

# **Notas cortas**

## **Pérdida de inmunorreactividad de p53 en cortes de parafina almacenados sin teñir de carcinoma urotelial de vejiga urinaria**

L. Vicioso, M. Álvarez, I. Hierro y A. Matilla

*Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Málaga.*

Algunos trabajos recientes han señalado la pérdida de inmunoreactividad de ciertos antígenos celulares en cortes tisulares sin teñir, tras un tiempo variable de almacenamiento (1-5). Este hecho puede ser irrelevante en la práctica diaria, en la cual las técnicas inmunohistoquímicas se realizan el mismo día o al siguiente después de realizados los cortes. Sin embargo, no es infrecuente, en los laboratorios de anatomía patológica, el almacenamiento a temperatura ambiente de cortes de tejido incluido en parafina, bien como controles positivos de técnicas inmunohistoquímicas o para estudios retrospectivos de lesiones pequeñas que pudieran desaparecer al cortar de nuevo el bloque. En estos casos, una disminución de la reactividad con el anticuerpo puede afectar a los resultados y conducir a interpretaciones erróneas.

En nuestro departamento, tras observar que una serie de carcinomas uroteliales de vejiga urinaria, almacenados en forma de cortes sin teñir, presentaban muy escaso porcentaje de positividad para p53 y en muy pocas células, decidimos hacer una comparación con cortes recientes del mismo bloque de parafina.

Para ello elegimos 28 casos al azar en los que simultáneamente se realizó técnica de inmunohistoquímica con p53 (clona DO7, Dako) en cortes almacenados durante un año y cortes recientes. Se utilizó tratamiento de recuperación antigénica en olla a presión con tampón citrato y el método estándar de PAP, con DAB como colorante, en un teñidor automático. La cuantificación de la positividad se llevó a cabo con un sistema de análisis de imagen (CAS 200, Becton-Dickinson), del cual se obtuvo el porcentaje de células positivas y el del área nuclear teñida.

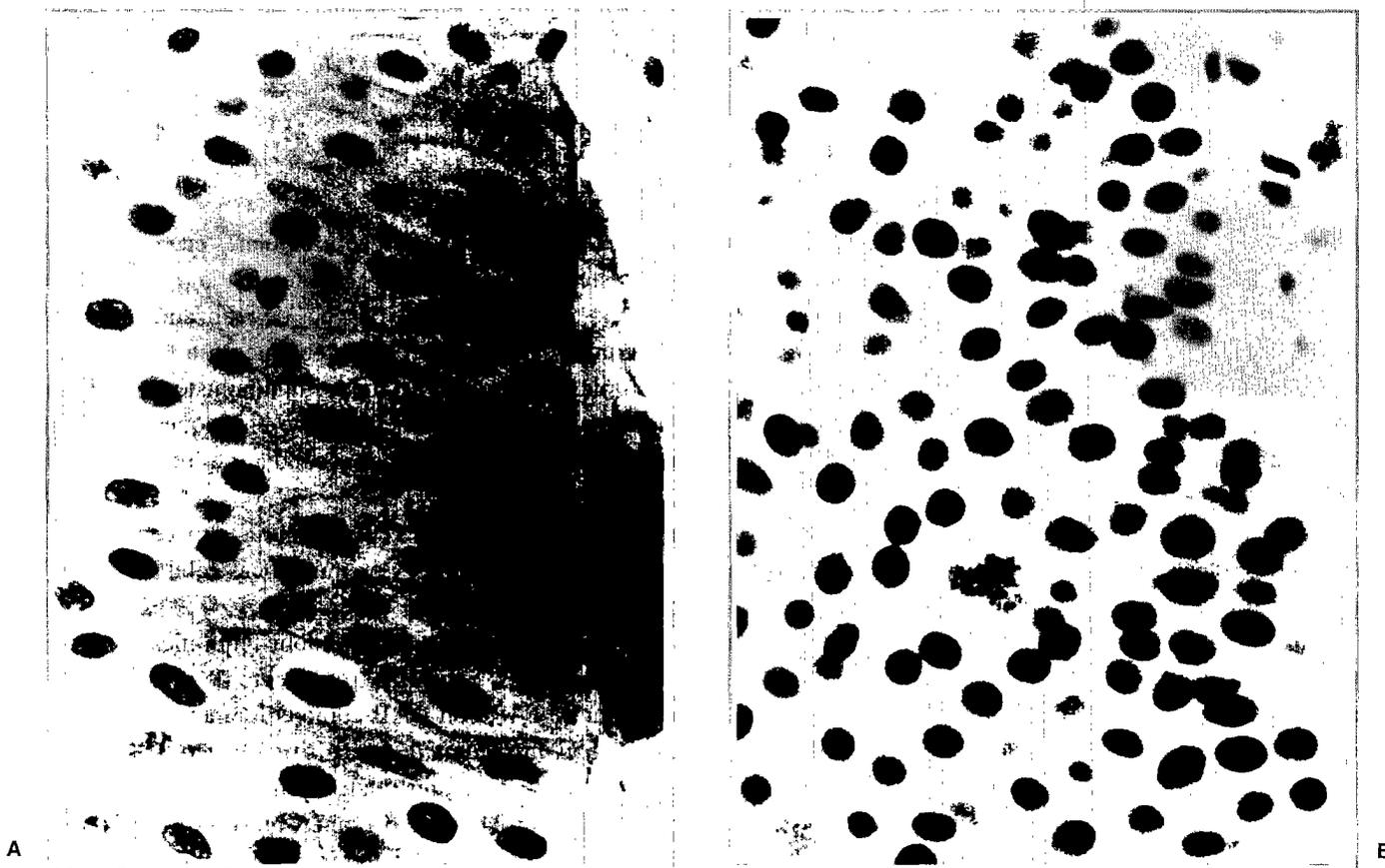
Como resultados obtuvimos que sólo seis de los cortes almacenados, por 24 de los recientes, mostraron algún tipo de positividad. Dieciocho casos negativos en cortes antiguos resultaron ser positivos si eran recién cortados. Todos los casos reactivos en cortes almacenados tenían un porcentaje significativamente menor ( $p < 0.001$ ) de células positivas, así como de área nuclear teñida, que en los cortes recientes.

La pérdida de reactividad de p53 en cortes tisulares almacenados fue inicialmente comunicada por Prioleau y Schnitt en cáncer de mama (1). Posteriormente, este hecho ha sido corroborado por otros autores y extendido a otros antígenos.

No obstante, se ha observado que esta pérdida de antigenicidad ocurre de forma variable según el tipo de antígeno o epitopo de que se trate, así como que depende del tiempo de almacenamiento (2, 4, 5). Mientras p53 o receptores hormonales presentan una pérdida notable en las primeras semanas que aumenta con el paso de los meses, otros como EMA, actina, S100, CD45, CD20 y CD30 no parecen afectarse después de un año o más. Incluso Bertheau y cols. (4) comunican un discreto aumento de reactividad con vimentina. Ya que no todos los epitopos, incluso de una misma proteína, han de modificarse de igual forma ante determinadas condiciones ambientales, es posible que el empleo de otros anticuerpos anti-p53 no conlleve la pérdida de positividad que hemos observado con la clona DO7.

La temperatura a que se mantienen los cortes también puede ser uno de los factores que influyen en la pérdida de antigenicidad. Jacobs y cols. (2) demuestran que con almacenamiento a 4°, aunque también ocurre una disminución en la tinción, es significativamente menor que a temperatura ambiente. Sería prudente, según esto, guardar los cortes en nevera si se prevé no poder realizar la técnica inmunohistoquímica en los días o semanas siguientes a la realización de los cortes.

Otros factores, como el tipo de tejido, no parecen influir en la disminución de la antigenicidad en estas circunstancias. Pérdida de positividad con p53 se ha observado tanto en carcinomas de mama como en carcinomas escamosos de cabeza y cuello y carcinomas de células no pequeñas de pulmón (2, 3), siendo corroborada por nosotros en carcinomas uroteliales de vejiga. De igual modo, la localización subcelular del antígeno (membrana, citoplasma o núcleo) no parece ser un factor determinante (4).



**Figura 1.** Carcinoma urotelial. Tinción inmunohistoquímica con p53 en cortes almacenados (A) y cortes recientes del mismo bloque (B) (original, DAB  $\times 400$ ).

Según algunos autores (3, 6), en cuanto a p53, las técnicas de recuperación antigénica pueden contribuir a restaurar, al menos en parte, la positividad en cortes almacenados, de manera que el estado de positividad o negatividad de p53 no se vería afectado. Sin embargo, no es ésta nuestra opinión ni la de otros investigadores (2, 4). En nuestra experiencia, a pesar de intentar la recuperación antigénica con calor y tampón citrato, la media de células positivas en el grupo de cortes almacenados fue de 3,9, mientras que en los cortes recientes fue 19,8. Muchos cortes antiguos apenas mostraron algunos núcleos positivos que, sin embargo, eran frecuentes en los cortes recientes (Fig. 1). No obstante, es posible que exista algún método de recuperación antigénica válido para estos casos, lo que sería necesario investigar.

Aunque no ha sido objeto de análisis en este trabajo, no parece que el método de detección inmunohistoquímico influya en los resultados, ya que otros autores tienen hallazgos similares con métodos de afinidad como avidina-biotina (3).

En conclusión, a los factores técnicos que afectan la posibilidad de detección de antígenos en tejido fijado e incluido en parafina, como el tipo o el tiempo de fijación, hay que sumar el almacenamiento del tejido en forma de cortes, por causas que aún se desconocen. No es, por tanto, recomendable la realización de técnicas inmunohistoquímicas en dichos cortes, a menos que se compruebe la preservación de la reactividad antigénica o sea posible su recuperación.

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. Prioleau J, Schnitt SJ. *p53 antigen loss in stored paraffin slides*. N Engl J Med 1995; 332: 1521-1522.
2. Jacobs TW, Prioleau JE, Stillman IE, Schnitt SJ. *Loss of tumor marker-immunostaining intensity on stored paraffin slides of breast cancer*. J Nat Cancer Inst 1996; 88: 1054-1059.
3. Shin HJC, Kalapurakal SK, Lee JJ, Ro JY, Hong WK, Lee JS. *Comparison of p53 immunoreactivity in fresh-cut versus stored slides with and without microwave heating*. Mod Pathol 1997; 10: 224-230.
4. Bertheau P, Cazals-Hatem D, Mieglin V y cols. *Variability of immunohistochemical reactivity on stored paraffin slides*. J Clin Pathol 1998; 51: 370-374.
5. Olapade-Olaopa EO, Mackay EH, Habib FK. *Variability of immunohistochemical reactivity on stored paraffin slides (letter)*. J Clin Pathol 1998; 51: 943.
6. Kato J, Sakamaki S, Niitsu Y. *More on p53 antigen loss in stored paraffin slides*. N Engl J Med 1995; 33: 1507-1508.

