

Principios básicos de inmunohistoquímica en lesiones melanocíticas

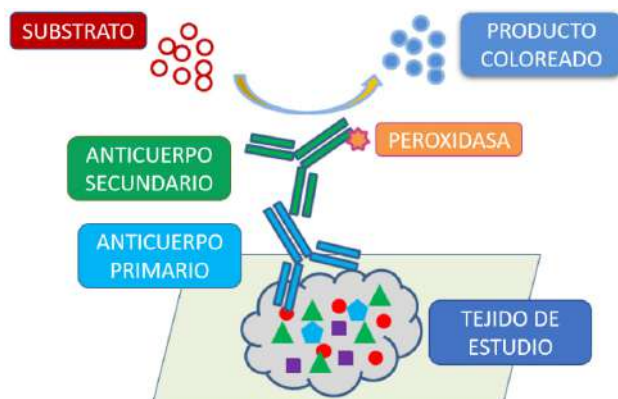
Basic principles of immunohistochemistry in melanocytic lesions

Alex Ventura-León¹, Dania Ramírez-Vásquez²

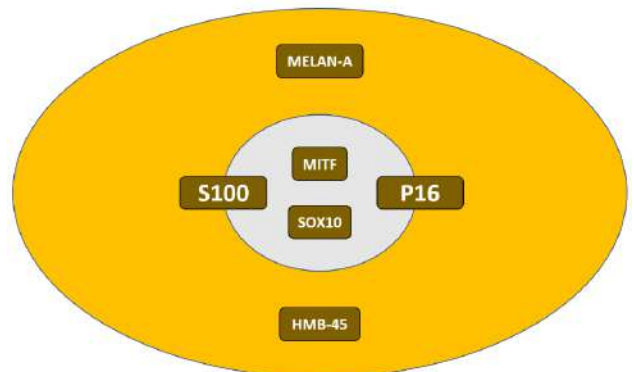
INTRODUCCION

La inmunohistoquímica (IHQ) constituye una herramienta diagnóstica muy importante en dermatopatología. El fundamento de la técnica se basa en la capacidad de los anticuerpos para unirse específicamente a los correspondientes antígenos, y la reacción se hace visible solo si el anticuerpo está marcado con una sustancia que absorbe o emite luz o produce coloración.

En las técnicas de inmunoperoxidasa se utilizan como marcadores enzimas capaces de hacer cambiar de color un sustrato incoloro. Por ejemplo, las enzimas más frecuentemente utilizadas son la peroxidasa y la fosfatasa alcalina, y los sustratos más comunes son la diaminobenzidina (color marrón) y el aminoetilcarbazol (color rojo). Estos marcadores pueden unirse (conjugarse) directamente al anticuerpo primario, o indirectamente mediante otros anticuerpos (secundarios) o sustancias como biotina o proteína A.



Otro factor importante a tener en cuenta es la ubicación de la marcación dentro de la célula. Algunos de los marcadores que vamos a estudiar tienen una marcación nuclear, otros citoplasmática y algunos otros presentan una marcación mixta (nuclear y citoplasmática) como el S100 y p16.



Los anticuerpos más usados en dermatopatología son los siguientes:

La proteína S100 sigue siendo el marcador más sensible (aunque no tan específico) de diferenciación melanocítica. Se expresa en prácticamente el 100% de los nevos melanocíticos y hasta en el 98% de los melanomas, lo que confiere a esta proteína el papel de marcador más sensible de proliferaciones melanocíticas.

Su principal uso radica en el estudio de neoplasias pobremente diferenciadas o fusocelulares en donde la negatividad de S100 prácticamente descarta la posibilidad de que estemos frente a un melanoma. Por otro lado, su positividad siempre debe de ir acompañada de otros marcadores melanocíticos más específicos como los son el Melan-A o el HMB-45.

1. Médico Patólogo del Hospital Cayetano Heredia y del Laboratorio Unilabs. Docente de la Universidad Peruana Cayetano Heredia
2. MR4 Anatomía Patológica, Hospital Cayetano Heredia

Ventajas	S100	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> - Alta sensibilidad - Útil en la demostración de diferenciación melanocítica 	 <p>Marcación: núcleo y citoplasma</p>	<ul style="list-style-type: none"> - No es útil para la evaluación de proliferaciones intraepidérmicas (melanoma in situ) - Uso limitado en proliferaciones intradérmicas

Ventajas	HMB-45	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> - Alta especificidad - Útil en las proliferaciones intradérmicas (Patrón de "maduración" en los nevos) 	 <p>Marcación: citoplasma</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Baja sensibilidad - Usualmente negativo en melanomas fusocelulares y desmoplásicos

El anticuerpo HMB-45 detecta la glicoproteína 100 (gp100) que esta presente en los pre-melanosomas. Este anticuerpo es considerado uno de los marcadores melanocíticos más específicos ya que si bien es cierto se expresa en otras neoplasias como los son el angiomiolipoma y los pecomas, por ejemplo, dichas neoplasias no suelen entrar en el diagnóstico diferencial de los tumores de piel.

El HMB-45 se expresa principalmente en los melanocitos inmaduros/fetales y de ahí su utilidad en la diferenciación de nevus y melanoma. Es decir, en un melanoma todas las células serán positivas para HMB-45 y en un nevus solo se expresará en la población de melanocitos más cercanos a la epidermis mientras que las células más profundas serán negativas. Esto es lo que se conoce como el patrón de maduración de los nevus melanocíticos.

El antígeno MART1 es detectado por dos anticuerpos diferentes que son el Melan A y A-103. Similar a la proteína S100, la mayoría de los melanocitos, tanto benignos como malignos, expresan este marcador. De tal manera que es útil para detectar la diferenciación melanocítica. La única lesión melanocítica que es consistentemente negativa para MART1 es el melanoma desmoplásico; por lo tanto, la expresión fuerte y difusa de MART1 en una lesión melanocítica de células fusiformes hace poco probable el diagnóstico de melanoma desmoplásico.

Ventajas	MART1/MELAN-A	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> - Alta sensibilidad (después del S100) - Marcación citoplasmática uniforme 	 <p>Marcación: citoplasma</p>	<ul style="list-style-type: none"> - "Sobre-expresión" en piel fotoexpuesta - Usualmente negativo en melanomas fusocelulares y desmoplásicos

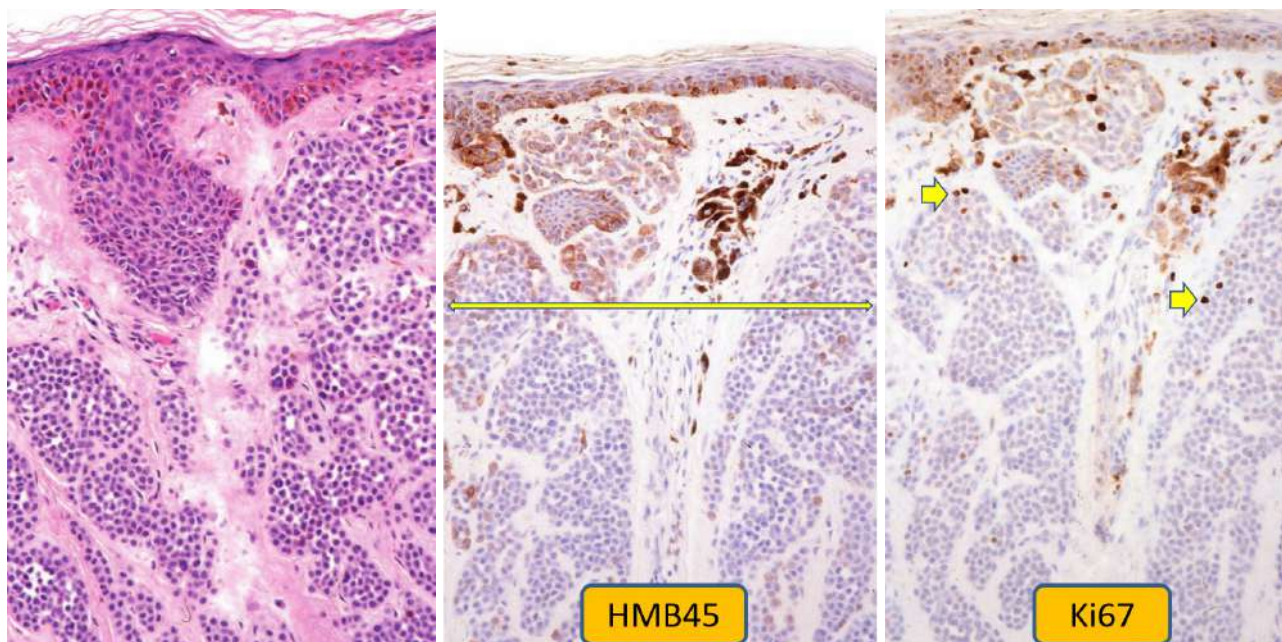


Figura N° 1. Un ejemplo del uso de HMB-45 Y Ki67 en un nevus melanocítico. La tinción de HMB-45 solo es positiva en el tercio superior mientras que el Ki67 es escaso y también limitado a la parte más superficial.

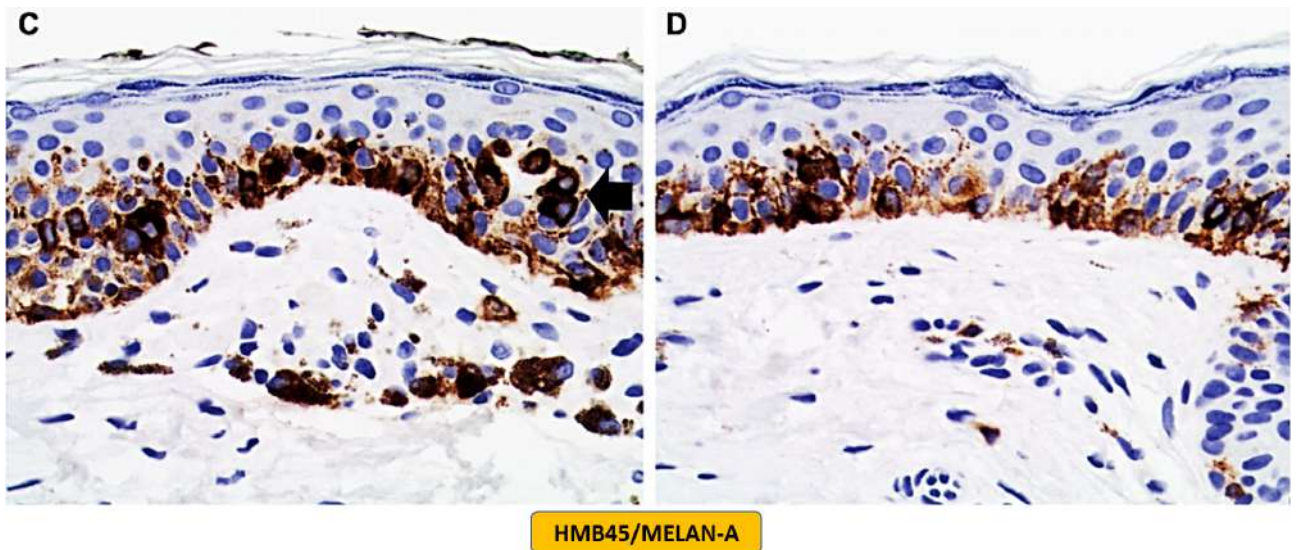
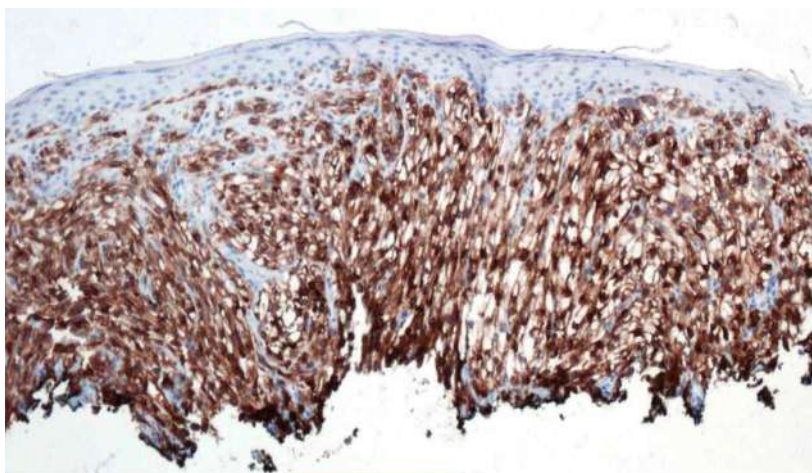


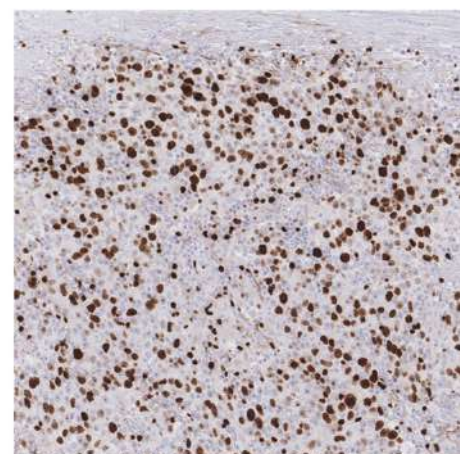
Figura N° 2. El HMB-45 y el Melan-A pueden marcar, además de los melanocitos, algunos citoplasmas de los queratinocitos adyacentes lo cual podría provocar una sobre interpretación al evaluar las proliferaciones melanocíticas intraepidérmicas.

La proteína Ki67, detectada por el anticuerpo MIB-1, está presente en todas las fases activas del ciclo celular, de tal manera que es un marcador de proliferación celular. Se emplea para medir la actividad proliferativa de una población melanocítica. Un nevus tendrá una escasa marcación que será mejor observable en la parte superficial de la población melanocítica. Por otro lado, un melanoma expresará esta proteína en mayor cantidad y de manera más difusa.

Ventajas	Ki67	Desventajas
- Evaluación de la actividad proliferativa de los melanocitos	 Marcación: núcleo	- Expresado también en linfocitos, macrófagos, queratinocitos, etc



HMB45



Ki67

Figura N° 3. Patrón de tinción del HMB-45 y el Ki67 en un melanoma. Podemos observar una marcación difusa del HMB-45 y un marcado incremento del Ki67 en toda la lesión. Este patrón es distinto a lo observado en un nevus melanocítico (Figura N° 1).

El factor de transcripción de microftalmia (MiTF) es una proteína nuclear involucrada en el desarrollo de melanocitos y la regulación de la síntesis de melanina. Su utilidad radica en que se trata de un marcador nuclear de melanocitos y por esta razón permite una cuantificación más exacta sobre todo cuando se trata de proliferaciones intraepidérmicas. En lo que se refiere a proliferaciones dérmicas no es de gran utilidad ya que es también expresado por macrófagos, linfocitos, fibroblastos, células de Schwann y células de músculo liso.

Ventajas	SOX10 / MITF	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> - Cuantificación de melanocitos intraepidérmicos - SOX10 es positivo en melanoma desmoplásico 	 <p>Marcación: núcleo</p>	<ul style="list-style-type: none"> - MiTF también puede ser positivo en macrófagos y linfocitos - La intensidad del SOX10 puede variar dependiendo del laboratorio

El Sox-10 es un factor de transcripción que se expresa en todo tipo de neoplasias melanocíticas, benignas y malignas. Su expresión nuclear, como en el caso de MiTF-1, hace que sea más fácil su interpretación que la inmunotinción con proteína S100, Melan A o HMB-45. Además de su gran sensibilidad, resulta más específico que la proteína S100 como marcador de melanocitos, ya que algunos melanomas desmoplásicos negativos para la proteína S100 han resultado ser Sox-10 positivos. También ha demostrado su utilidad en la distinción entre la proliferación de melanocitos dendríticos que a veces se observa en las cicatrices de extirpación de melanomas desmoplásicos y la

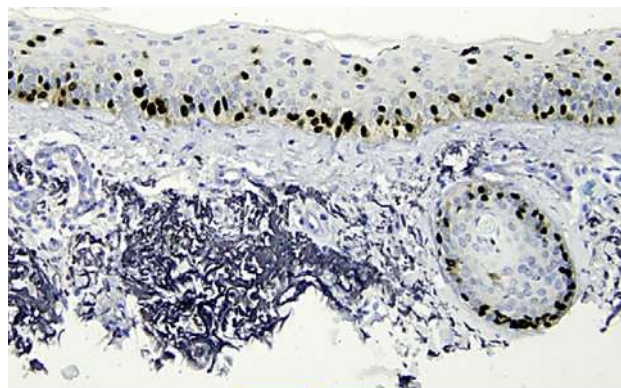


Figura N° 4. Las tinciones melanocíticas nucleares como el MiTF y el SOX10 nos permiten una mejor cuantificación de la población melanocítica en comparación con las tinciones citoplasmáticas (Ver figura N° 2 para comparación)

verdadera persistencia de un melanoma desmoplásico, ya que la tinción con Sox-10 marca de manera más específica los restos de melanoma y no los melanocitos dendríticos de la cicatriz, como sucede con la tinción con la proteína S100.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. L., Santonja, C., Kutzner, H., & Requena, L. (2013). Immunohistochemistry in Dermatopathology: A Review of the Most Commonly Used Antibodies (Part I). *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*, 104(2), 99–127. doi:10.1016/j.adengl.2012.02.005
2. Ferringer T. Update on immunohistochemistry in melanocytic lesions. *Dermatol Clin.* 2012 Oct;30(4):567-79, v. doi: 10.1016/j.det.2012.06.007. Epub 2012 Jul 31. PMID: 23021046.
3. Prieto, Victor & Shea, Christopher. (2011). Immunohistochemistry of melanocytic proliferations. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 135. 853-9. 10.1043/2009-0717-RAR.1.

Correspondencia: Dr. Alex Ventura-León
 Correo: alex.ventura.l@upch.pe