



ACTAS Dermo-Sifiliográficas

Full English text available at
www.elsevier.es/ad



REVISIÓN

Inmunohistoquímica en dermatopatología: revisión de los anticuerpos utilizados con mayor frecuencia (parte I)

L. Fuertes^a, C. Santonja^b, H. Kutzner^c y L. Requena^{a,*}

^a Servicio de Dermatología, Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

^b Servicio de Anatomía Patológica, Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

^c Dermatopathologische Gemeinschaftslabor, Friedrichshafen, Alemania

Recibido el 28 de enero de 2012; aceptado el 2 de febrero de 2012

Disponible en Internet el 10 de octubre de 2012

PALABRAS CLAVE

Dermatopatología;
Inmunohistoquímica;
Citoqueratinas;
Marcadores
musculares;
Endoteliales;
Neurales;
Neuroendocrinos

KEYWORDS

Dermatopathology;
Immunohistochemistry;
Cytokeratins;
Muscle markers;
Endothelial markers;
Neural markers;
Neuroendocrine
markers

Resumen La dermatopatología incluye una larga lista de entidades, algunas con una histopatología muy similar. La inmunohistoquímica representa una importante herramienta de ayuda en el diagnóstico, diagnóstico diferencial y pronóstico de muchas de las neoplasias cutáneas. La inmunohistoquímica es también la mejor técnica para determinar el origen de un tejido o la diferenciación de las células neoplásicas. En muchos casos la inmunohistoquímica permite un diagnóstico más preciso de los distintos procesos infiltrando la piel. Este artículo revisa el papel de la inmunohistoquímica en el estudio de la diferenciación y el comportamiento biológico de la mayoría de las neoplasias que pueden afectar a la piel. Se revisan las técnicas de inmunoperoxidasa, se discute la utilidad de los anticuerpos utilizados con mayor frecuencia y se presentan una serie de problemas diagnósticos en los que la inmunohistoquímica puede resultar muy útil. En cada caso, la finalidad es llegar a un diagnóstico concreto y definitivo. En la primera parte de esta revisión se estudian los anticuerpos que exploran las distintas líneas de diferenciación de las neoplasias cutáneas.

© 2012 Elsevier España, S.L. y AEDV. Todos los derechos reservados.

Immunohistochemistry in Dermatopathology: A Review of the Most Commonly Used Antibodies (Part I)

Abstract Dermatopathology includes a long list of disorders, some of which have very similar histopathology. Immunohistochemistry is an important auxiliary tool for diagnosis and differential diagnosis, and for predicting the outcome of many skin tumors. It is also the main technique for determining the origin of a tissue or the differentiation of neoplastic cells. In many cases, immunohistochemistry provides a more accurate diagnosis of the different processes that infiltrate the skin. This review examines the role of immunohistochemistry in studying

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: lrequena@fjd.es (L. Requena).

the differentiation and biological behavior of the majority of tumors that can involve the skin. We review the immunoperoxidase techniques, discuss the utility of the most commonly used antibodies, and highlight a number of diagnostic problems in which immunohistochemistry may be very useful. In each case, the goal is to reach a specific and definitive diagnosis. In the first part of this review, we examine the antibodies that determine the different cell-differentiation profiles of skin tumors.

© 2012 Elsevier España, S.L. and AEDV. All rights reserved.

Introducción

La inmunohistoquímica (IHQ) constituye en la actualidad una herramienta diagnóstica fundamental en dermatopatología. Se trata de un grupo de técnicas de inmunotinción que permiten demostrar una variedad de antígenos presentes en las células o los tejidos utilizando anticuerpos marcados. Estas técnicas se basan en la capacidad de los anticuerpos para unirse específicamente a los correspondientes antígenos, y la reacción se hace visible solo si el anticuerpo está marcado con una sustancia que absorbe o emite luz o produce coloración.

En las técnicas de inmunofluorescencia se utilizan como marcadores compuestos de fluoresceína que bajo luz ultravioleta emiten luz de longitud de onda visible, que depende de la naturaleza del compuesto. La inmunofluorescencia directa se utiliza frecuentemente en el diagnóstico de las enfermedades cutáneas, en donde tiene indicaciones muy precisas, como las enfermedades ampollares, las vasculitis o el diagnóstico de determinadas neoplasias. Pese a ser más sensible que la IHQ, la inmunofluorescencia presenta algunos inconvenientes, como son la pérdida de la fluorescencia con el tiempo, la necesidad de una microscopía con luz especializada y la pobreza del detalle morfológico. Además, para documentar cada caso, es necesario fotografiar la reacción.

En las técnicas de inmunoperoxidasa se utilizan como marcadores enzimas capaces de hacer cambiar de color un sustrato incoloro. Por ejemplo, las enzimas más frecuentemente utilizadas son la peroxidasa y la fosfatasa alcalina, y los sustratos más comunes son la diaminobenzidina (color marrón), el aminoetilcarbazol (color rojo) y el nitroazul de tetrazolio (color azul). Estos marcadores pueden unirse (conjugarse) directamente al anticuerpo primario, o indirectamente mediante otros anticuerpos (secundarios) o sustancias como biotina o proteína A. El espectro de anticuerpos disponibles comercialmente crece día a día, y actualmente es posible encontrar marcadores para una amplia gama de antígenos.

A lo largo de los últimos 20 años la incorporación de la IHQ en el proceso de diagnóstico histopatológico se ha incrementado progresivamente y se ha consolidado como una técnica fundamental en la práctica asistencial. En general, y muy especialmente en la patología oncológica, cada vez son más las neoplasias cuyo diagnóstico y clasificación requieren técnicas de IHQ.

De una manera resumida se puede decir que en la actualidad la utilización de técnicas inmunohistoquímicas va dirigida a:

1. Determinar la estirpe o diferenciación de una neoplasia.
2. Precisar el pronóstico de la neoplasia.
3. Diferenciar procesos neoplásicos benignos de malignos.
4. Establecer la arquitectura molecular de un tejido.
5. Detectar agentes infecciosos en las células o tejidos.

En la [tabla 1](#) aparecen clasificados los marcadores inmunohistoquímicos utilizados con mayor frecuencia en dermatopatología, atendiendo al tipo de diferenciación que son capaces de detectar.

Marcadores de estirpe epitelial

Citoqueratinas

Las citoqueratinas (CK) constituyen el mayor grupo de filamentos intermedios y son proteínas filamentosas que, junto con otros filamentos, forman el citoesqueleto de las células eucariotas. Algunas de sus funciones son, por tanto, el mantenimiento de la estructura de la célula epitelial, la protección ante traumatismos y la comunicación entre los componentes citoplasmáticos. Se expresan en pares y tienen patrones de expresión de acuerdo con su localización. Se clasifican numéricamente del 1 al 20, según su peso molecular (PM) y su punto isoelectrico.

Se distinguen 2 grandes grupos de CK: a) CK de epitelios simples (CK7, CK8, CK18, CK19, CK20); y b) CK de epitelios más complejos, como el de la piel (CK5/6, CK10, CK14, CK15). Otro sistema de clasificación distingue entre CK ácidas o tipo I, que generalmente corresponden a CK de bajo PM (CK9-CK20) y CK básicas o tipo II, que generalmente son CK de alto PM (CK1-CK8). Se han desarrollado anticuerpos monoclonales para las distintas CK con diversa especificidad¹ ([tabla 2](#)).

La pan-CK AE1/AE3 es un cóctel de CK que incluye un amplio espectro de PM. Esta CK es muy útil en la identificación de neoplasias de estirpe epitelial, en su clasificación respecto al grado de diferenciación y en la detección de sus micrometástasis. En la piel esta pan-CK marca la epidermis, las glándulas ecrinas y la unidad foliculo-sebáceo-apocrina. La pan-CK AE1/AE3 es capaz de identificar la mayor parte de carcinomas ([fig. 1](#)), incluso aquellos pobremente diferenciados, por lo que es una CK de alta sensibilidad diagnóstica. Reconoce también algunas neoplasias mesenquimales constituidas por células epitelioideas, como el mesotelioma, el sarcoma sinovial o el sarcoma epitelioide, debido a que se trata de neoplasias constituidas por células con una gran cantidad de filamentos intermedios en su citoplasma. La CK

Tabla 1 Marcadores inmunohistoquímicos utilizados con mayor frecuencia en dermatopatología**Diferenciación epitelial***Citoqueratinas**Antígeno epitelial de membrana (EMA)**Antígeno carcinoembrionario (CEA)**Antígeno de la proteína del líquido de la enfermedad quística (gross cyst disease fluid protein [GCDFFP])***Diferenciación mesenquimal***Pan-mesenquimal: vimentina**Muscular*

Actina

Muscular específica

Muscular sarcomérica

Alfa de músculo liso

Caldesmon

Calponina

Desmina

Miogenina

Miosina

Endotelial

CD31

CD34

WT-1

Podoplanina

Lyve-1

Prox-1

VEGFR-3

GLUT-1

FLI-1

ERG

Diferenciación neuroectodérmica*Proteína S100**HMB45**Melana**Enolasa neuronal específica**Neurofilamentos***Diferenciación hematopoyética***Marcadores de estirpe**-Citoqueratinas (AE1/AE3)**-CD45**Marcadores de linaje*

Linaje B

CD20

CD79a

Linaje T

CD45RO

CD3

Linaje NK: CD56

Marcadores de clonalidad

Restricción de cadenas ligeras kappa o lambda

Proliferación monotípica

CD4

CD8

Pérdida de antígenos: CD5, CD7

Coexpresión antigénica: CD4 + CD8, CD20 + CD5,

CD20 + CD43

Tabla 1 (Continuación)

Marcadores de translocación

Bcl-2

ALK

Ciclina D1

Marcadores de activación

CD30

EMA

Marcadores de proliferación

Ki67

Marcadores de origen

Bcl-6

CD10

Marcadores sistema inmune accesorio

CD1a

CD6

AE1 reconoce CK ácidas (CK 10-15-16-19). Es una CK característica de epitelios simples y en la piel solo se expresa en la capa basal de la epidermis^{1,2}. La CK AE3 reconoce CK básicas (CK1-CK8) y es característica de epitelios transicionales y de carcinomas escamosos. Esta citoqueratina se expresa en todo el espesor de la epidermis^{1,2}.

La CK CAM-5.2 reconoce CK de bajo PM en neoplasias glandulares³. Existe controversia en la literatura respecto al tipo de CK reconocidas por la CAM-5.2, ya que en la literatura más antigua se consideraba como marcador de CK 8, 18, 19⁴, pero hoy se sabe que esta CK identifica la CK8 y más débilmente, pero de manera específica, la CK7, pero no la CK18⁵⁻⁷. En la piel normal la CK CAM-5.2 marca las unidades ecrinas y apocrinas, pero no los estratos de epidermis normal. En caso de neoplasias muy indiferenciadas permite establecer su estirpe epitelial, por lo que resulta útil en el diagnóstico diferencial histopatológico entre carcinomas pobremente diferenciados, linfomas, melanomas y sarcomas. Resulta también útil en el reconocimiento de tumores con diferenciación neuroendocrina metastásicos en la piel, como el tumor carcinoide o el carcinoma microcítico de pulmón y en tumores neuroendocrinos primarios cutáneos y sus metástasis, como el tumor de Merkel. Por último, es capaz de diferenciar epitelio glandular de bajo PM en el seno del epitelio epidérmico en las enfermedades de Paget mamaria y extramamaria (fig. 2). Resulta también de gran ayuda en el diagnóstico diferencial histopatológico entre la enfermedad de Paget pigmentada de la mama y el melanoma maligno con células de aspecto pagetoide^{7,8}.

La CK 35BH11 reconoce CK de bajo PM (CK8 y CK18). La CK8 es una CK básica y, junto con la CK18, que es una CK ácida, constituyen probablemente las CK expresadas con más frecuencia dentro de la familia de filamentos intermedios. Se expresan en todos los epitelios simples, incluyendo el epitelio glandular de tiroides, mama, tracto gastrointestinal, tracto respiratorio y tracto urogenital. En el diagnóstico tumoral puede resultar de utilidad para la identificación de adenocarcinomas y carcinomas derivados de epitelio escamoso no queratinizante (fig. 3). En el carcinoma de mama el estudio de la expresión de CK8/18 forma parte de una nueva subclasificación de base molecular con significado pronóstico y predictivo, junto a otros marcadores (receptores de

Tabla 2 Especificidad de las distintas citoqueratinas

Tipo epitelio	Tipo I	Tipo II	Distribución
Epitelio simple	8	18	Células secretoras y parenquimatosas
	7	19	Epitelio ductal y gastrointestinal
		20	Epitelio gastrointestinal, células de Merkel de la piel, papilas gustativas
Epitelio escamoso estratificado	5	14	Células basales de epitelio escamoso y glandular, mioepitelio y mesotelio
		15	Epitelio escamoso
	8	18/19	Epitelio escamoso estratificado no queratinizado
Células suprabasales	1	10/11	Epidermis (compartimiento suprabasal)
		9	Epidermis palmas y plantas
	2e		Epidermis (capas altas)
	2p		Encías y paladar duro
	3	12	Epitelio corneal
	4	13	Epitelio escamoso estratificado, no queratinizado de órganos internos
	6	16,17	Epitelio escamoso hiperproliferativo K17 se expresa típicamente en las células basales de los epitelios complejos

Fuente: Chu PG et al.¹⁴

estrógenos [ER], HER2, CK5/6, E-cadherina, c-Kit y *epidermal growth factor receptor* [EGFR]). En este sentido, se detecta positividad para CK8/18 en los carcinomas ductales de mama, mientras que resulta negativa en los lobulillares.

La CK 34βE12/CK 903 es el marcador más utilizado para identificar CK de alto PM. Reconoce las CK 1, 10 y 14, que se expresan en el epitelio ductal, epitelio escamoso, en células basales y en células mioepiteliales³. Esta CK se expresa en

adenocarcinomas de mama, páncreas, vías biliares y glándulas salivales, así como en carcinomas de células escamosas y de células transicionales. En dermatopatología esta CK es también muy útil para demostrar la naturaleza epitelial de la sustancia amiloide en las papilas dérmicas en casos de amiloidosis maculosa y liquen amiloide (fig. 4). En neoplasias cutáneas esta CK es positiva en el carcinoma espinocelular y en tumores anexiales. Recientemente se ha postulado su

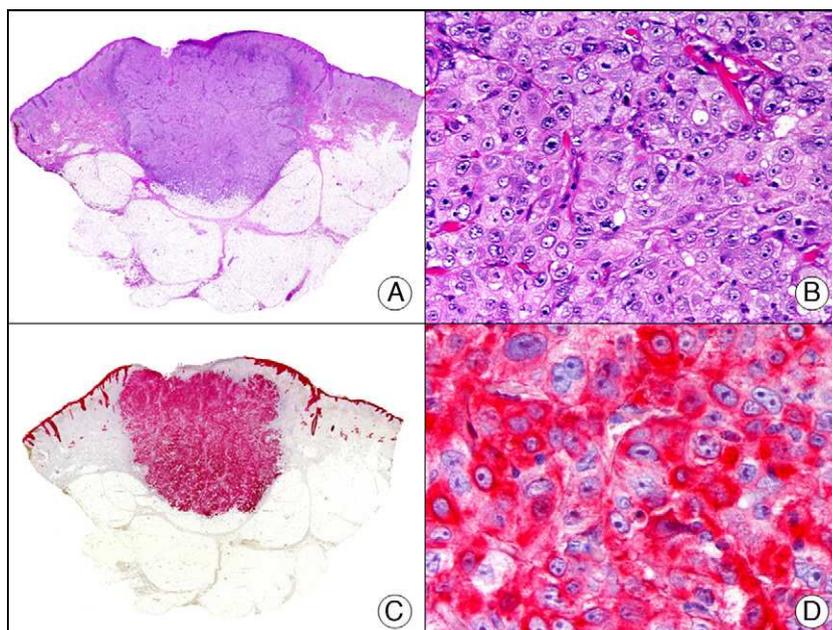


Figura 1 Carcinoma espinocelular. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células neoplásicas mostrando núcleos vesiculosos con nucléolo prominente y amplio citoplasma eosinófilo (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con citoqueratina AE1/AE3. Obsérvese la positividad de la neoplasia, así como del epitelio de la epidermis y los anejos cutáneos de la dermis (x10). D. Detalle a gran aumento de la positividad de las células neoplásicas con la citoqueratina AE1/AE3 (x400).

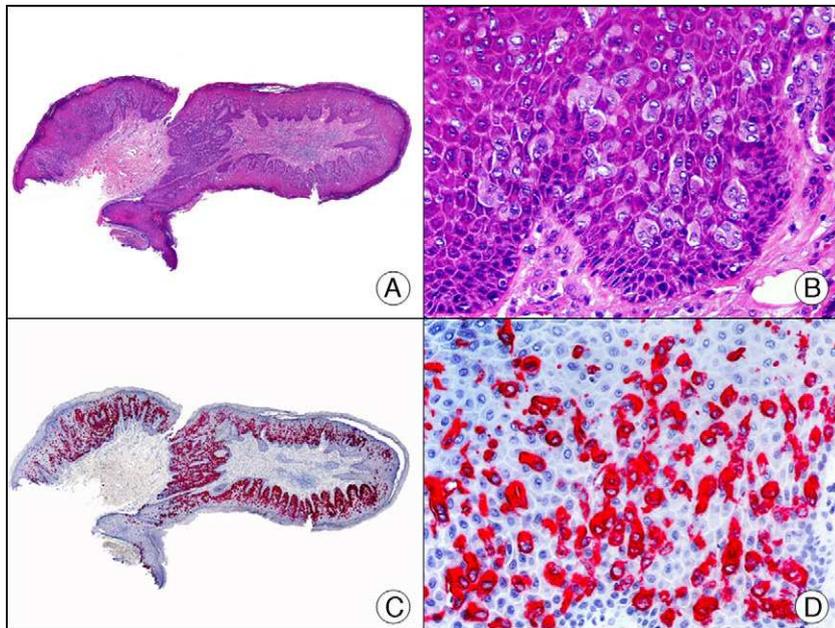


Figura 2 Enfermedad de Paget extramamaria. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle mostrando numerosas células grandes y atípicas, de citoplasma amplio y basófilo, salpicadas como células aisladas en el espesor de la epidermis (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con citoqueratina CAM 5.2 (x10). D. Positividad para la citoqueratina CAM5.2 de las células neoplásicas de la enfermedad de Paget extramamaria, mientras que los queratinocitos de la epidermis permanecen negativos (x400).

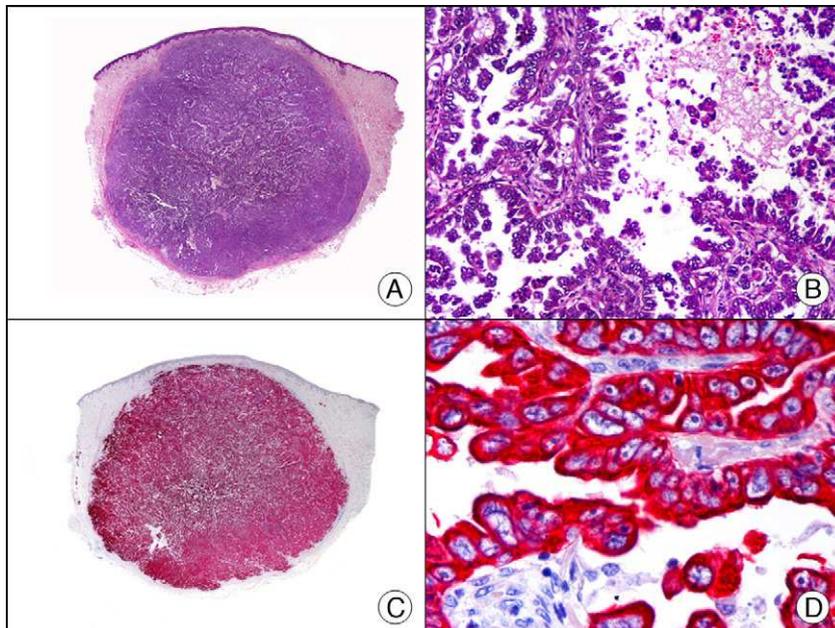


Figura 3 Metástasis cutánea de carcinoma papilar de endometrio. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle a gran aumento mostrando papilas tapizadas por células epiteliales atípicas (x200). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con citoqueratinas 8/18 (x10). D. Detalle de la positividad para citoqueratinas 8/18 de las células neoplásicas (x400).

utilidad en el diagnóstico diferencial entre carcinoma espinocelular atípico y fibroxantoma atípico (FXA)⁹.

La CK MNF116 es otra pan-CK que reconoce las CK 5, 6, 8, 17 y 19. Presenta un patrón amplio de reactividad desde el epitelio glandular simple al epitelio escamoso estratificado. En la piel normal se expresa de forma particularmente intensa en las células basales de la epidermis y en los anejos

cutáneos³. Resulta por tanto positiva en neoplasias epiteliales, tanto benignas como malignas, y negativa en todas las neoplasias mesenquimales y melanocíticas. Es también muy útil en la identificación de algunas variantes histopatológicas poco frecuentes de carcinoma espinocelular indiferenciado, como el carcinoma espinocelular de células fusiformes o el carcinoma espinocelular sarcomatoide^{10,11} (fig. 5).

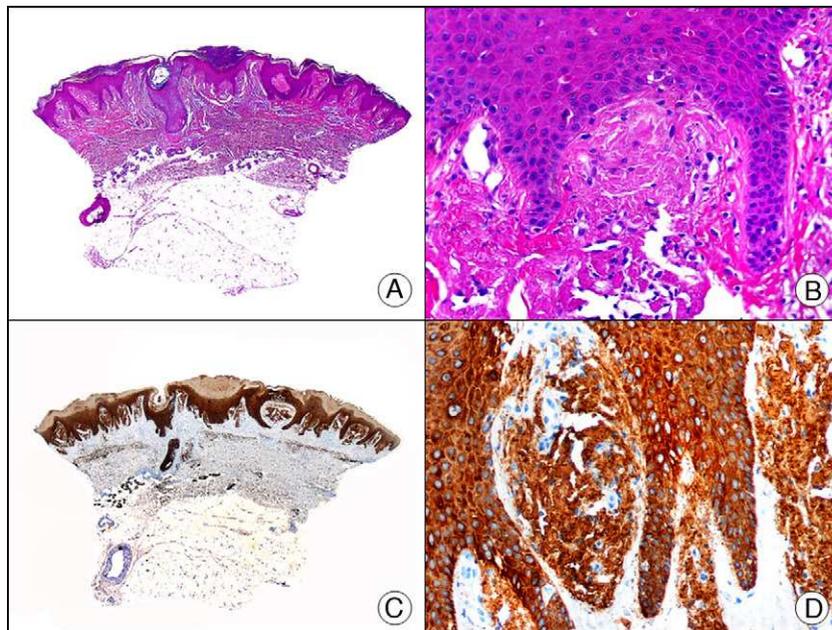


Figura 4 Liquen amiloide. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle mostrando hiperplasia de la epidermis y depósitos de sustancia amiloide en la dermis papilar (x200). C. El mismo caso teñido con citoqueratina 903. Obsérvese la positividad tanto de la epidermis como de la sustancia amiloide de la dermis papilar, demostrando su origen epitelial (x10). D. Detalle de la sustancia amiloide en la dermis papilar con positividad de la citoqueratina 903 (x200).

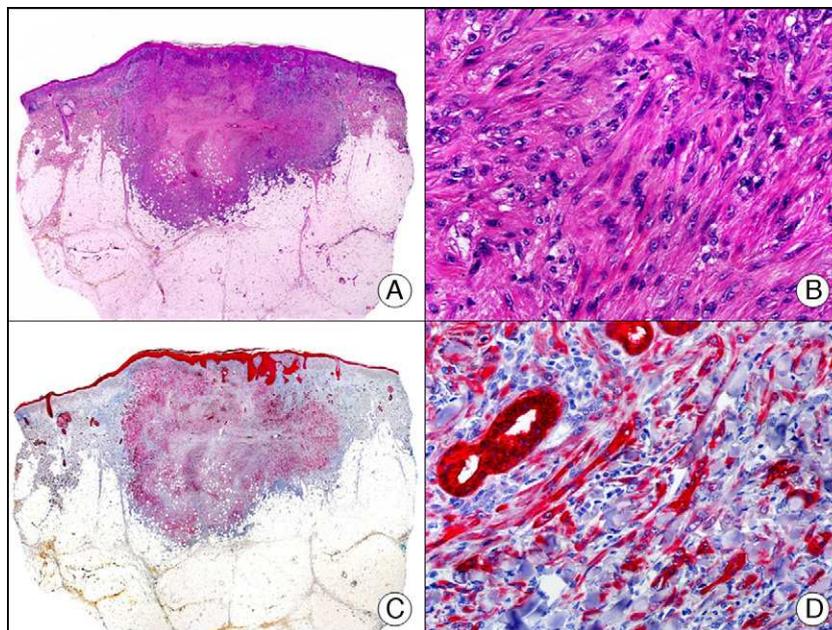


Figura 5 Carcinoma espinocelular muy indiferenciado con apariencia sarcomatoide. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células neoplásicas mostrando una morfología fusocelular y sin evidencia de queratinización (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con pancitoqueratina MNF116. Obsérvese la positividad de la epidermis y del epitelio de los anejos de la dermis como control positivo interno (x10). D. A gran aumento, se observa cómo, además de los ductos eccrinos, algunas células neoplásicas expresan positividad para la pancitoqueratina MNF116 en su citoplasma (x400).

La CK7 está presente en gran variedad de epitelios simples. Los carcinomas espinocelulares cutáneos son habitualmente negativos para esta CK, mientras que los originados en otros epitelios escamosos no queratinizantes, como el cuello uterino, resultan positivos. Es un marcador

muy sensible y bastante específico en la identificación de las células neoplásicas de la enfermedad de Paget mamaria y extramamaria^{3,12,13} (fig. 6).

La CK20 muestra un rango de expresión más restringido que la CK7. Es positiva en carcinoma de células

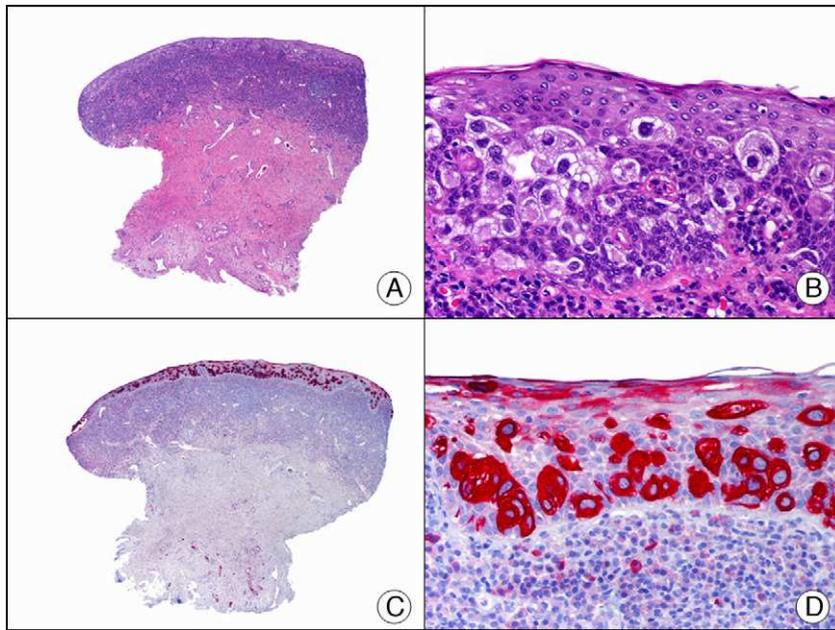


Figura 6 Metástasis epidermotropa de carcinoma de vejiga en la mucosa del glande simulando enfermedad de Paget extramamaria. A. Visión panorámica (x10). B. A mayor aumento se observan células grandes de núcleo pleomórfico y citoplasma amplio salpicadas por todo el espesor del epitelio (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con citoqueratina 7 (x10). D. A mayor aumento, se observa cómo las células neoplásicas intraepiteliales expresan citoqueratina 7 (x400).

transicionales, en el tumor de Merkel (con un patrón muy típico de glóbulo paranuclear) (fig. 7), así como en adenocarcinomas biliares, de páncreas, de colon y de recto, por lo que resulta muy útil en el estudio inmunohistoquímico de neoplasias cutáneas tanto primarias como metastásicas. Su utilidad en el diagnóstico diferencial histopatológico entre

la enfermedad de Paget extramamaria primaria (o verdadera enfermedad de Paget extramamaria) y la secundaria (que consiste en realidad en metástasis epidermotropas que simulan enfermedad de Paget extramamaria) es bastante controvertida, porque parece que marca ampliamente (aunque en menor medida que la CK7) lesiones de ambos

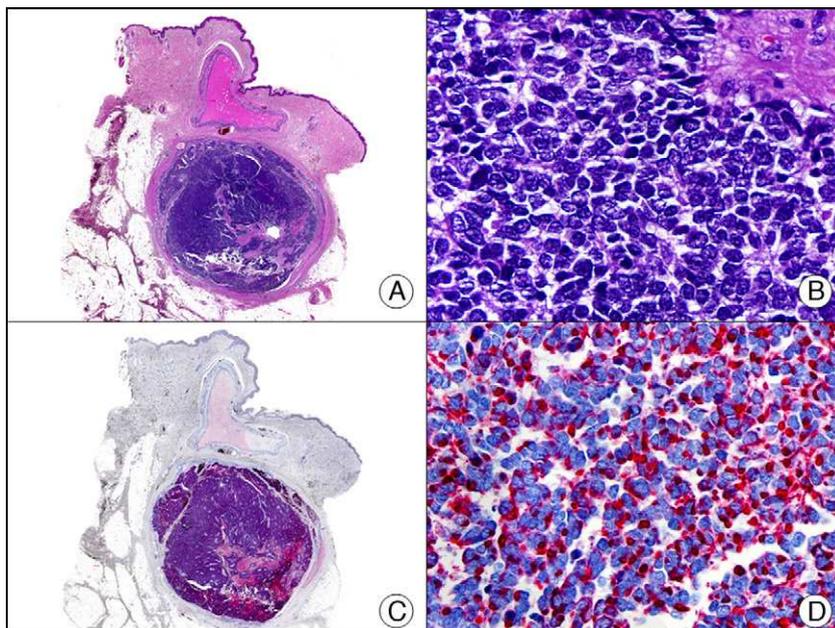


Figura 7 Tumor de Merkel. A. Visión panorámica (x10). B. Características citológicas de las células neoplásicas a gran aumento mostrando su núcleo redondo y basófilo, con cromatina granular y sin nucléolo y escaso citoplasma (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con citoqueratina 20 (x10). D. Detalle a gran aumento de la positividad en el glóbulo paranuclear para la citoqueratina 20 en las células neoplásicas (x400).

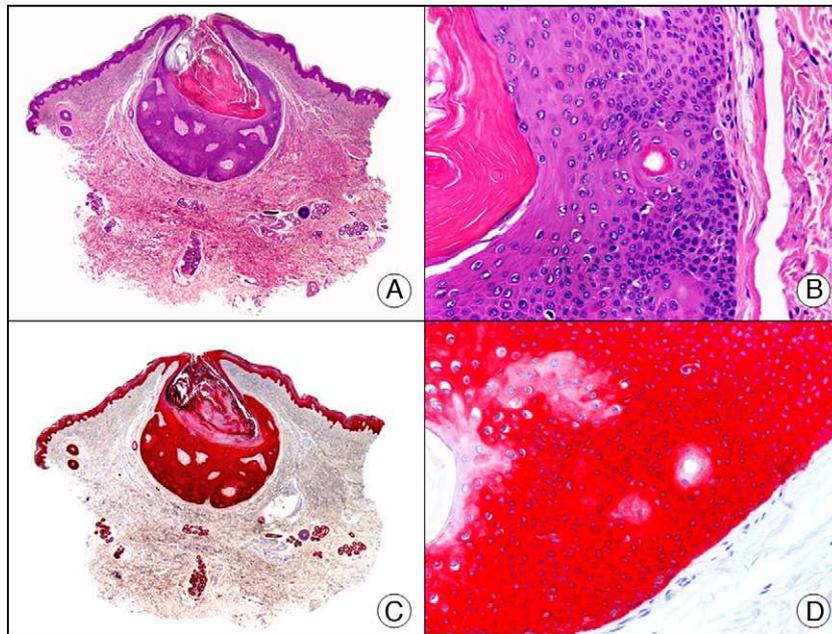


Figura 8 Poroma. A. Visión panorámica (x10). B. A mayor aumento se observa que la mayoría de las células neoplásicas son células poroides, pero también existen algunas células cuticulares alrededor de un pequeño ducto (x200). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con citoqueratinas 5/6 (x10). D. A mayor aumento se observa cómo las células neoplásicas expresan citoqueratinas 5/6 (x200).

procesos¹³. Junto con la CK7 se incluye en los paneles de anticuerpos utilizados para tratar de identificar el tumor primario en las metástasis cutáneas de origen desconocido¹⁰.

La CK5/6 reconoce CK de alto PM. Es un marcador útil de diferenciación escamosa que resulta positivo en la epidermis y en el epitelio de los anejos, así como en múltiples neoplasias anexiales cutáneas, tanto benignas (fig. 8) como

malignas. Parece ser que también se expresa débilmente hasta en el 30% de las metástasis de adenocarcinoma, por lo que posee cierta utilidad en el diagnóstico diferencial histopatológico entre neoplasias cutáneas primarias y metástasis cutáneas de carcinomas viscerales^{3,14}. La mayoría de los mesoteliomas, carcinomas de células escamosas, carcinomas de células basales y carcinomas de células transicionales

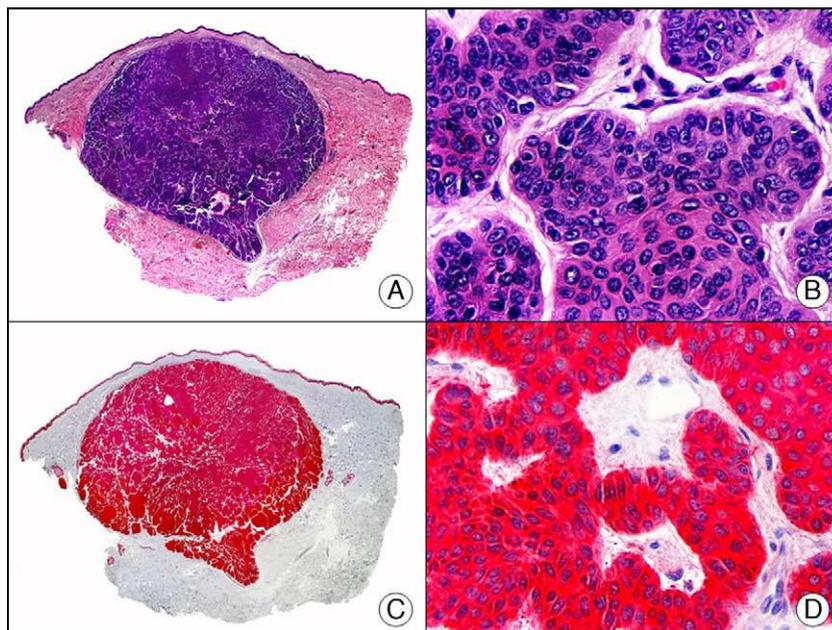


Figura 9 Carcinoma basocelular. A. Visión panorámica (x10). B. A mayor aumento se observan islotes de células basaloides (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con citoqueratina 14 (x10). D. Detalle de la positividad para la citoqueratina 14 de las células neoplásicas (x200).

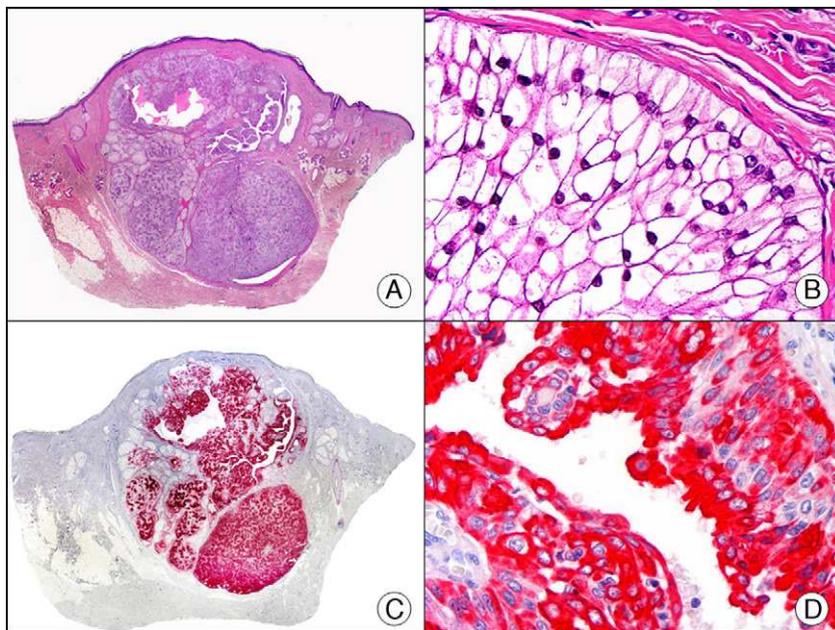


Figura 10 Hidradenoma apocrino de células claras. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle a gran aumento de un agregado de células neoplásicas mostrando su morfología de células claras (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con citoqueratina 8 (x10). D. Detalle de la positividad para citoqueratina 8 de las células neoplásicas (x400).

expresan la CK5/6, mientras que la mayoría de los adenocarcinomas resultan negativos.

La CK14 es positiva en tumores del epitelio epidérmico, como el carcinoma espinocelular y el carcinoma basocelular (fig. 9), así como en neoplasias de epitelio aneural, como el poroma, el adenoma sebáceo, el tumor tricoblastoma proliferante o el tricoblastoma. Sin embargo, resulta negativa en los adenocarcinomas aneurales.

La CK8 resulta negativa tanto en el carcinoma espinocelular como en el carcinoma basocelular y en el mioepitelioma. Sin embargo, esta CK es positiva en algunas neoplasias con diferenciación ecrina y apocrina, como el siringoma o el hidradenoma apocrino (fig. 10).

Otros marcadores epiteliales

El p63 (KET, p73L) es una proteína miembro de la familia p53 de genes supresores tumorales. Tiene la capacidad de actuar como factor de transcripción regulando la progresión del ciclo celular, manteniendo la capacidad proliferativa o induciendo apoptosis, en función del estímulo ambiental recibido por la célula. Se encuentra principalmente en la capa basal del epitelio escamoso estratificado y del epitelio de transición. En la piel se expresa intensamente en el núcleo de las células basales y suprabasales de la epidermis, así como en el de las células mioepiteliales que rodean los ovillos secretores de las glándulas ecrinas y apocrinas. Este marcador está ausente en los fibroblastos dérmicos, las fibras de músculo liso, las células de Schwann y las células endoteliales. También se expresa en las células basales del epitelio del cuello uterino, la vagina, el urotelio, la mucosa bronquial, las glándulas prostáticas y las células mioepiteliales de las glándulas seromucosas (fig. 11). Se ha

observado expresión de p63 en algunos carcinomas escamosos, como los de la piel, el pulmón y el cuello uterino, así como en el carcinoma papilar de tiroides. En el carcinoma escamoso fusocelular pobremente diferenciado, habitualmente negativo para muchas CK, la positividad para p63 es especialmente útil para el diagnóstico y para su diagnóstico diferencial con el FXA, el melanoma fusocelular y el leiomiocarcinoma cutáneo³. La mayoría de los carcinomas aneurales cutáneos y sus metástasis expresan p63, mientras que este marcador es negativo en adenocarcinomas viscerales y sus metástasis cutáneas, con un valor discriminatorio similar al de la podoplanina (D2-40)¹⁵.

El antígeno epitelial de membrana (EMA) es una proteína glucosilada que se expresa en la superficie de varios epitelios glandulares y sus neoplasias. En la piel normal se ha demostrado su presencia en las glándulas sebáceas, tanto en el ducto excretor como en los sebocitos, tiñendo las microvacuolas lipídicas del citoplasma de estos últimos y, por lo tanto, constituye uno de los marcadores inmunohistoquímicos más utilizados en la investigación de diferenciación sebácea en una neoplasia cutánea (fig. 12). En las glándulas ecrinas y apocrinas en la mayoría de los casos se tiñe tanto su porción secretora como su ducto excretor, aunque en algunos estudios el ducto ecrino ha resultado ser EMA negativo¹⁶⁻¹⁹. También se expresa el EMA en las células perineurales. Este antígeno no se expresa en el epitelio escamoso normal, aunque con frecuencia resulta positivo en el carcinoma escamoso^{19,20}. El EMA es también positivo en las células plasmáticas e identifica las células neoplásicas de la enfermedad de Paget extramamaria, diferenciándolas claramente de los queratinocitos epidérmicos vecinos². Por último, este antígeno se ha demostrado en células neoplásicas de proliferaciones de estirpe tan variada como meningiomas, mesoteliomas, muchos tumores

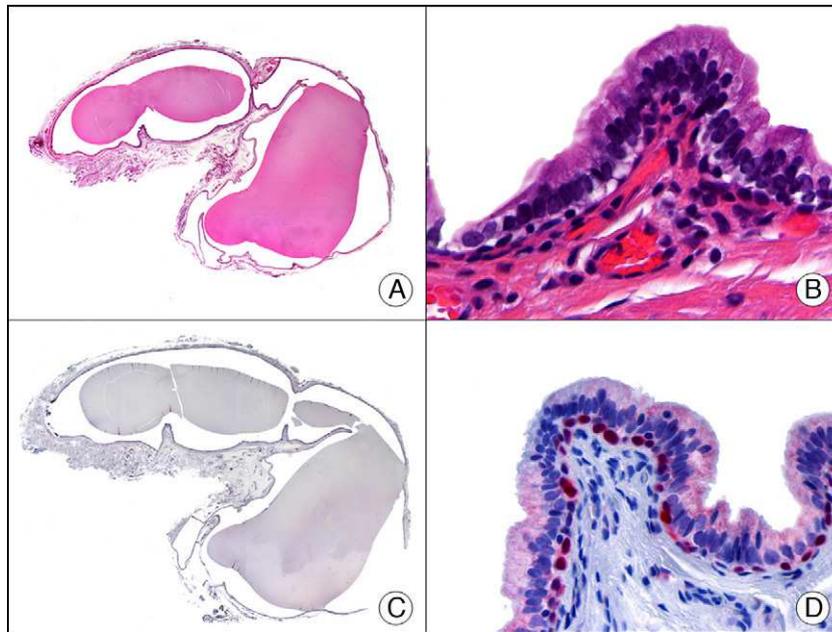


Figura 11 Quiste de prepucio en un recién nacido. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle del epitelio de la pared del quiste con una hilera de células periféricas cuboideas y una hilera luminal de células columnares (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con p63 (x10). D. Detalle a gran aumento donde se observa positividad del p63 en los núcleos de las células de la hilera periférica, que probablemente corresponden a células mioepiteliales (x400).

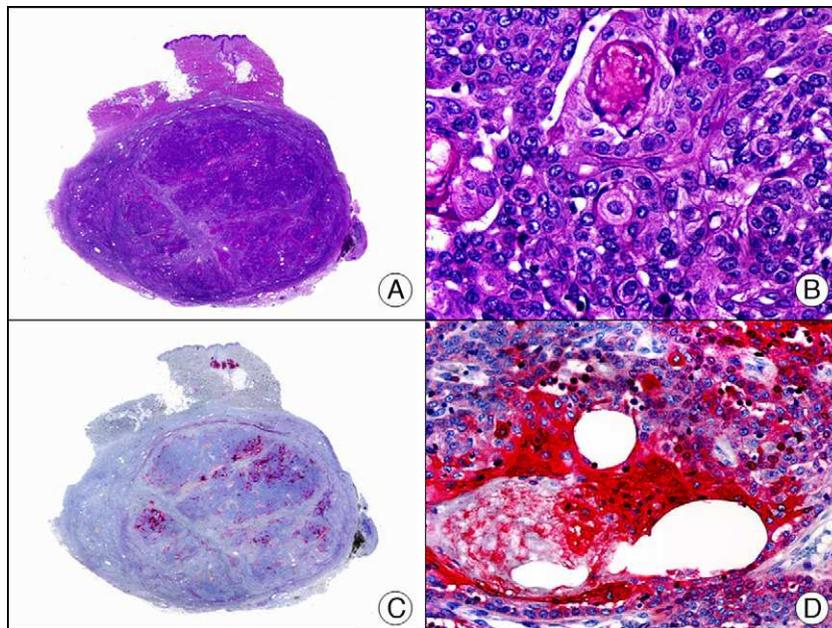


Figura 12 Carcinoma sebáceo. A. Visión panorámica (x10). B. A gran aumento se observan hallazgos indicativos de diferenciación sebácea en forma de sebocitos inmaduros y ductos sebáceos (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con EMA. Obsérvese el control interno positivo de las glándulas sebáceas normales de la dermis (x10). D. Detalle de la positividad para el EMA en las áreas con diferenciación sebácea más evidente (x400).

mesenquimales e incluso algunos linfomas como el linfoma anaplásico de células grandes CD30 positivo.

El antígeno carcinoembrionario (CEA) es otra proteína glucosilada que en la piel normal se encuentra presente en glándulas ecrinas y apocrinas, pero no en las glándulas sebáceas². Dentro de las glándulas ecrinas el CEA se expresa

tanto en su porción secretora como excretora, mientras que en las glándulas apocrinas se observa intensa positividad en la cutícula luminal del ducto excretor, pero con frecuencia la porción secretora resulta CEA negativa²¹. El CEA es un importante marcador de adenocarcinomas, tanto primarios cutáneos (fig. 13), como metástasis cutáneas de

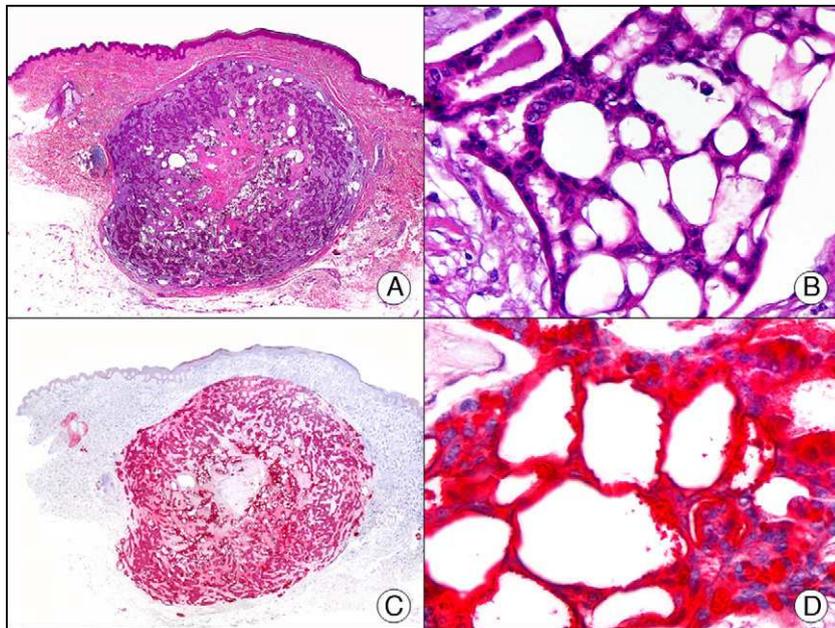


Figura 13 Carcinoma cribriforme primario cutáneo. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle del patrón cribriforme de los islotes epiteliales de la neoplasia (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con CEA (x10). D. Detalle de la positividad para el CEA de las células neoplásicas (D x400).

adenocarcinomas viscerales, y también se expresa en las células neoplásicas de la enfermedad de Paget mamaria y extramamaria⁸.

La proteína del líquido de la enfermedad quística (*gross cystic disease fluid protein* [GCDFP]) está constituida por una familia de proteínas originalmente aisladas del fluido de la mastopatía fibroquística. Tanto el borde luminal de las estructuras tubulares secretoras, como los ductos

excretorios de las glándulas ecrinas y apocrinas muestran intensa inmunoreactividad para este marcador². Se ha observado también expresión variable de este marcador en muchas neoplasias ductales y secretoras, con diferenciación ecrina y apocrina (fig. 14), así como en las células neoplásicas de la enfermedad de Paget mamaria y extramamaria^{12,22}.

La calretinina es una proteína fijadora de calcio de 32-kDa que pertenece a la familia de proteínas EF, que son

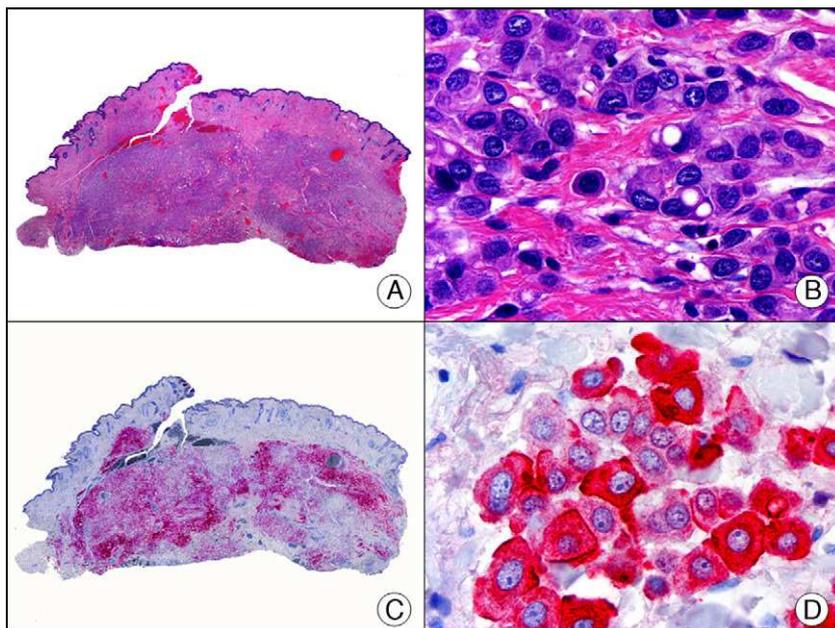


Figura 14 Carcinoma de células histiocitoides primario de párpado. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle del aspecto histiocitoides de las células neoplásicas. Algunas células muestran vacuolización citoplasmática (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con GCDFP-15 (x10). D. Detalle de la positividad para GCDFP-15 en las células neoplásicas (x400).

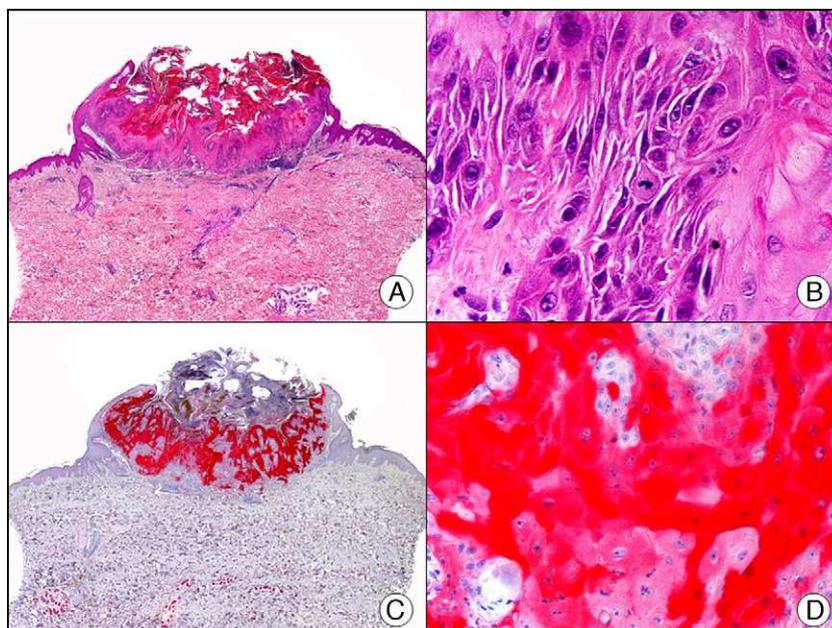


Figura 15 Queratoacantoma. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células neoplásicas (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con calretinina (x10). D. Detalle a gran aumento de la positividad para calretinina en las células neoplásicas (x400).

proteínas cuya secuencia de aminoácidos se pliega para formar una estructura helicoidal en lazo. La estructura de la calretinina se caracteriza por poseer 6 dominios EF y 5 puntos fijadores de calcio. Su principal función es la de actuar como tampón, previniendo la excesiva acumulación de calcio intracelular. La expresión de calretinina se ha demostrado en distintas fases del ciclo celular en una amplia variedad de tejidos normales y neoplásicos. En la piel normal se expresa en la denominada capa acompañante, que

es la capa más interna de la vaina radicular externa del folículo piloso, en el conducto sebáceo y en la porción secretora de las glándulas eccrinas, mientras que la porción secretora de las glándulas apocrinas, así como los ductos excretores eccrinos y apocrinos son calretinina negativos²³⁻²⁵. En neoplasias cutáneas se observa positividad para la calretinina en proliferaciones que muestran diferenciación hacia la vaina radicular externa del folículo piloso (diferenciación tricolémica), diferenciación sebácea ductal y diferenciación

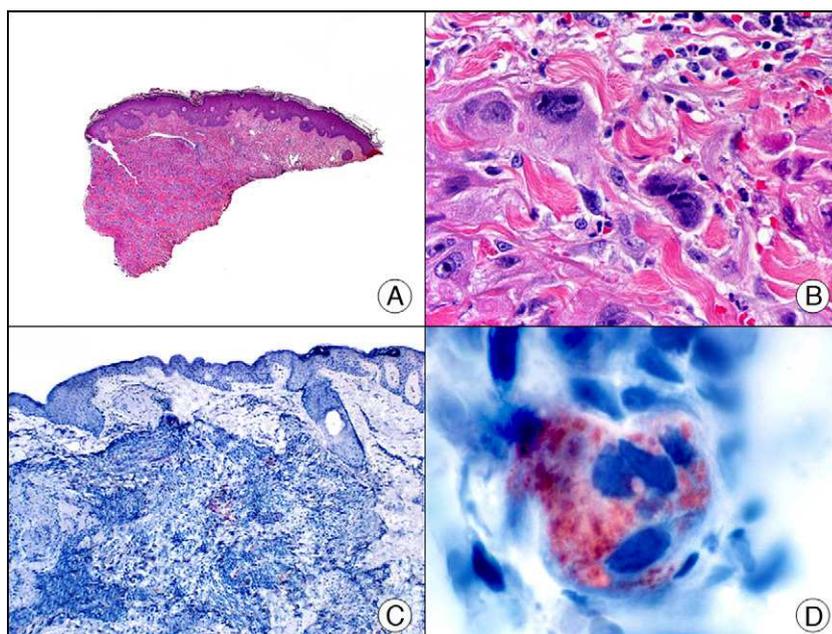


Figura 16 Metástasis cutánea de coriocarcinoma de testículo. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células de sincitiotrofoblasto (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con beta-gonadotropina coriónica (x40). D. Detalle de la positividad para beta-gonadotropina coriónica en las células del sincitiotrofoblasto (x400).

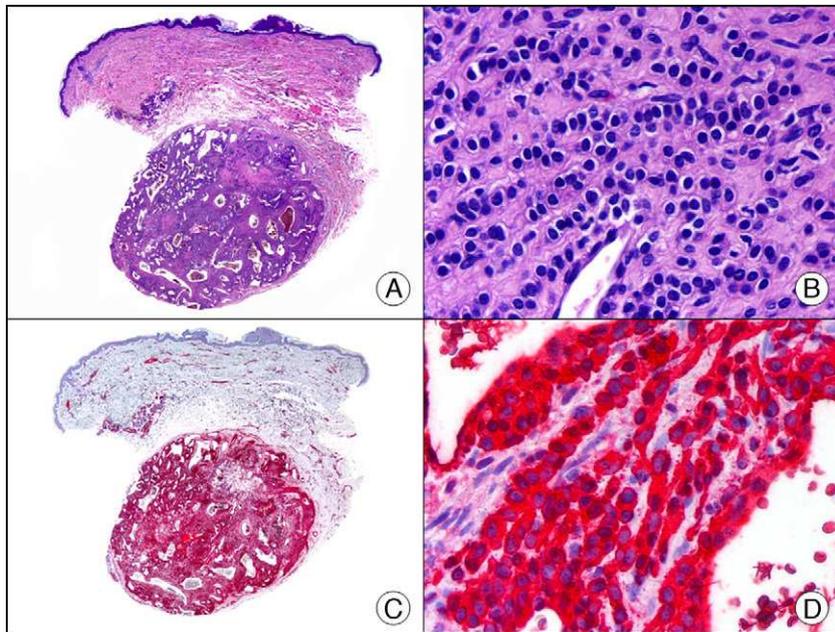


Figura 17 Glomangioma cutáneo. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle a gran aumento de las células neoplásicas alrededor de las luces vasculares mostrando su núcleo redondo y monomorfo y escaso citoplasma (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con actina alfa de músculo liso (x10). D. Detalle de la positividad de las células neoplásicas para la actina alfa de músculo liso (x400).

secretora ecrina, como el tumor mixto ecrino²³⁻²⁵. Curiosamente, las células neoplásicas de proliferaciones cutáneas tan dispares como el tumor de células granulosas, el queratoacantoma (fig. 15) y el carcinoma espinocelular también muestran intensa positividad para la calretinina.

La gonadotropina coriónica humana es una glucoproteína de 40 kDa. Está compuesta por una subunidad alfa y otra beta. La subunidad beta (β HCG) es secretada por la placenta y normalmente es detectable en sangre solo durante la gestación. La β HCG es el marcador más importante de las células trofoblásticas gestacionales, está presente en las células del sincitiotrofoblasto y células del trofoblasto intermedio, pero ausente en el citotrofoblasto. Este marcador tiñe de forma intensa y difusa las células sincitiotrofoblásticas del coriocarcinoma (fig. 16). La expresión de β HCG en otros tumores no trofoblásticos puede indicar un comportamiento agresivo de los mismos²⁶.

Marcadores de diferenciación mesenquimal

La vimentina está presente prácticamente en todas las células embrionarias y en la mayoría de células adultas, sea cual sea su estirpe, en cultivos celulares. Durante la embriogénesis este filamento es reemplazado progresivamente por filamentos intermedios específicos para cada línea celular, pero se mantiene en las células mesenquimales. En la piel normal este marcador se expresa en los melanocitos de la unión dermo-epidérmica, así como en los fibroblastos, dendrocitos, vasos sanguíneos y linfáticos, músculo liso de la dermis y los adipocitos de la hipodermis. En oncología la expresión de vimentina se ha demostrado en todo tipo de sarcomas, melanomas, carcinomas fusocelulares y algunos no fusocelulares¹. Además también son vimentina

positivos la mayoría de mesoteliomas y gliomas. En dermatopatología resulta útil para demostrar diferenciación mesenquimal o para apoyar el diagnóstico de diferenciación melanocítica en melanomas amelanóticos pobremente diferenciados². Esta expresión tan ubicua de la vimentina ha determinado que cada vez tenga menos valor diagnóstico por su escasa especificidad. Sin embargo, teniendo en cuenta su alta sensibilidad, algunos autores defienden la utilidad de la vimentina para establecer la idoneidad de un determinado tejido para su estudio con otros marcadores inmunohistoquímicos, ya que la positividad para la vimentina indica que los antígenos presentes en el tejido están bien conservados.

Marcadores de diferenciación muscular

La actina de músculo liso, como marcador individual, resulta el tipo de actina más útil en el diagnóstico histopatológico. Se expresa en el músculo liso, los miofibroblastos, los pericitos, las células glómicas y las células mioepiteliales, y es por tanto un marcador muy sensible para detectar diferenciación hacia músculo liso y miofibroblástica en tumores cutáneos^{1,2} (fig. 17). Sin embargo, como sucede con otros marcadores, la actina de músculo liso también está presente en otros muchos tumores no musculares de partes blandas.

La desmina es un filamento intermedio que se encuentra en las células de origen muscular, ya sea esquelético, cardíaco o liso, así como en fibroblastos submesoteliales, en algunas células dendríticas ganglionares y en las células del estroma endometrial. Se considera específica de diferenciación muscular, especialmente hacia músculo esquelético o estriado e identifica tanto tumores benignos (leiomiomas [fig. 18], rabdomiomas) como malignos (leiomiomas, rabdomiomas). La intensidad de expresión de desmina

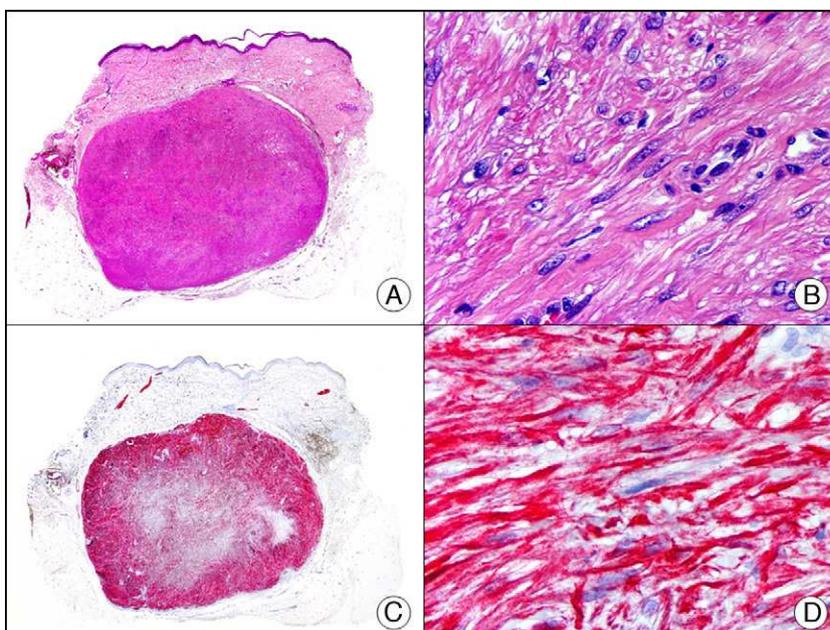


Figura 18 Angioleiomioma cutáneo. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle a gran aumento de las células neoplásicas mostrando núcleo alargado de extremos romos y citoplasma eosinófilo (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con desmina (x10). D. Detalle de la positividad de las células neoplásicas para la desmina (x400).

también varía de unos tejidos musculares a otros, siendo por ejemplo mucho más intensa en el músculo uterino que en el músculo cutáneo erector del pelo. Puede observarse también una tinción débil y focal para desmina en proliferaciones con diferenciación miofibroblástica, como en la fibromatosis, el dermatofibrosarcoma protuberans y algunos ejemplos de fibrohistiocitoma maligno. Por lo tanto, puede resultar útil para diferenciar tumores de músculo liso y tumores de origen miofibroblástico, ya que generalmente en estos últimos la tinción con desmina suele ser muy débil o es inexistente¹.

El caldesmón es una proteína asociada al citoesqueleto que se encuentra en células musculares y se encarga de inhibir las contracciones calcio-dependientes del músculo liso. Existe una forma de bajo PM presente en múltiples tipos celulares y una forma de alto PM en principio restringida al músculo liso visceral y vascular y células mioepiteliales. Las células mioepiteliales muestran una tinción variable, mientras que una serie de proliferaciones de supuesta diferenciación mioepitelial estudiadas por Watanabe et al. resultaron todas negativas²⁷. Este marcador parece ser más específico para identificar músculo liso que la actina muscular específica, la desmina y la actina alfa de músculo liso. En dermatopatología su principal utilidad reside en la distinción entre verdaderos tumores de músculo liso (fig. 19) y tumores miofibroblásticos²⁸. También marca intensamente las células glómicas de los tumores glómicos y de las malformaciones glomo-venosas.

La calponina es una proteína tipo calmodulina específica del músculo liso que se une fuertemente a la actina de forma calcio independiente, y que parece estar implicada en la regulación de la contracción de estas fibras. En inmunohistoquímica es un marcador indicador de diferenciación hacia músculo liso (parenquimal y vascular), pero se ha demostrado también en miofibroblastos de estroma desmoplásico,

en el histiocitoma fibroso angiomatoide (maligno), en las células mioepiteliales de los tumores de glándulas sudoríparas (fig. 20) y salivales, del mioepitelioma y del carcinoma mioepitelial de partes blandas. También se ha descrito inmunorreactividad para la calponina en las células proliferantes de neoplasias de estirpe muy variada, incluyendo el neurotecoma, los tumores glómicos, el miofibrosarcoma de hueso e incluso, de manera focal, en el sarcoma sinovial^{29,30}.

La miogenina es una proteína humana con un importante papel en la regulación de la diferenciación del tejido muscular. Pertenecer a una familia de proteínas conocidas como factores reguladores miogénicos (MRF). Son factores de transcripción con dominios hélice-bucle-hélice básicos que actúan secuencialmente en el proceso de diferenciación miogénica. Entre los miembros de la familia MRF cabe destacar MyoD, Myf5, miogenina y MRF4 (Myf6). La expresión de miogenina está restringida a las células del músculo esquelético y parece ser inversamente proporcional al grado de diferenciación celular. Se ha descrito expresión de miogenina en algunos rhabdomiomas (fig. 21), así como en casos de fibromatosis y miofibromatosis infantil, en algunos sarcomas sinoviales y en leiomiomas³¹.

La miosina es una proteína fibrosa implicada en la contracción muscular en interacción con la actina. Es la proteína más abundante del músculo esquelético, ya que representa entre el 60 y 70% de las proteínas totales del músculo, y es el mayor constituyente de los filamentos gruesos. La miosina es por tanto un marcador muy útil para establecer diferenciación hacia músculo liso y estriado.

Marcadores de diferenciación endotelial

El CD31 es una glucoproteína transmembrana que se expresa en todos los endotelios continuos (arterias, arteriolas,

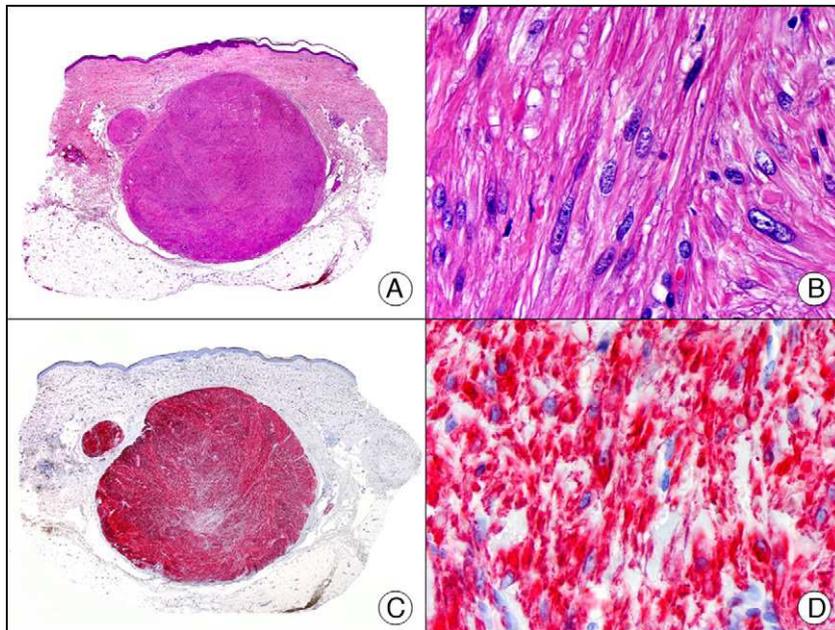


Figura 19 Angioleiomioma cutáneo. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle a gran aumento de las células neoplásicas mostrando núcleo alargado de extremos romos y citoplasma eosinófilo (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con caldesmón (x10). D. Detalle de la positividad de las células neoplásicas con caldesmón (x400).

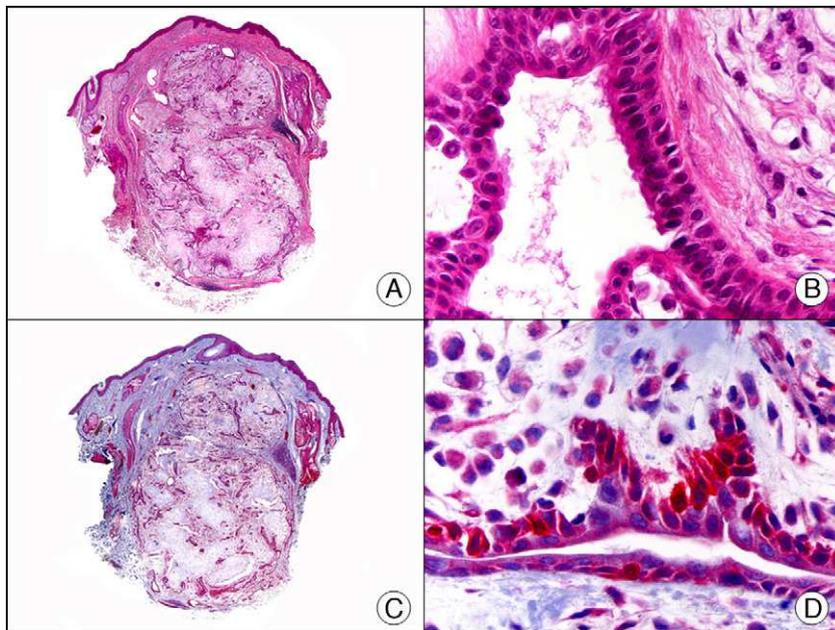


Figura 20 Tumor mixto apocrino. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle a gran aumento de las estructuras ductales alargadas tapizadas por una doble hilera de células (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con calponina (x10). D. Detalle de la positividad para calponina de las células de la hilera periférica que tapiza los ductos, apoyando su naturaleza mioepitelial (x400).

vénulas, venas y capilares no sinusoidales), así como en las células endoteliales discontinuas de los vasos linfáticos y en macrófagos y plaquetas. Esta glucoproteína está implicada en la unión entre células endoteliales y entre estas y los linfocitos. Resulta el marcador más sensible y específico para establecer diferenciación endotelial. En la práctica identifica las células neoplásicas de la gran mayoría de tumores vasculares benignos (fig. 22), así como más del

90% de los hemangioendoteliomas y angiosarcomas. Resulta también muy útil para evaluar la angiogénesis tumoral. Sin embargo, la expresión de CD31 en los macrófagos existentes en el estroma de tumores, tanto vasculares como no vasculares, puede dar lugar a confusión y llevar a diagnósticos erróneos³².

El CD34 es una sialomucina cuya síntesis está codificada por un gen situado en el cromosoma 1q32. Se

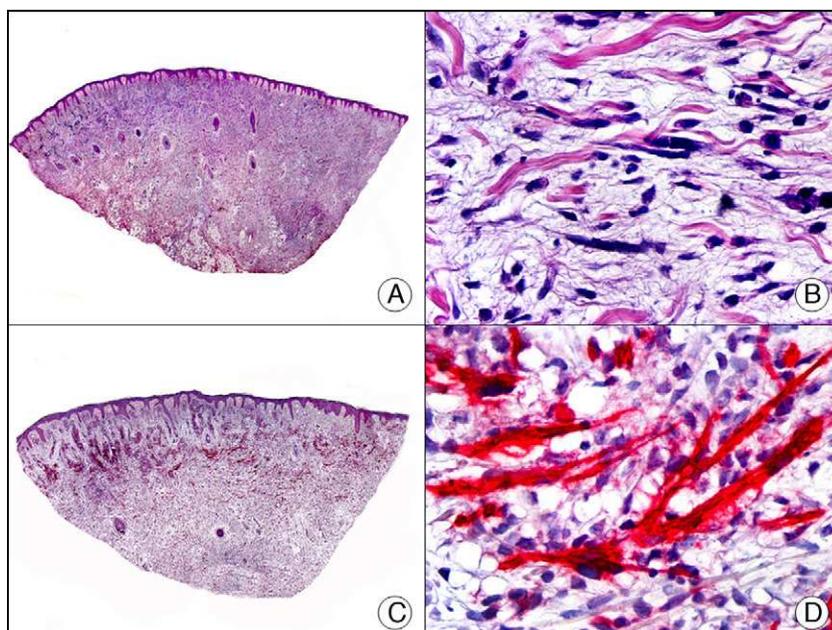


Figura 21 Rbdomiosarcoma cutáneo. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células neoplásicas mostrando un núcleo atípico, alargado e hiper cromático (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con MyoD (x10). D. Detalle de la positividad de las células neoplásicas con MyoD (x400).

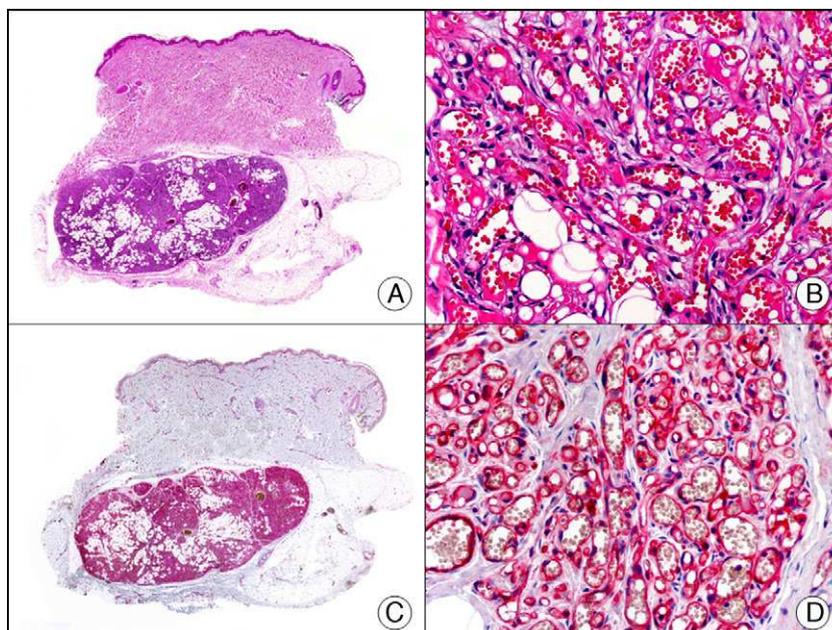


Figura 22 Hemangioma infantil en el tejido celular subcutáneo. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle a gran aumento de los vasos capilares tapizados por las células endoteliales monomorfas y sin atipia (x200). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con CD31 (x10). D. Detalle de la positividad para el CD31 de las células endoteliales que tapizan las luces de los capilares (x200).

encuentra en las células endoteliales, en células precursoras del sistema hematopoyético y en fibroblastos dendríticos. Se emplea principalmente como marcador endotelial y en el diagnóstico diferencial de tumores de partes blandas. Se expresa en el 90% de las neoplasias endoteliales benignas o malignas, siendo un marcador muy sensible para identificar las células neoplásicas del sarcoma de Kaposi y diferenciarlo de lesiones de pseudokaposi en la acroangiodermitis

secundaria a insuficiencia venosa crónica de las extremidades inferiores³³. Sin embargo, la expresión de CD34 no es exclusiva de proliferaciones de células endoteliales, ya que también se observa positividad en las células neoplásicas del sarcoma epiteloide, el dermatofibrosarcoma protuberans (resultando de utilidad para el diagnóstico diferencial histopatológico con el dermatofibroma), en el fibroma dérmico en placa (previamente denominado hamartoma en medallón)

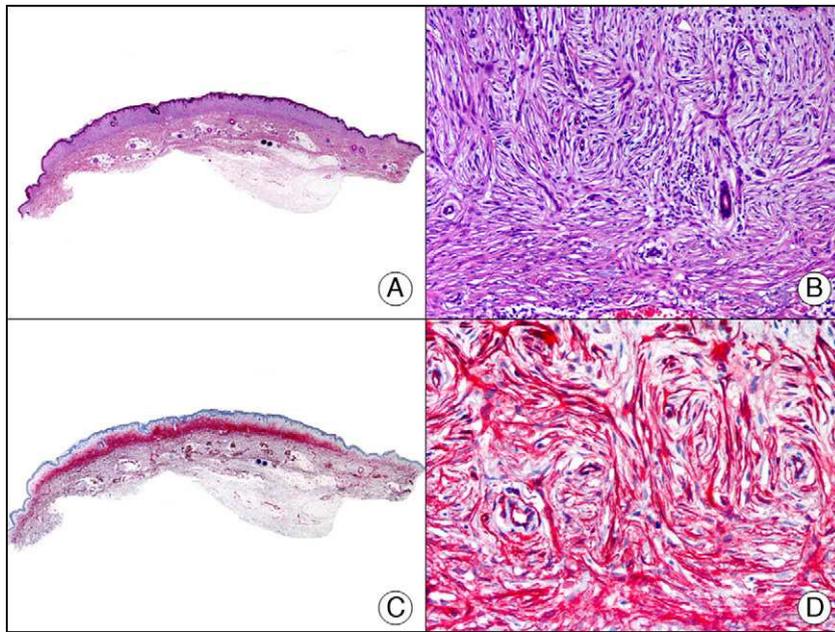


Figura 23 Fibroma dérmico en placa. A. Visión panorámica mostrando una lesión con infiltración horizontal de la dermis superficial (x10). B. A gran aumento se observa que la lesión está constituida por células fusiformes dispuestas en remolinos alrededor de los vasos (x200). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con CD34 (x10). D. Detalle de la positividad para el CD34 de las células neoplásicas (x200).

(fig. 23), el leiomioma, el lipoma de células fusiformes, el tumor fibroso solitario, la pápula fibrosa nasal, el neurofibroma, la fibromatosis extraabdominal y otras muchas proliferaciones de estirpe no endotelial³⁴.

En dermatopatología se ha propuesto también su utilidad para diferenciar histopatológicamente un tricoblastoma de un carcinoma basocelular, ya que se observa positividad de

este marcador en los fibrocitos del estroma del tricoblastoma, pero no en los del carcinoma basocelular³⁵⁻³⁸. Algunas proliferaciones con diferenciación hacia la vaina radicular externa del folículo piloso, como el tricolemoma^{39,40}, el tricolemoma desmoplásico^{39,41}, la queratosis tricolemal⁴² y el tumor tricolemal proliferante⁴⁰ han mostrado también grados variables de positividad para el CD34 en las células

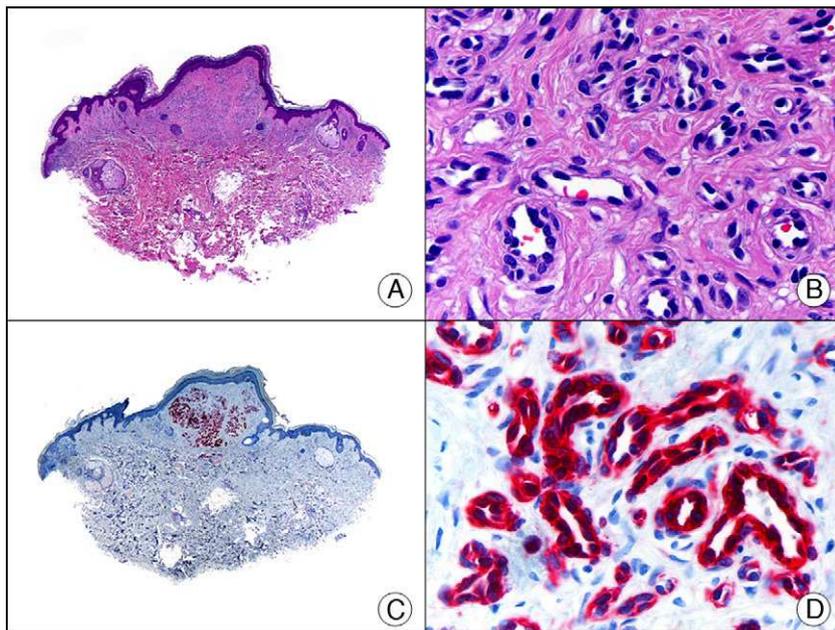


Figura 24 Hemangioma capilar lobulillar. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de los capilares tapizados por células endoteliales que constituyen la lesión (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con WT1 (x10). D. Detalle de la positividad para el WT1 en el núcleo de las células endoteliales proliferantes (x400).

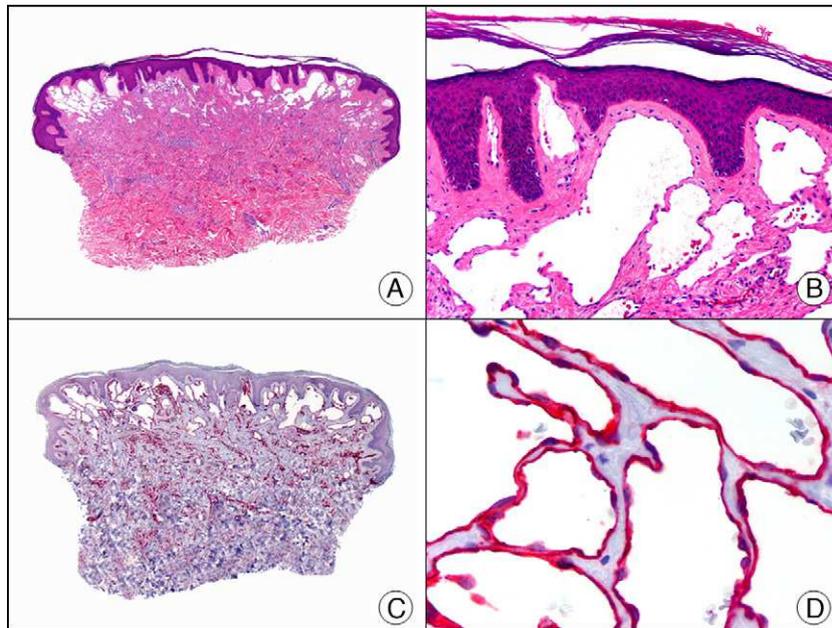


Figura 25 Malformación linfática superficial. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de los vasos dilatados de pared fina y tapizados por una hilera discontinua de células endoteliales aplanadas que ocupan la dermis superficial (x200). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con podoplanina (x10). D. Detalle de la positividad para la podoplanina en el citoplasma de las células endoteliales (x200).

epiteliales proliferantes. En contraste, el CD34 es negativo en otros carcinomas anexiales cutáneos y la mayoría de las neoplasias de naturaleza epitelial¹.

El anticuerpo monoclonal WT-1 (*Wilms' tumor 1 protein*) identifica un factor de transcripción codificado por un gen localizado en el cromosoma 11p13, que participa en la regulación de la transcripción de otros genes y puede funcionar como activador y como represor de la transcripción. Se detecta por inmunohistoquímica en el núcleo de células normales de estirpe muy variada, como el epitelio glomerular, las células gonadales en desarrollo, las células de Sertoli, las células epiteliales y las células de la granulosa del ovario, así como en células de neoplasias tan dispares como leucemias, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de mama, tumores cerebrales y tumores desmoides. En dermatopatología resulta de gran utilidad como marcador para diferenciar neoplasias vasculares de malformaciones vasculares⁴³, ya que esta proteína se expresa en el endotelio proliferante estimulado por angiopoyetina 2 de las hiperplasias y neoplasias vasculares (fig. 24); sin embargo, resulta negativo en las células endoteliales no proliferantes de malformaciones vasculares, ya que defectos en la señal de WT-1 indican la incapacidad de estas células para llevar a cabo la apoptosis y el remodelamiento fisiológico^{44,45}. Además, se ha estudiado la expresión de este marcador en proliferaciones melanocíticas, y en estudios recientes se ha observado que el WT-1 se expresa en el citoplasma de los melanocitos proliferantes tanto de nevos melanocíticos como de melanomas, pero la tinción es más intensa en el citoplasma de las células neoplásicas de melanomas en estadios más avanzados, confiriendo por tanto a los tumores melanocíticos positivos para el WT-1 un peor pronóstico⁴⁶.

La podoplanina es una sialoglicoproteína de superficie que se detecta por inmunohistoquímica en diversos tipos

celulares, incluyendo el endotelio linfático, las células germinales testiculares, las células dendríticas foliculares, las células intersticiales de Cajal, las células mioepiteliales y las células basales de epitelio glandular. Como marcador endotelial se expresa en el citoplasma de las células del endotelio linfático del tejido sano y de malformaciones linfáticas (fig. 25), pero además su positividad apoya una diferenciación hacia el endotelio linfático de una serie de proliferaciones vasculares de histogénesis controvertida, como el sarcoma de Kaposi, el angioendotelio papilar intralinfático (PILA) o tumor de Dabska, el hemangioendotelio epitelioide y el hemangioma de células en tacha. Se expresa también en las células neoplásicas de la mayoría de los angiosarcomas cutáneos en todas sus variantes clinicopatológicas (el de cara y cuero cabelludo en ancianos, el asociado a linfedema crónico, el secundario a radioterapia y el de células epitelioides). Se utiliza también para demostrar la naturaleza linfática de los vasos conteniendo células neoplásicas en su luz en émbolos tumorales, tanto de tumores cutáneos primarios como de metástasis cutáneas. También es útil para diferenciar histopatológicamente neoplasias cutáneas primarias, especialmente adenocarcinomas anexiales, de metástasis cutáneas de adenocarcinomas de vísceras internas, ya que la podoplanina se expresa en las células neoplásicas de los primeros, pero no de los segundos^{47,48}. Por último, estudios recientes han propuesto utilizar este marcador junto con otros marcadores endoteliales, como Lyve-1 y CD31 en la predicción de metástasis en el ganglio centinela de melanomas, valorando la invasión intralinfática del tumor primario⁴⁹.

El Lyve-1 o factor de transcripción nuclear del endotelio linfático es un receptor de hialuronidasa cuya expresión está prácticamente limitada al endotelio linfático. Su función no está totalmente aclarada, pero parece estar relacionado

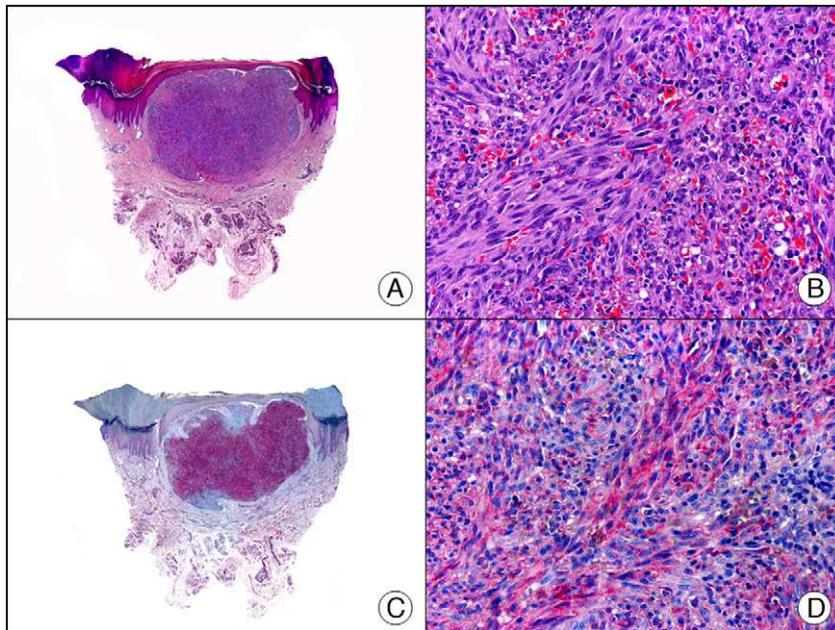


Figura 26 Sarcoma de Kaposi en fase nodular. A. Visión panorámica (x10). B. A mayor aumento se observan fascículos de células fusiformes y pequeños espacios vasculares ocupados por hematíes (x200). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con Lyve-1 (x10). D. Positividad para el Lyve-1 en las células neoplásicas (x200).

con el transporte e intercambio de la hialuronidasa o con la localización de esta enzima en la superficie del endotelio linfático. El Lyve-1 se expresa en ambas superficies, luminal y abluminal del endotelio linfático y también en los sinusoides hepáticos. Varios estudios han demostrado su utilidad no solo para identificar tejido linfático, sino también linfangiogénesis, principalmente en enfermedades inflamatorias de la córnea y la piel. También se ha utilizado como marcador de linfangiogénesis en distintas neoplasias, teniendo por tanto valor no solo en el diagnóstico, sino también en el pronóstico de estas proliferaciones⁴⁹. En dermatopatología su utilidad es similar a la de la podoplanina (fig. 26), aunque el Lyve-1 es menos específico, ya que también se expresa en macrófagos y adipocitos. Ambos marcadores pierden intensidad en la tinción de endotelio de vasos linfáticos de gran calibre⁵⁰.

El Prox-1 es un factor de transcripción nuclear que desempeña un papel fundamental durante la linfangiogénesis embrionaria. Como marcador inmunohistoquímico resulta muy útil en la diferenciación de células endoteliales linfáticas de células endoteliales sanguíneas, ya que en la piel y mucosa sanas el Prox-1 marca de forma específica el núcleo de las células endoteliales linfáticas (fig. 27), pero no el de células de endotelio sanguíneo. A pesar de ser altamente específico de endotelio linfático, el Prox-1 se expresa también en otras células no endoteliales, como hepatocitos y células del sistema nervioso central, por lo que es recomendable utilizarlo conjuntamente con otros marcadores endoteliales como el CD31 y el VEGFR3⁵¹. El Prox-1 se incluye por tanto en el panel de diagnóstico inmunohistoquímico de múltiples neoplasias y malformaciones de naturaleza vascular^{52,53}.

El VEGFR3 es un receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular, que inicialmente se expresa en el

endotelio de los vasos sanguíneos embrionarios, y posteriormente su expresión queda restringida prácticamente a los vasos linfáticos⁵³. Este marcador posee una relativa especificidad para el endotelio linfático, aunque algo menor que la demostrada por la podoplanina, el Lyve-1 y el Prox-1, ya que algunas proliferaciones de endotelio sanguíneo también pueden expresar VEGFR3⁵⁴. Sin embargo, el VEGFR3 es muy sensible para este tejido, con una sensibilidad similar a la del Prox-1, pero superior a la de la podoplanina⁵⁵.

El GLUT-1 es un anticuerpo similar al transportador de glucosa en los hematíes que tiñe la membrana citoplasmática de células endoteliales de algunos tejidos barrera, como la barrera hematoencefálica y la placenta. Es especialmente útil en la identificación de la célula endotelial proliferante de los hemangiomas infantiles (fig. 28), marcando específicamente el endotelio de estas lesiones en todas sus fases evolutivas. Sin embargo, está ausente en el endotelio de malformaciones vasculares, así como en el de algunas hiperplasias vasculares, como granulomas piogénicos y tejido de granulación. Tampoco se expresa en el endotelio de algunos raros hemangiomas infantiles congénitos, ya sean rápidamente involutivos (RICH) o no (NICH)³. Curiosamente, el GLUT-1 constituye un excelente marcador de las células neoplásicas del perineuroma cutáneo.

La proteína FLI-1 es un marcador que se utilizó inicialmente en el diagnóstico del sarcoma de Ewing y de otros tumores primitivos neuroectodérmicos. En tejido sano identifica células endoteliales y linfocitos pequeños, posiblemente células T. Al igual que el Prox-1, el FLI-1 tiene la ventaja sobre otros marcadores endoteliales de ser un marcador nuclear, lo que facilita la interpretación de los resultados inmunohistoquímicos. Este marcador es además muy sensible en la identificación de las células proliferantes de hemangiomas, hemangioendotelomas, angiosarcomas y sarcomas de Kaposi. Sin embargo, y como sucede

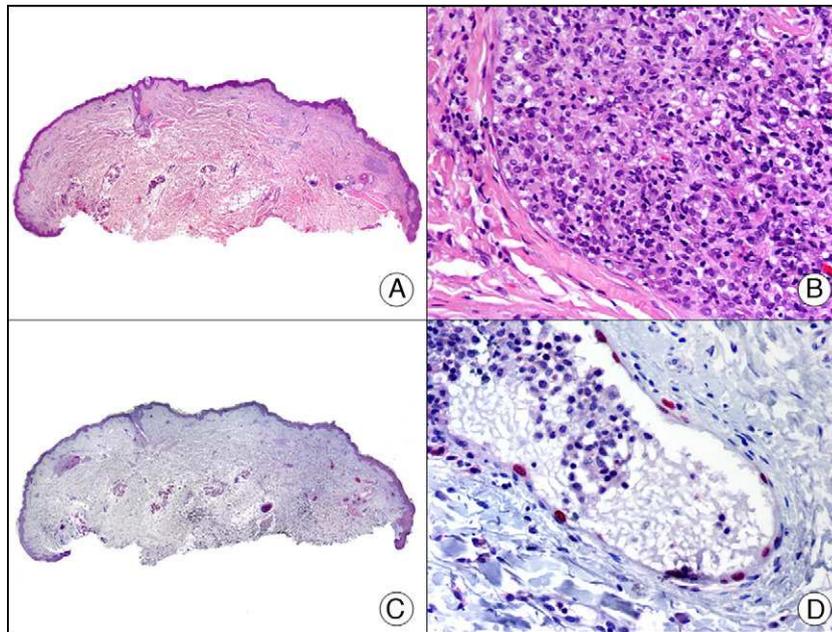


Figura 27 Histiocitosis intralinfática. A. Visión panorámica (x10). B. A mayor aumento se observan agregados de histiocitos intravasculares (x200). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con Prox-1 (x10). D. A mayor aumento se observa que los núcleos de las células que tapizan los vasos que contienen histiocitos expresan Prox-1, lo que demuestra su naturaleza linfática (x200).

con otros marcadores endoteliales, no discrimina entre proliferaciones vasculares malignas o benignas; pero también tiene valor su resultado negativo, ya que no se expresa en células neoplásicas de sarcomas no vasculares, melanomas y carcinomas. No se debe olvidar en la interpretación de los resultados de los estudios con FLI-1 su expresión en linfocitos, por lo que hay que tener cuidado para no confundir linfocitos con células tumorales³.

Durante años se ha investigado en la búsqueda de aberraciones cromosómicas en los angiosarcomas con resultado negativo. Sin embargo, recientemente se ha comprobado que los angiosarcomas asociados a linfedema crónico y los secundarios a radioterapia presentan algunas alteraciones genéticas bastante constantes en todas las lesiones, que no están presentes con tanta frecuencia en el angiosarcoma de cara y cuero cabelludo de los ancianos (angiosarcoma de

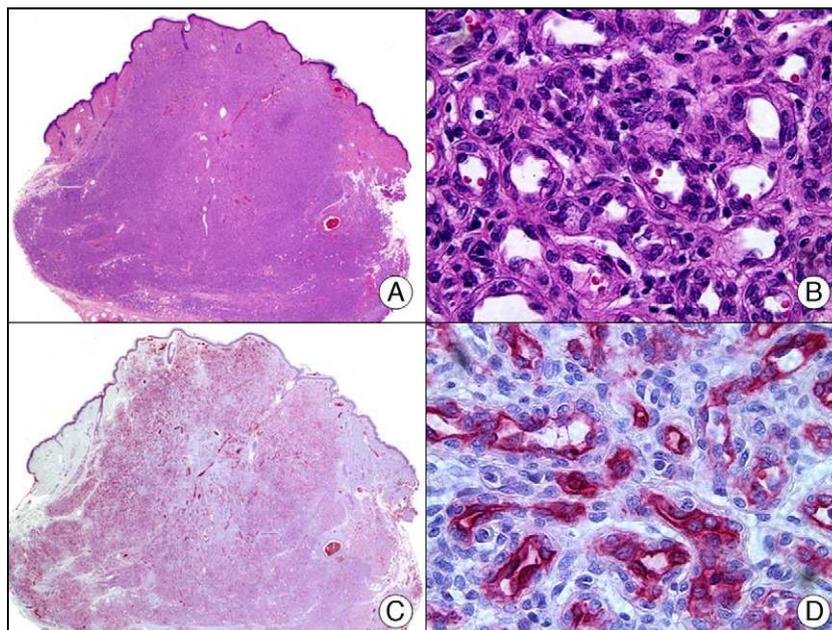


Figura 28 Hemangioma infantil. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle a gran aumento de las células endoteliales proliferantes (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con Glut-1 (x10). D. Detalle de la positividad para el Glut-1 de las células endoteliales tapizando las luces de los capilares neoformados (x400).

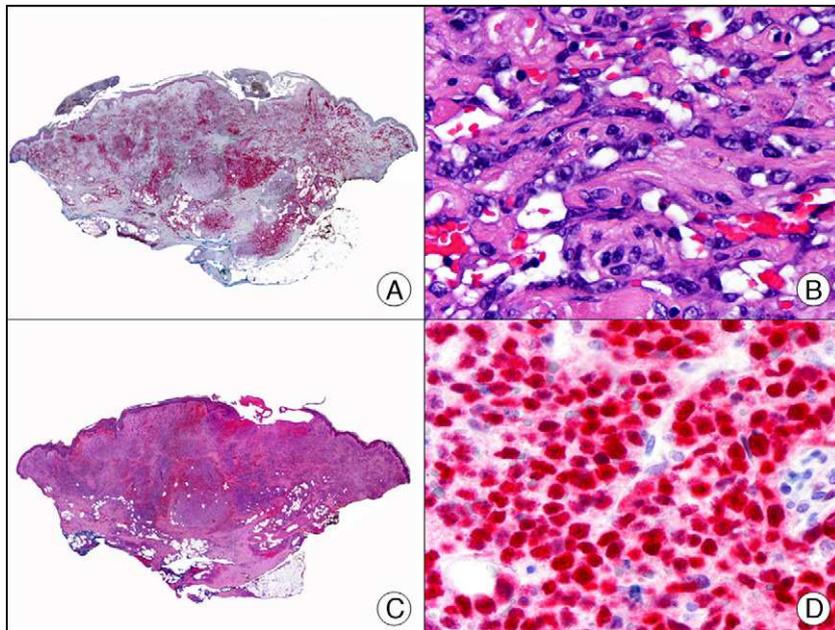


Figura 29 Angiosarcoma afectando la piel de la mama posradioterapia por cáncer de mama. A. Visión panorámica (x10). B. Vasos irregulares tapizados por células endoteliales atípicas (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente para la amplificación del gen *c-Myc* (x10). D. Intensa positividad de *c-Myc* en la mayoría de los núcleos de las células neoplásicas (x400).

Wilson Jones). La anomalía genética más frecuentemente detectada en estos angiosarcomas consiste en la presencia de amplificaciones genéticas en el cromosoma 8q24.21 (50%) seguida del 10p12.33 (33%) y del 5q35.3 (11%). La amplificación del oncogén *c-Myc* en el cromosoma 8q24.21 es la alteración genética más frecuente, observándose en más del 50% de los angiosarcomas secundarios a radioterapia y a linfedema crónico, lo que conlleva importantes implicaciones

en el diagnóstico y, probablemente en un futuro cercano, en el tratamiento de estos tumores⁵⁶. Inicialmente estudiado mediante técnicas de FISH, en la actualidad se ha comercializado un anticuerpo que demuestra la amplificación del *c-Myc* por inmunohistoquímica en los tejidos fijados en formol e incluidos en parafina (fig. 29). También es importante el hecho de que no se detectan amplificaciones del *c-Myc* en las proliferaciones vasculares atípicas benignas inducidas

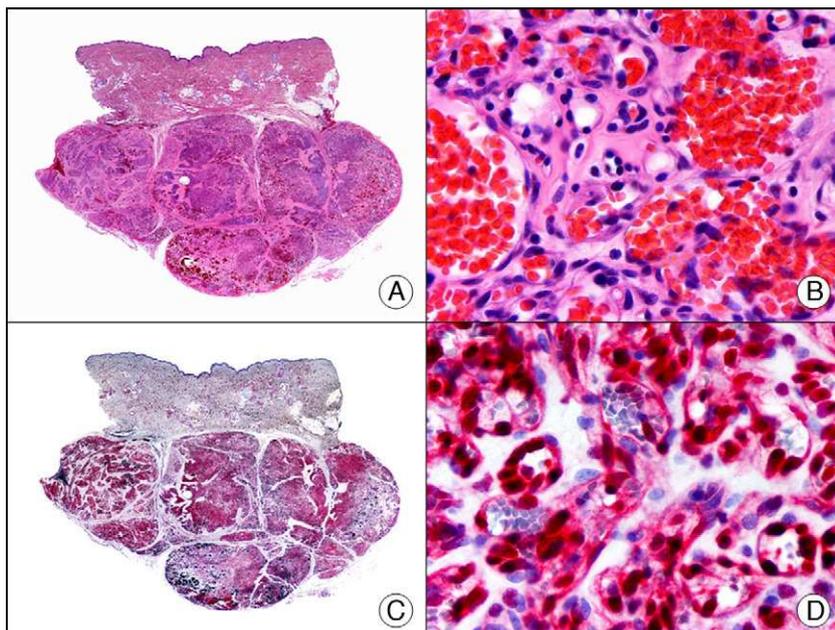


Figura 30 Hemangioma capilar lobulillar. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de los capilares tapizados por células endoteliales que constituyen la lesión (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con ERG (x10). D. Detalle de la positividad para el ERG en el núcleo de las células endoteliales proliferantes (x400).

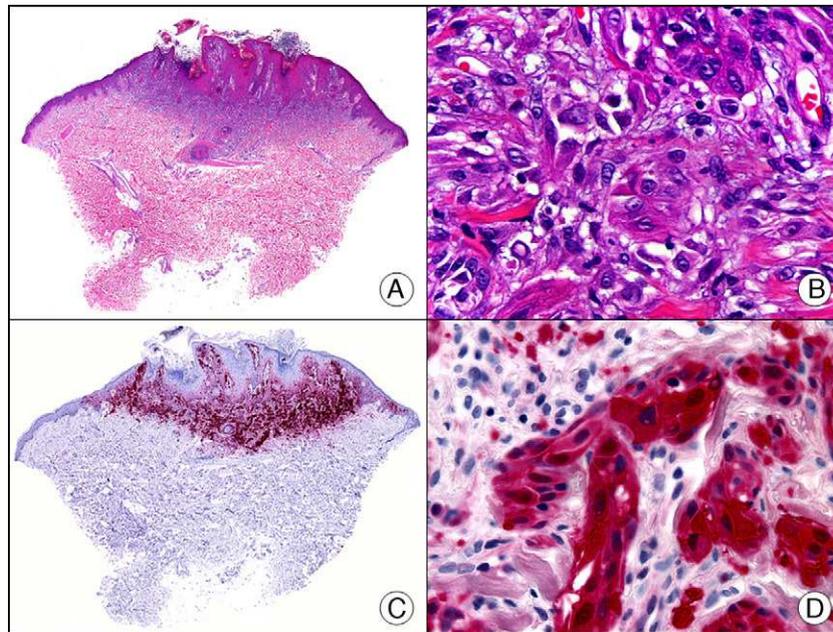


Figura 31 Nevo de Spitz. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de los melanocitos con núcleo vesiculoso, nucléolo prominente y citoplasma amplio y eosinófilo (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con proteína S100 (x10). D. Intensa positividad de los melanocitos neoplásicos para la proteína S100 (x400).

por radioterapia, que a veces son muy difíciles de diferenciar histopatológicamente de los verdaderos angiosarcomas postradioterapia. En cualquier caso, conviene recordar que esta amplificación de *c-Myc* no es exclusiva del angiosarcoma, ya que se ha demostrado también en otras neoplasias como el sarcoma de Kaposi, el histiocitoma fibroso maligno del hueso, el condrosarcoma de alto grado y el osteosarcoma resistente a metotrexato⁵⁷.

El *avian erythroblastosis E26 virus oncogen homolog* (ERG) es un factor de transcripción de la familia de los genes ETS. Se expresa en células endoteliales de vasos sanguíneos y linfáticos, tanto normales como neoplásicos, resultando un marcador altamente específico para endotelio vascular (fig. 30). Sin embargo, también resulta positivo en las células epiteliales neoplásicas del 50% de los carcinomas de próstata, tanto primarios como metastásicos (aunque

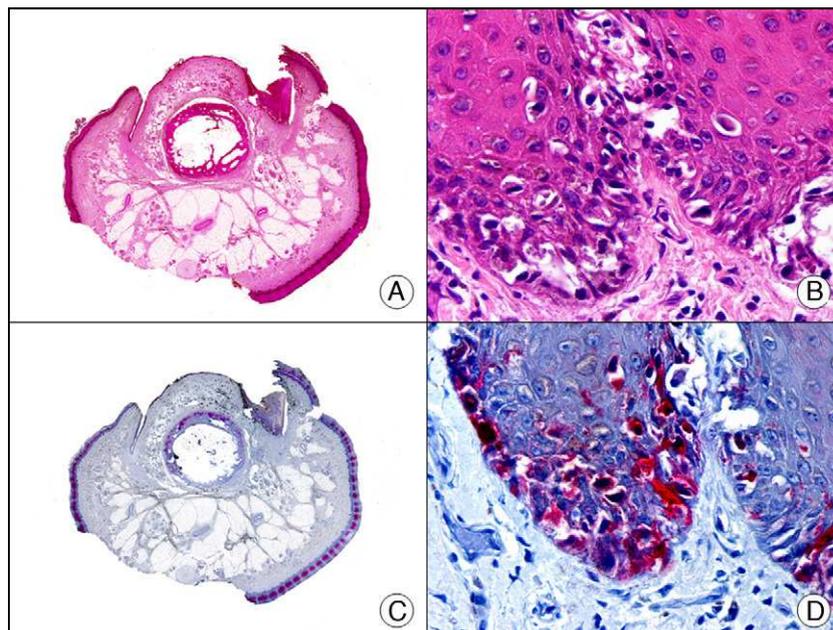


Figura 32 Melanoma subungueal *in situ*. A. Visión panorámica (x10). B. A mayor aumento se observan numerosos melanocitos de núcleo pleomórfico e hiper cromático salpicados en las hileras basal y suprabasales del epitelio (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con Melan A (x10). D. Detalle de la positividad para Melan A de los melanocitos neoplásicos (x400).

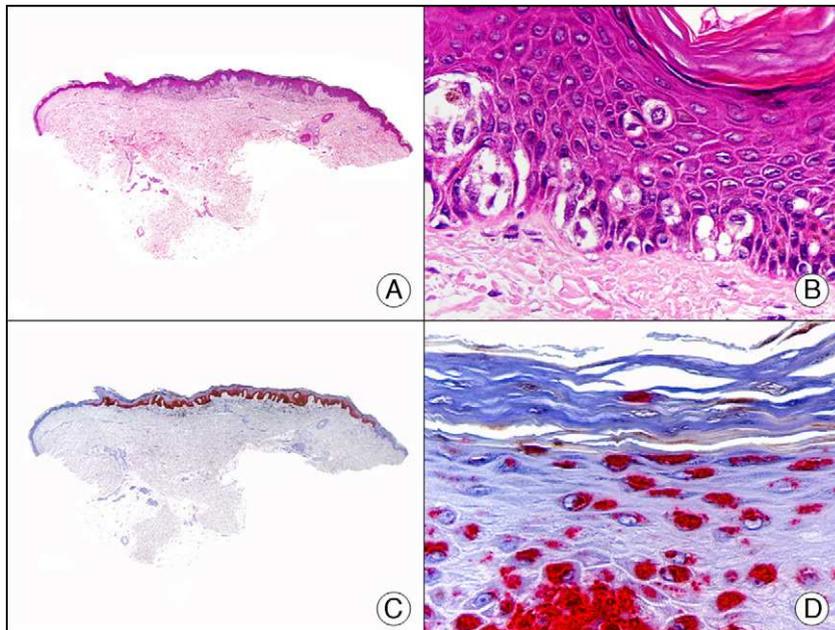


Figura 33 Melanoma *in situ*. A. Visión panorámica (x10). B. Melanocitos pagetoides salpicando como células aisladas las capas basal y suprabasal de la epidermis (x200). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con HMB-45 (x10). D. Intensa positividad para el HMB45 de los melanocitos neoplásicos salpicando capas altas de la epidermis (x200).

curiosamente no se expresa en el tejido prostático normal), en las células mieloides inmaduras de médula ósea, en las células de leucemia mieloide crónica y en las células de sarcoma de Ewing. Teniendo en cuenta su elevada especificidad en el contexto de proliferaciones vasculares, este marcador es de gran utilidad en el diagnóstico de angiosarcomas, hemangioendoteliomas y sarcomas de Kaposi. Además, su positividad en el carcinoma de próstata, en contraste con su negatividad prácticamente en la totalidad del resto de los carcinomas, confiere también a este marcador una gran utilidad en las baterías inmunohistoquímicas de identificación de metástasis cutáneas de origen desconocido⁵⁸.

Marcadores neuroectodérmicos

La proteína S-100 es una proteína ácida que debe su nombre a su solubilidad en sulfato de amonio al 100%. Está constituida por 2 subunidades (α y β) con 3 isotipos: a) proteína S-100 $\alpha\alpha$, expresada en el músculo; b) proteína S-100 $\alpha\beta$ expresada en melanocitos, células de la glía, condrocitos y células mioepiteliales de los ovillos secretores de las unidades ecrinas y apocrinas; y c) proteína S-100 $\beta\beta$, expresada en células de Langerhans y células de Schwann. La proteína S-100 está distribuida ampliamente en el sistema nervioso central y periférico y también está presente en algunos tejidos no neurales. Se expresa en prácticamente el 100% de los nevos melanocíticos (fig. 31) y hasta en el 98% de los melanomas, lo que confiere a esta proteína el papel de marcador más sensible de proliferaciones melanocíticas, pero resulta también positiva en otras neoplasias, como algunos carcinomas (no espinocelulares), tumores mioepiteliales, tumores de músculo liso y tumores de la vaina nerviosa de nervios periféricos¹.

El Melan-A es un componente de la membrana del pre-melanosoma, producto del gen *MART-1*¹. Es un antígeno de diferenciación melanocítica, reconocido por células T citotóxicas, que se expresa tanto en melanocitos normales como en las células proliferantes de nevos melanocíticos y melanomas (fig. 32). También se expresa en células de la retina, la corteza suprarrenal, el ovario y las células de Leydig del testículo. Junto con la proteína S-100 este marcador es el más utilizado para demostrar la estirpe melanocítica de una neoplasia. Su tinción es más difusa, pero más intensa que la de la proteína S-100. Las únicas neoplasias melanocíticas que no son identificables con el Melan-A son el melanoma desmoplásico y algunos melanomas de células fusiformes⁵⁹. Sin embargo, hay que tener cuidado con este marcador cuando se estudian proliferaciones melanocíticas intraepidérmicas en áreas de piel con importante daño actínico crónico, ya que la inmunotinción con Melan-A se extiende desde los melanocitos dendríticos a los queratinocitos vecinos, y puede confundirse una queratosis actínica hiperpigmentada o una piel con daño actínico crónico y numerosos melanocitos con un auténtico melanoma *in situ*⁶⁰. Este marcador resulta también útil en el protocolo de estudio histopatológico del ganglio centinela del melanoma.

El HMB45 es un anticuerpo monoclonal dirigido contra una glucoproteína componente del premelanosoma, la gp100. Identifica melanocitos activados, melanocitos inmaduros y melanocitos intraepidérmicos, pero resulta negativo en melanocitos adultos (melanocitos quiescentes). Tiene una sensibilidad del 78 al 93% en el diagnóstico de melanoma¹⁰ (del 85% para demostrar melanomas epitelioides [fig. 33] y del 30 al 50% para melanomas sarcomatoides), lo que convierte a este anticuerpo en uno de los marcadores más útiles en la confirmación del diagnóstico de melanoma en

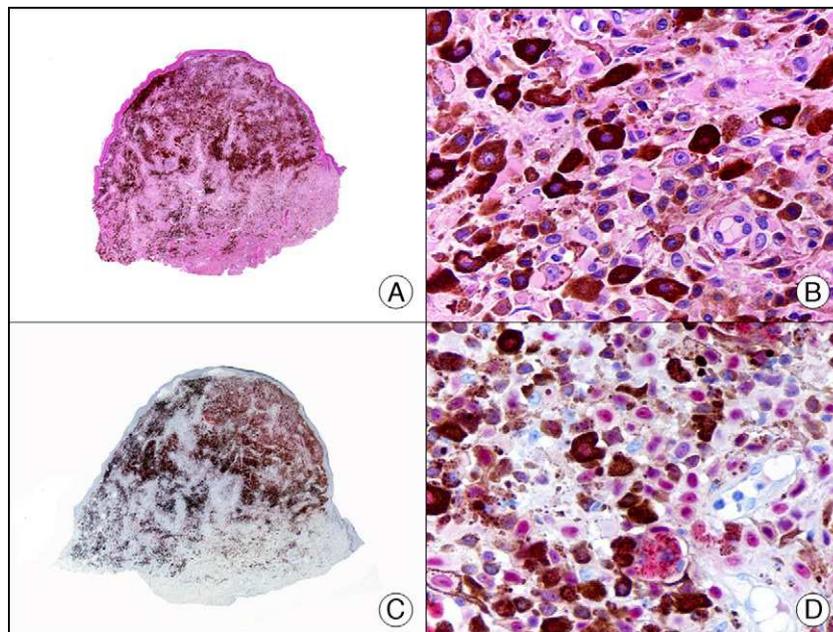


Figura 34 Nevo azul de células epitelioides. A. Visión panorámica (x10). B. Células epitelioides con citoplasma amplio y conteniendo abundante pigmento melánico (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con MiTF-1 (x10). D. Detalle de la positividad nuclear para MiTF-1 de los melanocitos epitelioides, mientras que el núcleo de los melanófagos resulta negativo (x400).

casos de tumores malignos de histogénesis dudosa. La excepción, como sucede con otros marcadores melanocíticos, es el melanoma desmoplásico, ya que el HMB45 solo marca su componente intraepidérmico y juntural, mientras que el componente dérmico resulta HMB45 negativo^{1,10,61}. Sin embargo, quizá el HMB45 es el marcador más sensible de proliferaciones melanocíticas, ya que también marca nevos de Spitz, nevos azules y nevos displásicos^{10,59}. También suele ser positivo, aunque sea de manera focal, en las metástasis de melanoma¹⁰. No debemos olvidar, sin embargo, que el HMB45 puede ser también positivo en lesiones no melanocíticas que contengan premelanosomas fagocitados, como en el caso de melanófagos, o transferidos a queratinocitos desde melanocitos dendríticos vecinos, como en queratosis actínicas pigmentadas y otras lesiones epiteliales conteniendo abundante pigmento melánico⁵⁹.

El MiTF-1 (*Microphthalmia transcription factor 1*) es una proteína nuclear implicada en el desarrollo embrionario de los melanocitos y la regulación de la síntesis de melanina⁵⁹. Se expresa en la mayoría de las proliferaciones melanocíticas, aunque posee poca especificidad, ya que también es positiva en macrófagos, linfocitos, fibroblastos, músculo liso y células de Schwann. Se trata de un marcador nuclear, lo que facilita su interpretación (fig. 34). Se ha observado positividad para MiTF-1 hasta en un 88% de las metástasis de melanoma¹⁰.

El Sox-10 es un factor de transcripción de la cresta neural que parece ser crucial para la diferenciación, maduración y mantenimiento de estas células pluripotenciales hacia la formación de células de Schwann y de melanocitos. El anticuerpo anti-Sox-10 se expresa en todo tipo de neoplasias melanocíticas benignas y malignas, pero también en las neoplasias de células de Schwann, como el schwannoma, el neurofibroma y los tumores malignos de la vaina del nervio

periférico, y en las células neoplásicas de otros tumores neuroectodérmicos como el ganglioneuroma, el neuroblastoma, el sarcoma de Ewing, el oligodendroglioma, el meduloblastoma o el astrocitoma. Además también se observa expresión de Sox-10 en las células mioepiteliales y sus proliferaciones neoplásicas. Su expresión nuclear (fig. 35), como en el caso de MiTF-1, hace que sea más fácil su interpretación que la inmunotinción con proteína S-100, Melan A o HMB-45. Además de su gran sensibilidad, resulta más específico que la proteína S-100 como marcador de melanocitos, ya que algunos melanomas desmoplásicos negativos para la proteína S-100 han resultado ser Sox-10 positivos⁶². También ha demostrado su utilidad en la distinción entre la proliferación de melanocitos dendríticos que a veces se observa en las cicatrices de extirpación de melanomas desmoplásicos y la verdadera persistencia de un melanoma desmoplásico, ya que la tinción con Sox-10 marca de manera más específica los restos de melanoma y no los melanocitos dendríticos de la cicatriz, como sucede con la tinción con la proteína S-100⁶³.

La tinción con neurofilamentos detecta axones neuronales en los nervios periféricos, así como células ganglionares simpáticas y células de la médula adrenal. Es útil en el diagnóstico de neuromas⁶⁴ (fig. 36), neurofibromas, ganglioneuromas, neuroblastomas y feocromocitomas.

La PGP 9.5 es una proteína de función desconocida que está presente en prácticamente todos los componentes celulares del sistema nervioso central y periférico y en muchas células neuroendocrinas, pero también en parte del túbulo renal, en espermatogonias y cuerpo lúteo, en células de Merkel de la epidermis y en fibroblastos dérmicos, entre otras células. Es útil por tanto como marcador neuronal en el estudio de síndromes degenerativos nerviosos. En dermatopatología se ha estudiado su presencia en múltiples dermatosis, y se ha demostrado su positividad en las

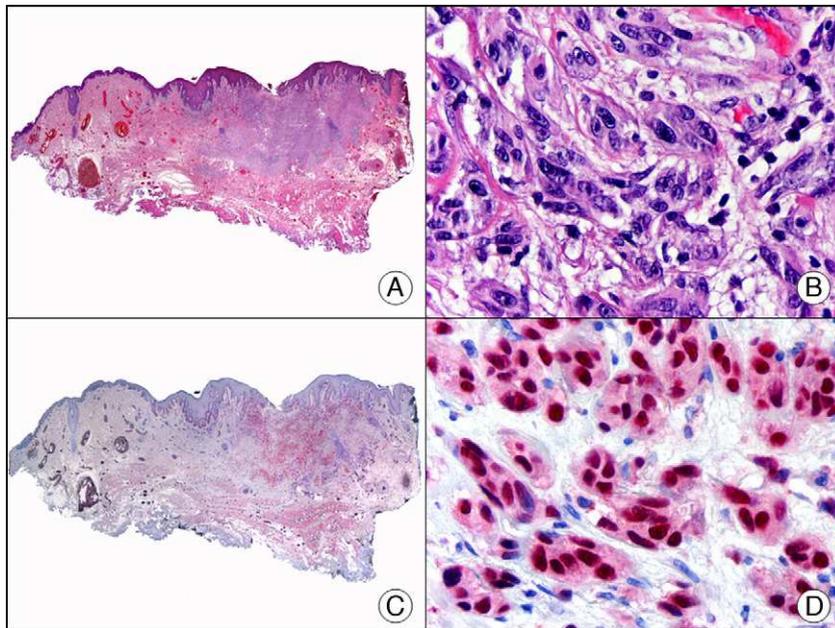


Figura 35 Melanoma desmoplásico. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de los melanocitos neoplásicos en la dermis reticular (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con Sox 10 (x10). D. Detalle de la positividad nuclear para Sox 10 de los melanocitos neoplásicos de la dermis (x400).

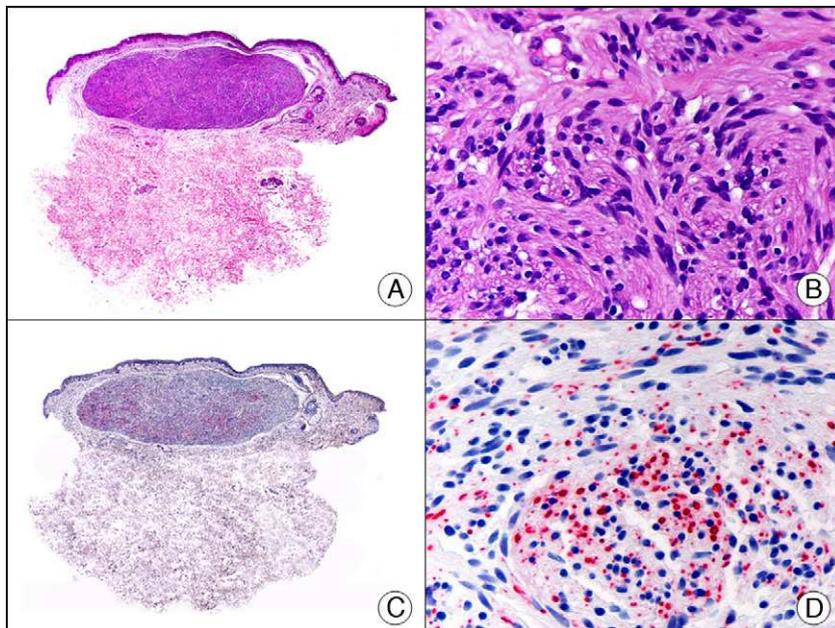


Figura 36 Neuroma encapsulado en empalizada. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células neoplásicas de núcleo fusiforme (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con neurofilamentos (x10). D. Detalle de la positividad para neurofilamentos de los axones de las fibras nerviosas proliferantes (x400).

células neoplásicas del denominado neurotecoma celular, siendo este hallazgo uno de los pocos argumentos que apoyan la diferenciación neural de esta enigmática neoplasia⁶⁵ (fig. 37). También se ha demostrado positividad de la proteína PGP 9.5 en el citoplasma de las células neoplásicas de algunos ejemplos de carcinoma escamoso y queratoacantoma y en estos casos se ha relacionado esta positividad con una mayor agresividad⁶⁶.

Marcadores de diferenciación neuroendocrina

La enolasa o hidratasa de fosfopiruvato es una enzima que cataliza la transformación de 2-fosfo-D-piruvato a fosfoenolpiruvato. Se conocen 5 isoenzimas de la misma compuestas por la combinación de 3 subunidades (alfa, beta y gamma). La denominada enolasa neuronal específica corresponde a la isoenzima gamma (formada a su vez por 2 subunidades

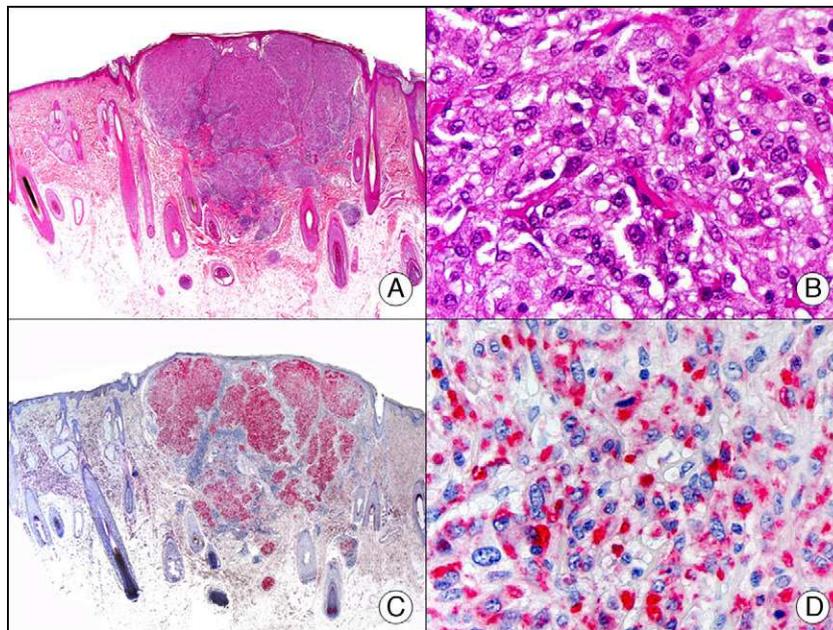


Figura 37 Neurotecoma celular. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células neoplásicas mostrando un núcleo vesiculoso y citoplasma eosinófilo (x400). C. El mismo caso estudiado con PGP 9.5 (x10). D. Detalle de la positividad para PGP 9.5 de las células neoplásicas (x400).

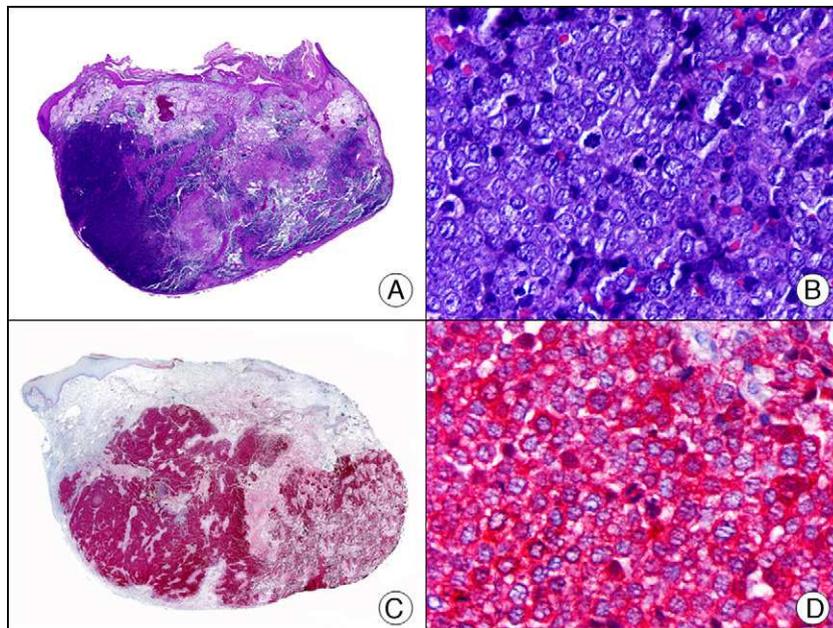


Figura 38 Tumor de Merkel. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células neoplásicas mostrando un núcleo redondo con cromatina granular y numerosas imágenes de mitosis (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con enolasa neuronal específica (x10). D. Positividad de las células neoplásicas para la enolasa neuronal específica (x400).

gamma). Se expresa principalmente en neuronas, células neuroendocrinas, células ganglionares del tracto gastrointestinal y fibras nerviosas. Es positiva en tumores gliales, neurales y neuroendocrinos (carcinoma microcítico de pulmón, tumor de Merkel [fig. 38], tumor de Wilms y tumor carcinoide), pero su utilidad diagnóstica es muy limitada dada su baja especificidad, por lo que algunos autores han propuesto cambiar su nombre original por el de «enolasa neuronal inespecífica».

La cromogranina/CHR es una proteína asociada a los gránulos de neurosecreción cuya función exacta se desconoce². Está presente en una gran variedad de células endocrinas y en las neuronas. Resulta específica para establecer diferenciación neuroendocrina, pero su positividad depende de la cantidad de gránulos neurosecretorios y suele perderse en tumores de alto grado de malignidad pobremente diferenciados. Su negatividad, por tanto, no excluye una diferenciación neuroendocrina. En dermatopatología su

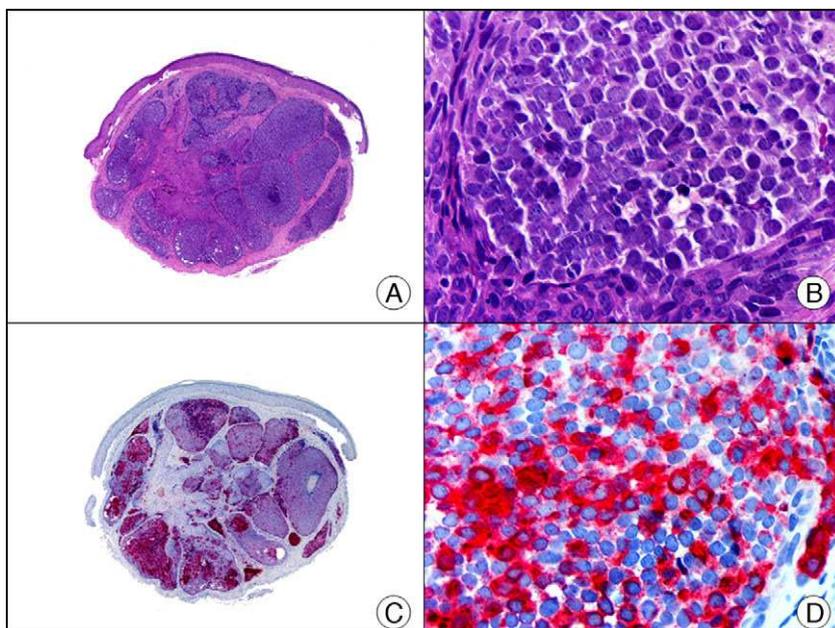


Figura 39 Tumor de Merkel. A. Visión panorámica (x10). B. Detalle de las células neoplásicas mostrando un núcleo redondo con cromatina granular (x400). C. El mismo caso estudiado inmunohistoquímicamente con cromogranina (x10). D. Positividad de las células neoplásicas para la cromogranina (x400).

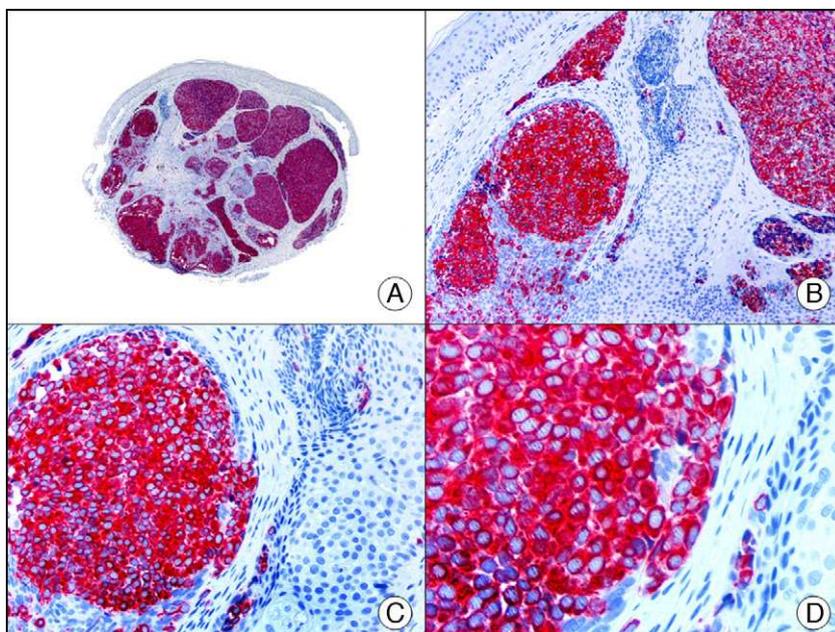


Figura 40 El mismo caso de la figura anterior estudiado inmunohistoquímicamente con sinaptofisina (A x10, B x40, C x200, D x400).

principal utilidad es en el estudio del tumor de Merkel (fig. 39) y de las metástasis cutáneas de tumores neuroendocrinos viscerales.

La sinaptofisina es una glucoproteína transmembrana que se expresa en la mayoría de células neuronales, neuroendocrinas y sus neoplasias². Constituye pues, junto con la cromogranina y la enolasa neuronal específica, otro de los componentes del panel inmunohistoquímico habitual para el estudio de tumores cutáneos neuroendocrinos (fig. 40), tanto primarios como metastásicos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Folpe AL, Cooper K. Best practices in diagnostic immunohistochemistry: pleomorphic cutaneous spindle cell tumors. Arch Pathol Lab Med. 2007;131:1517-24.

2. Wallace ML, Smoller BR. Immunohistochemistry in diagnostic dermatopathology. *J Am Acad Dermatol.* 1996;34:163–83.
3. Wasserman J, Maddox J, Racz M, Petronic-Rosic V. Update on immunohistochemical methods relevant to dermatopathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133:1053–61.
4. Makin CA, Bobrow LG, Bodmer WF. Monoclonal antibody to cytokeratin for use in routine histopathology. *J Clin Pathol.* 1984;37:975–83.
5. Han CP, Hsu JD, Li YJ. Anticytokeratin CAM5.2 is not synonymous with CK8/18 monoclonal antibody; and anticytokeratin CAM5.2 can be a marker for cytokeratin 8 but not for cytokeratin 18 and 19. *Am J Surg Pathol.* 2010;34:595–6.
6. Han CP, Hsu JD, Koo CL, Yang SF. Antibody to cytokeratin (CK8/CK18) is not derived from CAM5.2 clone, and anticytokeratin CAM5.2 (Becton Dickinson) is not synonymous with the antibody (CK8/CK18). *Hum Pathol.* 2010;41:616–7.
7. Chen JT, Hsu JD, Yao CC, Han LW, Han CP. Anti-cytokeratin CAM 5.2 does not act as a surrogate of the cytokeratin 8/18 monoclonal antibody. *J Cutan Pathol.* 2010;37:1123–4.
8. Requena L, Sanguenza M, Sanguenza OP, Kutzner H. Pigmented mammary Paget disease and pigmented epidermotropic metastases from breast carcinoma. *Am J Dermatopathol.* 2002;24:189–98.
9. Gray Y, Robidoux HJ, Farrell DS, Robinson-Bostom L. Squamous cell carcinoma detected by high-molecular-weight cytokeratin immunostaining mimicking atypical fibroxanthoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2001;125:799–802.
10. Hoang MP, Mahalingam M, Selim MA. Immunohistochemistry in the diagnosis of cutaneous neoplasms. *Future Oncol.* 2010;6:93–109.
11. Miettinen M. Keratin immunohistochemistry: update of applications and pitfalls. *Pathol Annu.* 1993;28:113–43.
12. Sawada Y, Bito T, Kabashima R, Yoshiki R, Hino R, Nakamura M, et al. Ectopic extramammary Paget's disease: case report and literature review. *Acta Derm Venereol.* 2010;90:502–5.
13. Perrotto J, Abbott JJ, Ceilley RI, Ahmed I. The role of immunohistochemistry in discriminating primary from secondary extramammary Paget disease. *Am J Dermatopathol.* 2010;32:137–43.
14. Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology.* 2002;40:403–39.
15. Ivan D, Nash J, Prieto V, Calonje E, Lyle S, Diwan AH, et al. Use of p63 expression in distinguishing primary and metastatic cutaneous adnexal neoplasms from adenocarcinoma to the skin. *J Cutan Pathol.* 2007;34:474–80.
16. Hassab-el-Naby HM, Tam S, White WL, Ackerman AB. Mixed tumors of the skin. A histological and immunohistochemical study. *Am J Dermatopathol.* 1989;11:413–28.
17. Heyderman E, Steele K, Ormerod MG. A new antigen on the epithelial membrane: its immunoperoxidase localization in normal and neoplastic tissues. *J Clin Pathol.* 1979;32:35–9.
18. Arrese Estrada J, Pierard GE. Inmunohistoquímica y glándulas sudoríparas. *Med Cut ILA.* 1990;18:170–4.
19. Sloane JP, Ormerod MG. Distribution of epithelial membrane antigen in normal and neoplastic tissues and its value in diagnostic tumor pathology. *Cancer.* 1981;47:1786–9.
20. Heyderman E, Gram RM, Chapman DV, Richardson TC, McKee PH. Epithelial markers in primary skin cancer: an immunoperoxidase study of the distribution of epithelial membrane antigen (EMA) and carcinoembryonic antigen (CEA) in 65 primary skin carcinomas. *Histopathology.* 1984;8:423–34.
21. Requena L, Simón P, Sánchez Yus E. Estudio inmunohistoquímico de las glándulas ecrinas y apocrinas. Experiencia propia y revisión crítica. *Piel.* 1992;7:313–24.
22. Liegl B, Leibl S, Gogg-Kamerer M, Tessaro B, Horn LC, Moinfar F. Mammary and extramammary Paget's disease: an immunohistochemical study of 83 cases. *Histopathology.* 2007;50:439–47.
23. González-Guerra E, Requena L, Kutzner H. Estudio inmunohistoquímico de la calretinina en el folículo piloso normal y neoplasias con diferenciación folicular. *Actas Dermosifiliogr.* 2008;99:456–63.
24. Poblet E, Jiménez F, Cabo C, Prieto-Martín A, Sánchez-Prieto R. The calcium-binding protein calretinin is a marker of the companion cell layer of the human hair follicle. *Br J Dermatol.* 2005;152:1316–20.
25. González-Guerra E, Kutzner H, Rutten A, Requena L. Immunohistochemical study of calretinin in normal skin and cutaneous adnexal proliferations. *Am J Dermatopathol.* 2012;34:491–505.
26. Leidinger B, Bielack S, Koehler G, Vieth V, Winkelmann W, Gosheger G. High level of beta-hCG simulating pregnancy in recurrent osteosarcoma: case report and review of literature. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2004;130:357–61.
27. Watanabe K, Kusakabe T, Hoshi N, Saito A, Suzuki T. h-Caldesmon in leiomyosarcoma and tumors with smooth muscle cell-like differentiation: its specific expression in the smooth muscle cell. *Hum Pathol.* 2000;30:392–6.
28. Ceballos KM, Nielsen GP, Selig MK, O'Connell JX. Is anti-h-caldesmon useful for distinguishing smooth muscle and myofibroblastic tumors. *Am J Clin Pathol.* 2000;114:746–53.
29. Fanburg-Smith JC, Miettinen M. Angiomatoid malignant fibrous histiocytoma: a clinicopathologic study of 158 cases and further exploration of the myoid phenotype. *Hum Pathol.* 1999;30:1143–336.
30. Hornick JL, Fletcher CD. Myoepithelial tumors of soft tissue: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 101 cases with evaluation of prognostic parameters. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:1183–96.
31. Montgomery E, Goldblum JR, Fisher C. Leiomyosarcoma of the head and neck: a clinicopathological study. *Histopathology.* 2002;40:518–25.
32. McKenney Weiss SW, Folpe AL. CD31 expression in intratumoral macrophages. A potential diagnostic pitfall. *Am J Surg Pathol.* 2001;25:1167–73.
33. Kanitakis J, Narvaez D, Claudy A. Expression of the CD34 antigen distinguishes Kaposi's sarcoma from pseudo-Kaposi's sarcoma (acroangiodermatitis). *Br J Dermatol.* 1996;134:44–6.
34. Tardio JC. CD34-reactive tumors of the skin. An updated review of an ever-growing list of lesions. *J Cutan Pathol.* 2009;36:89–102.
35. Kirchmann TTT, Prieto VG, Smoller BR. CD34 staining pattern distinguishes basal cell carcinoma from trichoepithelioma. *Arch Dermatol.* 1994;130:589–92.
36. Kirchmann TTT, Prieto VG, Smoller BR. Use of CD34 in assessing the relationship between stroma and tumor in desmoplastic keratinocytic neoplasms. *J Cutan Pathol.* 1995;22:422–6.
37. Bryant D. Immunostaining for CD34 to determine trichoepithelioma. *Arch Dermatol.* 1995;131:616–7.
38. Swanson PE, Fitzpatrick MM, Ritter JH, Glusac EJ, Wick MR. Immunohistologic differential diagnosis of basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, and trichoepithelioma in small cutaneous biopsy specimens. *J Cutan Pathol.* 1998;25:153–9.
39. Corbalán-Vélez R, Ruiz-Maciá JA, Martínez-Sánchez D, Martínez-Barba E. Utilidad de la tinción inmunohistoquímica con CD34 en el diagnóstico de lesiones con diferenciación tricolemal. *Actas Dermosifiliogr.* 2009;100:738–40.
40. Poblet E, Jiménez Acosta F, Rocamora A. QBEND/10 (anti-CD34 antibody) in external root sheath cells and follicular tumors. *J Cutan Pathol.* 1994;21:224–8.
41. Illueca C, Monteagudo C, Revert A, Llombart-Boch A. Malignant proliferating trichilemmal tumours: an histopathological and immunohistochemical study of three cases with DNA ploidy and morphometric evaluation. *Histopathology.* 1998;33:542–8.

42. Poblet E, Jimenez Reyes E, Gonzalez Herrada C, Granados R. Trichilemmal keratosis: a clinicopathologic and immunohistochemical study of two cases. *Am J Dermatopathol*. 1996;18:543-7.
43. Lawley LP, Cerimele F, Weiss SW, North P, Cohen C, Kozakewich HP, et al. Expression of Wilms tumor 1 gene distinguishes vascular malformations from proliferative endothelial lesions. *Arch Dermatol*. 2005;141:1297-300.
44. Al Dhaybi R, Powell J, McCuaig C, Kokta V. Differentiation of vascular tumors from vascular malformations by expression of Wilms tumor 1 gene: evaluation of 126 cases. *J Am Acad Dermatol*. 2010;63:1052-7.
45. Trindade F, Tellechea O, Torrelo A, Requena L, Colmenero I. Wilms tumor 1 expression in vascular neoplasms and vascular malformations. *Am J Dermatopathol*. 2011;33:569-72.
46. Garrido-Ruiz MC, Rodriguez-Pinilla SM, Pérez-Gómez B, Rodriguez-Peralta JL. WT 1 expression in nevi and melanomas: a marker of melanocytic invasion into the dermis. *J Cutan Pathol*. 2010;37:542-8.
47. Liang H, Wu H, Giorgadze TA, Sariya D, Bellucci KS, Veerappan R, et al. Podoplanin is a highly sensitive and specific marker to distinguish primary skin adnexal carcinomas from adenocarcinomas metastatic to skin. *Am J Surg Pathol*. 2007;31:304-10.
48. Plaza JA, Ortega PF, Stockman DL, Suster S. Value of p63 and podoplanin (D2-40) immunoreactivity in the distinction between primary cutaneous tumors and adenocarcinomas metastatic to the skin: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 79 cases. *J Cutan Pathol*. 2010;37:403-10.
49. Doeden K, Ma Z, Narasimhan B, Swetter SM, Detmar M, Dadras SS. Lymphatic invasion in cutaneous melanoma is associated with sentinel lymph node metastasis. *J Cutan Pathol*. 2009;36:772-80.
50. Florez-Vargas A, Vargas SO, Debelenko LV, Perez-Atayde AR, Archibald T, Kozakewich HP, et al. Comparative analysis of D2-40 and LYVE-1 immunostaining in lymphatic malformations. *Lymphology*. 2008;41:103-10.
51. Reis RM, Reis-Filho JS, Filho AL, Tomarev S, Silva P, Lopes JM. Differential Prox-1 and CD 31 expression in mucosae, cutaneous and soft tissue vascular lesions and tumors. *Pathol Res Pract*. 2005;201:771-6.
52. Le Huu AR, Jokinen CH, Rubin BP, Mihm MC, Weiss SW, North PE, et al. Expression of prox1, lymphatic endothelial nuclear transcription factor, in Kaposiform hemangioendothelioma and tufted angioma. *Am J Surg Pathol*. 2010;34:1563-73.
53. Wilting J, Papoutsi M, Christ B, Nicolaidis KH, von Kaisenberg CS, Borges J, et al. The transcription factor Prox1 is a marker for lymphatic endothelial cells in normal and diseased human tissues. *FASEB J*. 2002;16:1271-3.
54. Partanen TA, Alitalo K, Miettinen M. Lack of lymphatic vascular specificity of vascular endothelial growth factor receptor 3 in 185 vascular tumors. *Cancer*. 1999;86:2406-12.
55. Costa da Cunha E, Galambos C. Prox-1 and VEGFR3 antibodies are superior to D2-40 in identifying endothelial cells of lymphatic malformations- A proposal of a new immunohistochemical panel to differentiate lymphatic from other vascular malformations. *Pediatr Dev Pathol*. 2003;12:187-94.
56. Manner J, Radlwimmer B, Hohenberger P, Mössinger K, Küffer S, Sauer C. MYC high level gene amplification is a distinctive feature of angiosarcomas after irradiation or chronic lymphedema. *Am J Pathol*. 2010;176:34-9.
57. Guo T, Zhang L, Chang NE, Singer S, Maki RG, Antonescu CR. Consistent MYC and FLT4 gene amplification in radiation-induced angiosarcoma but not in other radiation-associated atypical vascular lesions. *Genes Chromosomes Cancer*. 2011;50:25-33.
58. Miettinen M, Wang ZF, Paetau A, Tan SH, Dobi A, Srivastava S, et al. ERG transcription factor as an immunohistochemical marker for vascular endothelial tumors and prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2011;35:432-41.
59. Prieto VG, Shea CR. Use of immunohistochemistry in melanocytic lesions. *J Cutan Pathol*. 2008;35:1-10.
60. El Shabrawi-Caelen L, Kerl H, Cerroni L. Melan A: not a helpful marker in distinction between melanoma in situ in sun-damaged skin and pigmented actinic keratosis. *Am J Dermatopathol*. 2004;26:364-6.
61. Soares Almeida LM, Requena L, Rütten A, Kutzner H, Garbe C, Pestana D, et al. Desmoplastic malignant melanoma. A clinicopathologic analysis of 113 cases. *Am J Dermatopathol*. 2008;30:207-15.
62. Nonaka D, Chiriboga L, Rubin BP. Sox10: a pan-schwannian and melanocytic marker. *Am J Surg Pathol*. 2008;32:1291-8.
63. Ramos-Herberth FI, Karamchandani J, Kim J, Dadras SS. SOX10 immunostaining distinguishes desmoplastic melanoma from excision scar. *J Cutan Pathol*. 2010;37:944-52.
64. Argenyi ZB, Santa Cruz DJ, Bromley C. Comparative light-microscopic and immunohistochemical study of traumatic and palisaded encapsulated neuromas of the skin. *Am J Dermatopathol*. 1992;14:504-10.
65. Wang AR, May D, Bourne P, Scott G. PGP 9.5. A marker for cellular neurothekeoma. *Am J Surg Pathol*. 1999;23:1401-7.
66. Sartorius K, Emtestam L, Lapins J, Johansson O. Cutaneous PGP 9.5 distribution patterns in hidradenitis suppurativa. *Arch Dermatol Res*. 2010;302:461-8.