

Glosario de Inmunohistoquímica

A. Panizo, M.D. Lozano y M.A. Idoate

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

Amplificación de señal

Estrategias o técnicas empleadas para aumentar la señal o intensidad de la técnica inmunohistoquímica. Se basan en la introducción de pasos intermedios en el proceso que permitan ramificar y ampliar los sitios de introducción de la enzima empleada (peroxidasa, fosfatasa, etc.).

Detección inmunohistoquímica directa

Es el sistema de detección inmunohistoquímica más sencillo. En esta técnica la enzima está directamente unida al anticuerpo primario (anticuerpo conjugado). El mismo anticuerpo que desempeña el papel de localización y unión al antígeno también realiza la segunda parte de la técnica, es decir, señalar visualmente dónde ha tenido lugar la unión, ya que lleva unida la enzima. Los anticuerpos primarios conjugados suelen estarlo con sustancias fluorescentes como la fluoresceína. Las ventajas de esta técnica son su rapidez y economía, ya que sólo se emplea un reactivo y en un solo paso. Las desventajas son su poca sensibilidad y la imposibilidad de poder disponer de todos los anticuerpos conjugados.

Doble inmunomarcaje

El marcaje múltiple inmunohistoquímico supone una modificación sobre la técnica habitual de tinción, cuya finalidad es la detección simultánea de dos o más antígenos diferentes en un mismo corte de tejido. Para diferenciar las distintas reactividades cada uno de los mar-

cajes debe tener como resultado final una señal de color diferente al resto. Para lograr colores diferentes en cada reacción hay dos opciones: emplear el mismo sistema enzimático en ambos antígenos y revelado con un cromógeno distinto en cada caso, o emplear un sistema enzimático diferente con su correspondiente cromógeno para cada antígeno. Técnicamente, el doble marcaje inmunohistoquímico no supone mayor dificultad que la realización de dos técnicas inmunohistoquímicas simples consecutivas.

EPOS

(enhanced polymer one-step staining)

Sistema de detección inmunohistoquímica basado en la utilización de un polímero de alto peso molecular (dextrano) que se une covalentemente a la peroxidasa, capaz a su vez de unirse a numerosas moléculas de anticuerpo secundario. Teóricamente este sistema aumenta de forma significativa la sensibilidad de la técnica inmunohistoquímica, permite realizar la tinción en un solo paso, confiere una gran rapidez y permite emplear diluciones mayores del anticuerpo primario con el consiguiente ahorro.

Especificidad

La especificidad de la unión antígeno-anticuerpo se basa en que ambas moléculas presentan complementariedad espacial. Sin embargo, esta característica puede no ser absoluta, lo que significa que un anticuerpo dirigido

frente a una proteína determinada a veces puede reconocer a otra distinta, pero de estructura parecida, originando lo que se conoce como reacción cruzada (falso positivo). Por tanto, un anticuerpo es muy específico cuando no presenta reacciones cruzadas y la posibilidad de obtener falsos positivos en la técnica es muy baja.

Método PAP (peroxidasa-antiperoxidasa)

Técnica inmunohistoquímica que se basa en la capacidad de un anticuerpo para funcionar como antígeno. Se emplean complejos enzima-antienzima, obteniendo el anticuerpo antienzima en la misma especie que el anticuerpo primario. El anticuerpo primario y el complejo se unen a través de un paso intermedio, que es un anticuerpo anti-anticuerpo primario. Este método es más sensible que el de detección directa o en un solo paso. Actualmente, sin embargo, está muy desplazado por los sistemas de avidina o estreptavidina-biotina. Su principal aplicación en la actualidad está en las tinciones inmunohistoquímicas de muestras hematológicas.

Región constante del anticuerpo

Es la zona común entre las inmunoglobulinas de una misma clase. Esta zona o región es la que marca o caracteriza a esta molécula como inmunoglobulina y además especifica de qué clase es. Al digerir una molécula de inmunoglobulina con pepsina se obtienen dos fracciones: Fab y Fc. La Fab es la fracción de unión al antígeno; es heterogénea y conserva la capacidad de reconocimiento antigénico. La Fc o fracción cristalina son fragmentos homogéneos que se destruyen con la digestión con pepsina.

Región variable del anticuerpo

Zona del anticuerpo causante del reconocimiento antigénico. Es la parte específica que va a hacer que ese anticuerpo se una a un antígeno determinado y no a otro. No

existen dos regiones variables iguales entre inmunoglobulinas producidas por linfocitos diferentes.

Sensibilidad

La complementariedad del antígeno con su anticuerpo puede ser más o menos buena, haciendo que la unión se establezca con mayor o menor facilidad. La sensibilidad del anticuerpo se relaciona con la facilidad que éste tiene para unirse a su antígeno específico. Un anticuerpo muy sensible es capaz de unirse a su antígeno aunque éste se encuentre en una concentración muy baja. Un anticuerpo poco sensible requiere altas concentraciones del antígeno para que la unión se establezca, por lo que puede originar falsos negativos en la técnica inmunohistoquímica.

Tinción de fondo

Es uno de los principales problemas de la técnica inmunohistoquímica. Es toda tinción que aparece allí donde no debería haberla: desde tinciones genuinas pero inespecíficas (debidas a reacciones antígeno-anticuerpo con antígenos no deseados) hasta un marcaje general de todo el tejido. Las causas son diversas y se deben tener en cuenta para intentar corregir los problemas de fondo cuando se detectan.

Tiramida

Molécula de tiramina biotinada que se emplea en una reciente técnica de amplificación de la señal inmunohistoquímica. En los sistemas de detección basados en tiramida, ésta se une a la peroxidasa, y las moléculas de biotina actúan como puntos de unión a los complejos marcados de estreptavidina-biotina. El aumento de sensibilidad de este sistema con algunos anticuerpos primarios se ha estimado que es de 500 a 1000 veces mayor que con los sistemas convencionales de detección. Sin embargo, no todos los anticuerpos muestran el mismo beneficio o amplificación. Además de su aplicación en inmunohistoquímica, este sistema de detección basado en tiramida está siendo utilizado en las técnicas de hibridación *in situ*.