neurosecretores en el M.E. y células ocasionales con abundantes tonofilamentos, sugiriendo que los carcinomas que ofrecen diferenciación multidireccional, quizás sean más frecuentes de lo que se supone. Estos tumores recurrieron localmente y dieron metástasis a ganglios linfáticos regionales, pero al menos dos de los tres pacientes permanecieron vivos, cuatro y nueve años después de la excisión inicial. Uno de ellos estaba asociado con elevados niveles de **calcitonina** (las cifras permanecieron altas aun después de la tiroidectomía total, lográndose un descenso después de la extirpación total de la recurrencia).

Es probable que si se aplican las técnicas modernas disponibles como M.E. e inmunocitoquímica al estudio de **tumores cutáneos indiferenciados de anexos**, puedan observarse hallazgos neuroendocrinos. Recientemente en un estudio de 32 E.B.C., las células de Merkel fueron identificadas en un caso (Macadam, 1978).

Es importante tener en mente el diagnóstico diferencial de tumores de células de Merkel (Sober, 1984): 1) linfoma, 2) leucemia mielógena, 3) E. E.C. indiferenciado, 4) Mt. de melanoma maligno, 5) sarcoma de Ewing, 6) neuroblastoma, 7) carcinoide, 8) Ca. de "oat cell", 9) Ca. medular, 10) Ca. de glándulas sudoríparas.

* Adjunto a la Sección de Dermatología, Instituto de Biomedicina.

** Jefe de la Sección de Biología Molecular del Instituto de Biomedicina, Caracas.

Sidhu et al., (1980), publicaron 7 casos de neoplasmas de células de Merkel. Uno de ellos mostró ultraestructuralmente, coexistencia de células de Merkel con células escamosas y la transición de una célula a otra, lo que les hizo sugerir la posibilidad de una célula precursora común para queratinocitos y células de Merkel.

ENOLASAS

Diversas pruebas citoquímicas han sido utilizadas para la identificación de elementos neuroendocrinos (células endocrinas: APUD y neuronas), algunas de ellas como la impregnación en plata y la hematoxilina-Pb, adquirieron cierto auge, sin embargo, no todos los elementos neuroendocrinos son susceptibles de marcaje con estas técnicas.

Recientemente, el descubrimiento de una proteína neuronal ha tenido una gran aplicación en los estudios neuroendocrinos. Se ha demostrado mediante estudios bioquímicos que esta proteína es un isómero de la enzima glicolítica **enolasa** (Marangos y Zom-sely-Neurath, 1976). Las enolasas son enzimas dimericas, de las cuales tres han sido caracterizadas: α , β (hígado),

β β , (músculo) Y $\gamma\gamma$ (neuro-específica). Se han producido anticuerpos contra todas las sub-unidades, no existiendo reactividad cruzada entre ellas. La enolasa neuronal **específica** (NSE=neuron specific enolase), ha sido igualmente localizada en células neuroendocrinas centrales y periféricas (Shmechel et al., 1978; Warton et al., 1981; Bishop et al., 1982) y en tumores neuroendocrinos (Tapia et al., 1981). Esta enzima es por consiguiente un excelente marcador citoquímico del sistema neuroendocrino difuso, con grandes aplicaciones cuando se desee delinear elementos neuroendocrinos.

Se ha podido comprobar NSE en tumores neuroendocrinos (APUDomas, los cuales reaccionan en un 90% fuertemente positivos con el antisuero para NSE (Tapia et al., 1981). Se ha sugerido que los tumores originados en las células de Merkel (C.M.), puedan clasificarse como pertenecientes al sistema neuroendocrino difuso, a pesar de que no se había podido demostrar la presencia de polipéptidos reguladores. Citoquímicamente las células de este sistema tienen como atributo prin-

cipal la capacidad para captar y decarboxilar los precursores de aminas, incluyendo 3,4-dihidroxifenil-alanina (L-Dopa) y la 5-hidroxitriptofano (5HTP). De allí que Pearse et al., (1971, 1974, 1975, 1979) seleccionaron el término APUD para describir la capacidad de estas células (amine precursor uptake and decarboxylation).

La primera descripción de polipéptidos reguladores en C.M. se debe a Hartschuh et al., (1979), quienes demostraron la presencia de met-enkefalina y posteriormente los mismos autores (1983) demuestran polipéptida intestinal vasoactivo (VIP), sustancias características del sistema neuroendocrino difuso. No obstante, las investigaciones de Saurat et al. (1984), han comprobado que las proteínas de filamentos intermedios de las C.M. de la epidermis normal del conejo, son citoqueratinas, componente característico de las células epiteliales. Los autores plantean que las C.M sean queratinocitos modificados o especializados. No se trataría del primer ejemplo de células expresando citoqueratinas con propiedades bioquímicas de células del sistema neuroendocrino difuso, en efecto, recientemente se han demostrado citoqueratinas en células de islote pancreático secretoras de insulina (insulinoma) (Schubert et al., 1984).

Hasta el año 1983, habían sido reportados 46 casos de tumores de células de Merkel (Merkelomas o carcinoma trabecular de Toket). Warner et al., 1983, reportaron 6 nuevos casos. Todos fueron estudiados por M.E. e inmunocitoquímica. Al estudio de microscopía de luz y M.E., eran casos típicos de Merkelomas, pero inmunocitoquímicamente, no reaccionaron a met-enkefalina, b-lipoproteína, calcitonina, somatostatina y NSE. No obstante, los autores los consideraron tumores neuroendocrinos difusos que probablemente derivan de las C.M. de la dermis o del epitelio folicular.

En el año 1983, el grupo inglés de Gu et al, confirman la utilidad de la inmunotinción con NSE en 11 casos diagnosticados ultraestructuralmente. Señalan que los carcinomas de bronquios y ciertos melanomas malignos metastásicos, deben ser estudiados cuidadosamente ya que se mostraron positivos a la inmunotinción para NSE.

En estos casos sería recomendable la utilización de un panel de anticuerpos que incluya S-100 y vimentina.

Wick et al (1983), publican 13 casos provenientes de la Clínica Mayo, con hallazgos histológicos, histoquímicos, inmunocitoquímicos y ultraestructurales similares a los reportados por otros autores.

Proyectaremos algunos casos de tumores pertenecientes al sistema neuroendocrino difuso general (APUDomas), así como algunos derivados de las células de Merkel, todos estudiados ultraestructural e inmunocitoquímicamente.

PROTEINA S-100

La proteína S-100 es una proteína ácida, ligada al calcio, originalmente detectada en el cerebro de mamíferos bovinos por Moore en 1965. Su nombre refleja su solubilidad en 100% de sulfato de amonio. Ha sido detectada en células gliales del cerebro, en células de Schwann, células satélites de la médula espinal y ganglios autónomos del sistema nervioso periférico. A nivel de la piel está presente en las células de Langerhans, melanocitos normales y neoplásicos del humano, células de Schwann, corpúsculos de Pacini y Meissner, acinos, ductos y células micipiteliales de las glándulas sudoríparas. Se encuentra igualmente en condrocitos humanos derivados de la cresta neural y del tipo mesodérmico.

Las neoplasias de piel y sus células de origen que dan positivas a la inmunotinción con S-100 son: melanocitos (nevus y melanoma maligno), células de Langerhans (Histiocitosis X), glándulas sudoríparas (tumor mixto), células de Schwann (Neurilemmoma, neurofibrosarcoma, tumor de células granulares).

La localización intracelular de un componente antigénico es de valor diagnóstico si el antígeno está presente en un tipo celular simple, más que una amplia distribución sobre muchos y diferentes tipos celulares. Este principio estaría aparentemente en conflicto con la utilidad de la determinación de la proteína S-100, debido a su amplia distribución en muchos y diferentes tipos celulares, no obstante, si tomamos en cuenta que a nivel cutáneo existen tres

estructuras fundamentales que contienen la proteína (melanocitos, células de Langerhans y células de Schwann), es obvia su importancia para la determinación histogenética de ciertos tumores, cuya histología no es concluyente. Por ejemplo, es muy importante su utilización para diferenciar melanoma maligno de células fusiformes de carcinoma espino-celular de células fusiformes y de otros tumores pobremente diferenciados o muy indiferenciados.

La determinación de la proteína S-100 en el controversial tumor de células granulares (mioblastoma de células granulares o tumor de Abrikosof 1926), ha contribuido a reforzar la teoría neurogénica que explicaría la embriogénesis del tumor. La positividad a la inmunotinción para S-100 a nivel de las células del tumor, similar a la observada en las células de Schwann, orientan a pensar que la célula progenitora más probable en esta entidad sea la célula de Schwann (Stefansson et al., 1982; Nakazato et al., 1982; Armin et al., 1983; Planas-Girón y Tapia, 1985).

La presencia de proteína S-100 en tumores, representa una característica que la célula tumoral embrionaria, heredó de su célula progenitora correspondiente (no transformada) y no es la consecuencia de una dediferenciación de células tumorales durante la expansión clonal. Hasta el presente no se sabe por qué la proteína S-100 se encuentra en un número de diferentes tipos celulares normales, que obviamente son derivados de diferentes capas germinales durante el proceso ontogénico. Kahn (1984), plantea la posibilidad de que varios tipos celulares conteniendo proteína S-100, se originen de un ancestro común y migren a sus localizaciones definitivas en diferentes tejidos, durante la embriogénesis. Alternativamente, la presencia de proteína S-100 en una variedad limitada de tipos celulares, puede ser indicativa de eventos de diferenciación independientes y paralelos, resultando en la expresión de esta proteína entre diferentes tipos celulares.

En vista de que la determinación de la proteína S-100, tanto en tejido normal como neoplásico, es aún incompleta, y como ha sido identificada en una

serie de tumores no-neurogénicos, se debe tomar con extremo cuidado cuando se utiliza con fines de resolver un problema diagnóstico. Por ejemplo, se ha sugerido que la determinación de esta proteína es útil para el diagnóstico diferencial entre melanoma maligno amelanítico (teñido positivamente) y carcinoma anaplásico y linfoma histiocítico (no teñidos), pero como existe una relación inversa entre la intensidad de la inmunotinción para S-100 y el contenido en melanina de melanocitos neoplásicos (Nakajima et al, 1982), algunos melanomas malignos pudieran ser mal diagnosticados como Ca. anaplásico o sarcoma y viceversa. Por ello es útil emplear un panel de anticuerpos, en este caso contra S-100, vimentina y citoqueratinas.

Vanstapel et al (1985), obtuvieron dos grupos de anticuerpos monoclonales (S 1-61-64, S 1-61-65 y S 1-87-4) así como (S2-20 y S2-95), que parecen ser específicos para proteína S-100 y reaccionan con sitios antigénicos comunes a ambos isómeros de la proteína S-100 (α y β -sub-unidades). La importancia que tienen es que son diferentes en el patrón de marcaje, como lo demuestra el gráfico siguiente:

	S1	S2
TEJIDO NERVIOSO		
Célula de Schwann	(+)	(+)
Célula glial	(+)	(+)
PIEL		
Célula de Langerhans	(-)	(+)
Célula de Histiocit. X	(-)	(+)
Melanocitos	(±)	(±)
Nevus y Melanomas	(+)	(+)
TEJIDO LINFOIDE		
Cél. Reticulares dendríticas	(+)	(+)
Cél. Reticulares interdigi-	(-)	(+)
CELULAS MESENQUIMATICAS		
Adipocitos	(±)	(±)
Condrocitos	(+)	(-)

Debido a los resultados a veces inconsistentes, obtenidos en estudios inmunocitoquímicos, utilizando el antisuero policlonal S-100, deben realizarse investigaciones detalladas con estos y otros anticuerpos anti-S-100, con el fin de documentar con mejor precisión, la distribución del antígeno en tejido normal y patológico.

ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO (CEA)

Gold y Freedman (1965), publicaron los estudios originales sobre CEA en casos de carcinomas de colon en humanos. Antisueros preparados en conejos contra extractos de Ca del colon, fueron absorbidos con tejido colónico normal, obtenido del mismo paciente durante el acto operatorio. Por doble difusión en agar gel, fue demostrado que el adeno-Ca humano que se origina del epitelio del sistema digestivo, derivado del endodermo (recto, colon, estómago, hígado, esófago y páncreas) contenían un antígeno tumoral común y que un **antígeno idéntico** podía ser identificado en embriones normales (intestino, páncreas e hígado), durante los dos primeros trimestres de gestación. Debido a que este componente antigénico fue observado originalmente en cánceres y en tejido embrionario (intestino), fue nombrado **Antígeno Carcinoembrionario (CEA)** del sistema digestivo humano y se pensó en que representaba otro ejemplo de reversión antigénica. Es posible que el CEA presente un constituyente celular que es represado (o reprimido) durante la diferenciación y que reaparece en las células malignas correspondientes mediante un proceso de **dediferenciación derepresiva** (de una manera comparable a la que se postuló para los antígenos de reacción cruzada-embriónica-tumores animales).

El CEA es una glicoproteína con P.M aproximado de 200.000 daltons. Contiene relativamente gran cantidad de ácido aspártico y glutámico, serina y treonina. Se ha determinado una posible secuencia al terminal amino de 29 residuos. Debido a su alto grado de heterogenicidad intermolecular y en la propia molécula de CEA es que se puede explicar muy bien la reactividad antigénica cruzada observada entre CEA y constituyentes de tejidos distintos al sistema digestivo derivado del endodermo en adultos.

La presencia de CEA en la piel ocurre solamente en asociación con epitelio ecrino y aprocrino, sus secreciones y neoplasmas. Diversos trabajos se han hecho que demuestran inmunocitoquímicamente la presencia de CEA en tumores de anexo sudor íparos-ecrinos y apocinos (Penneys et al., 1981, 1982)

y en células malignas de la enfermedad de Paget cutánea. Recientemente (1983) Planas Girón et al, realizaron un estudio inmunocitoquímico de antígenos oncofetales expresados en tumores benignos de anexos de piel con diferenciación glandular, cuyos resultados serán analizados durante la exposición.

De igual manera se proyectarán los resultados de la determinación de CEA en dos casos de enfermedad de Paget extramamaria de localización vulvar. La positividad a la determinación de CEA en esta interesante enfermedad, ha contribuido recientemente a una mejor comprensión de sus aspectos histogénicos.

MARCADORES ENDOTELIALES ANTIGENO RELACIONADO CON EL FACTOR VIII

Este antígeno es sintetizado por las células endoteliales vasculares. Es uno de los tres componentes funcionalmente diferentes del factor VIII, una proteína compleja que está comprometida en el mecanismo intrínseco de la coagulación. Se piensa que este antígeno es un marcador inmunocitoquímico útil en el reconocimiento de una variedad de vasos reactivos y normales así como en lesiones vasculares nevoides y malignos. Su especificidad es relativamente buena ya que se encuentra en células endoteliales (endotelio vascular) y en megacariocitos.

Los trabajos de Mukai et al., (1980); Bell y Flotte (1982) y Burgdorf et al (1981), demuestran la localización del antígeno a nivel de neoplasias de naturaleza vascular y sus implicaciones histogénicas. Se han reportado recientemente tres trabajos donde se demuestra la presencia del antígeno en el sarcoma de Kaposi (forma clásica de la enfermedad); Burgdorf et al., 1981; Guarda et al., 1981; Nadji et al., 1981. Guarda et al y Nadji et al, encontraron el antígeno relacionado con el factor VIII en áreas fusiformes, en tanto que Burgdorf et al., no pudieron demostrarlo en el mismo patrón histológico. En un estudio reciente (Flotte et al., 1984), determinaron la presencia de este antígeno en un grupo de 7 pacientes homosexuales jóvenes con sarcoma de Kaposi y sus hallazgos son consistentes con los reportados previamente

para la forma clásica de la enfermedad. Los autores apoyan la hipótesis del origen endotelial tanto de las células fusiformes como del componente vascular de los tumores.

A pesar de la aparente especificidad de este antígeno para células endoteliales vasculares, atribuida por algunos autores, Erlanson, R.A. (1984), llama la atención que neoplasmas de células endoteliales pobremente diferenciados que comprenden muchos angiosarcomas, así como lesiones benignas como hemangiomas de la infancia, no se tiñen. Opina el autor que este antígeno no se encuentra en muchas células endoteliales neoplásicas.

Recientes estudios con inmunofluorescencia han demostrado que una eglutinina 1, una lectina extraída del *Ulex europeus* (arbusto de la familia de las leguminosas) y que reviste específicamente las células endoteliales humanas en varios tejidos normales, sí tiñe áreas celulares sólidas indiferenciadas de angiosarcomas y angiosarcomas post-mastectomías (Síndrome de Stewart-Treves) que no son teñidos con el antisuero contra antígeno relacionado con factor VIII (Miettinen, 1983). Desafortunadamente esta lectina está vinculada a algunas células epiteliales, por tanto no es específica.

Wilson (1984) reportó tinción positiva para factor VIII en carcinomas epinocelulares, tumores con diferenciación escamosa y en carcinomas de células renales. Se debe ser muy cuidadoso con la utilización de los inmunoreactivos comerciales para la determinación de este antígeno.

Recientemente, Schlingemann et al., (1985), describieron un nuevo anticuerpo monoclonal (PAL-E), específico para células endoteliales. Se trata de una IgG2a, que tiñe intensamente el endotelio de capilares, venas de pequeño y mediano tamaño, vénulas, en secciones congeladas de tejido humano y animal. La tinción con el PAL-E, fue de tipo difuso y granular, en contraste con el tipo granular del AR-VIII. No tiñó megacariocitos, plaquetas y epitelio a diferencia del AR-VIII y el UEA-I (lectina de *Ulex europeus*), los cuales sí tiñen estructuras epiteliales. En síntesis, la inmunotinción para PAL-E en secciones de tejido humano, demostró ser mucho más restringida al endotelio

que los otros marcadores conocidos. Pensamos que su aplicación en un futuro cercano, en el estudio del sarcoma de Kaposi y otros angiosarcomas, será de gran utilidad.

FILAMENTOS INTERMEDIOS (IF)

Se acepta que virtualmente todas las células de los mamíferos contienen filamentos intracelulares de 8-10 nm, referidos como filamentos intermedios. Se les designa como intermedio porque están entre los microfilamentos de 6 nm y los microtúbulos de 25 nm (o entre filamentos de miosina del músculo estriado de 15 nm). Se ha determinado que los IF son polímeros constituidos por polipéptidos relacionados, que varían en PM entre 40 y 200 kilodaltones (Kd). Un tonofilamento simple es indistinguible de cualquier otro IF. Además de su similitud morfológica, también guardan ciertos parámetros bioquímicos y de biosíntesis tales como composición de aminoácidos, cantidad de x-hélice y patrón de difracción a los Rx.

Hay 5 clases de IF de 8-10 nm, distinguibles por su reactividad inmunogénica, solubilidad, distribución intracelular y composición de polipéptidos:

- 1) **CITOQUERATINAS:** Compuesto por 2-7 filamentos encontrados en epitelio queratinizante y no queratinizante. Se observan en la mayoría de células epiteliales (40-60 Kd).
- 2) **VIMENTINA:** Se encuentra en fibroblastos y células endoteliales (57 Kd).
- 3) **DESMINA:** Filamentos encontrados en células de músculo liso y estriado (53 Kd).
- 4) **FILAMENTOS DE AXONES NEURALES O NEUROFILAMENTOS:** Compuesto por polipéptidos formando 3 filamentos. Son polipéptidos de 68-120-200 Kd encontrados en la mayoría de neuronas.
- 5) **PROTEINA ACIDA GLI O-FILIBRILAR (GFAP):** Localizada primariamente en células gliales (55 Kd).

Cada clase de IF está formado por un grupo de polipéptidos únicos. Dentro de la clase de filamentos epiteliales, algunos polipéptidos formadores de filamentos, son comunes a varios epitelios, mientras que otros parecen ser es-

pecíficos del tejido (Milstone, 1980). En un tejido epitelial dado, tal como la epidermis o la uña, cada uno de los polipéptidos formadores de filamentos es distinto de otro y no están considerados como precursores. Los 5 sub-grupos distintos de IF no son distinguibles por M.E., excepto cuando los filamentos de citoqueratina se suman para formar los agregados densos y curvilíneos llamados tonofilamentos (Kahn, et al., 1983). Moll et al, 1982, distinguieron **19 diferentes polipéptidos de citoqueratinas**.

Las premisas para el uso de anticuerpos policlonales o monoclonales contra los 5 tipos de IF, incluyendo los 19 polipéptidos de citoqueratinas conocidos, en la evaluación de tumores humanos son:

- 1) Un tipo celular específico en adulto, así como su descendiente clonal, incluyendo células neoplásicas, bajo las condiciones usuales "in vivo", contiene **sólo una clase de IF**. La coexpresión de varios tipos de filamentos es rara, aunque se ha reportado recientemente.
- 2) La tinción positiva de un tumor pobremente diferenciado con amplia especificidad para anticuerpo contra citoqueratinas, identifica al tumor como un carcinoma, ya que las otras 4 clases de IF, no se encuentran en verdaderas células epiteliales. Se puede deducir como corolario, que los sarcomas no contienen citoqueratinas (Nagle et al., 1983; Osborn et al, 1983).
- 3) Los patrones de polipéptidos específicos para citoqueratinas, característicos de una célula epitelial dada, son generalmente retenidos en los neoplasmas derivados de ellas y en sus Mt. a distancia, a menudo independientemente del grado de diferenciación. De esa forma, diferentes tejidos epiteliales y sus tumores, pueden ser identificados por marcaje de citoqueratinas, utilizando anticuerpos monoclonales (Debus et al., 1984; Moll et al., 1982, 1983; Osborn et al., 1983; Van Muijen et al., 1984).
- 4) Anticuerpos Antivimentina y anti-desmina, son útiles para la clasificación de una variedad de sarcomas de tejido blando. **Los sarcomas no**

musculares, no contienen desmina.

Las premisas anotadas anteriormente, deben ser tomadas con la debida cautela, ya que la investigación de anticuerpos monoclonales contra queratinas, ha adquirido un ritmo inusitado. Si se revisa la literatura en los tres últimos años, el cúmulo de información, relacionado con este tema es realmente impresionante.

Los anticuerpos policlonales preparados contra citoqueratinas epidérmicas, pueden tener diferente inmunoreactividad que los anticuerpos policlonales preparados contra citoqueratinas de otros tejidos. Aparentemente ningún anticuerpo anticitoqueratina, reacciona con células de origen mesenquimáticas o linfoides. Una reacción de inmunotinción negativa con un anticuerpo policlonal anti-CK, no excluye un origen epitelial de un tipo celular dado, ya que se puede observar fuerte reactividad con otro anticuerpo antiCK. Kahn et al (1983), encontraron que 13 tumores carcinoides (pulmón, intestino grueso, intestino delgado y ovario), comprobados por M.E., expresaron inmunotinción positiva con anticuerpo a citoqueratina del cuerpo de Mallory. Estos hallazgos confirman la presencia de CK en tumores carcinoides, correspondientes a agregados de IF demostrados por M. E. Estos resultados, así como aquéllos que demuestran la rara co-expresión de CK y vimentina en un tipo celular específico, aparentemente condicionarían la premisa número 1 (señalada anteriormente) (Damjanov 1983; Nagle et al., 1983 y Osborne et al, 1983). De allí que siempre se insista en que se debe usar más de un anticuerpo policlonal antiCK o bien una serie de anticuerpos monoclonales reaccionen para cada tipo de filamento con la finalidad de caracterizarlos, debido a que la composición polipeptídica de estos filamentos puede diferir en células epiteliales, en diversos sitios.

PROTEINA BASICA DE LA MIELINA (MBP) -

Se trata de una sustancia que se encuentra en la mielina, un material complejo que está presente en las células de Schwann en el SNC y periférico. La mielina del SNC está compuesta por aproximadamente 30% de MBP. Esta

se compone de una cadena simple de polipéptidos altamente básica, integrada por aproximadamente 170 residuos de aminoácidos. Según Uyemura et al (1977), la MBP observada en el SNC, puede ser detectada en nervios periféricos, estando su más alta concentración en los cordones de la médula espinal. En el sistema nervioso periférico, la mielina es sintetizada por las células de Schwann. Como sucede con la determinación de proteína S-100, la demostración de estas proteínas en estructuras nevoides, benignas y lesiones malignas, sugieren una relación entre el tejido neoplásico y las células de Schwann. La MBP ha sido utilizada como marcador en el diagnóstico diferencial de ciertos tumores con patrón histológico fusiforme, donde se sospeche un probable origen neural. Un ejemplo es el Schwannoma maligno (aunque raro en piel), puede presentar problemas de diagnóstico diferencial con otras neoplasias con patrón histológico similar (fibrosarcoma, melanoma maligno de células fusiformes, etc.). En relación al melanoma maligno desmoplásico y el melanoma de células fusiformes, es importante recordar que pueden ser diferenciados del Schwannoma maligno, porque son tumores que no contienen MBP, aunque sí son positivos para inmunotinción para proteína S-100.

La MBP se ha utilizado para descartar el origen neural de los llamados "neuronevus" (el patrón histológico "aparentemente neuroide", se debe a un proceso evolutivo de envejecimiento). Los trabajos de Penney, Mogollón et al (1984), han demostrado negatividad a la determinación de MBP. Las células névicas, aun aquéllas con apariencia neuroide, observadas al M.E., tienen hallazgos característicos de melanocitos y no de células de Schwann (Thorne, et al, 1971).

ANTICUERPOS MONOCLONALES (A M)

Kohler y Milstein, 1975, estudiaron la síntesis de anticuerpos producidos por las células B. Fusionaron células B de ratones normales con una línea de células de mieloma maligno de ratón. Observaron que las células híbridas fusionadas habían adquirido la característica de la célula B normal para producir grandes cantidades de anticuer-

AM CONTRA ANTIGENOS DE LEUCOCITOS HUMANOS

Célula o tejido identificado	P.M. del antígeno (x mil)	VN en sangre	Anticuerpo
1. Linfocitos humanos (Pan T Cell)	67	72-7%	Leu 1, Leu 4, OKT1, OKT3, T101, 10.2, 3A1
-Cel. T supresoras/citotóxicas	32-43	28-8%	Leu2a, Leu 2b, OKT8, OKTS, T8
-Cel. T ayudadoras/inductoras	55	45-11%	Leu 3a, Leu 3b, OKT4, T4
-Cel. asociadas al receptor E	40-50	83-5%	Leu 5, OKT11, T11, 9.6
-Timocitos	45	0%	OKT6, Leu 6, Na 1/34, Thy-1
-Células B	28-32	10-5%	BA1, B1, HC11A, Leu 10
-Cel. B y Cel. T activada (monocito/macrófago)	28-34	11-4%	OK1a1, HLA-DR, Ia,
-Cel. no asesinas/asesinas	desconocido	15-7%	Leu 7
2. Monocitos Humanos (monocitos/macrófagos)	90-120	90-10%	Leu M3, OKM1, Leu M2 (Mac-120), 4F2

pos y de proliferar rápidamente para formar una línea celular en continua expansión.

Para una mejor comprensión de la tecnología del hibridoma, ver el Gráfico No. 1.

Anticuerpos monoclonales en fisiología cutánea normal.

Las células T malignas en la piel, expresan antígeno Thy-1, para células T inmaduras, receptor de superficie de membrana (transferrina) y determinantes similares a la, al contrario de las células T circulantes que no lo expresan. Estos hechos sugieren que la piel es un sitio de diferenciación extratímica de células T; en este sentido pueden inducirse cambios fenotípicos en estas células, tomando posiblemente como sitio de diferenciación a la piel.

QUERATINAS Y QUERATINIZACION EPITELIAL

Se han producido varios A.M. a proteínas de la queratina epidérmica (AE 1, AE 2, AE 3) (Sun et al, 1982, 1984). De estos estudios se deduce que:

- 1) La distribución tisular de queratinas relacionadas con la epidermis, demostró que cierta clase de queratinas estaban relacionadas con diferentes tipos de queratinización epitelial (simple vs estratificada, queratinizada vs no queratinizada).

- 2) Las células epidérmicas cultivadas, fallaron en producir las queratinas normalmente vistas en la epidermis, pero sí las producía bajo ciertas condiciones inductoras de la queratinización (medio de cultivo deficiente en Vit. A e hidrocortisona) (Eichner, et al., 1982).
- 3) Las neoplasias queratinizantes tienen queratinas identificables.

UTILIZACION DE A.M. EN EL DIAGNOSTICO DE ALGUNAS AFECCIONES CUTANEAS

Linfoma Cutáneo de Células T: (CTCL): Es una neoplasia de células T cooperadoras (cel. de Sézary) que muestra predilección por comprometer

la piel. A.M. de linfocitos en pacientes con CTCL, tanto en sangre periférica, como en piel, muestran reactividad con 3AL, OKT3, OKT4, los cuales definen células T cooperadoras maduras (Kung et al., 1981; Haynes et al., 1982; Edelson 1982, Mc Millan, 1985). Anticuerpos BE1 y BE2 definen antígenos presentes en células de Sézary, células infectadas por virus EpsteinBarr y algunas células T, pero no están presentes en linfocitos normales (Berger 1982, Jegasothy 1984).

Parapsoriasis en Placas: Un número determinado de estos pacientes pueden desarrollar CTCL. Los estudios de Olsen, Jegasothy et al, 1982, con A.M. en infiltrados cutáneos en estos pacien-

ANTICUERPOS MONOCLONALES CONTRA OTROS ANTIGENOS CELULARES

Célula o Tejido identificado	P.M. (x mil)	Anticuerpo
Antígeno de Cel. Tumorales		
L.C.C.T.	27-28	BE1, BE2
Melanoma	65	3.3
Otros		
- Receptor de transferrina (también en células activadas)	90	5E9, OKT9
- Células Langerhans	desconocido	OKT6
- Células Basales epidérmicas	120	4F2, W13
- Queratinas	56,65-67	AE1, AE2, AE3

tes, han sugerido qué características fenotípicas de superficie de células maduras supresoras/citotóxicas (3A1+, OKT3+, OKT4-, OKT8+), pudieran indicar un progreso posiblemente benigno. Estos estudios necesitan corroboración.

Infiltrados Linfocitarios Atípicos: Casos borderline que presentan infiltrados linfocitarios morfológicamente atípicos, pudieran ser delimitados mediante la utilización de A.M. La identificación de una proliferación de una línea celular simple, puede sugerir malignidad, en tanto que un infiltrado mixto sugiere benignidad.

Infiltrados cutáneos en Hansen: La relación de células T4/T8 en los infiltrados de pacientes con LL es menor que la de los pacientes con LT, e igualmente la distribución topográfica de los linfocitos T. Todo indica que esta distribución es importante para obtener una respuesta inmune efectiva.

TUMORES

1) Melanoma.

Existe un número de A.M. que muestra unión con antígenos de MM humano, pero la mayoría de estos A. M. se expresan en otras patologías tumorales, por tanto son algo inespecíficos. No obstante, recientemente se han descrito A.M. para detectar solamente antígenos de MM (Yen et al, 1979). La presencia de un IF (Vimentina) en melanocitos malignos, es otra guía para el diagnóstico de esta neoplasia (Ramaekers et al, 1982).

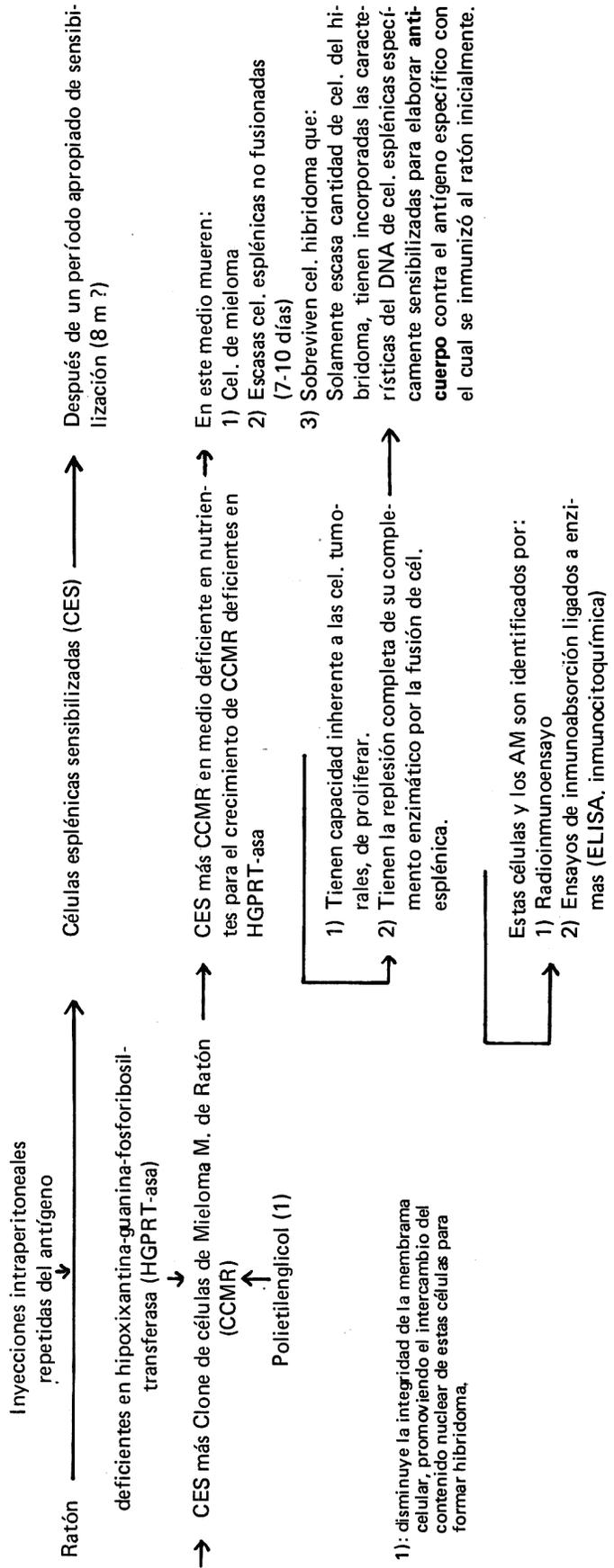
2) E.E.C.

La identificación de características específicas por medio de A.M. puede ayudar a diferenciar el E.E.C. de lesiones benignas como el Queratoacantoma (Q.A.). Aunque no existen antígenos específicos que pudieran diferenciar E.E.C. de Q.A., el patrón de tinción para receptores de transferrina, pudieran ser de valor diagnóstico. En efecto los Q.A. muestran la tinción basal típicamente continua vista en epidermis normal, mientras que el E.E.C. muestra una transición brusca, a partir de la piel normal que rodea al tumor (Gatter et al, 1984).

3) SIDA más KAPOSÍ.

Ausencia casi completa de células T cooperadoras, con aumento concomitante de células supresoras/citotóxicas

GRAFICO No. 1. TECNICA GENERAL PARA LA PRODUCCION DE A.M.



(Gottlieb et al., 1981; Masur et al., 1981). Esto se explica por la severa deficiencia inmune que acompaña a estos pacientes.

OTRAS AFECCIONES

1) Sarcoidosis.

Severo aumento de la relación de células ayudadoras/supresoras de 10:1 (VN= 3:1-4:1). Probable causa de la lesión pulmonar en estos pacientes y de la formación de granulomas (Hunnigade et al., 1981).

2) LES y Esclerosis Múltiple.

La deficiencia de células supresoras, conduce probablemente a la síntesis de autoanticuerpos.

BIBLIOGRAFÍA SELECCIONADA

APUDÓMAS Y ENOLASAS

- Chik-Kwun, T. and Toker, C: *Cáncer* 42: 2311-2323, 1978.
- Winkelman, R.K.: *J. Invest. Dermatol.* 69: 41, 1977.
- Gouíd, V.E.: *Pathol. Ann.* 12 (II): 33, 1977.
- DeLellis, R.A., et al.: *Lab. Invest.* 36: 237, 1977.
- DeLellis, R.A., et al.: *Lab. Invest.* 38: 263, 1978.
- Macadam, R.F.: *J. Pathol.* 126: 149, 1978.
- Sober, A.J. and Fitzpatrick, T.B.: *Year Book of Dermatol.* 1984.
- Sidhu, G.S., et al.: *Am J. Dermatopathol.* Vol 1, No. 2, 1980.
- Marangos, P.J., et al.: *J. Biol. Chem.* 250: 1884, 1975.
- Schmechel, D., Marangos, P.J., et al.: *Nature* 276: 834-836, 1978.
- Wharton, J., Polak, J.M., et al.: *J. Histochem. Cytochem.* 29 (12) 1359, 1981.
- Bishop, A.E., et al.: in *Gut Hormones* (Ed), Bloom SR and Polak, JM, 2nd ed. pp569, 1981
- Tapia, F.J., et al.: *Lancet*, i, 808-811 1981.
- Pearse, A.G.E., et al.: *Gut* 12: 783, 1974.
- Pearse, A.G.E., et al.: *Pathol Ann* 9: 27, 1974.
- Pearse, A.G.E., et al.: In (ed) *Endocrine Pathol. Decennial*, 1975.
- Pearse, A.G.E., et al.: *Fed. Proc.* 38: 2288, 1979.

- Hartschich, W., et al.: *Arch. Dermatol. Res.* 265: 115-122, 1979.
- Hartschich, W., et al.: *Cell Tissue Res.* 201: 343-348, 1979.
- Hartschich, W., et al.: *J. Invest. Dermatol.* 81: 361-364, 1983.
- Saurat, J-H, et al.: *J. Invest. Dermatol.* 83: 431-435, 1984.
- Schubart, U.K., et al.: *J. Cell Biol.* 98: 1001-1009, 1984.
- Warner, T. et al.: *Cáncer* 53: 238-245, 1983.
- Gu, J., Polak, J.M. et al.: *Cáncer* 52: 1039-1043, 1983.
- Wick, M.R. et al.: *Am.J. Clin. Pathol.* 79: 6-13, 1983.

PROTEINAS-100

- Moore, B.W.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 19: 739-744, 1965.
- Kahn, H.J., et al.: *Am. J. Clin. Pathol.* 79: 341, 1983.
- Nakajima, T., et al.: *Am.J. Surg. Pathol.* 6: 715, 1982.
- Nakazato, Y., et al.: *Cáncer* 49: 1624, 1982.
- Stefansson, K., et al.: *Cáncer* 49: 1834, 1982.
- Armira, A., Connelly, E.M., et al.: *Am. J. Clin. Pathol.* 79: 37, 1983.
- Planas-Girón, G., Tapia, F.J.: *Med. Cut. I.L.A.*, 1985 (en prensa).
- Kahn, H.J., et al.: *Inter. Journal of Dermatol.* vol. 23, No. 1, 1984.
- Nakajima, T., et al.: *Cáncer* 50: 912 1981.
- Cocchia, D., et al.: *Nature* 294: 85 1981.
- Springall, D.R., et al.: *Virchows Arch. (Pathol. Anat.)* 400: 331, 1983.
- Erlandson, R.A.: *Am. J. Surg. Pathol.* 8: 615-624, 1984.
- Vanstapel, M.J., et al.: *Lab. Invest.*, 1985.

ANTIGENO CARCINOEMBRIÓNARIO (CEA)

- Gold, P., Freedman, S.O.: *J. Exp. Med.* 121: 439-462, 1965.
- Baylin, S.B., Mendelsohn, G.: Vol. 1, No. 1, Copright by The Endocrine Society, 1980.
- Penneys, N.S., et al.: *Am Acad. Dermatol.* 4: 401-403, 1981.
- Penneys, N.S., et al.: *Arch. Dermatol.* 118: 225-227, 1982.
- Penneys, N.S., et al.: *Cáncer* 50: 1608-1611, 1982.

- Jautzke, G., et al.: *Cáncer* 50: 2052-2056, 1982.
- Planas-Girón, G., Gogorza, R., et al.: *Med. Cut. I.L.A.* (manuscrito enviado para publicación), 1985.
- Mazoujian, G., Pinkus, G.S.: *Am J. Pathol.* 110: 105-112, 1983.
- Fishman, W.H. and Singer, R.B.: *Cáncer Research* 36: 4526-4261, 1976.
- Nadji, M., et al.: *Cáncer* 50: 2203-2206, 1982.
- Kariniemi, A.L., Fosman, L., et al.: *Brit. J. Dermatol.* 110:203-210, 1984.
- Oji, M., et al.: *Brit. J. Derm.* 110: 211-213, 1984.
- Penneys, N.S.: in *Current Issues In Dermatol*, T73-194, 1984.

ANTIGENO RELACIONADO CON EL FACTOR VIII.

- Mukai, K., Rosai, J., et al.: *Am J. Surg. Pathol.* 4: 273-276, 1980.
- Bell, D.A., Flotte, T.J.: *Cáncer* 50: 932-938, 1982.
- Burgdorf, W.H.C., et al.: *Am. J. Clin. Pathol.* 75: 167-171, 1981.
- Guarda, J.G. et al.: *Am. J. Clin. Pathol.* 76: 197-200, 1981.
- Flotte, T.J., et al.: *Arch. Dermatol.* 120: 180-182, 1984.
- Erlandson, R.A.: *Am. J. Surg. Pathol.* 8:615-624, 1984.
- Miettinen, M.: *Am. J. Clin. Pathol.* 79: 32-36, 1983.
- Miettinen, M.: *Am. J. Surg. Pathol.* 7: 329-339, 1983.
- Wilson, S.J.: *Am. J. Clin. Pathol.* 81: 117-120, 1984.
- Schlingomann, R.O., et al.: *Lab. Invest.* 1985.

PROTEINA MIELINA BÁSICA

- Uyemura, K. et al.: *Adv. Exp. Med. Biol.* 100: 95-115, 1977.
- Martenson, R.E. et al.: *J. Neurochem.* 36: 1543-1560, 1981.
- Erlandson, R.A., et al.: *Cáncer* 49: 273-287, 1982.
- Penneys, N.S., Mogollón, R., et al.: *Arch. Dermatol.* 120: 210-213, 1984.
- Thorne, E.G., et al.: *Arch. Dermatol.* 104:619-624, 1971.
- Penneys, N.S., et al.: *Arch. Pathol. Lab. Med.* 107: 302-303, 1983.

FILAMENTOS INTERMEDIOS

- Erlandson, R.A.: *Am. J. Surg. Pathol.* 8: 615-624, 1984.

2. Stenn, K.: Am. J. Dermatopathol. 2: 161-163, 1980.
3. Milstone, L.M. and McGuire, J.: (manuscript submitted for publication).
4. Molí, R., et al.: Cell 31: 11-24, 1982.
5. Molí, R., et al.: Differentiation 23: 256-269, 1983.
6. Molí, R., et al.: Lab. Invest. 49: 599-610, 1983.
7. Milstone, L.M.: Am. J. Dermatopathol. 8: 615, 1984.
8. Kahn, H.J., et al.: Lab. Invest. 49: 509, 1983.
9. Kahn, H.J., et al.: Cáncer 51: 645-653, 1983.
10. Nagle, R.B., et al.: Am. J. Clin. Pathol. 79:458-466, 1983.
11. Osborn, M., et al.: Lab. Invest. 48: 372-394, 1983.
12. Debus, E., et al.: Am. J. Pathol. 114: 121-130, 1984.
13. Van Muijen, G.N.P., et al.: Am. J. Pathol. 114: 9-17, 1984.
14. Kahn, H.J.: Lab. Invest. 49: 509, 1983.
15. Osborn, M.: Lab. Invest. 49: 510, 1983.
16. Schlegel, R., et al.: Lab. Invest 49: 511-512, 1983.
17. Rajaraman, et al.: Lab. Invest. 49: 512-513, 1983.
18. Robinson, J.K., et al.: Arch. Dermatol. 120: 199-203, 1984.
19. Damjanov, I.: Editorial. Lab. Invest. 47: 215-217, 1983.
20. Murphy, G.F.: J. Invest. Dermatol. 84: 1-2, 1985.
21. Molí, I. and Molí, R.: J. Invest. Dermatol. 84: 3-8, 1985.
22. Woodcock-Mitchell, J. et al.: J. Cell. Biology 95: 580-588, 1982.
23. Badén, H.P.: J. Invest. Dermatol. 82: 305-307, 1984.
24. Osborn, M.: J. Invest. Dermatol. 82: 443-445, 1984.
25. Said, J.E. et al.: J. Invest. Dermatol. 82:449-452, 1984.
26. Murphy, G.F., et al.: J. Invest. Dermatol. 82: 453-457, 1984.
27. Watt, F.M., et al.: J. Invest. Dermatol. 81: 100s-107s., 1983.
28. Osborn, M.: J. Invest. Dermatol. 81: 104s-107s., 1983.
29. Sun, T.T., et al.: J. Invest. Dermatol. 81: 109s-115s, 1983.
30. Freedberg, I.M.: Epidermal Differentiation and Keratinization. In Update Dermatology in General Medicine. (Eds.) Fitzpatrick, T. 159, 1983.
5. Kung, P.C. et al.: Blood 57: 261-266, 1981.
6. Haynes, B.F., et al.: Blood 60: 463, 1982.
7. Edelson, R.L.: J. Derm. Surg. Oncol. 2: 18-28, 1982.
8. McMillan, E.M.: J. Am. Acad. Dermatol. 12: 102-114, 1985.
9. Berger, C.L., et al.: J. Clin. Invest. 70: 1205-1215, 1982.
10. Jegasothy, B.V.: Monoclonal Antibodies. In Current Issues In Dermatology, pp133, 1984.
11. Osen, E.A., Jegasothy, B.V.: Clin. Res. 30:600A, 1982.
12. Yeh, H.Y., et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 2927-2931, 1979.
13. Ramaekers, F.C.S., et al.: J. Clin. Invest. 71: 635-643, 1983.
14. Gatter, K.C., et al.: Histopathology 8: 209-227, 1984.
15. Gottlieb, M.A., et al.: N. Engl. J. Med. 305: 1425, 1981.
16. Friedman-Kien, A.E.: J. Invest. Dermatol. 82: 446-448, 1984.
17. Hunninghade, G.W., et al.: N. Engl. J. Med. 305: 429, 1981.
18. Berger, C.L.: Arch. Dermatol. 118: 627-629, 1982.
19. Modlin, R.L., et al.: J. Invest. Dermatol. 83: 206-209, 1984.
20. Wood, G.S., et al.: J. Invest. Dermatol. 84: 37-40, 1985.
21. Eto, H., et al.: J. Invest. Dermatol. 80: 339, 1983.
22. Mehregan, A.H., et al.: J. Am. Dermatol. 13: 3,433-436, 1985.

ANTICUERPOS MONOCLONALES

1. Kohler, G., Milstein, C: Nature 256: 495-497, 1975.
2. Jegasothy, B.V.: Monoclonal Antibodies. In Current Issues In Dermatology. 127-139, 1984.
3. Sun, T.T., et al.: (abstract) J. Cell Biol. 95:231a, 1982.
4. Eichner, R., et al.: J. Cell. Biol. 95: 231a, 1982.