



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO DE MONOGRAFÍA**



**MÉTODOS INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL DIAGNÓSTICO DEL
LEIOMIOSARCOMA COLORECTAL**

AUTORES:

Arana Mayelis
Méndez Guillerly
Ojeda Yenibeth
Padrón Issa

TUTOR:

Alcira Argüello

BÁRBULA, JUNIO DE 2016.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICA
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA
INFORME MONOGRAFICO**



CONSTANCIA DE ENTREGA

La presente es con la finalidad de hacer constar que el trabajo Monográfico titulado:

**MÉTODOS INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL DIAGNÓSTICO DEL
LEIOMIOSARCOMA COLORRECTAL**

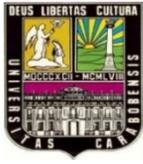
Presentado por los Bachilleres:

**Arana Mayelis C. I.: 25.328.580
Méndez Guillerly C.I.: 24.645.802
Ojeda Yenibeth C. I.: 22.413.433
Padrón Issa C.I: 24.495.723**

Fue leído y se considera apto para su presentación desde el punto de vista metodológico, por lo que tienen el derecho de hacer la presentación final de su TRABAJO MONOGRAFICO. Sin más a qué hacer referencia, se firma a petición de la parte interesada a los ____ días del mes de _____ del año 2016.

Alcira Argüello

C.I. N°: 4.463.121



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRÁFICO**



CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Los suscritos miembros del jurado designado para examinar el Trabajo
Monográfico titulado:

**MÉTODOS INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL DIAGNÓSTICO DEL
LEIOMIOSARCOMA COLORRECTAL**

Presentado por los bachilleres:

**Arana Mayelis C. I.: 25.328.580
Méndez Guillerly C.I.: 24.645.802
Ojeda Yenibeth C. I.: 22.413.433
Padrón Issa C.I: 24.495.723**

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y que aunque no nos
hacemos responsables de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de
presentación.

Fecha de aprobacion: _____

Profesor

Profesor



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO DE MONOGRAFÍA**



**MÉTODOS INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL DIAGNOSTICO DEL
LEIOMIOSARCOMA COLORRECTAL**

AUTORES:

ARANA MAYELIS
MÉNDEZ GUILLERLY
OJEDA YENIBETH
PADRÓN ISSA

TUTOR:

ALCIRA AGUELLO

RESUMEN

La inmunohistoquímica es una técnica que se emplea mediante el uso de anticuerpos seleccionados, marcados con una enzima la cual al unirse con un cromógeno puede evidenciar a un antígeno; el uso de esta técnica puede ser muy eficaz a la hora de diagnosticar cualquier tipo de tumor maligno. La presente investigación tiene como objetivo general Analizar los métodos inmunohistoquímicos en el diagnóstico del Leiomiosarcoma colorrectal y como objetivos específicos, Identificar los métodos inmunohistoquímicos en el diagnóstico de esta enfermedad, Describir las características morfológicas del Leiomiosarcoma colorrectal y determinar la importancia de la inmunohistoquímica en el diagnóstico del Leiomiosarcoma colorrectal. La metodología utilizada en esta investigación fue de tipo documental y bibliográfica, dicha información será un gran aporte ya que permite la comprensión y análisis sobre la técnica de inmunohistoquímica ya que es un método que utiliza anticuerpos seleccionados para identificar antígenos específicos y da a conocer resultados fidedignos que la técnica de rutina no puede evidenciar, debido a que los estudios de rutina son empleadas solo la hematoxilina y eosina, por lo que solo se evidencia el citoplasma celular y el núcleo celular, dejando dudas de un diagnóstico acertado en patologías del sistema gastrointestinal .

Palabras clave: inmunohistoquímica, leiomiosarcoma colorectal, histotecnología.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO DE MONOGRAFÍA**



**INMUNOHISTOCHEMICAL METHODS IN THE DIAGNOSIS OF
COLORRECTAL LEIOMYOSARCOMA**

AUTHORS:

ARANA MAYELIS
MÉNDEZ GUILLERLY
OJEDA YENIBETH
PADRÓN ISSA

TUTOR:

ALCIRA AGUELLO

ABSTRACT

Immunohistochemistry is a technique based on the use of selected antibodies, marked with an enzyme which when binded with a chromogen can evidence an antigen; the use of this technique can be very effective when diagnosing any type of malignant tumor. The present study has the purpose of comprehending the immunohistochemical methods used in diagnosis of colorrectal leiomyosarcoma and was developed through the method of documental research with a bibliographic design. The significant technological advances in anatomic pathology can offer patients more accurate results when studying any body part in a biopsy. Although the immunohistochemical technique is very uncommon in routine studies due to its high monetary cost which leads to the use of hematoxylin and eosin, that only allows the correct visualization of the cytoplasm and the nucleus, leaving significant doubts for diagnosis, especially when studying a tumor such as leiomyosarcoma or any type of sarcoma. The following monographic study strives to highlight the use of the immunohistochemistry technique because it allows more precise findings which are currently unavailable through the use of routine techniques, given its ability to generate a morphological change in the cytoplasm and the nucleus of the cell, key to diagnosis.

Key words: immunohistochemistry; leiomiosarcoma colorectal; histotecnology.

INDICE

CONSTANCIA DE ENTREGA.....	ii
CONSTANCIA DE APROBACION.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
INTRODUCCIÓN.....	7
ANTECEDENTES.....	10
MORFOLOGIA Y CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS.....	11
FACTORES DE RIESGO.....	12
METODOS INMUNOHISTOQUIMICOS.....	13
SINTOMAS.....	14
IMPORTANCIA DE LA INMUNOHISTOQUIMICA.....	16
TECNICA DE LABORATORIO.....	18
CONCLUSIONES.....	19
RECOMENDACIONES.....	20
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
ANEXOS.....	24

INTRODUCCIÓN

El cuerpo está compuesto por billones de células vivas, las células normales del cuerpo las cuales, crecen, se dividen en nuevas células y mueren de manera ordenada durante los primeros años de vida de una persona, las células normales se dividen más rápidamente para facilitar el crecimiento de la persona, cuando la persona alcanza la edad adulta la mayoría de las células se dividen solo para reponer aquellas que se han desgastado, dañado o muerto. El proceso de división está regulado por una serie de mecanismos de control que indican a la célula cuando comenzar a dividirse y cuando permanecer parada. Cuando estos mecanismos de control se alteran en una célula, ésta y sus descendientes inician una división incontrolada que con el tiempo dará lugar a un tumor o nódulo. Cuando las células que constituyen dicho tumor no poseen la capacidad de invadir y destruir otros órganos, hablamos de tumores benignos.¹

Pero cuando estas células además de crecer sin control sufren nuevas alteraciones y adquieren la facultad de invadir tejidos y órganos de alrededor (infiltración), y de trasladarse y proliferar en otras partes del organismo (metástasis) se denomina tumor maligno, que es a lo que llamamos cáncer. En este sentido se le llama Neoplasia a las células anormales que comienzan a crecer de manera descontrolada, que en lugar de morir, las células continúan creciendo y formando mas células, las cuales pueden crecer hacia otros tejidos (invadir), algo que las células normales no hacen. Existe una clasificación para los tumores benignos y malignos, los benignos se denominan añadiendo el sufijo “oma” al tipo celular del que se origina el tumor.²

Ejemplo el que se origina en el tejido fibroso se llama fibroma, un tumor cartilaginoso benigno es un condroma y los que se originan de neoplasias epiteliales se denominan, adenoma cuando derivan de las glándulas; Papilomas que crecen en cualquier superficie y pólipos es una masa que se proyecta sobre la superficie mucosa. En cuanto a los tumores malignos que se originan en el tejido Mesenquimátosas o sus derivados se denomina sarcomas. Un cáncer que se origina en el tejido fibroso es un fibrosarcoma y una neoplasia maligna formada por condrocitos es un condrosarcomas

Los sarcomas son tumores malignos que surgen en líneas de células mesenquimales. Comprenden un grupo heterogéneo de cánceres; cada uno de ellos con características clínicas, histológicas y radiográficas únicas.³ Los sarcomas de partes blandas representan el 0,7% de los tumores malignos

Ahora bien, el leiomioma es un tipo de cáncer que deriva de las células del músculo liso. Pertenece al grupo de los sarcomas y puede originarse en cualquier parte del cuerpo, aunque normalmente se presenta en el útero, estómago, intestino delgado, abdomen u otros tejidos blandos, localizaciones infrecuentes son la dermis y el hueso. Son tumores agresivos de mal pronóstico y poco frecuentes, el cual corresponden entre el 5% y el 10 % del total de los sarcomas. Los leiomioma del aparato digestivo, se origina en la capa muscular de la pared del estómago, intestino delgado o intestino grueso. Son tumores infrecuentes que representan menos del 10% de los cánceres del intestino delgado y tan solo el 1% de los de colon y recto. El pronóstico en general no es bueno por su tendencia a la recidiva.

Estos tumores son considerados poco frecuentes, por lo que actualmente debido a los avances de la ciencia a nivel mundial, el uso de la inmunohistoquímica se ha establecido como una herramienta de valor incalculable en la determinación e identificación del origen de estos tumores, por tanto, la presente investigación tiene como **objetivo general** Analizar los métodos inmunohistoquímicas en el diagnóstico de la Leiomioma colorectal y como objetivos específicos, Identificar los métodos inmunohistoquímicos en el diagnóstico de esta enfermedad, Describir las características morfológicas del Leiomioma colorectal y Determinar la importancia de la inmunohistoquímica en el diagnóstico del Leiomioma colorectal.

Así pues, la inmunohistoquímica es un método que utiliza anticuerpos seleccionados para identificar antígenos específicos, las pruebas son extremadamente sensitivas y pueden detectar cantidades muy pequeñas como nanogramos ó moléculas individuales de una sustancia, sin embargo es poco frecuente el uso de sustancias inmunohistoquímicas en estudios de rutina, para los cuales son empleadas la

hematoxilina y eosina, con las que solo se evidencia el citoplasma celular y el núcleo celular, dejando dudas de un diagnóstico acertado en patologías del sistema gastrointestinal para lo cual son empleados frecuentemente. Igualmente este método además de ser costoso, en muchos casos permite que el sistema de salud ahorre dinero, un estudio inmunohistoquímica de rutina puede ser apenas un poco más costoso que una biopsia convencional pero debe considerarse cuánto se puede llegar a ahorrar en complejos estudios de imágenes, procedimientos invasivos, y otros análisis.³

El estudio que a continuación se presenta representa un tipo de investigación documental, sustentada bibliográficamente ya que es un proceso basado en la búsqueda, recuperación, análisis, crítica e interpretación de datos secundarios es decir, los obtenidos y registrados por otros investigadores en fuentes documentales, impresas, audiovisuales o electrónicas. Como en toda investigación el propósito de este diseño es el aporte de nuevos conocimientos. Así mismo esta investigación será descriptiva y explicativa. Los estudios descriptivos buscan especificar las propiedades importantes de personas, grupos, comunidades o cualquier otro fenómeno que sea sometido a análisis y explicativo porque se encarga de buscar el porqué de los hechos.⁴

Desde el punto de vista teórico, los casos de la patología que se aborda en la presente investigación son pocos frecuentes, sin embargo se considera necesario ir en la búsqueda de conocimientos que permitan avanzar en el diagnóstico de la misma. Es por ello que el estudio que se presenta a continuación, se considera será de utilidad teórica y práctica lo cual contribuirá al avance técnico en el área de la histotecnología a la hora de procesar muestras provenientes del intestino grueso en presencia de leiomiomas colorrectal ya que al estar determinado el método específico a emplear se agilizará el proceso para establecer un diagnóstico

DESARROLLO

Reseña Histórica

Albert Coons, en 1941 fue el principal creador y promotor del método de inmunofluorescencia, siendo esta la semilla que inicio todo el amplio campo de los métodos inmunohistoquímicos, posteriormente en 1966 con los trabajos de dos grupos separados NAKANE y PIERCE en Estados Unidos y AVRAMEAS y URIEL en Francia; pusieron en práctica el uso de enzima como marcadores susceptibles de dar una reacción colorada, que revele la localización de la proteína marcada, las enzimas utilizadas por estos autores fueron, en primer lugar, la peroxidasa del rábano y, después, la fosfatasa alcalina, la glucosa oxidasa y la galactoxidasa. En 1969 AVRAMEAS utilizo un reactivo de nombre glutaraldehído y en 1973 CLINES introdujo el tuloeno-2,4-Diisiosianato. En 1974 NAKANE KAWAOI diseñaron un ingenioso marcaje aprovechando la cascara carbohidratada de la peroxidasa oxidándola con peryodato hasta obtener grupos aldehídos.⁵

Antecedentes de la Investigación

Para el desarrollo de esta monografía, fue necesaria la investigación en libros, artículos e Internet, que tuviesen una relación directa con el tema. Seguidamente se citan los autores e investigaciones que se consideran los precedentes inmediatos de este estudio:

Según, Guillen, C (2009), quien realizó su tesis doctoral titulada, “Cáncer colorrectal hereditario no polipósico: caracterización clínica y molecular, aplicación de modelos predictivos y evaluación del cumplimiento de las estrategias de seguimiento de los individuos de riesgo” quien tiene como objetivo general proporcionar información Detallada, sobre las características clínicas, patológicas, familiares y genótípicas de los individuos con cáncer de colon hereditario no polipodios (CCHNP) en nuestro medio. . La metodología aplicada fue de tipo Descriptiva en este estudio se habló del cáncer

colorrectal hereditario no polipósico (CCHNP) o síndrome de Lynch es el síndrome hereditario de cáncer colorrectal (CCR) más frecuente.

Ocasiona aproximadamente el 2-3% de los casos de CCR1, y se asocia a mutaciones en los genes reparadores de errores de apareamiento de bases del ADN (MMR), principalmente MLH1 y MSH2, pero también MSH6, y raramente, PMS2. En las familias con CCHNP, los individuos tienen un incremento del riesgo de desarrollar CCR, a menudo a una edad precoz. Los miembros las familias también tienen mayor riesgo de otros cánceres, incluidos los de endometrio, ovarios, estómago, intestino delgado, tracto urinario, cerebro, y glándulas sebáceas. La estrategia habitual para identificar a los individuos con riesgo de síndrome de Lynch incluye el cumplimiento de los criterios clínicos tales como los de Ámsterdam o las guías de Bethesda revisadas, seguido de estudios moleculares (inestabilidad de microsatélites y detección por inmunohistoquímica de la pérdida de expresión proteica) para detectar una deficiencia del sistema MMR en los tumores

Ese trabajo aporta datos teóricos a nuestra investigación ya que habla en general como obtener el diagnóstico con la realización de estudios moleculares, en particular, inestabilidad de microsatélites y detección por inmunohistoquímica de la pérdida de expresión proteica para detectar una deficiencia del sistema MMR en los tumores ⁶

Morfología y Características Histológicas del leiomioma

El leiomioma es un sarcoma agresivo de partes blandas que se deriva de células del músculo liso, normalmente de origen uterino, gastrointestinal o de otros tejidos blandos. De todos los sarcomas de partes blandas, aproximadamente un 5-10% son leiomiomas. Se cree que los leiomiomas proceden de las células musculares lisas de las paredes de los pequeños vasos sanguíneos, también pueden aparecer directamente en las vísceras, incluyendo el tracto gastrointestinal y el útero.³

Dicho esto, el leiomioma colorectal es un tumor infrecuente, que se origina de las células del músculo liso de la pared intestinal. Representa menos del 1% de los tumores

malignos colorrectales. La histología e inmunohistoquímica son fundamentales para su diagnóstico. Son tumores de mal pronóstico, con tendencia a la recidiva local y sistemática, la diseminación metastásica se produce fundamentalmente por vía hematológica, siendo el hígado el lugar más afectado. Se cree que los leiomiomas proceden de las células musculares lisas de las paredes de los pequeños vasos sanguíneos, también pueden aparecer directamente en las vísceras, incluyendo el tracto gastrointestinal y el útero. Dicho esto, el leiomioma colorrectal es un tumor infrecuente, que se origina de las células del músculo liso de la pared intestinal. Representa menos del 1% de los tumores malignos colorrectales.

Epidemiología

Se reportan 10% en duodeno, 37% en yeyuno y 53% en el íleon. Solo el 0.3% se reportan en el colon y recto. Hasta 1994, Wolf informó 215 casos y Friesen comunicó una frecuencia anual de leiomioma colorrectal de 0.45 por millón, constituyendo el 0,12% de todos los tumores malignos colorrectales ⁵.

Características Histológicas

La apariencia histológica del leiomioma de tejido blando exhibe una variabilidad significativa. Las características típicas incluyen un campo altamente celular, con citoplasma abundante de rosa a rojo intenso en tinción Hematoxilina y Eosina. Las células están dispuestas en haces y en tumores bien diferenciados, estos haces a menudo forman ángulos rectos, permitiendo la identificación tanto de áreas longitudinales como transversales dentro de un campo ³. Los núcleos suelen estar localizados en el centro, y clásicamente son clasificados con forma de puro. Una de las características más importantes es la presencia de miofibrillas que son longitudinales y abarcan toda la longitud de la célula. A medida que las células van dejando de ser diferenciadas, se desorganizan y empiezan a perder sus características distintivas. ³ De igual forma, las características histológicas bajo el microscopio a pocos aumentos constituyen los factores más importantes a la hora de realizar el diagnóstico de leiomioma. No

obstante, otras modalidades, incluyendo la inmunohistoquímica y microscopio electrónico, juegan un importante papel de confirmación.³

Factores de Riesgo

Entre los factores de riesgo se conocen los antecedentes familiares de cáncer de colon o de recto, ciertas afecciones hereditarias, como la poliposis adenomatosis familiar y el cáncer de colon hereditario sin poliposis (CCHSP; síndrome de Lynch), antecedentes de colitis ulcerosa (úlceras en el revestimiento del colon) o enfermedad de Crohn, antecedentes personales de cáncer de colon recto, ovario, endometrio o mama, antecedentes personales de pólipos (áreas pequeñas de tejido abultado) en el colon o el recto, los signos del cáncer de colon son sangre en la materia fecal o cambios en los hábitos intestinales.⁸

El cáncer de colon u otras afecciones pueden producir estos y otros signos y síntomas: Cambio en los hábitos intestinales, sangre en las heces (ya sea color rojo muy vivo o muy oscuro), diarrea, estreñimiento o sensación de que el intestino no se vacía completamente, heces más delgadas de lo normal, dolor frecuente (ocasionado por gases, flatulencia, saciedad o calambres), Pérdida de peso sin razón conocida, sensación de mucho cansancio y vómitos⁹

Etiología

En su etiología y sus factores de riesgo se encuentra establecido que a diferencia de otros subtipos de sarcoma, los leiomiomas no obedecen a alteraciones genéticas puntuales, estos se caracterizan porque se asocian con cariotipos complejos y algunos de ellos se acompañan de alteraciones en la expresión de genes supresores de tumor -RB1 y TP53. Hasta la fecha no se ha identificado que se desarrolle por herencia familiar o genética, tampoco se comprobó una asociación precisa entre este tipo de neoplasia y la exposición a carcinógenos químicos. **Los signos y síntomas** de presentación más comunes son: rectorragia (43.8%), masa abdominal palpable (37.5%) y dolor abdominal (21.3%).

Diagnostico

La histología e inmunohistoquímica son fundamentales para su diagnóstico. Son tumores de mal pronóstico, con tendencia a la recidiva local y sistemática, la diseminación metastásica se produce fundamentalmente por vía hematológica, siendo el hígado el lugar más afectado.¹⁰

Métodos Inmunohistoquímicos

Los estudios se realizan sobre el material de biopsia que se le extrae previamente. Así mismo en las últimas décadas según la O.M.S. ha habido un aumento significativo de enfermedades cancerígenas y en especial las que afectan al sistema gastrointestinal, siendo necesario establecer un diagnóstico inmunohistoquímica. **Actualmente debido a** los avances de la ciencia a nivel mundial, el uso de la inmunohistoquímica se ha establecido como una herramienta de valor incalculable en la determinación e identificación del origen de tumores poco frecuentes. Igualmente este método además de ser costoso, en muchos casos permite que el sistema de salud ahorre dinero, un estudio inmunohistoquímica de rutina puede ser apenas un poco más costoso que una biopsia convencional pero debe considerarse cuánto se puede llegar a ahorrar en complejos estudios de imágenes, procedimientos invasivos, y otros análisis.

Es indispensable poseer una serie de informaciones para llegar a un **diagnóstico** y estas son: datos clínicos generales como edad y sexo, datos precisos del sitio de la lesión, características morfológicas específicas y el perfil inmunohistoquímico de la lesión. Debe conocerse el tipo de fijación que ha recibido la muestra, los anticuerpos a utilizar, qué recuperación antigénica necesita, diluciones, panel adecuando a los diagnósticos diferenciales, cuál es su patrón de marcación, cuáles son las lesiones que van a marcar y por supuesto también conocer todas sus excepciones. **La inmunohistoquímica** ayuda a respaldar el diagnóstico demostrando la presencia de marcadores específicos de músculo como la desmina, el antígeno muscular específico (HHF35), la citoqueratina y el Antígeno epitelial de membrana (EMA). Aunque no son necesarios para realizar el diagnóstico, uno o más de estos marcadores aparecen normalmente en las muestras de leiomioma.

Síntomas

En cuanto a lo que se refiere a los síntomas del leiomioma colorrectal destacan tenesmo rectal, rectorragia, debilidad, mareo, palidez cutánea, aumento de la temperatura corporal (38 a 39 grados centígrados), distensión abdominal, ruidos hidroaéreos aumentados, signo de Bloomberg positivo a nivel de fosa iliaca derecha.³

Antígenos y Anticuerpos

Los antígenos son sustancias que al penetrar en un organismo provoca una respuesta inmune específica detectable, mayormente son moléculas grandes y complejas como proteínas, ácido nucleico, lipoproteína, glicoproteínas y ciertos polisacáridos de gran tamaño. Los anticuerpos (también conocidos como inmunoglobulinas, Ig) son glicoproteínas del tipo gamma globulina.

Marcadores Tumorales y usos

En cuanto a los marcadores tumorales, son conocidos como sustancias que se encuentran en la sangre, en la orina, materia fecal y en otros líquidos del cuerpo, o en tejidos de algunos pacientes con cáncer.¹¹

Métodos inmunohistoquímicos

En relación a esto la inmunohistoquímica es un método que utiliza anticuerpos seleccionados para identificar antígenos específicos, marcados con una enzima la cual al unirse a un cromógeno puede evidenciar un antígeno, las pruebas son extremadamente sensitivas y pueden detectar cantidades muy pequeñas como nanogramos ó moléculas individuales de una sustancia, sin embargo es poco frecuente el uso de sustancias inmunohistoquímicas en estudios de rutina, para los cuales son empleadas la hematoxilina y eosina, con las que solo se evidencia el citoplasma celular y el núcleo celular, dejando dudas de un diagnóstico acertado en patologías del sistema gastrointestinal para lo cual son empleados frecuentemente.

Con el uso de la inmunohistoquímica se logra observar leiomiomas de bajo grado y alto grado con potencia (a) baja, (b) media y (c) alta, observándose las características clásicas, el núcleo con aspecto de puro y la disposición de las células en haces, los tumores de grado alto muestran una marcada atipia y celularidad con múltiples mitosis presentes. ⁶ Hay que tomar en cuenta que este método tiene un gran costo monetario pero de gran beneficio ya que sus resultados son más certeros a la hora de entregar un diagnóstico.

Los métodos más comunes en la inmunohistoquímica son el método directo el cual es sencillo y viene a ser la reacción que se da antígeno-anticuerpo-enzima, tiene escasa amplificación, no es suficientemente sensible e indirecto cuyo anticuerpo primario marcado con una enzima reacciona con el antígeno del tejido, es importante señalar que el método directo es el más utilizado.

Importancia de la Inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica va a confirmar el diagnóstico en el 30 o 40 % de las lesiones, definirá un diagnóstico entre varios diagnósticos diferenciales en el 50 al 60 %, no va a ser de ayuda en el 2 % y va arrojar resultados confusos en el 5 al 10% de las situaciones en las que se la utilice. Los más importantes y con aplicación en la práctica diaria de la inmunohistoquímica son: queratinas, vimentina, desmina, neurofilamentos y proteína ácida gliofibrilar. Los métodos inmunohistoquímicos específicos para el diagnóstico del leiomioma colorrectal son: “Vimentina, la cual es una proteína de 57 k Da, que se expresa en todas las células mesénquimas. En todas las células durante la embriogénesis y gradualmente es reemplazada por otros filamentos intermedios en algunos tipos celulares específicos y en otros perdura coexpresándose”.⁸

En la patología de partes blandas es limitado su uso diagnóstico, pero es de utilidad como control de marcación, así como también la queratina, es un marcador de diferenciación epitelial pero en la patología de partes blandas hay dos clases de expresión de queratinas: la que se observa en un pequeño grupo de sarcomas con verdadera diferenciación epitelial como en los sarcomas sinoviales y el

sarcoma epitelioide y tumores que expresan queratina anómala como los leiomiosarcomas y los angiosarcomas”

Otro de los elementos inmunohistoquímicos es la Desmina, que es un filamento intermedio asociado a la diferenciación tanto de músculo esquelético como liso, muy raramente en los miofibroblastos. Marca el citoplasma en un alto porcentaje de los leiomiomas, leiomiosarcomas y rhabdomiomas. Se observa expresión aberrante en PNETs, (tumor neuroectodérmico primitivo) SRCT, (tumor redondo de células pequeñas), neuroblastomas, mesotelioma y en el tumor de células gigantes de la vaina tendinosa⁸

Entre los marcadores específicos menos frecuentemente utilizados para evidenciar la presencia de leiomiosarcoma se encuentran, CD57, proteína que se encuentra normalmente en la superficie de los linfocitos T y células natural Killer. Los anticuerpos para esta proteína reaccionan con oligodendrogliomas (Los oligodendrogliomas son un grupo de neoplasias intracraneales del sistema nervioso central que aparecen en el parénquima cerebral, de crecimiento lento y rara vez produce metástasis a otros tejidos) y tumores de la vaina del nervio periférico⁶ Otros tumores que pueden marcar son los sarcomas sinoviales y leiomiosarcomas.

Por eso la necesidad de usarlos en paneles de anticuerpos. Así mismo, los marcadores inmunohistoquímicos de diferenciación muscular como la actina músculo específica, la cual fue llamada por Gown HHF35 en 1987, que reconoce al alfa actina del músculo esquelético, músculo liso y músculo cardíaco. Es un marcador de gran utilidad para los rhabdomiomas y leiomiosarcomas. Hay que tener en cuenta que puede ser positivo en tumores con diferenciación miofibroblástica. Cabe destacar que uno de los métodos más específicos es la Actina Musculo Liso, esta actina reconoce la actina alfa del músculo liso, es de gran valor para leiomiosarcomas, pero al igual que la actina musculo específica marca los miofibroblastos y los tumores derivados de estas células.

En consecuencia una lesión positiva para actina músculo lisa pero negativa para actina músculo específico y desmina es altamente sospechosa de fenotipo miofibroblástico. También los marcadores de diferenciación endotelial factor VIII, como el CD34, Es un antígeno de las células progenitoras hematopoyéticas, tanto linfoides, mieloides como endoteliales, En tumores de partes blandas es un indicador potencial de diferenciación vascular, es muy sensible, 85% de los angiosarcomas y los sarcomas de Kaposi son positivos, pero su especificidad es un problema ya que también es positivo en algunos leiomiomas.⁸

Elementos Claves de la Inmunohistoquímica

Son los anticuerpos monoclonales y /o policlonales, enzimas y cromógenos. Siendo los monoclonales aquellos que derivan de un solo clon de linfocitos B y son específicos para un epítipo determinado, producido por hibridoma, los cuales son aquellos que se dan cuando hay unión de células B más células del mieloma (células B más células de Mieloma inmortales), así mismo los policlonales proceden de distintos clones de linfocitos B estimulados, es la mezcla de anticuerpos para más de un epítipo, generalmente extraídos del suero de conejos inmunizados con el antígeno. Los epítipos vienen a ser los puentes de unión o la porción de una macromolécula que es reconocida por el sistema inmunitario, específicamente la secuencia a la que se unen los anticuerpos.

Técnica de Laboratorio

- Fijación.
- Procesamiento.
- Adhesivos.
- Microtomía.
- Preparación de la lámina porta objeto para inmunohistoquímica.
- Obtención del tejido.
- Desparafinar e hidratar las secciones de tejidos.

- Bloqueo de enlaces no específicos y de actividades endógenas.
- Recuperación de antígenos.
- Incubación del anticuerpo primario.
- Incubación del anticuerpo secundario.
- Reacción antígeno-anticuerpo.
- Aplicación de un cromógeno que actúa con el anticuerpo secundario
- Interpretación de los resultados.

Preparación de las láminas para inmunohistoquímica:

- 1.- Colocar las láminas nuevas en un soporte para teñido.
- 2.- Agitar las láminas en agua jabonosa tibia durante unos minutos.
- 3.- Lavar el residuo jabonoso de las láminas con un chorro de agua, seguido de varios enjuagues con agua destilada.
- 4.- Enjuagar las láminas con alcohol etílico absoluto y dejarlos secar al aire.
- 5.- Sumergir la parte utilizable de las láminas (una por vez) en una preparación fresca de la solución acuosa al 15% del pegamento de caseína. Limpiar el pegamento de la parte posterior de cada lámina con un paño limpio libre de hilachas.
- 6.- Sacar las láminas al aire en un área libre de polvo, y guardar los mismos en una caja “standard” de láminas, hasta ser utilizados.

CONCLUSIONES

En la actualidad existe un significativo porcentaje de casos de pacientes afectados por cáncer, dentro de los cuales es poco frecuente una variedad de sarcomas como lo es el leiomioma colorrectal; sin embargo surgió la inquietud de realizar un estudio en donde se comprendiera el uso de los métodos utilizados para el diagnóstico de los mismos.

De tal manera, se procedió a indagar en la búsqueda de la información de la morfología del leiomioma colorrectal, lo cual fue fundamental para la prosecución de la investigación debido a que es la razón de ser del estudio monográfico presentado, por lo tanto se hizo necesario conocer histológicamente su conformación. A partir de lo antes señalado, fue como a través de una exhaustiva revisión bibliográfica se lograron diferenciar los métodos inmunohistoquímicos para el diagnóstico del leiomioma colorrectal, cuya importancia recae en el hecho de que es uno de los sarcomas poco frecuentes, pero que de igual forma requiere de este método para su diagnóstico.

Cabe señalar que a través del estudio monográfico realizado, también se lograron reconocer los métodos específicos empleados para facilitar la evidencia en el diagnóstico de la patología abordada. Dicho esto, se considera que los propósitos planteados fueron alcanzados, ya que se corroboró la existencia de técnicas precisas empleadas en el proceso de biopsia proveniente de leiomioma colorrectal. A pesar de todo lo antes expuesto, para nadie es un secreto que en la actualidad los estudios inmunohistoquímicos tienen un alto valor, debido a que para realizarlo se emplean reactivos especializados que no para todos los laboratorios son de fácil acceso, pero existe la posibilidad de que sea realizado en hospitales públicos. Finalmente, sin duda alguna la revisión bibliográfica realizada para este estudio monográfico se considera de valiosa importancia, ya que vino a complementar los conocimientos necesarios para la formación de Técnicos Superiores en Histotecnología

RECOMENDACIONES

La elaboración de toda investigación científica requiere del desarrollo de objetivos, los cuales van a permitir obtener resultados positivos o negativos que en la mayoría de los casos estos últimos serán objeto de algunas recomendaciones por parte del equipo de investigación, tal es el caso del estudio monográfico llevado a cabo sobre el uso de métodos inmunohistoquímicos en el diagnóstico del Leiomioma Colorrectal en el cual se considera necesario realizar las siguientes recomendaciones.

En cuanto a los conocimientos, profundizar acerca de los procedimientos para el uso de métodos inmunohistoquímicos, debido a que en las prácticas de laboratorio reglamentarias del estudiante de T.S.U en Histotecnología no se hace. De igual forma, promover el uso de inmunohistoquímicos durante las prácticas reglamentarias de laboratorio en el proceso de formación para, de esta manera, poder fortalecer los conocimientos teóricos del estudiante enriqueciendo su desarrollo profesional a fin de optimizar su formación técnica, ya que se observa en la práctica la carencia y el poco sustento de información facilitada. Al mismo tiempo, desarrollar bibliografías acerca del leiomioma colorrectal debido a que en la actualidad existe poca información sobre esta patología. Así como también, elaborar un instrumento que contenga información teórica y práctica acerca de los métodos inmunohistoquímicos que pueda ser facilitada al estudiante durante su formación.

Además, organizar jornadas científicas acerca del leiomioma colorrectal y el uso correcto de métodos inmunohistoquímicos para su diagnóstico, para que de estas maneras profesionales y alumnos del área de la Histotecnología se mantengan actualizados con los avances y cambios que pueda haber.

En relación al control epidemiológico de leiomioma, proponer la elaboración de registros a fin de contar con datos estadísticos que complementen las investigaciones. Por otra parte, educar a las comunidades acerca de los chequeos periódicos que deben realizarse para detectar posibles alteraciones de forma precoz, como por ejemplo, análisis de sangre oculta en heces, la sigmoidoscopia y colonoscopia

REFERENCIAS

1) Eguino A, Fernández A, Fernández B, García G. Cáncer de colorrectal una guía práctica. Asociación española contra el cáncer Madrid 2002. (Citado: 14 enero 2016)

Disponible:<https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/CancerAno/Documents/guia%20cancer%20colorrectal.pdf>

2) Rubín, Rafael. Patología. Fundamentos clínico patológico en medicina. Sexta edición pág. 158 Año 2012

3) Sarancone S, Acosta Haab RG. Inmunohistoquímica en Tumores de Partes Blandas / Patología. Buenos Aires. Año 2010 (Citado: 14 enero 2016) disponible en: <http://www.patologia.org.ar/eventos/jornadas/2005/haab.html>

4). Arias, F. El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica. 5ta edición caracas- Venezuela. Editorial episteme, 2006.

5). Montero, C Manual teórico practico de técnicas inmunohistoquímicas. Departamento de anatomopatología. Facultad de medicina. Universidad autónoma de San Luis Potosí. México año 1998

6) Guillén, Carmen. Cáncer colorrectal hereditario no polipósico: caracterización clínica y molecular, aplicación de modelos predictivos y evaluación del cumplimiento de las estrategias de seguimiento de los individuos de riesgo “Tesis doctoral. Universidad de Alcalá. Facultad de Medicina Octubre 2009. (Citado: 28 enero 2016)

Disponible en:

http://dspace.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/6573/3.tesis.colon_carmen_2logo.pdf?sequence=1

7). Organización Mundial De La Salud.201. Centro de prensa. (Internet). 2015. (Citado 11 de marzo de 2015) pág. 1. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>

8) Piliado H, Charua L. Avendaño O, Montes J. Anales médicos Vol. 45, Núm. 3 Jul. - Sep. 2000 pp. 140 – 144 / Leiomioma colorrectal. Reporte de dos casos/ hospital ABC. (Citado: 28 enero 2016) Disponible en:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc-2000/bc003g.pdf>

ANEXOS

Anexo A

Leiomioma de recto: Resección abdominoperineal



Leiomioma de sigmoide.

Anexo B

Anexo B (1)

Leiomioma de tejidos blandos de bajo grado.



Potencia A

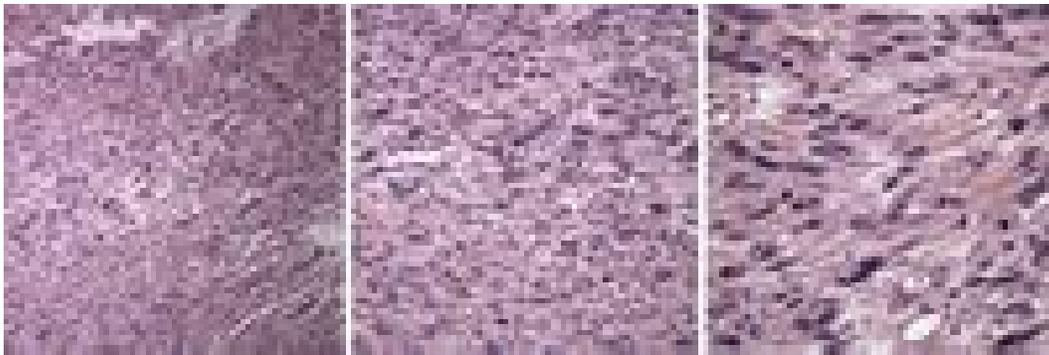
Potencia B

Potencia C

Potencia **(a) baja, (b) media** y **(c) alta**. Se ven las características clásicas del leiomiosarcoma, incluyendo el núcleo con aspecto de puro y la disposición de las células en haces en haces

Anexo B (2)

Leiomiosarcoma de tejidos blandos de alto grado.



Potencia A

Potencia B

Potencia C

Potencia **(a) baja (b) media** y **(c) alta**. Los tumores con grado alto muestran una marcada atipia y celularidad con múltiples mitosis presentes