

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human Inhibin α
Clone R1
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

N.º de catálogo GA058

Uso previsto

Para uso en diagnóstico in vitro.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Inhibin α , Clone R1, Ready-to-Use, (Dako Omnis), está indicado para su uso en inmunohistoquímica (IHC) junto con el instrumento Dako Omnis. El anticuerpo marca células que expresan inhibina α en tejido fijado con formol e incluido en parafina (FFPE). Los resultados ayudan en la clasificación de tumores de ovario, como, por ejemplo, los tumores estromales de los cordones sexuales (SCST) ováricos (1,2). La clasificación diferencial se complementa con los resultados de un panel de anticuerpos. La interpretación de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse mediante estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está indicado para su uso después de realizar el diagnóstico primario del tumor mediante histopatología convencional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Resumen y explicación

La inhibina es una hormona glucoproteína dimérica compuesta por una subunidad α y una β . Integra la superfamilia del factor de crecimiento transformador tipo β (TGF- β), e inhibe la producción o secreción de las gonodotropinas hipofisarias, preferentemente la folitropina (FSH) (1,3). La inhibina junto con la activina, una hormona glucoproteína dimérica estrechamente relacionada compuesta de dos subunidades beta, crean un circuito de retroalimentación endocrina muy afinado. Mientras la activina aumenta, la inhibina disminuye la biosíntesis y liberación de la FSH. Se ha demostrado que la inhibina y la activina están presentes en diversos tejidos gonadales y extragonadales, lo que indica que estos péptidos desempeñan otras funciones además de regular la secreción de FSH. La inhibina antagoniza la acción de la activina en muchos sistemas, lo que puede ser una propiedad válida en la oncogénesis. Se cree también que la inhibina puede actuar como supresora de tumores gonadales, mientras que la activina puede promover el crecimiento del tumor a través del circuito autocrino (3).

Consulte el documento de Dako *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica) o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHC: Principio del procedimiento, Material necesario pero no suministrado, Almacenamiento, Preparación de la muestra, Procedimiento de tinción, Control de calidad, Solución de problemas, Interpretación de la tinción, Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

Anticuerpo monoclonal listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clone: R1 (4) Isotype: IgG2a, kappa.

Inmunógeno

Péptido sintético correspondiente al péptido amino-terminal 1-32 de la subunidad alfa de la inhibina humana de 32 kDa (4).

Especificidad

El clon R1, anti-inhibina α , actúa contra la secuencia de aminoácidos 1-32 de la subunidad α de la inhibina humana. Según los resultados de inhibición en radioinmunoensayos, el clon R1 demuestra una preferencia mucho mayor por los péptidos 1-32 humanos que por los bovinos (73 veces más) o porcinos (23 veces más). El anticuerpo también reacciona con algunas de las formas moleculares múltiples de la inhibina encontrada en los líquidos foliculares de humanos y de bovinos (4).

Precauciones

1. Para uso en diagnóstico in vitro.
2. Para usuarios profesionales.
3. Este producto contiene azida sódica (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. A las concentraciones en las que está presente en el producto, aunque no se clasifican como peligrosas, la azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre, lo que formará acumulaciones de azidas metálicas muy explosivas. Tras desechar el producto, abra el grifo y deje que salga abundante agua para despejar las cañerías de cualquier acumulación de azidas.
4. Como con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, deben utilizarse los procedimientos de manipulación apropiados.
5. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
6. La solución no utilizada debe desecharse de acuerdo a las normativas locales, nacionales y de la UE.

Almacenamiento

Debe almacenarse a 2-8 °C. Durante el almacenamiento, el tapón debe estar cerrado. No debe utilizarse después de la fecha de caducidad que aparece impresa en el vial. La estabilidad en el equipo es de 40 horas. El software Dako Omnis controla la estabilidad en el equipo. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad en este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. Si observa tinciones inesperadas que no puedan atribuirse a las variaciones en los procedimientos de laboratorio y se sospecha que existe un problema con el anticuerpo, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Dako.

Descripción del protocolo de tinción*

Paso	Reactivo	Protocolo
Desparafinización	Clearify™ (n.º de catálogo GC810)	Valor predeterminado
Pretratamiento	EnVision FLEX, High pH (n.º de catálogo GV804)	30 min de recuperación del epítipo inducida por calor
Anticuerpo primario	Ready-to-Use (n.º de catálogo GA058)	Incubación de 25 min
Reactivo de control negativo	FLEX Negative Control, Mouse (n.º de catálogo GA750)	Incubación de 25 min
Visualización	EnVision FLEX (n.º de catálogo GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (n.º de catálogo GV821)	Bloqueo: 3 min; Link: 10 min; polímero: 20 min; cromógeno: 5 min
Contratinción	Hematoxylin (n.º de catálogo GC808)	Incubación de 3 min
Montaje	Se requiere un medio de montaje no acuoso y permanente	Tras la descarga, realizar deshidratación, limpieza y montaje
Control de calidad	Tejido	Patrón de tinción
Tejido de control	Testículo, placenta	Tinción citoplasmática

*El usuario siempre debe leer el prospecto del envase para conocer los reactivos utilizados, así como consultar los manuales del usuario de Dako Omnis para obtener más información.

Preparación de las muestras

Cortes de parafina: El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras tisulares deben cortarse en secciones de 4 µm. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos de vidrio, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides, n.º de catálogo K8020.

Procedimiento de tinción

La desparafinización, la recuperación antigénica, la tinción inmunohistoquímica y la contratinción se realizan en el instrumento Dako Omnis. Los pasos de tinción y los tiempos de incubación se han preprogramado en el software Dako Omnis. Si el protocolo no está disponible en el sistema Dako Omnis, se puede descargar de *Dako Omnis Protocol Update* en www.agilent.com. Consulte el Manual básico del usuario de Dako Omnis para obtener instrucciones detalladas sobre la carga de portaobjetos y reactivos.

Dako Omnis garantiza que los cortes de tejidos no se secan durante el proceso de pretratamiento ni durante el posterior procedimiento de tinción inmunohistoquímica.

Pretratamiento: La desparafinización de los cortes de tejido FFPE se realiza con Clearify™, n.º de catálogo GC810. Se recomienda realizar la recuperación antigénica con recuperación del epítipo inducida por calor (HIER) utilizando una dilución de EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), n.º de catálogo GV804.

Visualización: El sistema de visualización recomendado es la combinación de EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), n.º de catálogo GV800, y EnVision FLEX+ Mouse (LINKER) (Dako Omnis), n.º de catálogo GV821.

Contratinción: La contratinción recomendada es Hematoxylin (Dako Omnis), n.º de catálogo GC808.

Montaje: Después de la tinción en el instrumento Dako Omnis, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un método de montaje permanente.

Control de calidad

Los tejidos de control positivo y negativo, así como el reactivo de control negativo, deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El tejido de control positivo debe incluir los testículos y la placenta, y las células/estructuras deben mostrar patrones de reacción como se describe para este tejido en la sección "Características de resultados". El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Omnis), n.º de catálogo GA750.

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es citoplasmático.

Características de resultados

Tejidos normales: En el tejido testicular, las células de Leydig y las células de Sertoli muestran una tinción citoplasmática granular distintiva de moderada a fuerte. En tejido de la placenta, los trofo y sincitiotroblastos muestran una tinción citoplasmática de débil a moderada.

Reactividad en tejido normal (5).

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos
Amígdala (3)	0/3	Médula ósea (3)	0/3
Bazo (3)	0/3	Músculo esquelético (3)	0/3
Células de revestimiento (pared torácica, pared abdominal, pericardio, superficie de muestras gastrointestinales, corazón y/o pulmón) (3)	0/3	Nervio periférico (3)	0/3
Colon (3)	0/3	Ovario (3)	2/3 pocas células estromales 1/3 citoplasma de células estromales
Corazón (3)	0/3	Páncreas (3)	0/3
Cuello uterino (3)	0/3	Paratiroides (3)	0/3
Encéfalo, cerebelo (3)	0/3	Piel (3)	0/3
Encéfalo, cerebro (3)	0/3	Próstata (3)	0/3
Esófago (3)	0/3	Pulmón (3)	0/3
Estómago (3)	0/3	Riñón (3)	0/3
Glándula salivar (3)	0/3	Suprarrenal (3)	3/3 células suprarrenales en la corteza (50-90%)
Hígado (3)	0/3	Testículo (3)	3/3 células de Sertoli y Leydig (≥90%) 3/3 células de los túbulos seminíferos 1/3 túbulos de la red testicular
Hipófisis (3)	0/3	Timo (3)	0/3
Intestino delgado (3)	0/3	Tiroides (3)	0/3
Mama (3)	0/3	Útero (3)	0/3








Tejidos anómalos: La inhibina α en la corteza suprarrenal hiperplásica se marcó fuertemente en la zona reticular, débilmente en la zona fasciculada y no se marcó en la zona glomerular, al igual que en las células medulares suprarrenales. En los adenomas corticosuprarrenales la expresión de la inhibina α fue débil y focal, pero fuerte en todos los tumores virilizantes. La expresión de la inhibina α fue variable en los carcinomas corticosuprarrenales, independientemente de la actividad hormonal, oscilando entre un marcado fuerte o ausencia de marcado; en consecuencia, de forma general, la expresión específica por zona de la inhibina α fue alta en las células corticosuprarrenales productoras de andrógenos (6). En tejidos mamaros anómalos, la anti-inhibina α mostró una inmunoreactividad de moderada a fuerte en las células epiteliales de neoplasmas benignos, una intensa inmunoreactividad en las células epiteliales apocrinas de la enfermedad fibroquística y de débil a moderada en las células epiteliales neoplásicas, así como positiva en las células endoteliales de lesiones malignas (7). Un caso de tumor de células granulosas del sistema nervioso central (CNS) demostró reactividad con el clon R1, anti-inhibina α . En 70 tumores endocrinos de diversos sitios del aparato digestivo-pancreático, se observó inmunoreactividad con el clon R1, anti-inhibina α , en células raras de 7/70 tumores. Se demostró inmunoreactividad en 1/1 gastrinoma de células G del duodeno y en 1/2 gastrinomas de células G del páncreas, en 2/3 vipomas del páncreas, en 1/1 tumor de células endocrinas del yeyuno y del páncreas, y en 1/1 tumor de células A/D del páncreas. Por otro lado, la inhibina α no mostró inmunoreactividad en el resto de los tumores examinados en el duodeno y el páncreas así como en el apéndice, el íleon, el recto, el colon derecho y el estómago en diversos tipos de células (8).

En tejidos ováricos anómalos, se demostró que la inhibina α es un marcador sensible para la mayoría de los SCST. De acuerdo con una revisión de la bibliografía actual (3), la inhibina α inmunorreactiva está presente en casi el 100% de las células tumorales en los tumores de células granulosas, tumores de células de Leydig, tumores de células de Sertoli-Leydig, tumores de células de Sertoli, tumores de células esteroideas, tumores de los cordones sexuales y ginadoblastomas. Con algunas excepciones, la anti-inhibina α tiñe los elementos de los cordones sexuales de gonadoblastomas y tumores estromales de cordones sexuales sin clasificación. No obstante, en ocasiones se informó de que el componente de células de Sertoli en los SCST no resultaba marcado para la expresión de la inhibina α . La inhibina α también se expresa en una mayoría de células estromales luteinizadas o células tipo teca luteinizadas en tecomas, fibrotecomas, luteomas estromales, fibromas, tumores estromales esclerosantes, hiperplasias estromales e hipertecosis. Se observó también la expresión de la inhibina α en células estromales luteinizadas o células tipo teca luteinizadas dentro del estroma de tumores epiteliales ováricos y carcinomas ováricos metastásicos (4). Al examinar diversos tejidos ováricos anómalos con el clon R1, anti-inhibina α , se demostró inmunoreactividad en 77/80 tumores de células granulosas, 12/12 tumores de Sertoli-Leydig, 2/2 tumores de células de Sertoli-Leydig de subtipo retiforme, 2/2 tumores de Sertoli, 2/2 ginadoblastomas, 9/18 tecomas y 6/6 tumores de células esteroideas (1,2). Quince de los dieciséis casos de tumores estromales de los cordones sexuales testiculares examinados con inhibina α R1 mostraron inmunoreactividad (3). Todos los fibromas, mixomas, tumores estromales esclerosantes, diversos carcinomas, tumores de células germinales, carcinomas de células pequeñas y linfomas no demostraron inmunoreactividad tumoral con los anticuerpos de la anti-inhibina α (2,3).

Referencias

1. Groome N, Hancock J, Betteridge A, Lawrence M, Craven R. Monoclonal and polyclonal antibodies reactive with the 1-32 amino terminal sequence of the alpha subunit of human 32K inhibin. *Hybridoma* 1990; 9(1):31.
2. Costa MJ, Ames PF, Walls J, Roth LM. Inhibin immunohistochemistry applied to ovarian neoplasms: a novel, effective, diagnostic tool. *Human Path* 1997; 28(11):1247.
3. Matias-Guiu X, Pons C, Prat J. Mullerian inhibiting substance, alpha-inhibin, and CD99 expression in sex cord-stromal tumors and endometrioid ovarian carcinomas resembling sex cord-stromal tumors. *Human Path* 1998; 29(8):840.
4. Zheng W, Lauchlan SC. Inhibin and activin: their roles in ovarian tumorigenesis and their diagnostic utility insurgical pathology practice. *Applied Immuno & Mol Morph* 1999; 7(1):29.
5. Dako in-house test. Report D39622.
6. Arola J, Liu J, Heikkilä P, Voutilainen R, Kahri A. Expression of inhibin α in the human adrenal gland and adrenocortical tumors. *Endo Res* 1998; 24(3&4):865.
7. Di Loreto C, Reis FM, Cataldi P, Zuiani C, Luisi S, Beltrami CA, Petraglia F. Human mammary gland and breast carcinoma contain immunoreactive inhibin/activin subunits: evidence for a secretion into cystic fluid. *European J of Endo* 1999; 141:190.
8. La Rosa S, Uccella S, Billo P, Facco C, Fausto S, Capella C. Immunohistochemical localization of α - and β subunits of inhibin/activin in human normal endocrine cells and related tumors of the digestive system. *Virchows Arch* 1999; 434:29.

Explicación de símbolos

 REF	Número de catálogo	 2°C - 8°C	Limitación de temperatura		Fabricante
 IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	 LOT	Código de lote		
	Consulte las instrucciones de uso		Fecha de caducidad		

Edición 11/16

Manufactured by:
Dako North America, Inc.

Manufactured for:
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup
Denmark
Tel. +45 44 85 95 00
Fax +45 44 85 95 95