

Glosario de Inmunohistoquímica

A. Panizo, I. Sola y M.A. Idoate

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

Bloqueo de enzimas endógenas

Los posibles errores en el proceso de inmunotinción incluyen la presencia de actividad peroxidasa o fosfatasa en el tejido, dando lugar a inmunorreactividad de fondo o incluso resultados falsamente positivos. Para evitar este problema se debe tratar el corte histológico con sustancias químicas que reaccionen con estas enzimas y las bloqueen.

Bloqueo de fosfatasa alcalina endógena

En los cortes de congelación sobre los que se va a realizar un estudio inmunohistoquímico se debe bloquear la actividad fosfatasa alcalina endógena. Esta enzima se halla presente sobre todo en la mucosa intestinal, los túbulos proximales del riñón, los osteoblastos, las células endoteliales y los neutrófilos. Este bloqueo no es necesario en el tejido fijado y procesado de forma rutinaria, ya que la actividad de esta enzima se bloquea con el proceso de fijación. Un método útil para bloquear la actividad de esta enzima es el tratamiento del tejido con levamisol 0,1 mol.

Bloqueo de peroxidasa endógena

La actividad peroxidasa se encuentra en un gran número de tejidos normales y neoplásicos (eritrocitos, granulocitos, eosinófilos, hepatocitos, etc.). Para evitar este problema se debe bloquear la actividad peroxidasa mediante una mezcla de peróxido de hidrógeno y metanol y la máxima

dilución posible del anticuerpo primario. Otros métodos empleados son la incubación de los cortes histológicos con una solución de ácido clorhídrico al 0,075% en etanol a temperatura ambiente durante 15 minutos, y el tratamiento de los cortes con fenilhidracina (aunque no bloquea completamente la actividad peroxidasa de los eosinófilos).

Desenmascaramiento antigénico por calor

Método introducido por Shi en 1991 que emplea el calor como sistema de recuperar los antígenos enmascarados por el proceso de fijación de la muestra. Los sistemas utilizados en la actualidad son el horno microondas, la olla a presión, el autoclave, la olla a presión plástica con microondas y el esterilizador de biberones.

Distrofina

Proteína de 427 kD producto de un gen localizado en el cromosoma X. Puede ser detectada mediante inmunohistoquímica en material congelado en el músculo estriado normal según un patrón continuo de membrana.

Glucoproteína P

La respuesta al tratamiento es diferente para cada tipo tumoral y ello depende de las características biológicas del tumor y de la presencia de glucoproteína P en la

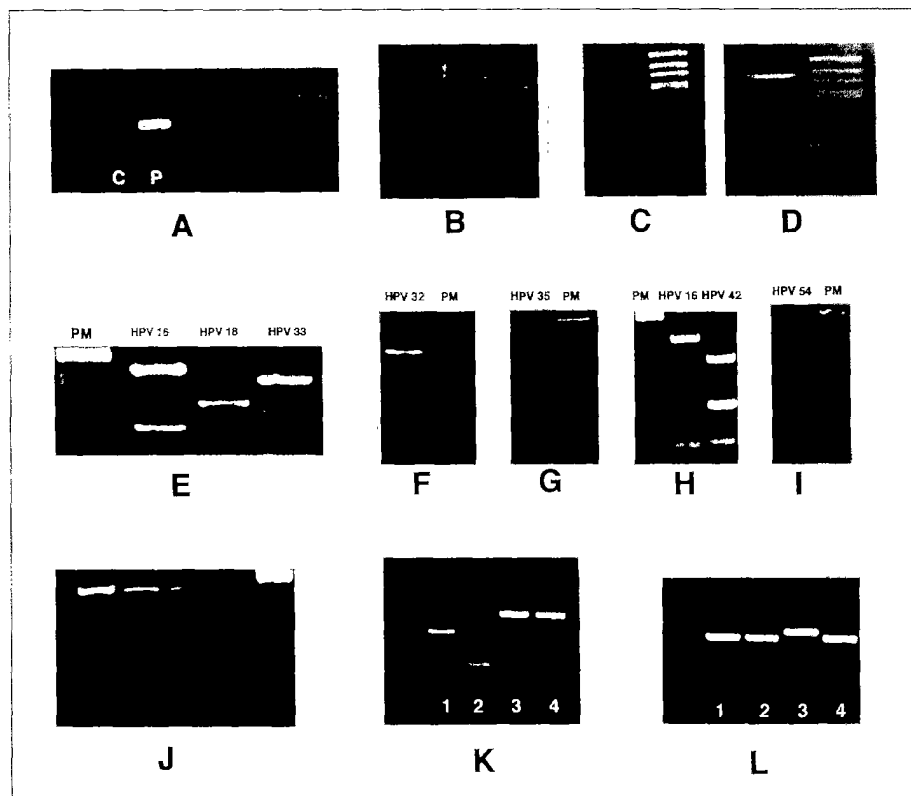


Figura 1. Visualización en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio de los productos de amplificación correspondientes a distintos agentes infecciosos. A) PCR de la secuencia de inserción IS6110 del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Productos de 123 pb detectados en lesiones abscesificadas del cerebro (C) y pulmón (P) en un paciente con sida. B-D) *Nested-PCR* del gen *hsp65* conservado en las diferentes especies de micobacterias. El primer PCR genera un producto de 439 pb y el segundo de 383 pb (B). En las bacterias del complejo *M. tuberculosis*, la digestión con *Nar I* del producto de 383 pb, correspondiente a la segunda PCR, genera cuatro fragmentos de 150, 120, 70 y 43 pb (este último no visible en el gel) (C). El patrón de restricción es de 220, 120 y 43 pb en casos de infección por *Mycobacterium avium/intracellulare* (D). E-I) Detección de distintos tipos de virus del papiloma humano (HPV) mediante amplificación con los *primers consenso* MY11/MY09 y análisis de restricción con *Rsa I*. E) HPV 16: 310, 72, 70 pb; HPV 18: 135, 125 (ambas bandas se encuentran solapadas), 85, 72 pb; HPV 33: 236, 102, 72 pb. F) HPV 32: 216, 161, 72 pb. G) HPV 35: 177, 161, 72 pb. H) HPV 42: 242, 135, 72 pb. I) HPV 54: 138, 125, 117, 72 pb. J). Detección de un fragmento de 389 pb del gen *cagA* de *Helicobacter pylori*. K) PCR del gen *EBNA-2* del virus de Epstein-Barr en 4 casos de síndromes proliferativos postrasplante hepático. Los casos 1, 2 y 4 muestran un fragmento de 168 pb correspondiente al VEB tipo 1, mientras que en el caso 3 la banda de 184 pb indica un VEB tipo 2. L) PCR del gen *LMP-1* del virus de Epstein-Barr en los 4 síndromes proliferativos de la figura K. Los casos 3 y 4 presentan un tamaño del producto amplificado normal de 161 pb, mientras que el caso 1 muestra la típica delección de 30 pb, que produce un fragmento de 131 pb. En el caso 2 la delección es de mayor tamaño.

Eisenach y cols. (4) publicaron por primera vez en 1991 los resultados obtenidos en muestras clínicas utilizando *primers* para amplificar la secuencia de inserción IS6110. Desde entonces, numerosos trabajos han evaluado la utilidad de este método en el estudio de diferentes tipos de muestras, incluidas las biopsias parafinadas. La sensibilidad del método depende, en gran parte, de la cantidad de microorganismos presentes en la muestra. Este dato es de difícil evaluación en muestras tisulares fijadas. Tötsch y cols. (6) han demostrado que el porcentaje de positivos puede aumentar del 60% al 90%

cuando se utilizan cuatro secciones de diferentes niveles de la muestra en lugar de uno solo.

Cuando se utilizan *primers* frente a regiones conservadas, como el gen *hsp65*, la tipificación posterior se realiza mediante análisis de restricción. El análisis de restricción de un fragmento de 439 pb del gen *hsp65* con *Bst* EII y *Hae* III permite la tipificación de casi 30 especies diferentes de micobacterias cuando el método se aplica sobre microorganismos aislados en cultivo (7, 8). En nuestra experiencia, y en la de otros autores (6), la sensibilidad alcanzada en muestras fijadas en formol e