

**Las enzimas
en la anatomía
patológica***

HECTOR MARQUEZ MONTER

EL PROGRESO RECIENTE de la bioquímica ha hecho posible la demostración de poco menos de 700 enzimas en condiciones experimentales óptimas.¹ Sin embargo, los estudios enzimáticos usados en tejidos frescos o fijados especialmente, provenientes de material quirúrgico las más de las veces y excepcionalmente de necropsias, suelen ser de tipo histoquímico. De esta manera, en condiciones favorables, los métodos histoquímicos permiten identificar cerca de 50 enzimas.² Cabe señalar que los métodos histoquímicos se usan generalmente en forma cualitativa y sólo mediante el empleo de la técnica de Linderstrom-Lang³, estos métodos pueden tener un refinamiento cuantitativo. Sin embargo, la localización topográfica de tipo histológica y citológica de actividad enzimática, prevalece como una de las características distintivas del método histoquímico.

El uso empírico de soluciones fijadoras para el estudio de tejidos patológicos desde el punto de vista exclusivamente morfológico, ha sido uno de los obstáculos más importantes para el empleo y divulgación de métodos histoquímicos para el estudio de alteraciones enzimáticas. Sin embargo, los avances logrados por la histoquímica en los últimos años, han logrado estimular el interés y su aplicación para el estudio de tejidos patológicos humanos, principalmente con fines de investigación. Por lo antes asentado, se considera que los métodos enzimáticos histoquímicos se usan ocasionalmente con fines diagnósticos y más comúnmente con fines de investigación.

La naturaleza proteica de las enzimas constituye su labilidad natural para los métodos ordinarios de fijación, deshidratación e inclusión en

* Trabajo presentado en la Mesa Redonda sobre Enzimas en la Medicina. Puebla. Mayo 20, 1962.

parafina. De esta manera sólo existen escasas sustancias que usadas como fijadores no alteren la actividad de las enzimas; y viceversa, existen pocas enzimas capaces de resistir a la acción desnaturalizante de las sustancias fijadoras sin perder toda o la casi totalidad de su actividad.

El uso de secciones por congelamiento de tejidos frescos es la práctica más común para los métodos histoquímicos enzimáticos. Sin embargo, los microtomos ordinarios no permiten el corte de secciones lo suficientemente delgadas para una localización enzimática adecuada en tejidos o células, y de esta manera se ha hecho necesario el empleo de microtomos especiales de tipo rotatorio de gran precisión con enfriamiento de cuchilla que permiten obtener cortes hasta de 3 ó 4 micras de espesor. De esta manera la mayoría de los microtomos especializados deben ser usados a bajas temperaturas, para lo cual se ha diseñado un número variable de cajas refrigerantes que permiten la manipulación externa del microtomo, bien por medio de guantes protectores largos o mediante el uso de sistemas mecánicos. La reciente invocación por Chang-et al^{4, 5}, de un tipo de criostato abierto, ha facilitado notablemente la elaboración de cortes delgados por congelamiento.

La localización de enzimas tisulares o celulares tiene como principio e uso de un sustrato que al ser modificado por la enzima se precipita dando una coloración o siendo posible su identificación por otros métodos histoquímicos.

De esta manera la identificación de ciertas enzimas como la fosfatasa ácida, ha tenido aplicación práctica, pues la presencia de elevada actividad de esta enzima en el adenocarcinoma de la próstata, lo permite identificar en sus metástasis cuando el tumor primario permanece oculto, y estas son de diagnóstico difícil en bases morfológicas. Por el otro lado la ausencia de ciertas enzimas en determinados tejidos pueden implicar anaplasia o desdiferenciación. Tal hecho ocurre con la fosfatasa alcalina, la cual normalmente se encuentra presente en los neutrófilos de la sangre periférica en condiciones normales, en las leucocitosis y en las reacciones leucemoides; en contraposición, su ausencia de dichas células ocurre en las leucemias granulocíticas.⁶

De este modo, la demostración histoquímica de fosfatasa alcalina permite establecer el diagnóstico, en ocasiones difícil de hacer desde el punto de vista clínico, y morfológico, entre reacciones leucemoides y leucemias granulocíticas. Este mismo hecho se ha querido aplicar a las células descamadas del cérvix uterino para el diagnóstico de carcinoma,



Fig. 1. Microfotografía de un grupo de células epiteliales de un cultivo de tejidos que demuestra la localización de la succinodehidrogenasa en el citoplasma, mediante el uso de la técnica del Neotetrazolium. X1000.

sin resultados valederos⁷. La localización de enzimas respiratorias en tejidos humanos, también ha sido objeto de estudio por parte de Hoch-Ligeti y Hsu,⁸ con resultados negativos en el sentido de encontrar diferencias ostensibles en la actividad enzimática que permitiera distinguir lesiones neoplásicas benignas y malignas de la glándula mamaria. La identificación de la "DOPA" oxidasa en tumores anaplásicos, los ha permitido identificar como melanomas amelonóticos como demuestran los estudios de Fitzpatrick⁹ y Kertész.¹⁰

Cabe finalmente señalar la gran variedad de aplicaciones de los métodos histoquímicos de localización enzimática, a problemas múltiples en patología experimental, los cuales obedecen desde luego, a finalidades de investigación pura.

El uso de enzimas como reactivos histoquímicos es utilizado con mayor frecuencia debido a facilitarse su empleo en secciones de parafina, para la identificación de sustancias problema que puedan actuar como sustratos específicos de ciertas enzimas. De esta manera puede ser demostrada la presencia de glucógeno en ciertas enfermedades caracterizadas por su almacenamiento principalmente en el hígado, como sucede en

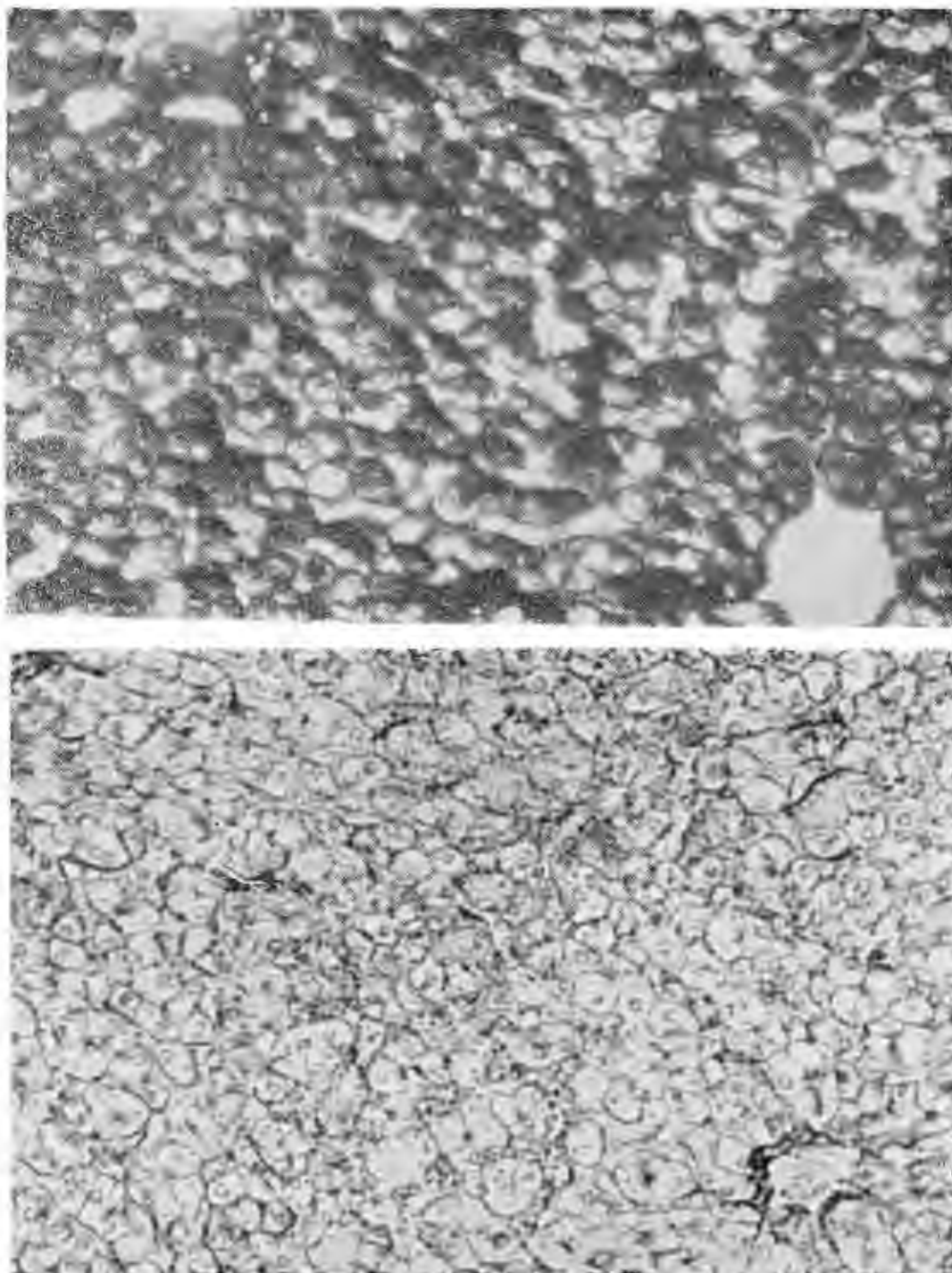


Fig. 2. a) Microfotografía de hígado de un caso de enfermedad de von Gierke teñido por la técnica de ácido peryódico-Schiff. b). Otra preparación del mismo hígado incubada 30 minutos en amilasa y teñida por la misma técnica. Es notoria la desaparición del glucógeno, producida por la enzima. X25.

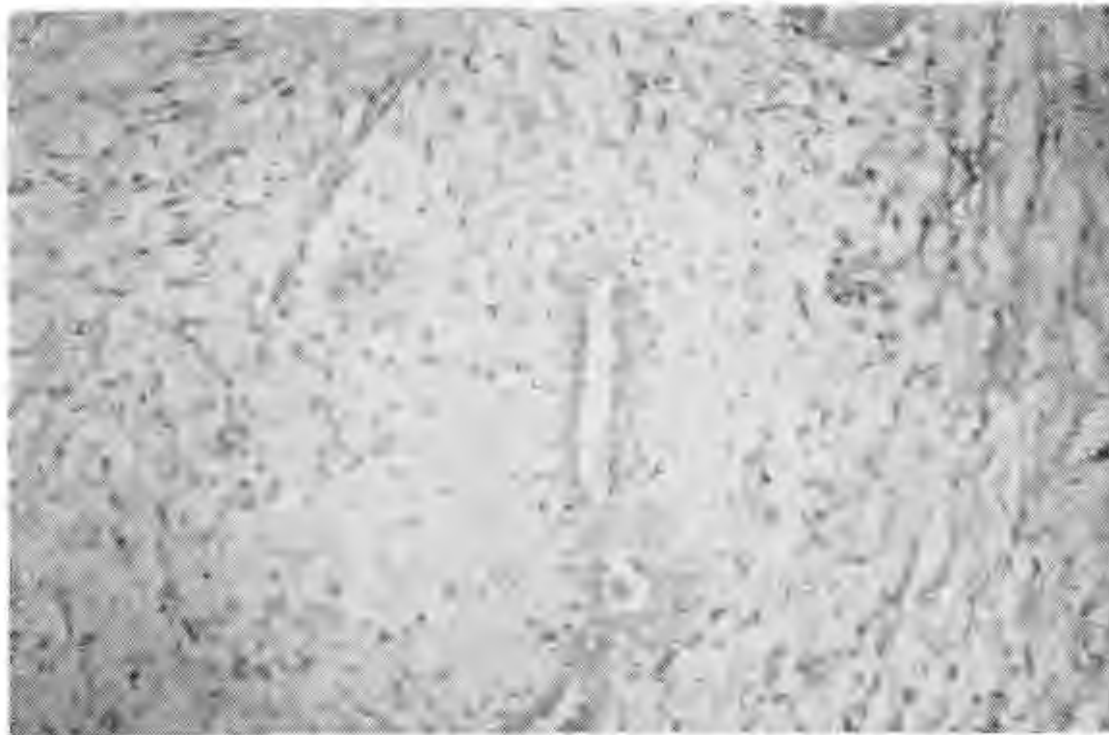
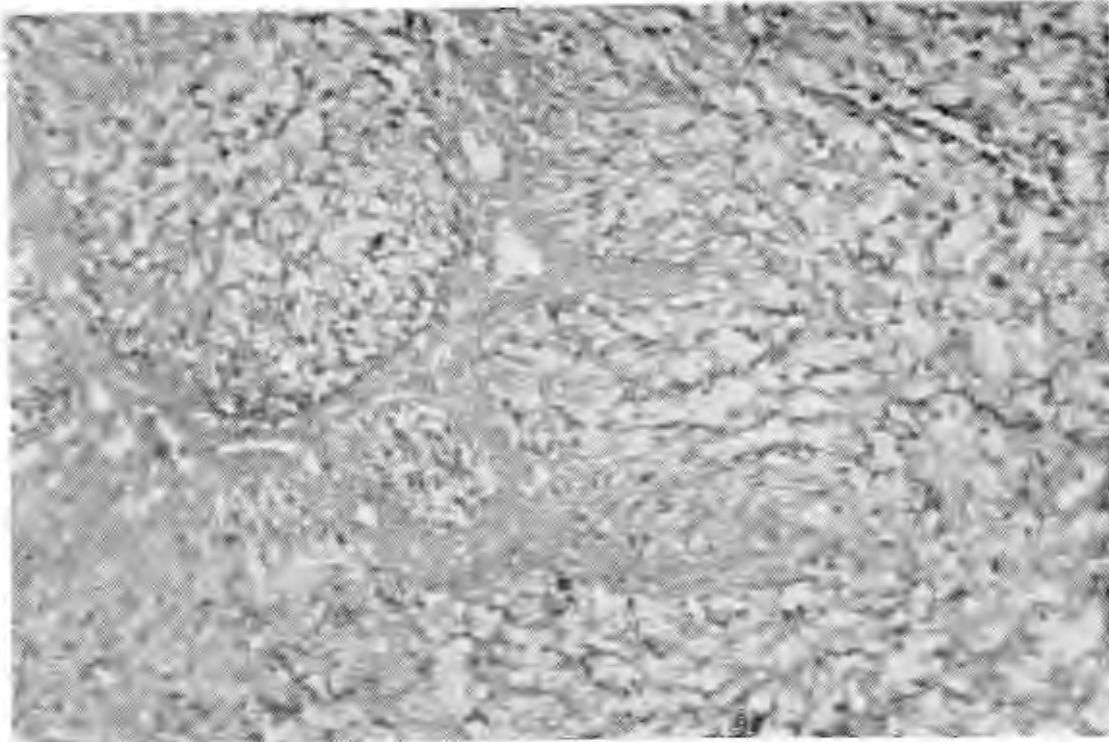


Fig. 3 a) Microfotografía de una preparación de un fibroadenoma mamario teñido con azul de toluidina a un pH 4. b) Preparacion del mismo caso incubado por 12 horas en hialuronidasa y teñido por la misma técnica. Es notoria la desaparición del material constituido por ácido hialurónico, causante de la basofilia, producida por la acción específica de la hialuronidasa. X25.

las distintas variedades de la enfermedad de von Gierke.¹¹ La demostración consiste en la incubación de secciones de hígado en amilasa, de este modo el glucógeno se elimina y no puede ser teñido como en la sección testigo mediante la reacción de ácido peryódico-Schiff o por la tinción de mucicarmina. La presencia de material metacromático a la tinción por el azul de toluidina en el tejido conectivo, supone la existencia de ácido hialurónico como la sustancia más abundante entre los ácidos mucopolisacáridos que se observan en ciertas lesiones como los nódulos reumatoides,¹² nódulos de Aschoff,¹⁴ en la dermis en el mixe-dema,¹³ en el estroma de los fibroadenomas mamarios;¹⁵ la desaparición de estas lesiones de la metacromasia, mediante la incubación previa a la reacción tintoreal con hialuronidasa, permite identificar al ácido hialurónico como la sustancia responsable de la metacromasia. Recientemente Bur y colaboradores,¹⁶ han demostrado una basofilia nucleolar y citoplásmica resistente a la ribonucleasa en molas hidatiformes de elevada potencialidad maligna. De esta manera una reacción enzimática permitiría distinguir aquellas molas que pueden transformarse en neoplasias trofoblásticas malignas de aquellas que tienen un pronóstico banal, resolviendo así un problema que no ha podido ser dilucidado en bases puramente morfológicas.

Indiscutiblemente la frecuente aplicación de métodos de mayor precisión cualitativa y cuantitativa de tipo bioquímico, a tejidos patológicos, redundará en el incremento de conocimientos a los ya obtenidos por métodos morfológicos e histoquímicos en la anatomía patológica.

Han transcurrido poco más de 100 años desde la publicación del célebre libro de Virchow, *Cellularpathologie*,¹⁷ y la Anatomía Patológica parece haber permanecido estática en relación de la riqueza morfológica de las lesiones. El empleo de nuevos métodos como el microscopio electrónico, difracción por rayos X, inmunofluorescencia, centrifugación diferencial, citogenética y métodos histoquímicos, señalan a la fase subcelular como aquella que se inicia al ampliar los horizontes en el conocimiento de la patología humana.

REFERENCIAS

1. Dixon, M. y Webb, E. C.: "*Enzymes*", Academic Press Inc., 1958. pp. 185-227.
2. Pearse, A. G. E.: *Histochemistry*. Theoretical and Applied. Little Brown & Co. Boston, 1960, pp. 363-383.
3. Linderstrom-Lang, K., y Mongensen, K. R.: C. R. trav. Lab. Carlsberg serie chim 23: 37, 1938 (citado por Pearse).

4. Chang, J. P., Russell, W. O. y Moore, E. B.: *J. Histochem. and Cytochem.* 9: 208, 1961.
5. Chang, J. P., Russell, W. O., Moore, E. B. y Sinclair, W. K.: *Am. J. Clin. Path.* 35: 14, 1961
6. Wiltshaw, E. y Moloney, W. C.: *Blood* 10: 1120, 1955.
7. Alamani, V.: *Riv. Obst. Ginec.* 11: 105, 1956.
8. Hoch-Ligeti, E. y Hsu, L. T.: *Am. J. Path.* 29: 105, 1953.
9. Fitzpatrick, T. B.: *Arch. Derm. & Syph.* 65: 379, 1952.
10. Kertész, D.: *J. Nat. Cancer Inst.* 14: 1081, 1954.
11. Yi-Yung Hsia, D.: *Inborn errors of metabolism. Year Book Pub. Inc.* 1959, pp. 137-147.
12. Altschuler, C. H. y Angevine, D. M.: *Am. J. Path.* 25: 1061, 1949.
13. Watson, E. M. y Pearce, R. H. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52: 1004, 1950.
14. Bunting, H.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52: 1950.
15. Ihnen, M. y Pérez Tamayo, R.: *Arch. Path.* 56: 46, 1953.
16. Bur, G. E., Hertig, A. H., McKay, D. G. y Adams, E. C.: *Obst. Gynec.* 19: 156, 1962.
17. Virchow, R.: *Cellularpathologie*, 1858.