

RECIDIVA EN PARED TORAXICA DE ADENOCARCINOMA DE PULMON. UTILIDAD EN EL DIAGNOSTICO DE DOS ANTICUERPOS CONTRA FILAMENTOS INTERMEDIOS

Dra. GARCIA, Irma E.
Dr. PALAZZO, Juan P.

*Departamento de Anticuerpos Monoclonales y Anatomía Patológica
Fox Chase Cancer Center
Filadelfia, Pensilvania - EE.UU.*

RESUMEN

Este estudio reporta los hallazgos clínicos, patológicos inmunohistoquímicos en un hombre de 69 años con adenocarcinoma bilateral de pulmón y recurrencia en pared costal izquierda.

El objetivo de esta presentación es demostrar la utilidad de la inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial de neoplasias poco diferenciadas.

HALLAZGOS CLINICOS Y ANATOMOPATOLOGICOS

Paciente de 69 años que en el año 1979, presenta una tumoración en segmento posterior del lóbulo superior derecho. Se realizó

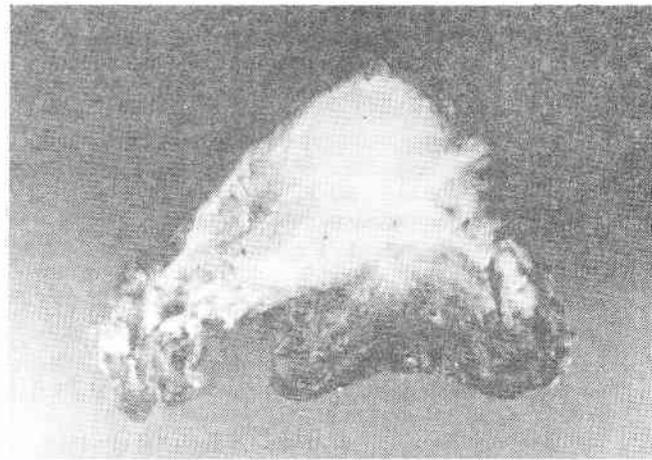
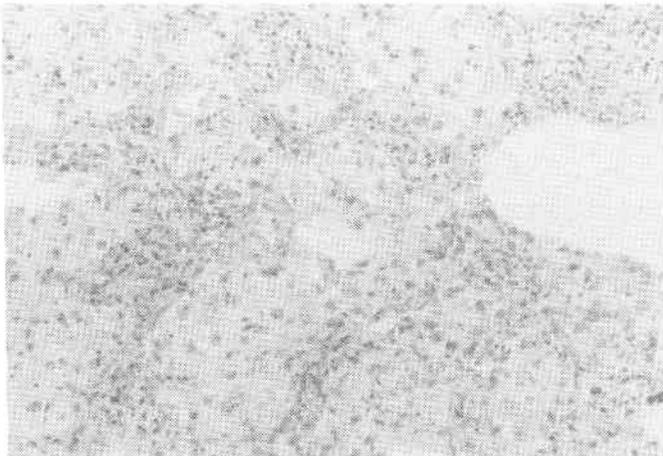


FIGURA 2

Pared costal izquierda con parénquima pulmonar adherido, reemplazado parcialmente por tejido indurado.

FIGURA 1

Pulmón izquierdo, lóbulo superior: adenocarcinoma moderadamente diferenciado. (HE x 150).



una biopsia por congelación y el diagnóstico fue adenocarcinoma poco diferenciado de pulmón con componente a células claras. Se efectuó resección en cuña.

Siete años después de dicha resección, en un examen radiológico, se detectó un nódulo de 3 cm de diámetro, en el lóbulo superior del pulmón izquierdo.

Se efectuó resección en cuña y el diagnóstico en esta oportunidad fue de adenocarcinoma poco diferenciado de pulmón izquierdo con extensión a pleura (Figura 1).

Este tumor fue comparado con el del lóbulo derecho y ambos eran histológicamente diferentes.

Un año posterior a la segunda resección, el paciente fue derivado a este hospital presentando recurrencia local con compromiso del

lóbulo superior izquierdo del pulmón izquierdo (Figura 2).

Los hallazgos histológicos, mostraron una neoplasia constituida por células grandes, fusadas, con núcleos pleomórficos, con abundante citoplasma y mitosis atípicas (Figura 3).

No se observaron estructuras glandulares. El estroma mostró reacción desmoplásica. El tumor no comprometía el tejido pulmonar residual y estaba limitado a partes blandas de parrilla costal, invadiendo primera y segunda costilla.

Los diagnósticos diferenciales histopatológicos incluyeron recidiva de adenocarcinoma poco diferenciado de pulmón, sarcoma de partes blandas y sarcoma postirradiación.

Una coloración de mucicarmin fue negativa. Se efectuó la técnica de la inmunoperoxidasa utilizando los anticuerpos queratina y vimentina.

MATERIAL Y METODOS

El material fue fijado en formol neutro durante 10 hs para luego ser embebido en parafina. Los cortes de 3 a 5 u se montaron en vidrios tratados con polilixina para favorecer la adhesividad tisular. Los tejidos no fueron expuestos a temperaturas superiores a 56°C, para evitar el daño de los antígenos. Se utilizaron cortes para controles positivo y negativo.

Los anticuerpos utilizados fueron los siguientes: pool de AE1, AE3 anticuerpos monoclonales contra la queratina, Hybritech Inc. San Diego, CA y el anticuerpo monoclonal contra Vimentina clon V9 Dako Corp, Santa

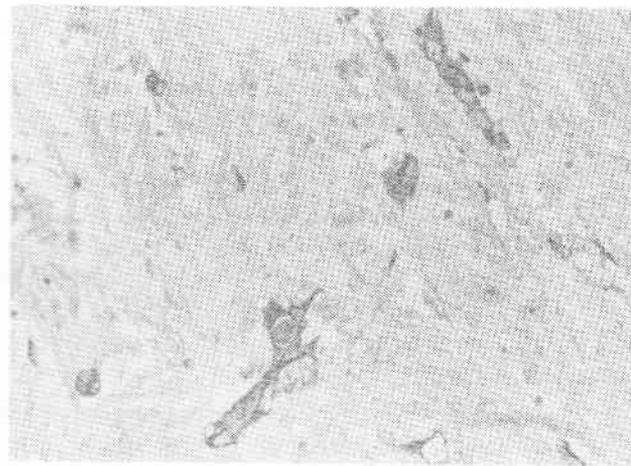


FIGURA 4

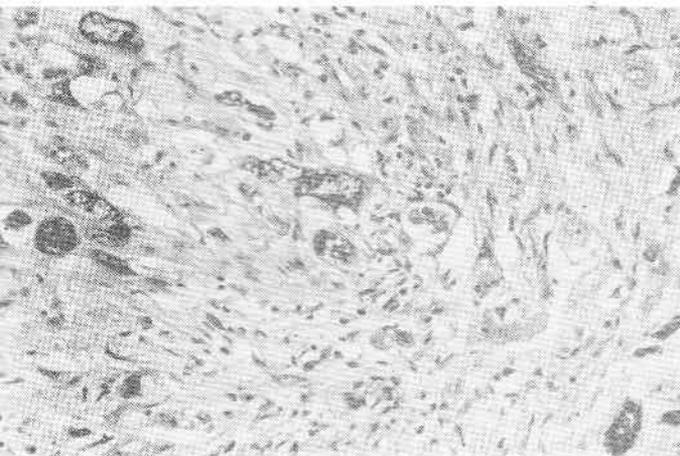
Células tumorales fuertemente teñidas con keratina. (Inmunoperoxidasa-Hematoxilina x 250).

Bárbara, CA. Posterior a su deparafinización las secciones fueron inmersas en metanol absoluto y H2O2 al 30o/o por 30 minutos para bloquear la peroxidasa endógena y luego fueron gradualmente hidratadas.

Las secciones a ser teñidas con queratina recibieron tratamiento enzimático (0,1o/o tripsina, Ph 7,8, 0,05 molar Tris -Cl2Ca) durante 15 minutos. Este procedimiento permite desenmascarar los antígenos bloqueados por la fijación. Luego fueron lavados en solución buffer salina durante 15 minutos. Ambos anticuerpos fueron titulados previamente en casos conocidos con el objeto de lograr la dilución correcta con la cual se obtenga mayor intensidad en la tinción específica y menor background. Las diluciones usadas fueron las siguientes: queratina 1/50 y vimentina 1/20. Las secciones fueron incubadas con los anticuerpos primarios durante 1 hora y luego se aplicó el complejo de avidina biotina peroxidasa (1). Como cromógeno se utilizó aminoetilcarbazol (AEC).

FIGURA 3

Recidiva de adenocarcinoma de pulmón en pared torácica. Nótese el pleomorfismo celular, las células fusadas y la ausencia de elementos glandulares. (HE x 250).



RESULTADOS Y CONCLUSIONES

La queratina fue intensamente positiva en la mayoría de las células tumorales, incluyendo las que mostraban mayor pleomorfismo nuclear y citoplasma fusado (Figura 4). Estas características celulares pueden haber sido inducidas por la radioterapia recibida previa a la resección del tumor residual de la pared costal. La vimentina fue consistentemente negativa en las células neoplásicas.

Estos hallazgos sugirieron el origen epitelial del tumor.

Queratina y vimentina constituyen filamen-

tos intermedios, los cuales tienen un diámetro de 10 nm.

Las proteínas formadoras de estos filamentos han sido motivo de estudios debido a su utilidad como marcadores de diferenciación celular (2, 3, 4, 5, 6). Estos filamentos se agrupan clásicamente de acuerdo a las células en los que fueron inicialmente aislados: neurofilamentos (células nerviosas), vimentina (células mesenquimáticas), desmina (células musculares lisas), queratina (células epiteliales) y proteína fibrilar ácida (astrocitos).

La queratina es uno de los marcadores más precisos para determinar diferenciación epitelial de los tumores (7). Constituyen una familia de proteínas heterogéneas que varían en peso molecular entre 40.000 y 68.000 y con un Ph que oscila entre 5 y 8.

Se han identificado al menos 19 polipéptidos distintos de la queratina demostrando distinta expresión en diferentes células epiteliales de tejidos normales y neoplásicos (8, 9).

La queratina utilizada en este caso constituye una combinación de anticuerpos monoclonales (AE1/AE3) desarrollada por Sun, quien efectuó un extenso estudio en los modelos de expresión de la queratina (7, 10).

Usualmente entre 2 a 10 queratinas son expresadas por cualquier célula epitelial. En términos generales, las queratinas de bajo peso molecular reaccionan con epitelios simples, mientras que las queratinas de alto peso molecular con epitelios estratificados cornificados. De allí la utilidad del antes mencionado "cocktail" queratínico, combinación de dos o más anticuerpos monoclonales que reconocen diferentes epítopes de una misma molécula, ofreciendo la ventaja sobre un solo anticuerpo monoclonal, que mayor cantidad de anticuerpo se unirá al antígeno, efecto sinérgico que resultará en una mayor sensibilidad de la que podría obtenerse con un solo anticuerpo (11).

La vimentina es un polipéptido simple con un peso molecular de 58.000 (12) presente en todas las células mesenquimáticas.

Se la considera un filamento intermedio no específico pues es expresado por diferentes células en estado embrionario. Además, puede ser coexpresada por linfomas y melanomas (12, 14).

Sin embargo, es el único filamento intermedio presente en algunos tumores de partes blandas como el fibrohistiocitoma maligno (13, 15, 16).

En el caso presentado, la expresión de queratina en todas las células tumorales confirma el origen epitelial del tumor.

Hay excepciones en las cuales puede existir expresión de queratina como en el sarcoma sinovial, sarcoma epitelial y ocasionalmente en el fibrohistiocitoma maligno y postirradiación (17, 18, 19). Algunas metástasis de carcinoma en pleura y cavidad abdominal pueden también coexpresar vimentina y queratina (20).

La posibilidad de un sarcoma postirradiación fue descartada en base al tiempo transcurrido entre la radioterapia y la detección del tumor que fue de aproximadamente 6 meses (21).

SUMMARY

Our study reports the clinical, pathological and immunohistochemical findings of a recurrent carcinoma of the lung in the chest wall of a 69 year old man. The patient had originally presented with bilateral adenocarcinoma of the lung and recurrence following surgery, chemotherapy and radiation therapy. Due to the pleomorphism of the chest wall tumor the morphologic differential diagnosis included soft tissue sarcoma, malignant fibrous histiocytoma and undifferentiated carcinoma. Due to the short period of time between the radiotherapy and the appearance of the tumor the diagnosis of postirradiation sarcoma was ruled out.

Also the strong and diffuse positivity of the tumor cells for keratin supported the diagnosis of carcinoma.

The diagnostic applications of immunoperoxidase techniques as well as their use in the study of poorly differentiated tumors is discussed.

REFERENCIAS:

- 1) Hsu, S.M.; Raine, L.; Fanger, H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem Cytochem* 1981; 29:577-580.
- 2) Denk, H.; Drepler, R.; Artlieb, U. et al. Proteins of intermediate filaments. An immunohistochemical and biochemical approach to the classification of soft tissue tumors. *A.J.P.* 1983; 110:193-208.
- 3) Franke, W.W.; Schmid, E.; Schiller, D.L. et al. Differentiation related patterns of expression of proteins of intermediate size filaments in tissues and cultured cells. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1982; 46:431-453.
- 4) Miettinen, M.; Lehto, V.P.; Badley, R.A.; Virtanen, I. Expression of intermediate filaments in soft tissue sarcomas. *Int. J. Cancer* 1982; 30:541-546.
- 5) Osborn, M.; Weber, K. Biology of disease. Tumor diagnosis by intermediate filament typing: a novel tool for surgical pathology. *Lab. Invest.* 1983; 48:372-394.
- 6) Ramaekers, F.C.S.; Feitz, W.; Moesker, O. et al. Antibodies to cytokeratin and vimentin in testicular tumors diagnosis. *Virchows Arch (A)* 1985; 408:127-142.
- 7) Sun, T.T.; Eichner, R.; Schermer, A.; Coopèr, D.; Nelson, W.G.; Weiss, R.A. Cold Spring Harbor Laboratory 1984; 169-176.
- 8) Frank, W.W.; Schiller, D.L.; Moll, R. et al. Diversity of cytokeratins. Differentiation specific expression of cytokeratin polypeptides in epithelial cells and tissues. *J. Mol. Biol.* 1981; 153:933-959.
- 9) Moll, R.; Franke, W.W.; Schiller, D.L. et al. The catalogue of human cytokeratins. Patterns of expression in normal epithelia, tumors and culture cells. *Cell* 1982; 31:11-24.
- 10) Cooper, D.; Schermer, A.; Sun, T.T. Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: strategies, applications and limitations. *Lab. Invest.* 1985; 152:243-256.
- 11) Battifora, H. The biology of the keratins and their diagnostic applications in *Advances in Immunohistochemistry*, ed. Ronald, A. De Lellis, Raven Press, N.Y., 1988, pp. 213.
- 12) Franke, W.W.; Schmid, E.; Osborn, M. et al. Different intermediate sized filaments distinguished by immunofluorescence microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1978, 75:5.034-5.038.
- 13) Gown, A.M.; Gammiani, G. Intermediate-sized (10 nm) filaments in human tumor in *Advances in Immunohistochemistry*, ed. Ronald, A. De Lellis, Masson Publishing Inc., N.Y., 1984, pp. 89-109.
- 14) Bignami, A.; Raju, T.; Dahl, D. Localization of vimentin, the nonspecific intermediate filament protein in embryonal glia and in early differentiating neurons. *Dev. Biol.* 1982; 91:286-295.
- 15) Miettinen, M.; Lehto, V.P.; Badley, R.A. et al. Expression of intermediate filaments in soft tissue sarcomas. *Int. J. Cancer* 192; 30:541-546.
- 16) Denk, H.; Krepler, R.; Artlieb, U. et al. Proteins of intermediate filaments. An immunohistochemical and biochemical approach to the classification of soft tissue tumors. *A.J.P.* 1983; 110:193-208.
- 17) Corson, J.M.; Weiss, L.M.; Banks-Schlegel, S.P. et al. Keratin proteins and carcinoembryonic antigen in synovial sarcoma: an immunohistochemical study of 24 cases. *Human Path.* 1984; 15:615-621.
- 18) Chase, D.R.; Enzinger, F.M.; Weiss, S.W. et al. Keratin in epithelioid sarcoma. An immunohistochemical study. *Am. J. Surg. Path.* 1984; 8:435-441.
- 19) Weiss, S.W.; Brattbauer, G.L.; Morris, P.A. Postirradiation malignant fibrous histiocytoma expressing cytokeratin. *Am. J. Surg. Path.* 1988; 12:554-558.
- 20) Ramaekers, F.C.S.; Haag, D.; Kant, A.; Moesken, O.; Jap, P.H.K.; Vooys, G.P. Coexpression of keratin and vimentin-type intermediate filaments in human metastatic carcinoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1983; 80:2.618-2.622.
- 21) Enzinger, F.M.; Weiss, S.W. *Soft Tissue Tumors*. Sec. Ed. Mosby Company 1988; pp. 212-213.