



Técnicas de inmunohistoquímica

Marcadores inmunohistoquímicos endoteliales

G. Toledo y A. Panizo

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

GENERALIDADES

Los antígenos vasculares reconocidos por los anticuerpos monoclonales pueden clasificarse en dos grupos: marcadores de diferenciación endotelial y aquellos involucrados en funciones celulares específicas. La detección de estos antígenos se utiliza con distintos fines histopatológicos para el estudio de la vascularización y angiogénesis tumoral, apoyo en la identificación de invasión tumoral vascular y linfática, y para el diagnóstico de lesiones proliferativas vasculares (1, 2).

Los marcadores endoteliales inmunohistoquímicos son particularmente útiles para identificar diferenciación endotelial en tumores vasculares cuando su naturaleza no es morfológicamente obvia (2-4). En la actualidad existen comercializados diferentes y buenos anticuerpos que pueden ser empleados de forma rutinaria para el diagnóstico anatomopatológico de los tumores de origen endotelial. Aunque en general la sensibilidad de todos es alta, la especificidad para el endotelio vascular no es absoluta (2, 3). Actualmente nosotros empleamos los siguientes: factor von Willebrand, CD34 y CD31 como panel mínimo ante un tumor del que se sospecha su naturaleza vascular. De manera ocasional añadimos al panel anterior la lectina *Ulex europaeus* y trombomodulina.

Ag-R-FACTOR VIII (FvW)

Conocido también como factor von Willebrand, el antígeno relacionado con el factor VIII (F-VIII) es una gran molécula de 1000 kDa que forma parte del complejo del F-VIII de la coagulación (5). Ultraestructuralmente este antígeno se localiza en los cuerpos de Weibel-Palade y puede observarse mediante técnicas de microscopía electrónica (3).

Los anticuerpos frente a este antígeno reaccionan con células endoteliales, megacariocitos y plaquetas, por lo que se considera el anticuerpo más específico para los tumores derivados de las células endoteliales (6). Su sensibilidad

es muy variable, con casi un 25% de tumores vasculares malignos negativos para el F-VIII (7, 8). Esta sensibilidad tan variable se encuentra fundamentalmente en relación con la diferenciación celular y la presencia de cuerpos de Weibel-Palade citoplasmáticos. De ahí el patrón característico de inmunotinción en forma de gránulos citoplasmáticos (3) (Fig. 1).

Hay factores técnicos que influyen también en su sensibilidad, como el tiempo de fijación del tejido o la temperatura de desparafinización. Además se han descrito algunas células endoteliales normales que no se marcan con este anticuerpo, como el endotelio de los capilares glomerulares y de los sinusoides en bazo e hígado (9). A pesar de su variable sensibilidad sigue siendo considerado como el marcador endotelial más útil por su especificidad.

LECTINA *ULEX EUROPAEUS*

Las lectinas son proteínas vegetales que se unen específicamente a residuos glucídicos de glicoproteínas y glicolípidos. Entre las diversas lectinas de que se dispone, la aglutinina del *Ulex europaeus*, reacciona preferentemente con la L-fucosa, muy abundante en células endoteliales (Fig. 2). La lectina del *Ulex europaeus* es más sensible que el factor von Willebrand para la detección inmunohistoquímica de lesiones de naturaleza vascular (9, 10). Angiosarcomas con inmunorreactividad focal para F-VIII presentan positividad en el endotelio y todas las células tumorales con la lectina, independientemente de su grado de diferenciación (9). Desafortunadamente, esta alta sensibilidad es a expensas



Figura 1. Imagen de un angiosarcoma epiteloide con la inmunorreactividad granular citoplasmática endotelial característica de la tinción de los cuerpos de Weibel-Palade con el factor VIII.

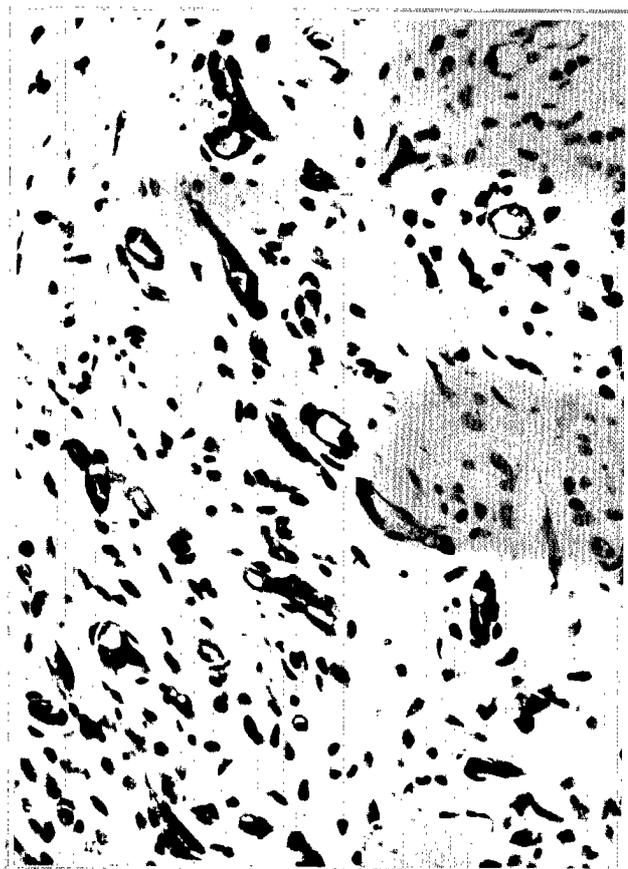


Figura 2. La abundancia de L-fucosa en las células endoteliales de capilares normales muestra la intensa inmunorreactividad específica con el anticuerpo lectina del *Ulex europaeus*.

de una reducción en su especificidad, ya que se ha observado inmunorreactividad en células de naturaleza epitelial (bronquio, glándulas sudoríparas y folículos pilosos), y los tumores derivados de las mismas, así como en algunos sarcomas como el epitelioides (3, 5, 9, 10).

CD34

El anticuerpo monoclonal (QB-END/10 o MY-10) reacciona frente al antígeno CD34, una glicoproteína transmembrana de 110 kDa presente en las células hematopoyéticas humanas y en las endoteliales. Además de estas células, marca las células dendríticas dérmicas, perianexiales y del endoneuro (3, 10, 11).

Se considera un marcador altamente sensible por su positividad en casi todos los tumores vasculares benignos y malignos, con una sensibilidad mayor que el F-VIII (11, 12) (Fig. 3). En el sarcoma de Kaposi, muestra una inmunopositividad en el 100% de los casos estudiados, reaccionando tanto con el endotelio vascular como con la mayoría de las células fusiformes que componen este tumor (8, 12, 13). Sin embargo, su especificidad se cuestiona cada vez más. Hay una variedad amplia de tumores de naturaleza no endotelial con inmunorreactividad para este anticuerpo, como el dermatofibrosarcoma protuberans, el tumor fibroso solitario de pleura, sarcoma epitelioides, leiomiomas, schwannoma maligno, lipoma de células fusiformes y linfoma linfoblástico (3, 7, 12, 14-16). El CD34 también se expresa con alta frecuencia (>80%) en los tumores del estroma gastrointestinal (10, 17) y parece predecir un peor pronóstico en aquellos casos de leucemia aguda mieloide con positividad para el CD34.

En términos de sensibilidad y especificidad se encuentra entre el CD31 y el F-VIII.

TROMBOMODULINA

Es una glicoproteína transmembrana de 75 kDa, con una función reguladora de la coagulación intravascular, con acción anticoagulante (18). Se expresa en células endoteliales vasculares y linfáticas, queratinocitos de la piel, plaquetas, mesotelio y sincitiotrofoblasto (19). Aunque su sensibilidad es alta, oscilando entre el 94% en tumores vasculares malignos (7, 20) y el 100% en los benignos, su especificidad es baja (Fig. 4). Se describe su inmunorreactividad en mesoteliomas, carcinomas de células transicionales y carcinomas escamosos de piel y pulmón (21-24). Algunos autores lo recomiendan de gran utilidad para detectar linfangitis carcinomatosas y como complementario a otros marcadores endoteliales en la confirmación diagnóstica de aquellos casos de angiosarcoma que presentan inmunorreactividad frente a citoqueratinas y donde la tinción con F-VIII es negativa o equívoca (7).

CD31 (JC-70)

Pertenciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas, el antígeno CD31 es una glicoproteína (IIa) de 130 kDa que se expresa en células hematopoyéticas: progenitoras, megacariocitos, plaquetas y algunas células plasmáticas. Corresponde a su vez a la PECAM-1 expresada en la su-

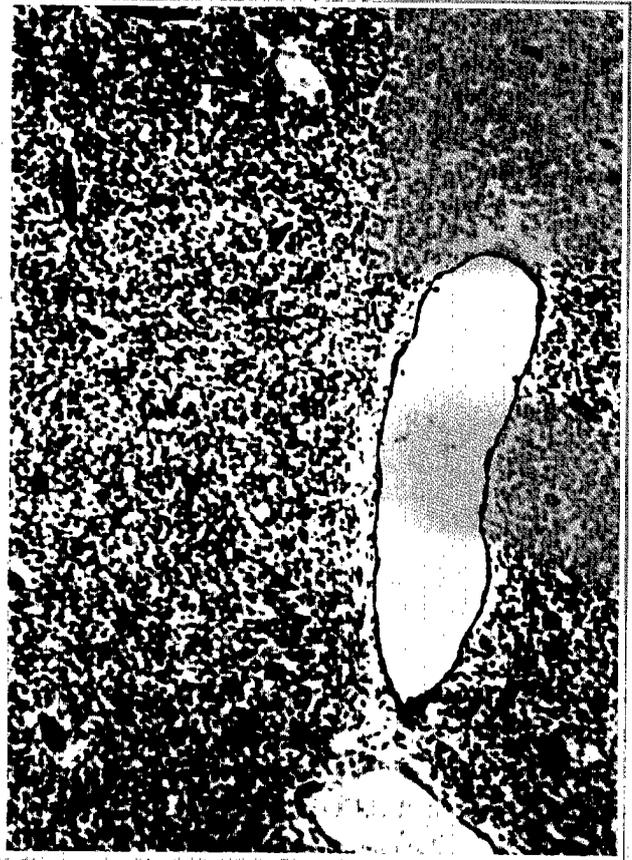


Figura 3. Tumor de la granulosa: el endotelio capilar en el seno del tumor muestra inmunopositividad para CD34.



Figura 4. La sensibilidad de la trombomodulina frente a tumores vasculares benignos es de un 100%, como muestra la imagen de este angioma cutáneo con marcada inmunorreactividad.



Figura 5. Angiosarcoma intensamente positivo para el CD31.

perficie de las células endoteliales, por lo que también se utiliza como marcador vascular (3, 25). Ha demostrado una muy alta especificidad y sensibilidad frente a tumores vasculares, tanto benignos (100%) como malignos (80% a 100%) (Fig. 5), incluyendo el sarcoma de Kaposi (3, 10, 13, 26-28). Recientemente, comienzan a describirse algunos casos esporádicos de tumores de naturaleza no endotelial, como algunos mesoteliomas y carcinomas, que muestran inmunorreactividad –aunque débil– frente a este anticuerpo. Aun así, el resto de los estudios demuestran su mayor sensibilidad y especificidad en comparación con el CD34.

CONCLUSIONES

La heterogeneidad de la inmunorreactividad frente a los marcadores endoteliales en los diferentes tumores y la presencia en un mismo tumor de zonas con mayor o menor diferenciación, aconsejan la utilización de un panel de anticuerpos que apoyen la naturaleza endotelial de los tumores vasculares.

El F-VIII, a pesar de su sensibilidad variable, sigue mostrando la mayor especificidad, mientras que la mayor sensibilidad la muestran el CD34 y CD31. La trombomodulina y la lectina del *Ulex europaeus* se encuentran en medio de las anteriores. En nuestra experiencia el panel aconsejado es el empleo de F-VIII en asociación con CD34 y CD31, complementado en los casos en que sea necesario con los otros dos propuestos. En casos de sarcoma de Kaposi, el CD34 parece ser el más adecuado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramani P, Birch BRP, Harland SJ, Parkinson MC. *Evaluation of endothelial markers in detecting blood and lymphatic channel invasion in pT1 transitional carcinoma of the bladder*. *Histopathology* 1991; 19: 551-554.
2. Ruiter DJ, Schlingemann RO, Rietveld FJR, de Waal RMW. *Monoclonal antibody-defined human endothelial antigen as vascular marker*. *J Invest Dermatol* 1986; 93: 25S-32S.
3. Enzinger FM, Weiss SW. *Immunohistochemistry of soft tissue lesions*. En: Enzinger, FM (Ed.). *Soft tissues tumors*. Mosby-Year Book, St. Louis, Missouri 1995; 139-2163.
4. Swanson PE, Wick MR. *Immunohistochemical evaluation of vascular neoplasms*. *Clin Dermatol* 1991; 9: 243-253.
5. Leader M, Collins M, Patel J y cols. *Staining for Factor VIII-related antigen and Ulex europaeus agglutinin I (UEA-I) in 230 tumors: An assessment of their specificity for angiosarcoma and Kaposi's sarcoma*. *Histopathology* 1986; 10: 1153-1162.
6. Makhlouf HR, Ishak KG, Goodman ZD. *Epithelioid hemangioendothelioma of the liver. A clinicopathologic study of 137 cases*. *Cancer* 1999; 85: 562-582.
7. Appleton MAC, Attanous RL, Jasani B. *Thrombomodulin as a marker of vascular and lymphatic tumours*. *Histopathology* 1996; 29: 153-157.
8. Orchard GE, Wilson-Jones E, Russell-Jones R. *Immunocytochemistry in the diagnosis of Kaposi's sarcoma and angiosarcoma*. *Br J Biomed Sci* 1995; 52: 35-49.
9. Ordóñez NG, Batsakis JG. *Comparison of Ulex europaeus I lectin and factor VIII-related antigen in vascular lesions*. *Arch Pathol Lab Med* 1984; 108: 129-132.
10. Ordóñez NG. *Application of immunocytochemistry in the diagnosis of soft tissue sarcomas: A review and update*. *Adv Anat Pathol* 1998; 5: 67-85.
11. Anthony PP, Ramani P. *Endothelial markers in malignant vascular tumours of the liver: Superiority of QB-END/10 over Von Willebrand factor and Ulex europaeus agglutinin I*. *J Clin Pathol* 1991; 44: 29-32.
12. Ramani P, Bradley NJ, Fletcher CDM. *QB-END/10, a new monoclonal antibody to endothelium: Assessment of its diagnostic utility in paraffin sections*. *Histopathology* 1990; 17: 237-242.
13. Russell JR, Orchard G, Zelger B, Wilson JE. *Immunostaining for CD31 and CD34 in Kaposi's sarcoma*. *J Clin Pathol* 1995; 48: 1011-1016.
14. Arber DA, Kandalaf PL, Mehta P, Battifora H. *Vimentin negative epithelioid sarcoma. The value of an immunohistochemical panel including CD34*. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 302-307.
15. Park HR, Park YK. *Assessment of diagnostic utility of anti-CD34 in soft tissue tumours*. *J Korean Med Sci* 1995; 10: 436-441.
16. Weiss SW, Nickoloff BJ. *CD34 is expressed by a distinctive cell population in peripheral nerve, nerve sheath tumours and related lesions*. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 1039-1045.
17. Monihan JM, Carr NJ, Sobin LH. *CD34 immunoreactivity in stromal tumours of the gastrointestinal tract and in mesenteric fibromatosis*. *Histopathology* 1994; 25: 469-473.
18. Esmon CT. *The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation*. *J Biol Chem* 1989; 264: 4743-4746.
19. Jackson DE, Mitchell CA, Bird P y cols. *Immunohistochemical localization of thrombomodulin in normal human skin and skin tumours*. *J Pathol* 1995; 175: 421-432.
20. Zhang YM, Bachmann S, Hemmer C y cols. *Vascular origin of Kaposi's sarcoma. Expression of leukocyte adhesion molecule-1, thrombomodulin, and tissue factor*. *Am J Pathol* 1994; 144: 51-59.
21. Attanous RL, Goddard H, Thomas ND, Jasani B, Gibbs AR. *A comparative immunohistochemical study of malignant mesothelioma and renal cell carcinoma: The utility of Leu-M1, Ber EP4, Tamm-Horsfall protein and thrombomodulin*. *Histopathology* 1995; 27: 361-366.
22. Collins CL, Ordóñez NG, Schaefer R y cols. *Thrombomodulin expression in malignant pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma*. *Am J Pathol* 1992; 141: 827-833.
23. Ordóñez NG. *Value of thrombomodulin immunostaining in the diagnosis of mesothelioma*. *Histopathology* 1997; 31: 25-30.
24. Ordóñez NG. *Value of thrombomodulin immunostaining in the diagnosis of transitional cell carcinoma: A comparative study with carcinoembryonic antigen*. *Histopathology* 1997; 31: 517-524.
25. Parums DV, Cordell JL, Micklem K, Heryet AR, Gatter KC, Mason DY. *JC70: A new monoclonal antibody that detects vascular endothelium associated antigen on routinely processed tissue sections*. *J Clin Pathol* 1990; 45: 752-757.
26. De Young BR, Wick MR, Fitzgibbon JF y cols. *CD31: An immunospecific marker for endothelial differentiation in human neoplasms*. *Appl Immunohistochem* 1993; 1: 97-103.
27. Mentzel T, Beham A, Calonje E, Katenkamp D, Fletcher CDM. *Epithelioid hemangioendothelioma of skin and soft tissues: Clinicopathologic and immunohistochemical study of 30 cases*. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 363-374.
28. Miettinen M, Lindenmayer E, Chaubal A. *Endothelial cell markers CD31, CD34 and BNH9 antibody to H- and Y- antigens: Evaluation of their specificity and sensitivity in the diagnosis of vascular tumours and comparison with von Willebrand factor*. *Mod Pathol* 1994; 7: 82-90.

