



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

EXPRESIÓN DE CITOQUERATINA 5/6 Y CRISTAL
VIOLETA EN AMILOIDOSIS CUTÁNEA PRIMARIA

EXPRESSION OF CYTOKERATIN 5/6 AND VIOLET
CRYSTAL IN PRIMARY CUTANEOUS AMYLOIDOSIS

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO

AUTORES

JOSE MANUEL CORDERO MEJIA
GRETGHEN ROSSMARY LINO GUTIERREZ

ASESOR

CESAR AUGUSTO CHIAN GARCIA

LIMA - PERÚ
2024

JURADO

Presidente: Dra. Wendy Guisela Sotelo Diaz

Vocal: Dra. Natali Leiva Reyes

Secretario: Dra. Guiliana Mas Ubillus

Fecha de sustentación: 7 de agosto del 2024

Calificación: Aprobado

ASESOR DE TESIS

ASESOR:

Dr. Cesar Augusto Chian Garcia

Especialista en Patología Clínica y Laboratorio Clínico

ORCID: 0000-0002-4550-8655

DEDICATORIA

A nuestros padres, hermanos, amigos y colegas que nos acompañaron durante todos estos años de carrera y sirvieron como soporte en los momentos más difíciles

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos encarecidamente a nuestro asesor el doctor Cesar Chian, médico docente de la UPCH, quien nos brindó su apoyo y conocimientos para concluir satisfactoriamente este trabajo

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Autofinanciado

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

EXPRESIÓN DE CITOQUERATINA 5/6 Y CRISTAL VIOLETA EN AMILOIDOSIS CUTÁNEA PRIMARIA

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

16%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.upch.edu.pe

Fuente de Internet

8%

2

www.ibm.com

Fuente de Internet

1%

3

pesquisa.bvsalud.org

Fuente de Internet

1%

4

www.slideshare.net

Fuente de Internet

1%

5

actasdermo.org

Fuente de Internet

1%

6

search.bvsalud.org

Fuente de Internet

<1%

7

www.ibanezyplaza.com

Fuente de Internet

<1%

8

Leonardo Elías Ordóñez Ordóñez, Esther Sofía Angulo Martínez, Silvia Carolina Vanegas, Silvia Raquel Rodríguez Montoya.
"Experiencia clínica con el implante coclear"

<1%

TABLA DE CONTENIDO

I.	Introducción.....	1
II.	Objetivos.....	5
III.	Materiales y métodos.....	6
IV.	Resultados.....	11
V.	Discusión.....	13
VI.	Conclusiones.....	18
VII.	Referencias bibliográficas.....	19
VIII.	Tablas, gráficos y figuras.....	22

Anexos

RESUMEN

Antecedentes: La amiloidosis cutánea primaria (ACP) se presenta principalmente como amiloidosis macular y liquen amiloide. El diagnóstico se realiza a través de una biopsia de piel de la zona lesional. Con un adecuado correlato clínico-patológico y la observación de los depósitos de amiloide en la dermis con la tinción de hematoxilina-eosina (HE) se puede establecer el diagnóstico en la mayoría de los casos; sin embargo, se pueden usar diferentes tinciones para identificar la presencia de estos depósitos. **Objetivos:** 1) Evaluar y comparar la expresión inmunohistoquímica de citoqueratina 5/6 (CK 5/6) e histoquímica de cristal violeta en una serie de casos de ACP. 2) Describir las características clínico-patológicas de una serie de casos de ACP. **Materiales y métodos:** Serie de casos consecutivos de biopsias de piel con diagnóstico de ACP, a las cuales se les realizó inmunohistoquímica con CK 5/6 e histoquímica con cristal violeta. Se cuantificó en una escala la intensidad de depósitos identificados con HE, cristal violeta y CK 5/6, y se utilizó el coeficiente de Spearman (ρ) para determinar la correlación entre la intensidad de las tinciones. Luego se realizó una regresión lineal para determinar el tipo de correlación. **Resultados:** Cuarenta y nueve biopsias de 47 pacientes con ACP fueron evaluadas. Todas fueron negativas con CK 5/6; 61.2%, positivas con cristal violeta. La mayor parte de casos negativos a cristal violeta correspondió a depósitos tenuemente identificados con HE. Se determinó una correlación positiva al comparar la identificación de amiloide con HE y cristal violeta. **Conclusiones:** Nuestro estudio demostró que la CK 5/6 no es de utilidad en la identificación de amiloide. El cristal violeta no aporta información adicional en el diagnóstico, y no sería mejor que la HE en la identificación de amiloide, especialmente cuando los

depósitos son escasos. Se requieren estudios adicionales para explicar la diferencia entre nuestros resultados y los reportados por estudios similares que muestran positividad a CK 5/6 en los depósitos de amiloide.

Palabras claves: Amiloidosis cutánea, citoqueratina 5/6, inmunohistoquímica, cristal violeta

ABSTRACT

Background: Primary cutaneous amyloidosis (PCA) mainly presents as macular amyloidosis and lichen amyloidosis. Diagnosis is achieved through skin biopsy of the lesion area. With appropriate clinical-pathological correlation and observation of amyloid deposits in the dermis using hematoxylin-eosin (HE) staining, diagnosis can be established in most cases; however, different stains can be used to identify the presence of these deposits. **Objectives:** 1) Evaluate and compare the immunohistochemical expression of cytokeratin 5/6 (CK 5/6) and histochemical staining with crystal violet in a series of PCA cases. 2) Describe the clinicopathological characteristics of a series of PCA cases. **Materials and methods:** Consecutive case series of skin biopsies diagnosed with PCA, subjected to immunohistochemistry with CK 5/6 and histochemistry with crystal violet. The intensity of deposits identified with HE, crystal violet, and CK 5/6 was quantified on a scale, and Spearman's coefficient (ρ) was used to determine correlation between stain intensities. Linear regression was then performed to determine the type of correlation. **Results:** Forty-nine biopsies from 47 patients with PCA were evaluated. All were negative with CK 5/6; 61.2% were positive with crystal violet. Most cases negative with crystal violet corresponded to deposits faintly identified with HE. A positive correlation was determined when comparing amyloid identification with HE and crystal violet. **Conclusions:** Our study demonstrated that CK 5/6 is not useful in amyloid identification. Crystal violet does not provide additional information in diagnosis and is not superior to HE in amyloid identification, especially when deposits are sparse. Further studies are needed to

explain the difference between our results and those reported by similar studies showing CK 5/6 positivity in amyloid deposits.

Keywords: Cutaneous amyloidosis, cytokeratin 5/6, immunohistochemistry, crystal violet

I. INTRODUCCIÓN

La amiloidosis es el término general que hace referencia al depósito en el tejido extracelular de fibrillas altamente ordenadas compuestas de subunidades de bajo peso molecular de una variedad de proteínas, muchas de las cuales, en su forma nativa, circulan como constituyentes normales del plasma. En casos de amiloidosis sistémica, este depósito es responsable del daño tisular y compromiso funcional (1, 2).

La amiloidosis puede clasificarse en sistémica, con compromiso de varios sistemas, y localizada cuando involucra un solo órgano. El término amiloidosis cutánea primaria localizada (ACPL) hace referencia a un grupo de condiciones caracterizadas por depósitos de material hialino homogéneo extracelular en la piel, específicamente en la dermis papilar, sin ningún compromiso sistémico. La ACPL se clasifica a su vez en liquen amiloide, amiloidosis macular y amiloidosis nodular según sus características clínicas. (2, 3) Otras formas muy raras de amiloidosis cutánea primaria incluyen amiloidosis nodular, amiloidosis poiquilodermatoso, amiloidosis anosacral y amiloidosis familiar primaria cutánea, asociada a mutación en los genes OSMR y IL3R1LA (4).

La amiloidosis macular y liquen amiloide ocurren con mayor frecuencia en personas de América del Sur, Asia y Medio Oriente, también han demostrado tener mayor prevalencia en mujeres y en el rango de edad entre 21-50 años (1, 2, 4).

La patogénesis de la ACPL no está del todo dilucidada; sin embargo, varios factores como predisposición genética, fricción, luz solar, atopía y virus del Epstein-Barr han sido implicados. Dos mecanismos patogénicos han sido propuestos. La teoría fibrilar propone que los tonofilamentos de queratinocitos apoptóticos sufren degeneración filamentosa y son depositados en la dermis. Estos son fagocitados por histiocitos y fibroblastos, y modificados en material amiloide. Por otro lado, la teoría secretora menciona que los queratinocitos basales degenerados secretan material amiloide que luego cae en la dermis a través de la lámina densa dañada (1, 2, 5, 6)

La presentación clínica varía dependiendo del tipo de ACPL. La amiloidosis macular se presenta como lesiones maculares hiperpigmentadas y delgadas que, en algunos casos, contienen rayas onduladas de color gris tostado. Suele comprometer regiones escapulares y superficies extensoras. Por otro lado, el tipo liquen amiloide aparece como pápulas pruriginosas, hiperpigmentadas, escamosas, de 2 a 4 mm, que pueden fusionarse para formar placas con una apariencia ondulada. Su ubicación más frecuente es en la región pretibial. Por último, la amiloidosis nodular se muestra como lesiones nodulares serosas únicas o múltiples ubicadas mayormente en cara, tronco y extremidades. (1, 7)

La sospecha diagnóstica de ACPL se basa en los hallazgos clínicos sugestivos como el tipo de lesión, ubicación y/o la presencia de prurito. Se confirma el diagnóstico mediante la detección de amiloide en una biopsia de piel. El método de extracción de biopsia suele ser por punción. Para la detección de amiloide se utilizan métodos

histopatológicos e inmunohistoquímicos. Entre los histopatológicos podemos resaltar la tinción hematoxilina y eosina la cual muestran pequeños glóbulos amorfos de material eosinofílico ubicadas en la dermis papilar. El amiloide derivado de queratinocitos también se puede teñir con rojo de Congo, cristal violeta y tioflavina T. En la tinción rojo de Congo, el amiloide se pigmenta de color rojo anaranjado. Además, bajo la luz polarizada, el amiloide muestra una birrefringencia típica de color verde manzana por un fenómeno llamado dicroísmo (8). En el caso de la tinción con cristal violeta, los depósitos de amiloide se tiñen de color violáceo en la dermis papilar (9).

Por otra parte, en la inmunohistoquímica, se utilizan anticuerpos contra diversas citoqueratinas que son proteínas de fibrillas de amiloide que se expresan en el citoplasma de las células epiteliales. Las citoqueratinas 1, 5, 10 y 14 se expresan en los queratinocitos basales de una epidermis sana; sin embargo, estas citoqueratinas también se expresan en los depósitos de amiloide en la enfermedad amiloidosis liquenoide y macular. Por ello, se considera que los anticuerpos contra la citoqueratina 5 tienen mayor utilidad en estos tipos de amiloidosis cutánea. Por otro lado, en la amiloidosis nodular y sistémica, tienen mayor utilidad los anticuerpos que se unen a las cadenas ligeras de inmunoglobulinas. Es necesario precisar que, debido a que la amiloidosis cutánea tiene una presentación clínica variada la demostración de los depósitos de amiloide mediante pruebas especiales es esencial para llegar a un diagnóstico definitivo para el tratamiento adecuado. (1, 10, 11)

Hasta el momento, existen pocas series de casos a nivel mundial de amiloidosis cutánea primaria. En el estudio realizado por Sari Aslani *et al* en Asia comparan 42 casos usando cristal violeta, rojo de Congo, citoqueratina 5 y queratina de alto peso molecular (9); en otros dos estudios realizados en India por Sinha *et al* y Mehrotra *et al*, comparan 30 y 50 biopsias respectivamente, usando rojo de Congo y citoqueratina 5/6 (11, 12). No hemos encontrado hasta la fecha algún estudio en Perú o Latinoamérica utilizando marcadores para amiloidosis cutánea primaria.

Por todo lo expuesto, encontramos importante realizar un estudio de amiloidosis cutánea primaria en Lima, Perú con un número significativo de casos para poder evaluar la utilidad de los métodos diagnósticos de histoquímica como el cristal violeta y de inmunohistoquímica como la citoqueratina 5/6. Asimismo, el hecho de estudiar la utilidad de estos métodos representará un aporte para mejorar la precisión diagnóstica de los pacientes con esta condición.

II. OBJETIVOS

Principal

- Evaluar la expresión inmunohistoquímica de citoqueratina 5/6 en amiloidosis cutánea primaria
- Evaluar la expresión histoquímica de la coloración de cristal violeta en amiloidosis cutánea primaria
- Comparar la expresión inmunohistoquímica de citoqueratina 5/6 con la expresión histoquímica de cristal violeta en amiloidosis cutánea primaria

Secundarios

- Describir las características clínico-patológicas de una serie de casos de amiloidosis cutánea primaria.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de Estudio: Estudio descriptivo observacional retrospectivo tipo serie de casos.

Población de Estudio

- Criterios de inclusión
 - Casos de pacientes de un laboratorio de anatomía-patológica particular de Lima, Perú con diagnóstico histológico de amiloidosis cutánea primaria
- Criterios de exclusión
 - Se excluirán los casos que el material (bloque de parafina) no esté disponible en el laboratorio por haber sido prestado al paciente o por haber sido material de revisión que fue devuelto una vez concluido el estudio.

Muestra: Se realizó un muestreo seleccionando las muestras con diagnóstico de amiloidosis cutánea primaria desde el 31 de diciembre del 2023 hacia fechas anteriores, hasta conseguir por lo menos 50 casos que se consideran representativos para el estudio.

Definición operacional de variables: En este estudio se utilizaron variables como edad, sexo y localización de las lesiones desde las cuales fueron obtenidas las biopsias. (Anexo 1)

Procedimientos y técnicas

Una vez identificado el caso, se ubicó el material del archivo (lámina de HE y bloque de parafina) para realizar la evaluación respectiva. La información de edad y sexo de los pacientes y la localización anatómica de la lesión fue registrada en una ficha de recolección de datos (Anexo 2)

Procesamiento de histoquímica (Cristal Violeta)

El protocolo para la coloración de cristal violeta fue el siguiente:

1. Realizar corte histológico de 4 micras de espesor en láminas convencionales
2. Desparafinización a través de tres pasos sucesivos en solución desparafinizante, cada uno de 10 minutos de duración.
3. Hidratación del tejido a través de pasos sucesivos de 10 minutos de duración, dos de alcohol absoluto y dos de alcohol de 90°
4. Incubación con la solución de cristal violeta por 5 horas
5. Lavado con agua destilada por 15 minutos (no se realiza montaje)

Procesamiento de inmunohistoquímica (Citoqueratina 5/6)

El procesamiento de inmunohistoquímica se realizó siguiendo el protocolo recomendado por el proveedor de reactivos, de acuerdo a la siguiente secuencia.

1. Realizar cortes histológicos de 4 micras de espesor en láminas ionizadas.
2. Secado en plancha a 60°C
3. Desparafinización a través de tres pasos sucesivos en solución desparafinizante, cada uno de 10 minutos de duración.
4. Hidratación del tejido a través de pasos sucesivos de 10 minutos de duración, dos de alcohol absoluto y dos de alcohol de 90°.
5. Dejar reposar en buffer fosfato pH 7.4 (PBS) por 10 minutos.

6. Recuperación antigénica en Baño María por 30 minutos utilizando solución de recuperación antigénica pH10 (antigen retrieval solution™)
7. Reposo por 30 minutos, manteniendo las láminas en solución de recuperación antigénica durante 30 minutos.
8. Incubación con peróxido de hidrógeno durante 10 minutos para evitar reacción cruzada con peroxidasas endógenas. Lavado por 10 minutos en PBS.
9. Incubación con anticuerpo primario (Anticuerpo contra citoqueratina 5/6) durante 30 minutos. Lavado por 10 minutos en PBS.
10. Incubación con polímero durante 10 minutos Lavado por 10 minutos en PBS.
11. Incubación con cromógeno DAB durante 5 minutos. Lavado en agua corriente por 5 minutos.
12. Contraste con hematoxilina, introducir las láminas en hematoxilina durante 30 segundos.
13. Deshidratación a través de pasos sucesivos por alcohol de 95°, alcohol absoluto y xilene.
14. Montaje con entellán.

Evaluación de la histoquímica y de la inmunohistoquímica

Las tinciones de cristal violeta y citoqueratina 5/6 se evaluaron por un patólogo con experiencia en el diagnóstico de biopsias cutáneas para determinar la inmunorreactividad en los depósitos de amiloide. Para el cristal violeta se consideró como reacción positiva una coloración grosella de los depósitos de amiloide. Para la citoqueratina 5/6 se consideró positiva una tinción marrón de los depósitos de

amiloide. La intensidad de cada una de las tinciones fue graduada en una escala semicuantitativa, con fines de comparación, de acuerdo al siguiente criterio. (Anexo 3)

Análisis de los resultados

Los resultados de la evaluación de la tinción fueron registrados en una ficha y tabulados con fines comparativos, realizándose la comparación entre la intensidad de tinción entre las coloraciones de citoqueratina 5/6 y cristal violeta, utilizando la prueba de Chi-cuadrado.

Toda la información fue analizada usando el SPSS (Statistical Package for Social Sciences), versión de software 22. En el presente estudio se empleó la media, la desviación estándar, la frecuencia y el porcentaje. El procedimiento Prueba de chi-cuadrado tabula una variable en categorías y calcula un estadístico de chi-cuadrado. Esta prueba de bondad de ajuste compara las frecuencias observadas y esperadas en cada categoría para contrastar que todas las categorías contengan la misma proporción de valores o que cada categoría contenga una proporción de valores especificada por el usuario.

Aspectos éticos del estudio: El proyecto, antes de su realización, fue presentado y aprobado por el Comité de Ética Institucional para su aprobación.

Se considera que las pruebas de inmunohistoquímica con citoqueratina 5/6 e histoquímica con cristal violeta a realizar en las biopsias son pruebas complementarias dentro del estudio de las biopsias de los pacientes y responde al motivo por el que fueron tomadas las biopsias en su momento. Los resultados de la histoquímica e inmunohistoquímica realizadas a las muestras serán agregados como

una adenda en los informes anatomopatológicos ya emitidos y estarán disponibles para los pacientes y para sus médicos tratantes cuando lo soliciten.

Asimismo, se dejó constancia que el uso de dos únicos cortes histológicos para realizar la inmunohistoquímica e histoquímica no resultará en desgaste ni pérdida significativa del tejido guardado en el archivo del Laboratorio.

La confidencialidad respecto a la identidad de los pacientes y de los resultados de los estudios realizados en sus muestras está garantizado por el hecho de que durante todo el proceso se utilizarán los códigos de patología para la identificación de las muestras. Los investigadores se comprometen a garantizar que estos datos sean de su único conocimiento.

Se deja, asimismo, constancia, que la realización de las pruebas de citoqueratina e inmunohistoquímica mencionadas no representan ningún riesgo para el paciente.

En base a estas consideraciones, se solicitó que no sea indispensable la firma de un consentimiento informado como requisito para incluir los casos en esta investigación.

IV. RESULTADOS

Cuarenta y nueve biopsias de piel de cuarenta y siete pacientes con el diagnóstico confirmado de Amiloidosis cutánea por tinción con HE realizada en un laboratorio particular de Lima, Perú desde enero del 2019 a diciembre del 2023, fueron recibidas. Las biopsias fueron teñidas con cristal violeta y citoqueratina 5/6 para ser evaluadas.

Se observa que el 29.8% (n=14) de pacientes fueron varones y 70.2% (n=33), mujeres. Asimismo, en el rango de edad de 20 a 45 años encontramos 14 pacientes, en el de 46 a 65 años, 21; en el de 66 a 85 años, 5; y hubo 7 reportes de biopsias donde no especificaron la edad del paciente. Además, se realizó el test de normalidad de Shapiro-Wilk en el que encontramos que la variable edad tiene un valor de $p > 0.05$ lo que interpretamos como una distribución normal. Debido a esto, calculamos la media de la edad de los pacientes que fue 50.18 y la desviación estándar, 14.002 (Gráfico 1)

Por otro lado, 5 biopsias pertenecieron a la zona de miembros superiores; 12, de miembros inferiores; 10, de espalda; 4, del tronco; 1, de la cabeza; y 17 biopsias no tenían registro de en qué zona fueron tomadas. (Tabla 1)

Encontramos que, de las 49 biopsias evaluadas, ninguna mostró positividad a citoqueratina 5/6. Por otro lado, 30 biopsias fueron positivas a la tinción de cristal violeta. Por lo tanto, la sensibilidad de la citoqueratina 5/6 es 0% y la sensibilidad la coloración cristal violeta es 61.2%. Dentro del grupo de biopsias coloreadas con cristal violeta, el 76.7% (n=23) tenían una tinción con leve intensidad (1+); el

13.3% (n=4) de moderada intensidad (2+); y el 10% (n=3) de gran intensidad (3+).
(Tabla 2 y 3)

La tabla N° 4 muestra una comparación entre la intensidad de tinciones de cristal violeta y HE. Al utilizar el coeficiente de correlación de Spearman se encontró un valor p de 0.0000191, esto indica que existe una correlación estadísticamente significativa. Luego se realizó una regresión lineal simple, donde se halla que β es 0.39. Esto significa que por cada unidad que incrementa la intensidad del cristal violeta va a aumentar en 0,39 la intensidad de HE (Tabla 4) (Gráfico 2).

En las figuras 1 y 2, observamos diferentes formas de depósito de amiloide. Encontramos al amiloide agrupado debajo de la dermis (Fig. 1), y depositado a lo largo de toda la capa profunda de la dermis de forma granular (Fig. 2). Sin embargo, en ambas figuras la citoqueratina 5/6 no reaccionó con el amiloide

V. DISCUSIÓN

La amiloidosis cutánea primaria es una enfermedad no tan frecuentemente encontrada en la práctica clínica y que no es causa directa de mortalidad en la población general; sin embargo, no existen muchas series de casos reportados hasta la fecha. La amiloidosis cutánea se caracteriza por la presencia de pápulas y placas hiperqueratósicas en la piel, asociadas a prurito (13, 14).

En el presente estudio, luego de revisar 49 biopsias, encontramos que la amiloidosis cutánea se encontró más frecuentemente en mujeres, lo que tendría concordancia con algunos estudios previos con poblaciones más pequeñas (9, 11, 15, 16), la razón que se le atribuye es que son las mujeres las que más tempranamente buscan atención médica que los varones, por motivos estéticos (17, 18, 19, 20, 21). Asimismo, encontramos que fue más frecuente en la población joven y adulta menor de 66 años, con una media de 50.1 ± 14.002 , similar a un estudio previo donde encontraron una media de 45 años (13), pero alejado a otro donde encontraron una media en 35.5 ± 10.9 (9), lo que no nos permitiría inferir alguna tendencia, ya que ambos estudios tienen poblaciones más pequeñas que el nuestro. Además, las zonas corporales más frecuente fueron los miembros inferiores y la espalda, similar a otro estudio realizado por Yaman *et al*, donde fue mucho más frecuente en la espalda; sin embargo, esto no podría extrapolarse como zonas más frecuentes de amiloidosis cutánea, ya que la zona de biopsia no fue necesariamente la única zona afectada.

En cuanto a las tinciones, encontramos que todas las muestras procesadas con citoqueratina 5/6 resultaron negativas, esto podría deberse a varias razones, si bien la citoqueratina 5/6 ha mostrado reaccionar con amiloide en algunos estudios, la población estudiada es diferente a la población peruana (14, 9). Otra razón podría ser por el tipo de clona usada. En este estudio utilizamos la clona CK5/6.007. Sin embargo, existe un estudio que al usar la clona CK5.XM26 sí halló depósitos de amiloide en 22 de 42 pacientes con amiloidosis macular (9), por lo que otra posible causa pudo haber sido el tipo de clona. En otro estudio se muestran resultados contrastantes al del presente estudio donde la citoqueratina 5/6 da positivo para todas las muestras de pacientes con amiloidosis macular (22). Existe otro estudio donde las citoqueratinas 5/6/18 tiñeron 13 láminas de 20 pacientes con amiloidosis cutánea (10). Es necesario precisar que en todos los casos procesados con CK 5/6 se observó marcación del tercio basal de la epidermis, que funciona como control interno, siendo un indicador de la validez de la tinción.

Al comparar las intensidades de las tinciones de cristal violeta con las intensidades de HE, encontramos que el valor de p fue menor de 0.05, esto señala que existe una correlación estadísticamente significativa entre cristal violeta y HE. Además, el valor de β es 0.39, esto indica que por cada unidad que incrementa la intensidad del cristal violeta va a aumentar en 0,39 la intensidad de HE. Durante la búsqueda bibliográfica no se encontraron estudios que realicen una correlación entre las intensidades de láminas de HE y cristal violeta. Sin embargo, en un estudio muestran que tanto HE como cristal violeta tiñen depósitos de amiloide en 15

biopsias de 42 pacientes con diagnóstico clínico de amiloidosis cutánea por lo que no existe una diferencia significativa entre ambas tinciones (9).

Por otro lado, encontramos para este estudio que el cristal violeta tiene una sensibilidad del 61% para el diagnóstico de amiloidosis, lo que la alejaría de ser una prueba ideal, ya que representa una sensibilidad baja (<90%), pese a que en algunos estudios muestran una sensibilidad del 100% y concluyen que es mejor que el rojo de Congo, prueba usada para el diagnóstico definitivo de amiloidosis; sin embargo, estos estudios fueron realizados con un número menor de biopsias (13).

La Tabla 5 muestra estudios previos utilizando marcadores inmuno e histoquímicos para amiloidosis cutánea primaria.

Con relación al uso de queratinas para la detección de depósitos en amiloidosis cutánea primaria son de resaltar dos estudios. un estudio realizado por Chang *et al*, donde utilizaron diferentes anticuerpos monos y policlonales anti-citoqueratina para las citoqueratinas 1-8, 10, 14, 16, 17, 18, 19, logrando detectar depósitos en el 100% de los casos, hecho que se debe sobre todo a la presencia de citoqueratina 5 y 14, ya que, durante el proceso de formación de amiloide, la destrucción del queratinocito basal (el cual es detectado por las citoqueratinas 5 y 14) ocurre más frecuentemente (23). Hallazgos similares se observaron en otro estudio donde también se usaron las mismas citoqueratinas y se obtuvieron resultados análogos (10). Estos reportes correspondieron a individuos de Asia y Europa Oriental. No se encontraron estudios similares en el Perú o Latinoamérica.

Finalmente, debido a los resultados obtenidos con las citoqueratinas 5/6, se seleccionaron 4 casos con tinción positiva 3+ a cristal violeta para realizar inmunohistoquímica con queratina AE1/AE3, dando como resultado que los cuatro casos fueron negativos. Es necesario comentar que la queratina AE1/AE3 es un cocktail que incluye todas las queratinas, con excepción de la CK18 y CK19. Este hallazgo adicional podría tener dos explicaciones, que el material depositado en nuestros casos no contiene filamentos intermedios de queratina, o que contiene queratinas 18 o 19, no detectadas por las pruebas utilizadas. Debido a que la naturaleza específica de los depósitos en los casos de amiloidosis cutánea primaria no ha sido del todo esclarecida, nuestros hallazgos podrían indicar que la naturaleza de este material podría ser heterogénea y probablemente puedan existir diferencias raciales en su composición. Por tanto, sería interesante realizar estudios que permitan definir con precisión la naturaleza de los depósitos a fin de tener un mejor conocimiento de esta entidad.

Entre las limitaciones de nuestro estudio, encontramos que el número de biopsias si bien es mayor que los estudios previos, aún no puede ser considerado como un número significativo para extrapolar estos resultados. Además, algunos datos de los informes de biopsia se encontraban incompletos, sobre todo la localización de las lesiones.

Además, este estudio presenta varias fortalezas destacables. Por un lado, se trata de una de las pocas investigaciones realizadas a nivel mundial y el único en

Latinoamérica que evalúa estos marcadores en una muestra de biopsias, proporcionando datos valiosos y específicos para esta región. Asimismo, los resultados, al mostrar que ninguna lámina con citoqueratina 5/6 dio positivo, aportan una valiosa conclusión sobre la limitada utilidad de este marcador en el diagnóstico de amiloidosis cutánea primaria en nuestro medio, orientando a los profesionales de la salud hacia métodos diagnósticos más efectivos y eficientes, y sentando las bases para futuras investigaciones que puedan explorar alternativas más prometedoras.

VI. CONCLUSIONES

Concluimos que la amiloidosis fue más frecuente en mujeres y en pacientes con una edad promedio de 50 años. Además, citoqueratina 5/6 no tuvo utilidad para el diagnóstico de amiloidosis cutánea en nuestro estudio; sin embargo, recomendamos replicar el estudio en una población más grande para reafirmar esta conclusión. Asimismo, el cristal violeta no aportaría información adicional en el diagnóstico de amiloidosis, frente al HE.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Somani VK, Somani A, Sarkar R. Primary localized cutaneous amyloidosis - a review. *Pigment Int* 2023;10:4-13.
2. Gorevic PD. Overview of amyloidosis. UpToDate
3. Picken MM. The Pathology of Amyloidosis in Classification: A Review. *Acta Haematol* 2020; 143:322.
4. Calonje E, Brenn T, Lazar A, Billings SD. McKee's Pathology of the skin: With clinical correlations. 5th ed. Vol. 1. Edinburgh, Scotland: Elsevier; 2020.
5. Hashimoto K, Ito K, Taniguchi Y, Yang F, Youngberg G. Keratin in cutaneous amyloidosis. *Clin Dermatol* 1990;8:55-65.
6. Touart DM, Sau P. Cutaneous deposition diseases. Part I. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:149-71.
7. Bohjanen K, Miller D. Cutaneous manifestations of amyloidosis. UpToDate
8. Groves R, Black M. Amiloidosis. En: *Dermatología*, 3.^a ed., Bologna J, Jorizzo J, Schaffer J (Eds), Saunders Elsevier, 2012. p.699.
9. Sari Aslani F, Kargar H, Safaei A, Jowkar F, Hosseini M, Sepaskhah M. Comparison of immunostaining with hematoxylin-eosin and special stains in the diagnosis of cutaneous macular amyloidosis. *Cureus*. 2020;12(6):e7606.
10. Apaydin R, Gürbüz Y, Bayramgürler D, Müezzinoğlu B, Bilen N. Cytokeratin expression in lichen amyloidosis and macular amyloidosis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2004; 18(3): 305-309.
11. Sinha A, Manjunath V, Basavaraj V. Primary cutaneous amyloidosis: A clinicopathological, histochemical, and immunohistochemical study. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 2021; 64(2):323-328.

12. Mehrotra K, Dewan R, V Kumar J, Dewan A. Primary cutaneous amyloidosis: A clinical, histopathological and immunofluorescence study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017;11(8):WC01–5
13. Al-Ratrout J, Satti M. Primary localized cutaneous amyloidosis: a clinicopathologic study from Saudi Arabia. *International Journal of Dermatology*. 1997; 36(6): 428–434.
14. Calero-Hidalgo G, Vera-Gordillo E. Amiloidosis de compromiso cutáneo. *Dermatología Peruana*. 2012; 22:151-157
15. Huilgol SC, Ramnarain N, Carrington P, Leigh IM, Black MM. Cytokeratins in primary cutaneous amyloidosis. *Australasian Journal of Dermatology*. 1998;39(2):81–85.
16. Ollague W, Ollague J, Ferretti H. Epidemiology of primary cutaneous amyloidoses in South America. *Clin Dermatol* 1990; 8:25–9
17. Yaman B, Kumbaraci BS, Gómez CA, Akalin T, Sen S. C4D as a practical marker for cutaneous amyloidosis. *The American Journal of Dermatopathology*. 2021;44(1):28–32.
18. Shanon J, Sagher F. Inter scapular cutaneous amyloidosis. *Arch Dermatol* 1970; 102: 195-198
19. Kurhan AK, Malak JA, Afifi AK, et al. Primary localized macular cutaneous amyloidosis: histochemistry and electron microscopy. *Br J Dermatol* 1971; 85: 52-60
20. Black MM, Wilson-Jones E. Macular amyloidosis: a study of 21 cases with special reference to the role of the epidermis in its histogenesis. *Br J Dermatol*

- 1971; 84: 199—209, Lin TF. Modifiable health risk factors and medical expenditures – the case of Taiwan. *Soc Sci Med* 2008; 67:1727–36,
21. Lee DD, Huang CK, Ko PC, Chang YT, Sun WZ, Oyang YJ. Association of primary cutaneous amyloidosis with atopic dermatitis: a nationwide population-based study in Taiwan. *British Journal of Dermatology*. 2010;164(1):148–153
22. Abdullah A, Abdulgader A. The utility of Congo red stain and cytokeratin immunostain in the detection of primary cutaneous amyloidosis. *Internet J Pathol*. 2015;17:1–7.
23. Chang YT, Liu HN, Wang WJ, Lee DD, Tsai SF. A study of cytokeratin profiles in localized cutaneous amyloidosis. *Archives of Dermatological Research*. 2004; 296(2): 83–88

VIII. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

Tabla 1. Descripción de casos de amiloidosis cutánea por sexo, edad y ubicación de la biopsia.

Variables	n	%
Sexo		
Femenino	33	70.2
Masculino	14	29.8
Edad		
20-45	14	29.7
46-65	21	44.6
66-85	5	10.6
No registrada	7	15.1
Localización de la Biopsia*		
Miembros Superiores	5	10.2
Espalda	10	20.4
Tronco	4	8.1
Miembros Inferiores	12	24.5
Cabeza	1	2
No registrado	17	34.8
Total		100

*Zonas clasificadas según cómo fue registrado en la orden de biopsia

Tabla 2. Resultados de las láminas con citoqueratina 5/6, coloración cristal violeta y HE.

Muestra	CK 5/6	Cristal violeta	HE
1	0	0	2+

2	0	0	2+
3	0	1+	2+
4	0	0	1+
5	0	2+	2+
6	0	1+	2+
7	0	1+	2+
8	0	0	1+
9	0	1+	2+
10	0	0	2+
11	0	0	1+
12	0	1+	3+
13	0	1+	3+
14	0	1+	2+
15	0	1+	2+
16	0	2+	2+
17	0	3+	3+
28	0	0	2+
19	0	1+	3+
20	0	0	1+
21	0	1+	2+
22	0	1+	2+
23	0	1+	3+
24	0	1+	1+
25	0	3+	2+
26	0	0	2+
27	0	0	1+
28	0	0	2+
29	0	1+	2+

30	0	0	1+
31	0	1+	2+
32	0	2+	3+
33	0	0	2+
34	0	1+	2+
35	0	1+	2+
36	0	0	2+
37	0	0	2+
38	0	1+	2+
39	0	0	2+
40	0	0	2+
41	0	3+	3+
42	0	1+	2+
43	0	1+	2+
44	0	1+	2+
45	0	2+	3+
46	0	0	2+
47	0	0	1+
48	0	1+	3+
49	0	1+	2+

Tabla 3. Resultados de las láminas con citoqueratina 5/6 y coloración cristal violeta.

Coloraciones	Negativo	Positivo	Total
Cristal violeta	19 (38.8%)	30 (61.2%)	49
Citoqueratina	49 (100%)	0 (0%)	49

Tabla 4. Resultados de intensidades de las láminas con cristal violeta (CV) comparadas con las intensidades de las láminas con HE.

		Hematoxilina-eosina			
		1+	2+	3+	Total
Cristal violeta	0	7	12	0	19
	1+	1	17	5	23
	2+	0	2	2	4
	3+	0	1	2	3
	Total	8	32	9	49

Gráfico 1. Histograma que muestra la distribución de edades de los casos amiloidosis cutánea

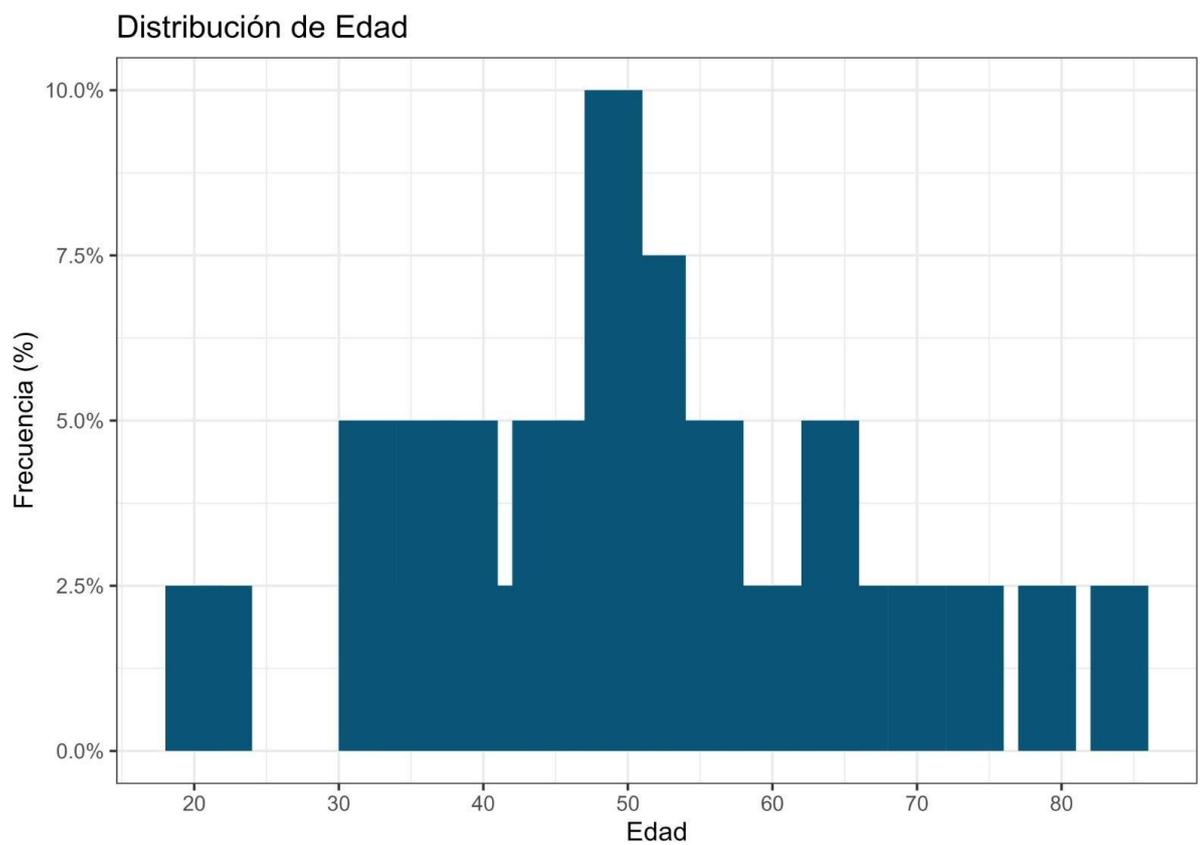


Gráfico 2. Correlación lineal de intensidad de tinción de cristal violeta y HE

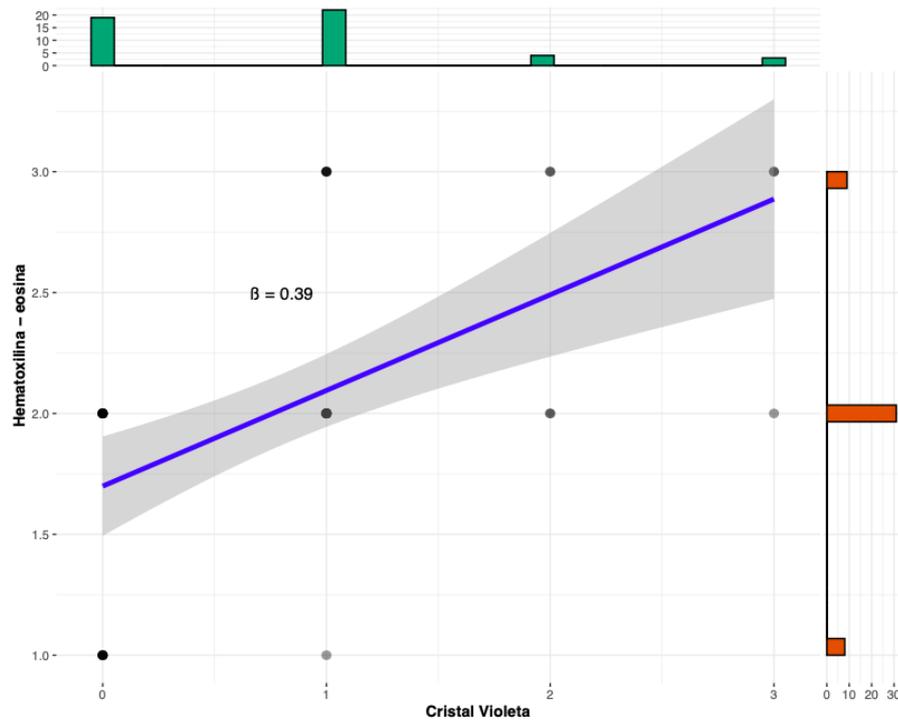


Tabla 5. Estudios que evalúan la sensibilidad de diferentes marcadores diagnósticos para amiloidosis cutánea

Estudio	Prueba	Casos positivos	Número de casos
Sari <i>et al</i> (9)	HE	15 (35.7%)	42
	Rojo de Congo	0 (0%)	
	Cristal Violeta	15 (35.7%)	
	CK5	22 (52.4%)	
	HMWK	21 (50%)	
Apaydin <i>et al</i> (10)	CK1-8	10 (50%)	20
	CK5/6/18	13 (65%)	

	CK10, CK14, CK17, CK18, CK19 y CK8/18	0 (0%)	
Sinha <i>et al</i> (11)	Rojo de Congo	30 (100%)	30
	CK5/6	30 (100%)	
Mehrotra <i>et al</i> (12)	Rojo de Congo	43 (86%)	50
	Inmunofluorescencia Directa	44 (88%)	
Al-Ratrout <i>et al</i> (13)	Cristal Violeta	21 (100%)	21
	Rojo de Congo	18 (85.7%)	
Kurhan <i>et al</i> (19)	Cristal Violeta	6 (100%)	6
	Rojo de Congo	1 (16.7%)	
Abdullah <i>et al</i> (22)	Rojo de congo	1 (5.3%)	19
	CK5/6	19 (100%)	

HMWK: Queratina de alto peso molecular, CK: Citoqueratina

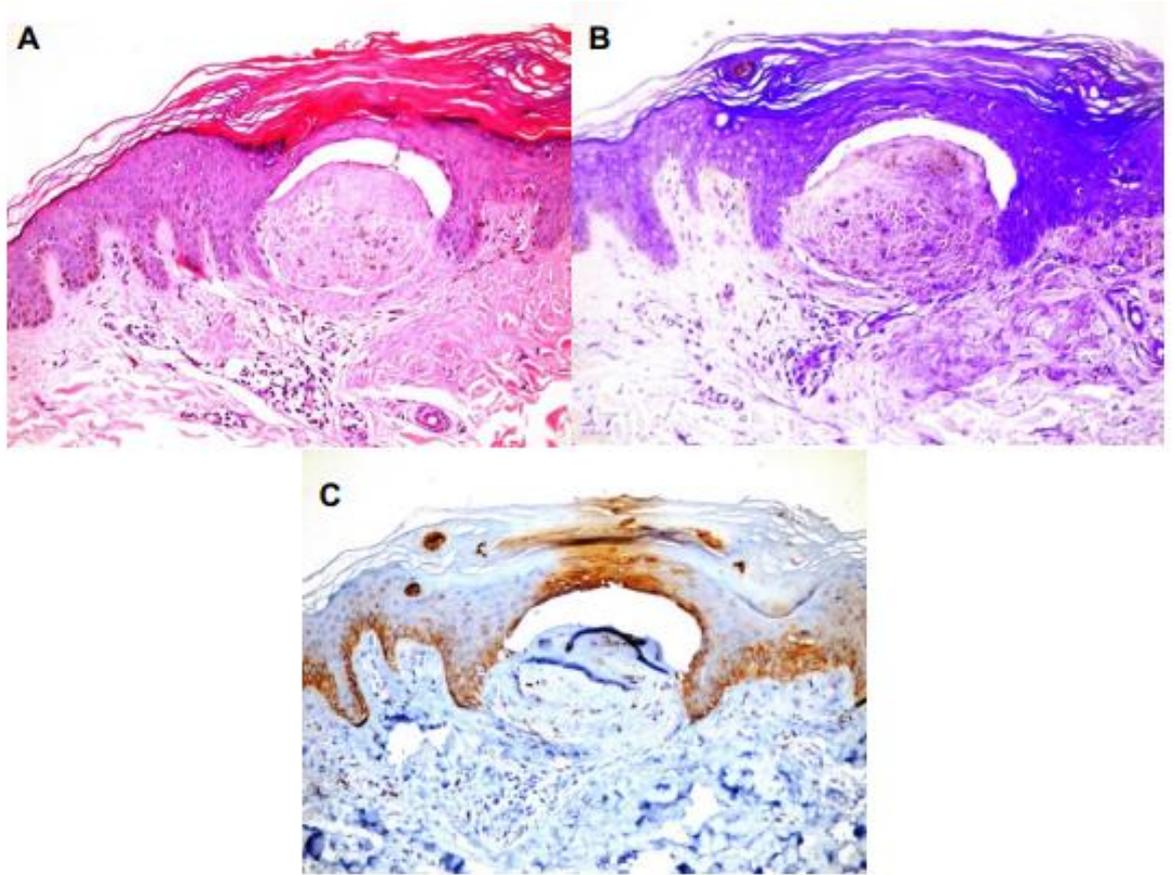


Figura 1. Caso con amiloidosis cutánea tardía. (A) Tinción con HE con intensidad de 3+ (20X), (B) Tinción con cristal violeta con intensidad de 2+ (20X), (C) Tinción con citoqueratina 5/6 negativa (20X)

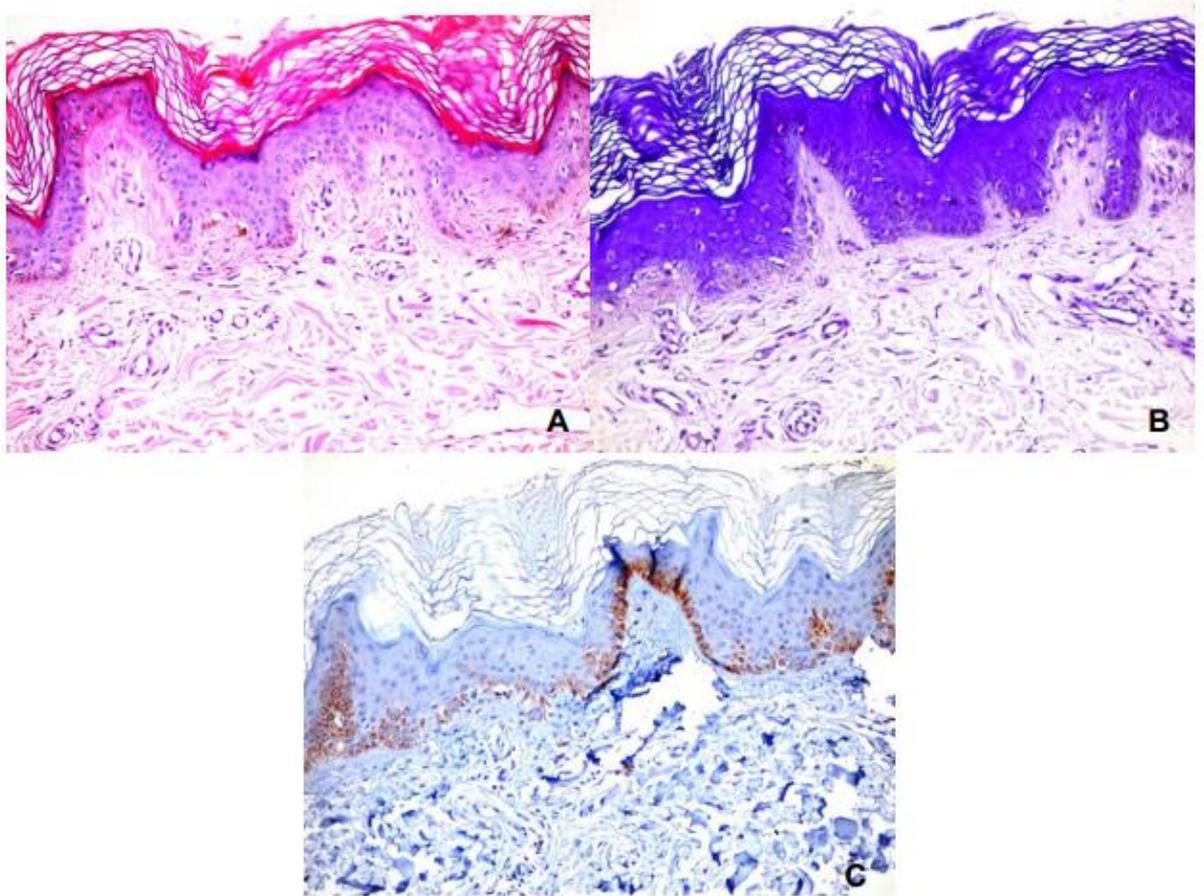


Figura 2. Caso con amiloidosis cutánea. (A) Tinción con HE con intensidad de 2+ (20X), (B) Tinción con cristal violeta negativa (20X), (C) Tinción con citoqueratina 5/6 negativa (20X)

ANEXOS

Anexo 1: Definición operacional de variables

Variable de estudio	Definición conceptual	Definición operacional
Edad	Tiempo que ha vivido la persona hasta el momento de la biopsia	Edad en años
Sexo	Género del paciente	Femenino o masculino
Localización de la lesión	Lugar anatómico desde donde fue obtenida la muestra para la biopsia	Pantorrilla, espalda, brazo, pecho

Anexo 2: Ficha de recolección

1. Identificación

Código de anatomía patológica :

Edad de paciente :

Género :

Localización de la lesión :

2. Resultado de histoquímica (Cristal Violeta): Score

0+	1+	2+	3+
----	----	----	----

3. Resultado de inmunohistoquímica (Citoqueratina 5/6): Score

0+	1+	2+	3+
----	----	----	----

Anexo 3: Escala semicuantitativa de la intensidad de las tinciones

Intensidad de tinción	Puntuación
Ausencia de tinción	0
Intensidad leve	1+

Intensidad moderada	2+
Intensidad alta	3+

Anexo 4: Presupuesto

Descripción	Cantidad	Costo	Financiamiento
Procesamiento de Histoquímica	50	S/. 10 por prueba	Autofinanciado
Procesamiento de Inmunohistoquímica	50	S/. 30 por prueba	Autofinanciado
	Total	S/. 2,000	Autofinanciado