

Por gentileza de



DAKO

Técnicas de inmunohistoquímica

DIAGNÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO DE LOS MESOTELIOMAS

A. Panizo y M.D. Lozano

Departamento de Anatomía Patológica, Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona.

Los mesoteliomas son tumores que se originan del mesotelio que reviste las cavidades celómicas, siendo la localización más frecuente la pleura (90%), seguida de la cavidad peritoneal (10%) y el pericardio (<1%). Histológicamente estos tumores presentan un patrón epitelial (50%), un patrón mixto o bifásico (30%) o un patrón sarcomatoide (20%). La distinción entre un mesotelioma o tumores metastásicos u otros tumores primarios de la pleura o peritoneo puede ser complicada, por lo que se han empleado diferentes técnicas para ayudar a distinguirlos. La mayor sensibilidad para el diagnóstico del mesotelioma se obtiene al combinar los datos morfológicos clásicos con el estudio inmunohistoquímico y la microscopía electrónica.

La inmunohistoquímica es la técnica auxiliar más frecuentemente empleada en el diagnóstico diferencial entre el mesotelioma y otros tumores que pueden presentarse en las serosas. Ha aparecido en el mercado un sinnúmero de anticuerpos que pueden ser de utilidad para este propósito; sin embargo, no están exentos de problemas (sensibilidad y especificidad, fijación de la muestra, tipo de recuperación antigénica empleada, necrosis de la muestra, heterogeneidad del tumor, etc.). En diferentes estudios de grandes series publicados recientemente, el empleo de un solo anticuerpo no ha sido capaz de diagnosticar o descartar un mesotelioma, por lo que en la actualidad se aconseja el empleo de paneles diagnósticos inmunohistoquímicos al enfrentarnos con un tumor de serosas. Sin embargo, en la actualidad no existe unanimidad con respecto a qué anticuerpos se deben incluir en ese panel diagnóstico.

FILAMENTOS INTERMEDIOS

Citoqueratinas

Las células del mesotelioma expresan con frecuencia diferentes citoqueratinas en el rango de 40-45 kDa (CK 18 y 19) y en el rango de 58-64 kDa (CK 3-5), siendo las primeras las más estudiadas. Sin embargo,

Riera y cols., así como otros autores, creen que estos anticuerpos son suficientemente sensibles y específicos como para incluirlos en un panel inmunohistoquímico.

Vimentina

De forma similar a las citoqueratinas, las células del mesotelioma pueden expresar vimentina en su citoplasma hasta en un 80% de los casos.

GLICOPROTEÍNAS EPITELIALES

Antígeno carcinoembrionario (CEA)

Uno de los primeros anticuerpos que se recomendó para descartar el mesotelioma fue el CEA. Sin embargo, aproximadamente el 20% de los mesoteliomas expresan algún epítipo relacionado con el CEA, por lo que complica el empleo de anticuerpos policlonales frente al CEA. Sin embargo, por lo menos unos epítipos relacionados con el CEA se expresan de forma excepcional en los mesoteliomas, por lo que el empleo de anticuerpos monoclonales frente a estos epítipos es de gran valor diagnóstico en la distinción entre adenocarcinoma y mesotelioma (clones A5B7, CEJ065).

Ber-EP4

Es un anticuerpo monoclonal producido empleando una línea tumoral de carcinoma de mama (línea MDF-7). Reconoce un epítipo en dos glicopéptidos (34 y 30 kd) que no están unidos covalentemente. En diferentes estudios, este anticuerpo marca entre el 65% y el 80% de los adenocarcinomas, mientras que solamente entre el 0% y el 18% de los mesoteliomas se marcan con este antisuero. Como la inmunorreactividad en los adenocarcinomas es frecuentemente fuerte y difusa, en contraste con la positividad en los mesoteliomas epiteliales, donde es focal y a menudo en escasas células, la inmunorreactividad frente a Ber-EP4 puede ayudar a separar ambos tipos de tumores.

CD15 (Leu-M1)

Es un anticuerpo monoclonal que reacciona frente al hapteno-X, situado en la membrana citoplasmática celular. Entre el 95% y el 50% de los adenocarcinomas de pulmón reaccionan frente a este anticuerpo, mientras que sólo un bajo porcentaje de mesoteliomas expresa este antígeno (2% a 8%). Este anticuerpo es un marcador muy específico para distinguir adenocarcinoma de mesotelioma, pero su sensibilidad es menor que el CEA o B72.3.

B72.3

Es un anticuerpo monoclonal que reconoce una glicoproteína llamada TAG-72. Reacciona con diferentes carcinomas (pulmón, mama, ovario, endometrio, páncreas, tubo digestivo) pero no con sarcomas, melanoma o tumores hematopoyéticos. Ya que este anticuerpo reacciona con la mayor parte de los carcinomas de pulmón y de manera intensa y difusa (90% a 80%) y de forma muy excepcional y focal con el mesotelioma (1% a 10%), constituye uno de los mejores marcadores inmunohistoquímicos para separar ambas lesiones.

BG8

Es un anticuerpo monoclonal frente a la sustancia Lewis Y del grupo sanguíneo. Los mesoteliomas presentan inmunorreactividad focal y ligera y en un bajo porcentaje (9% a 23%) con este anticuerpo. Los adenocarcinomas muestran una intensa inmunorreactividad en la práctica totalidad de los casos (85% a 100%).

HMFG-2 (*human milk fat globulin 2*)

Aproximadamente el 80% de los adenocarcinomas y el 15% a 30% de los mesoteliomas presentan inmunorreactividad frente a este anticuerpo. Sin embargo, el patrón de inmunorreactividad celular es diferente en los dos tumores: en los adenocarcinomas la inmunorreactividad es citoplasmática y de membrana, mientras que en los mesoteliomas es de membrana, sin inmunorreactividad citoplasmática. La técnica de recuperación antigénica mejora marcadamente la sensibilidad de este anticuerpo.

ANTÍGENOS RELACIONADOS CON EL MESOTELIO

Trombomodulina

Es una glicoproteína transmembrana de 75 kD que se expresa en células endoteliales, mesoteliales y sincitiotrofoblasto. Entre el 50% y el 90% de los mesoteliomas epiteliales presentan inmunorreactividad frente a este antisuero (Fig. 1). Sin embargo, los resultados con este anticuerpo en los adenocarcinomas presentan muchas discrepancias ya que en el rango de casos positivos varía sensiblemente de una serie a otra (desde el 6% al 77%). Aunque su especificidad es relativamente buena, su sensibilidad es baja.

HMBE-1

Es un anticuerpo originado a partir de una suspensión de células humanas de mesotelioma. Reacciona fuertemente con la mayoría de los mesoteliomas epiteliales, con un patrón característico de membrana (Fig. 2).

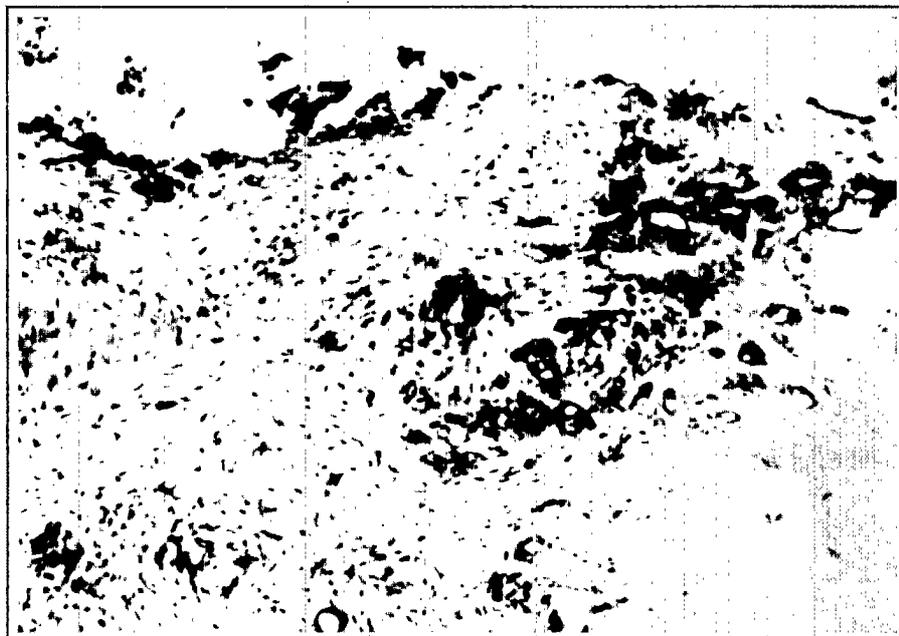


Figura 1. Mesotelioma epitelial que presenta intensa inmunorreactividad frente a trombomodulina (original, $\times 150$).

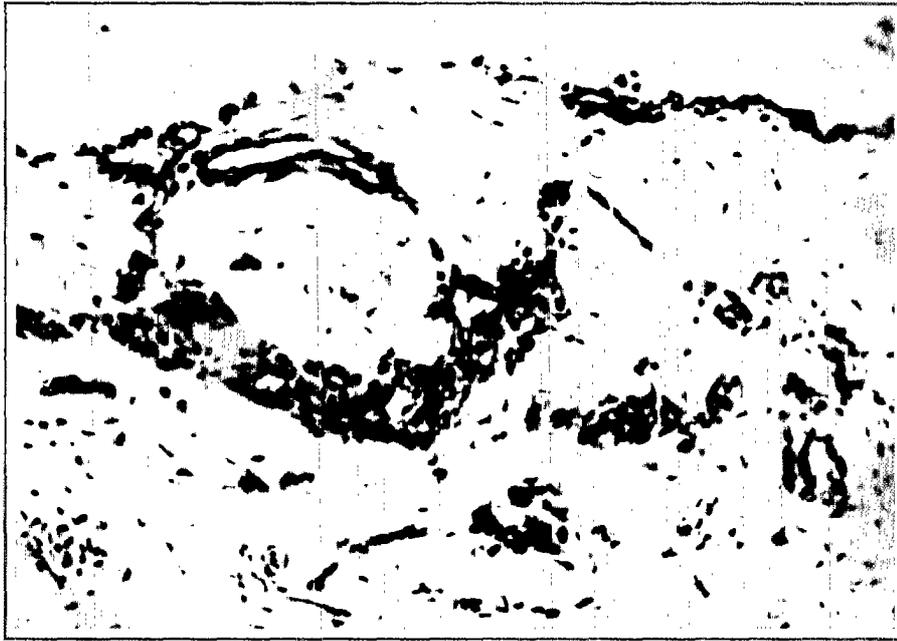


Figura 2. Mesotelioma que presenta inmunorreactividad frente a HMBE-1 con un patrón característico de membrana citoplasmática (original, $\times 250$).

Los mesoteliomas poco diferenciados y los mesoteliomas sarcomatoides son negativos. Además, este anticuerpo marca otros muchos tumores, incluyendo los adenocarcinomas de pulmón, ovario, endometrio, mama, tiroides, tubo digestivo, páncreas, algunos linfomas, algunos tumores de hueso y partes blandas (cordomas, tumores cartilagosos y sarcoma sinovial). A pesar de que carece de especificidad frente al mesotelioma, algunos autores han indicado que puede ser útil para el diagnóstico diferencial entre el mesotelioma epitelial y el adenocarcinoma por el patrón de inmunorreactividad: de membrana en el mesotelioma y citoplasmático en el adenocarcinoma. Sin embargo, algunos autores creen que este anticuerpo tiene poco valor a la hora de diferenciar el adenocarcinoma pulmonar del mesotelioma.

Calretinina

Es una proteína involucrada en el transporte de calcio. La aplicación de un anticuerpo frente a esta proteína en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma es muy reciente, con escasas publicaciones hasta la fecha. En las series estudiadas, este anticuerpo marca entre el 100% y el 50% de los mesoteliomas (Fig. 3), y solamente entre el 5% y 10% de los adenocarcinomas.

OTROS ANTICUERPOS EMPLEADOS EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

44-3A6

Es un anticuerpo monoclonal sintetizado a partir de la línea celular A549 de adenocarcinoma de pulmón, que reacciona con un antígeno de membrana asociado a la diferenciación glandular. Es un anticuerpo que en algunas series marca hasta el 70% de los mesoteliomas epiteliales, así como casi el 100% de los adenocarcinomas, por lo que se considera que tiene poco valor a la hora de discriminar entre estos dos tumores.



Figura 3. Intensa inmunorreactividad frente al anticuerpo anticarcinoembryonario en un mesotelioma pleural (original, $\times 150$).

SM3

Es un anticuerpo monoclonal frente a una proteína que constituye parte de una mucina epitelial. En las pocas series estudiadas marca el 100% de los adenocarcinomas (al igual que el 44-3A6) pero también hasta el 50% de los mesoteliomas presentan inmunorreactividad.

Caderina N

La familia de las caderinas incluye diversos miembros. N-caderina es una proteína de 135 Kda presente en células nerviosas, musculares embrionarias y mesotelio. Aunque en diferentes estudios se ha comprobado que este anticuerpo no es absolutamente sensible o específico de mesotelioma, parece que su empleo puede ayudar en el diagnóstico diferencial. Hay que tener en cuenta también que los carcinomas papilares serosos y endometrioides de ovario expresan fuertemente esta proteína.

Caderina E

Es una molécula de adhesión intercelular de 120 Kda que se expresa en células epiteliales. Diferentes autores empleando el clon E9 han comprobado que la mayor parte de los adenocarcinomas de pulmón presentan inmunorreactividad, mientras que ningún mesotelioma epitelial presenta inmunorreactividad. Sin embargo, utilizando otro clon (el 36) se ha observado inmunorreactividad en muchos mesoteliomas.

CONCLUSIÓN

Desde el punto de vista práctico, Ordóñez y cols. han propuesto que en un panel inmunohistoquímico para el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma, éste debería comprender la calretinina y las citoqueratinas 5 y 6 como marcadores más sensibles y específicos de mesotelio. Entre los anticuerpos

que se recomiendan como marcadores negativos de mesotelio se incluyen: MOC-31, CEA y BG8. En una segunda línea del panel inmunohistoquímico estarían B72.3, Leu-M1, Ber-EP4, trombomodulina y HMBE-1.

BIBLIOGRAFÍA

- Battifora H, McCaughey WTE. *Tumors of the serous membranes*. Atlas of tumor pathology. 3rd Ser., Fascicle 15. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC, 1995.
- Brown RW, Clark GM, Tandon AK, Allred DC. *Multiple-marker immunohistochemical phenotypes distinguishing malignant pleural mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma*. Hum Pathol 1993; 24: 347-354.
- Churg AM. *Immunohistochemical staining for vimentin and keratin in malignant mesothelioma*. Am J Surg Pathol 1985; 9: 360-365.
- Dejmek A, Hjerpe A. *Carcinoembryonic antigen-like reactivity in malignant mesothelioma: A comparison between different commercially available antibodies*. Cancer 1994; 73: 464-469.
- Dejmek A, Hjerpe A. *Immunohistochemical reactivity in mesothelioma and adenocarcinoma: A stepwise logistic regression analysis*. APMIS 1994; 102: 255-264.
- Gaffey MJ, Millis SE, Swanson PE, Zarbo RJ, Shah AR, Wick MR. *Immunoreactivity for Ber-EP4 in adenocarcinomas, adenomatoid tumors, and malignant mesotheliomas*. Am J Surg Pathol 1992; 16: 593-599.
- Hsu SM, Huang LC, Hsu PL y cols. *Biochemical and ultrastructural study of Leu-M1 antigen in Reed-Sternberg cells: Comparison with granulocytes and interdigitating reticulum cells*. J Natl Cancer Inst 1986; 77: 363-370.
- Johnson VG, Schlom J, Paterson AJ, Bennett J, Magnani JL, Colcher D. *Analysis of a human tumor-associated glycoprotein (TAG-72) identified by monoclonal antibody B72.3*. Cancer Res 1986; 46: 850-857.
- Kennedy AD, King G, Kerr KM. *HBME-1 and antithrombomodulin in the differential diagnosis of malignant mesothelioma of pleura*. J Clin Pathol 1997; 50: 859-862.
- Latza U, Niedobitek G, Schwarting R, Nekarda R, Stein H. *Ber-EP4: New monoclonal antibody which distinguishes epithelia from mesothelia*. J Clin Pathol 1990; 43: 213-219.
- Lee I, Radosevich JA, Chejfec G, Ma Y, Warren WH, Rosen ST, Gould VE. *Malignant mesotheliomas. Improved differential diagnosis from lung adenocarcinomas using monoclonal antibodies 44-3A6 and 624A12*. Am J Pathol 1986; 123: 497-507.
- Ordóñez NG. *The value of antibodies 44-3A6, SM3, HBME-1, and thrombomodulin in differentiating epithelial pleural mesothelioma from lung adenocarcinoma. A comparative study with other commonly used antibodies*. Am J Surg Pathol 1997; 21: 1399-1408.
- Riera JR, Astengo-Osuna C, Longmate JA, Battifora H. *The immunohistochemical diagnostic panel for epithelial mesothelioma. A reevaluation after heat-induced epitope retrieval*. Am J Surg Pathol 1997; 21: 1409-1419.
- Sheibani K, Battifora H, Burke JS. *Antigenic phenotype of malignant mesotheliomas and pulmonary adenocarcinomas: An immunohistologic analysis demonstrating the value of Leu M1 antigen*. Am J Pathol 1986; 123: 212-219.
- Walts AE, Said JW, Shintaku PI, Sassoan AF, Banks-Schlegel SP. *Keratins of different molecular weight in exfoliated mesothelial and adenocarcinoma cells -an aid to cell identification*. Am J Clin Pathol 1984; 81: 42-46.
- Wirth PR, Legier J, Wright GL. *Immunohistochemical evaluation of seven antibodies for differentiation of pleural mesothelioma from lung adenocarcinoma*. Cancer 1991; 67: 655-662.