

G. PLANAS GIRON y F. J. TAPIA: «Localización inmunohistoquímica de la proteína S-100 en el mioblastoma de células granulares».  
*Med. Cut. I.L.A. Vol. XIV/1986; págs. 101-108*

## Localización inmunohistoquímica de la proteína S-100 en el mioblastoma de células granulares\*

G. PLANAS GIRON

Dermatólogo, Adjunto a la Sección de Dermatopatología. Instituto Nacional de Dermatología.

F. J. TAPIA

Jefe de la Sección de Biología Molecular. Instituto Nacional de Dermatología. Caracas 101. Venezuela.

### INTRODUCCION

El mioblastoma de células granulares (MCG) está caracterizado histológicamente por células voluminosas con citoplasma granular acidofílico. Se trata de un tumor infrecuente, usualmente localizado en la cavidad bucal, particularmente en la lengua (1-4), no obstante se puede presentar en otros tejidos como la piel, tejido celular subcutáneo, tracto urogenital de ambos sexos y en otras localizaciones anatómicas.

Originalmente el MCG fue concebido por *Abrinkosoff* como una neoplasia originada en el tejido muscular estriado (5,6). Esta concepción histogénica fue apoyada por varios autores (7-9), inclusive se incriminó como posible origen la musculatura lisa debido a los reportes de algunos casos provenientes del tracto gastro-intestinal y vejiga (7, 10).

En la literatura, este tumor ha sido descrito bajo múltiples sinónimos, atendiendo a sus variadas concepciones histogénicas: mioblastoma de células granulosas uniformes de *Howe y Warren* (11), tumor de células granulosas no lipídico de *Cole y Lund* (12), neurofibroma de

células granulosas de *Fust y Custer* (13), rabdomioma granulocelular de *Diss* (14), etc. En la década del sesenta, autores como *Fisher y Wechsler* (15), presentaron evidencias histoquímicas y ultraestructurales que sugerían una derivación neural. Los trabajos de *Garancis* y cols. (2) y *Sobel* y cols. (16, 9, 17, 18) apoyan esta hipótesis.

Recientemente se han realizados estudios inmunocitoquímicos, mediante la determinación de proteína S-100 en casos de MCG que apoyan la teoría neurogénica (19-20).

Con el fin de determinar el posible origen neural del tumor se estudiaron tres casos de MCG, empleando técnicas de tinción inmunocitoquímica, mediante la demostración de una proteína específica del sistema nervioso, la proteína S-100, a nivel de las células tumorales.

### MATERIAL Y METODOS

#### Caso 1

Paciente de cuarenta y tres años de edad, quien presentó nódulo de aspecto tumoral, de configuración ovoide, parcialmente ulcerado, diámetro vertical 5 cm. y diámetro transversal 4 cm., localizado en la región vulvar derecha, produciendo desplazamiento del labio mayor hacia el lado opuesto, de crecimiento progresivo, de aproximadamente seis meses de evolución.

#### Caso 2

Paciente del sexo femenino, de sesenta y siete años de edad, quien presentó lesión nodular de aproximadamente

\* Trabajo presentado en la Sesión Trabajos Libres, XX Reunión Anual de la Sociedad Venezolana de Dermatología. Noviembre de 1984, Caracas. Trabajo parcialmente financiado por CONICIT, S1-1550.

Recibido el 2-1-85.  
Aceptado el 3-1-85.

1,5 cm. de diámetro, recubierto de piel notablemente verrugosa, indolora, localizada en la región abdominal, de quince años de evolución.

### Caso 3

Paciente del sexo femenino, de cuarenta y tres años de edad, quien presentó lesión nodular, bien circunscrita, de aproximadamente 2 cm. de diámetro, localizada en región dorso-lumbar derecha, indolora y no adherida a planos profundos. Evolución: tres años.

### Controles

Como material de control fueron examinados los siguientes casos para determinar la presencia de proteína S-100: un caso de neurofibromatosis múltiples, un caso de neurofibroma solitario, dos casos de schwannomas, cuatro casos de melanoma maligno nodular (tres de ellos localizados en la región plantar y el cuarto el miembro inferior derecho en un paciente confundido inicialmente con un sarcoma de Kaposi), una muestra de músculo estriado proveniente de la lengua, una muestra de músculo liso de apéndice humano y dos casos de reticulohistiocitoma gigantocelular (tabla I).

### Tejidos

Los tejidos fueron fijados en formalina al 10 por 100, buferada con fosfato, embebidos en parafina, para luego someterlos a los procedimientos de rutina y examinarlos al microscopio de luz. Se utilizaron las siguientes tinciones: hematoxilina-eosina, ácido periódico de Schiff (PAS), con y

sin digestión con diastasa. Una lámina de cada bloque de tejido se tiñó con H-E para estudiar la morfología tumoral y tener un patrón comparativo con los resultados inmunocitoquímicos.

### Antisuero

El anticuerpo contra la proteína S-100 fue obtenido de conejo después de la inoculación con S-100 de cerebro de buey y posteriormente caracterizado por el método de Zuckerman y cols. (22). Este antisuero fue donado por la profesora *Julia M. Polak*, del Royal Postgraduate Medical School de la Universidad de Londres.

### Procedimiento inmunocitoquímico

Las láminas con los cortes histológicos, fueron desparafinadas en xilol, secadas y luego tratadas para la detección de la proteína S-100, mediante el método avidinbiotina (23, 24) modificado (tabla II).

Los controles para la especificidad del método fueron: 1) la sustitución del anticuerpo primario (anti-S-100) por suero normal de conejo; 2) la sustitución de antisuero secundario biotinado pro buffer fosfato salino pH 7,4.

## RESULTADOS

### Microscopía de luz

Los aspectos histopatológicos en los tres especímenes estudiados correspondientes a MCG

TABLA I  
DETERMINACION EN PROTEINA S-100 EN M.C.G.\* Y EN CASOS CONTROLES

Biopsia	Dx. histológico	Edad (años)	Lugar	S-100
12.723.....	MCG*.	43	Vulva.	(+)
14.279.....	MCG*.	67	Abdomen.	(+)
22.588.....	MCG*.	43	Espalda.	(+)
22.543/2.....	Neurofibroma m.	28	Lumbar.	(+++)
22.603/2.....	Neurofibroma solit.	74	Tórax.	(+++)
2.418.....	Schwannoma.	24	Cabeza.	(++)
5.129.....	Schwannoma.	48	Mano izquierda.	(+++)
22.334.....	MMN acral.	57	Talón derecho.	(++)
22.310.....	MMN acral.	45	Plantar derecha.	(++)
—	MMN acral.	60	Talón.	(++)
22.556/1.....	MMN en MI vs. Sarcoma Kaposi.	79	MI.	(++)
22.461.....	Músculo estriado.	31	Lengua.	(-)
35/84.....	Músculo liso.	—	Apéndice.	(-)
5.760.....	Reticulohist. Gigantocelular.	32	Mano izquierda.	(-)

\* Mioblastoma de células granulares.

(+ a +++): Intensidad de la reacción de inmunotinción.

1. Se lav
2. Bl m
3. Tr to
4. In do
5. In La
6. In La
7. Ag du
8. Te dif tin

\* Buffer  
\*\* Vect

fueron citológ  
cleos abund  
colora el ácid  
pretrat se ob:  
ración vulva),  
gura 1



FIG. 1.  
lógico c

TABLA II

METODO A.B.C. INMUNOPEROXIDASA  
PARA LA DEMOSTRACION DE LA PROTEINA S-100

1. Secciones cortadas a 3  $\mu$ ., desparafinar en fenol y lavar PBS\*.
2. Bloqueo de la peroxidasa endógena con 3 % de  $H_2O_2$  en metanol (cinco minutos, a temperatura ambiente). Lavar con PBS.
3. Tratar con suero normal de caballo\*\* 1:30, veinte minutos, temperatura ambiente.
4. Incubar en suero de conejo anti S-100; 1:1.000, durante dos horas. Lavar con PBS.
5. Incubar en caballo anti IgG de conejo\*, 1:10 biotinado. Lavar con PBS.
6. Incubar en complejo avidina-biotina (ABC)\*\*\*, 1:100. Lavar con PBS.
7. Agregar amino-etil-carbazol (AEC)- $H_2O_2$  en solución, durante diez minutos a temperatura ambiente. Lavar con  $H_2O_2$ .
8. Teñir con hematoxilina-eosina de Meyer, dos minutos, diferenciar cinco minutos en  $H_2O_2$  y montar en gelatina glicerínada.

\* Buffer fosfato salino, pH 7.4.

\*\* Vectastain Kit, Vector Laboratories Inc.

fueron similares en cuanto sus características citológicas: grandes células poliédricas con núcleos ovales o esféricos, citoplasma granular abundante, el cual fue más demostrativo con las coloraciones especiales (PAS). La reacción para el ácido periódico de Schiff no fue afectada por el pretratamiento con la diastasa. Ocasionalmente se observaron uno o más nucléolos. La tumoración correspondiente al caso 1 (MCG de la vulva), mostró una histología más compacta (figura 1), extendiéndose desde la dermis papilar



FIG. 1.—Caso 1 (MCG de vulva). Obsérvese el patrón histológico compacto. E: epitelio; T: células tumorales. (HE 63 X).

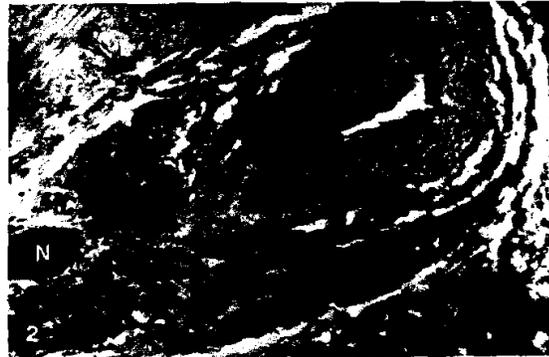


FIG. 2.—Caso 1 (MCG de vulva). Dermis profunda. Obsérvese la relación de las células tumorales (T) con estructuras nerviosas fuertemente teñidas (N) y con los vasos (V). S-100, sistema ABC, contraste hematoxilina de Meyer. (63 X).

hasta la grasa, infiltrando parcialmente el subcutis y rodeando estrechamente los anexos. Se observaron numerosos trayectos nerviosos en estrecha relación con las células tumorales (fig. 2). En el espécimen correspondiente al caso 2 llamó la atención una hiperplasia epitelial importante con una hiperqueratosis marcada simulando un nevus verrugoso (fig. 3). En este caso las células tumorales se disponían con un patrón fusiforme que disociaba los haces del colágeno y su distinción no fue fácil con las coloraciones de rutina (H-E), confundiendo con el colágeno hiperplásico. En el caso 3, la población celular se observaba bastante compacta, rodeando anexos especial-

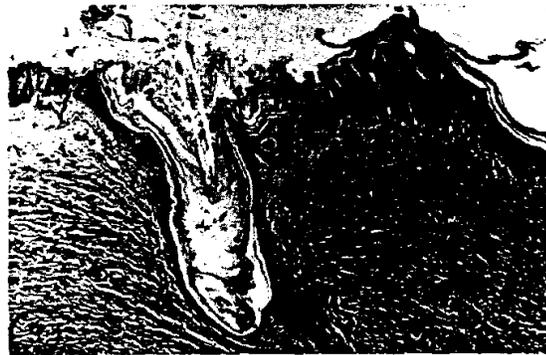


FIG. 3.—Caso 2 (MCG del abdomen). Hiperplasia epitelial importante. Las células tumorales en la dermis se entremezclan con el tejido colágeno hipertrófico. (H-E 25 X).

mente apócrinos. En esta muestra estaba ausente el epitelio (fig. 4).

#### *Inmunocitoquímica*

En los tres casos de MCG, la tinción para la proteína S-100 utilizando la técnica de inmunoperoxidasa, mediante el sistema avidina-biotina, produjo un depósito granular, difuso en el citoplasma de las células tumorales, de color rojo pálido. Dicha tinción permitía la diferenciación de las células tumorales con el estroma circundante (fig. 5). En las muestras examinadas la inmunotinción fue generalmente de localización intracitoplasmática, no obstante, ocasionalmente, algunas células mostraron tinción de sus núcleos. Fue evidente la positividad a nivel de los trayectos nerviosos, tanto en las muestras problemas como en los controles, especialmente en las células de Schwann que rodean los cilindro-ejes (fig. 6).

Las muestras histológicas controles se tiñeron de la siguiente forma: fuerte positividad a nivel de las células fusiformes y onduladas en los casos de neurofibromas (fig. 7), así como en los schwannomas de piel estudiados. Fuerte positividad en el patrón epitelioide y fusiforme de algunos casos de melanoma maligno acral de tipo nodular (fig. 8), y mediano grado de inmunotinción en otros. Mediana positividad en un caso

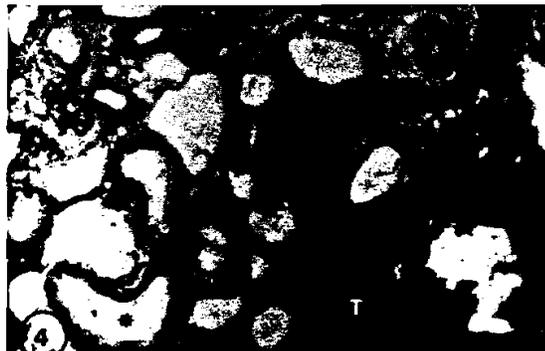


FIG. 4.—*Caso 3* (MCG de la espalda). Inmunotinción de las células tumorales (T) par S-100, mediante el sistema ABC. Contraste hematoxilina de Meyer. Obsérvese la relación estrecha de las células tumorales con conductos y glándulas apócrinas ( ). (160 X.)

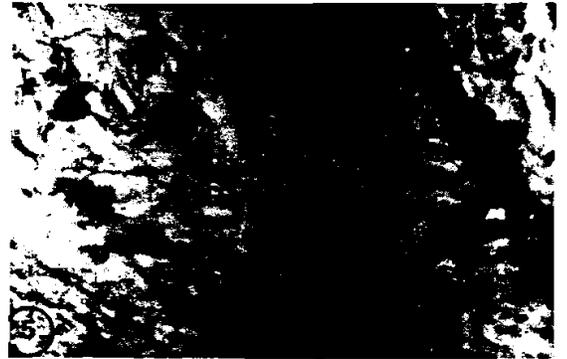


FIG. 5.—*Caso 2* (MCG del abdomen). Inmunotinción en células tumorales (T) que permite buena diferenciación del colágeno hiperplásico (C). Predominio de células fusiformes sobre células poliédricas. Inmunotinción para S-100, mediante sistema ABC. Contraste hematoxilina de Meyer. (400 X.)

de melanoma maligno de miembro inferior derecho, confundido clínica e histológicamente con un sarcoma de Kaposi (fig. 9). Reacción negativa en los casos de reticulohistiocitoma gigantocelular, músculo estriado de la lengua (fig. 10), músculo liso de apéndice humano (fig. 11) y en un caso de sarcoma de Kaposi en un paciente inmunosuprimido.

#### COMENTARIOS

La proteína S-100 es una proteína ácida, ligada al calcio ( $Ca^{2+}$ ), originalmente detectada en

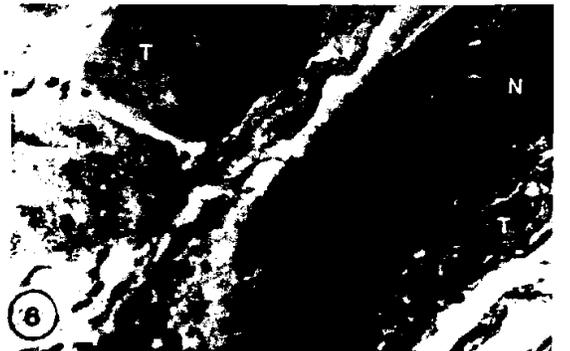


FIG. 6.—*Caso 1* (MCG de la vulva). Raíces nerviosas fuertemente teñidas (N) en estrecha relación con células tumorales (T) teñidas con menor intensidad. Inmunotinción para S-100, sistema ABC, contraste hematoxilina de Meyer. (400 X.)

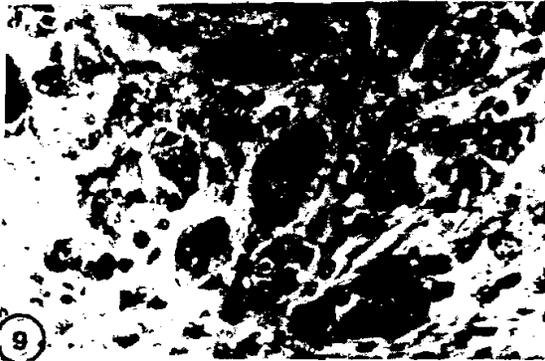


FIG. 7.—Caso 1 (MCG de la vulva). Otro aspecto del mismo tumor. Fuerte tinción a nivel de células de Schwann que rodean cilindros (c) de raíces nerviosas (N). Inmunotinción para S-100, sistema ABC, contraste hematoxilina de Meyer. (400 X.)

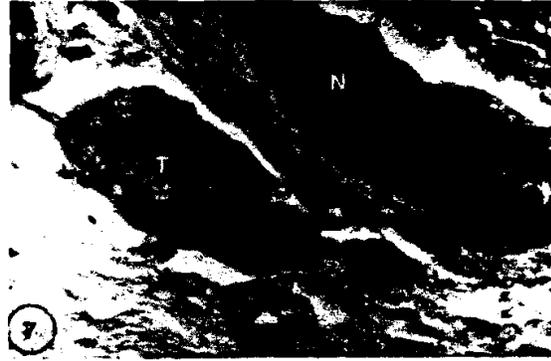


FIG. 9.—Melanoma maligno acral. Fuerte tinción en el patrón celular epitelioides que lo diferencia claramente del estroma. Inmunotinción para S-100, sistema ABC, contraste hematoxilina de Meyer. (400 X.)

el cerebro de mamíferos bovinos por *Moore* en 1965 (25). Su nombre refleja su solubilidad en 100 por 100 de sulfato de amonio. Ha sido detectada en células gliales del cerebro (26), en células de Schwann, células satélites de la médula espinal y en ganglios autónomos del sistema nervioso periférico (27). También está presente en otros tejidos como las células de Langerhans y melanocitos de la piel (28, 29), células reticulares interdigitantes de ganglios humanos (30), condrocitos humanos derivados de la cresta neural y del tipo mesodérmico (31), melanocitos humanos normales y neoplásicos (32, 33).

Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con el patrón de tinción de los casos de MCG reportados por otros autores (19, 20, 21), y es el mismo que se observa en las células de Schwann de tejido normal y en aquellas patologías derivadas de esta célula, como son: neurofibromas múltiples o solitarios (34), neurilemoma (29) y en tumores del sistema nervioso central y periférico (35-39). El grado de intensidad en la inmunotinción en los casos de MCG reportados en este estudio, puede ser explicado probablemente por la más baja concentración de la proteína S-100 a nivel de la piel, estimada en una

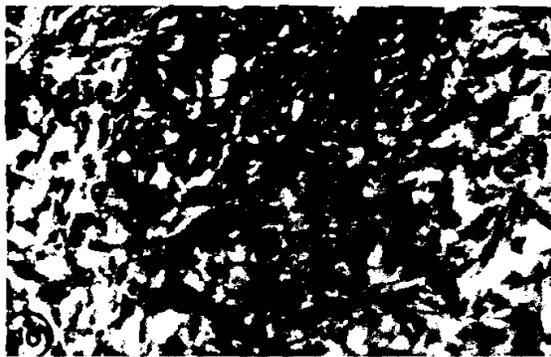


FIG. 8.—Neurofibroma múltiple. Intensa tinción en fibrillas y células neoplásicas (T). Inmunotinción para S-100, sistema ABC, contraste hematoxilina de Meyer. (160 X.)

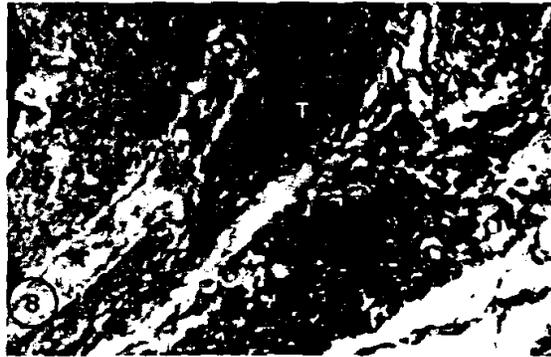


FIG. 10.—Melanoma maligno nodular en miembro inferior, confundido con un sarcoma de Kaposi. Patrón celular mixto: epitelioides y fusiformes. Mediana intensidad de tinción para S-100, sistema ABC, contraste hematoxilina de Meyer. (400 X.)

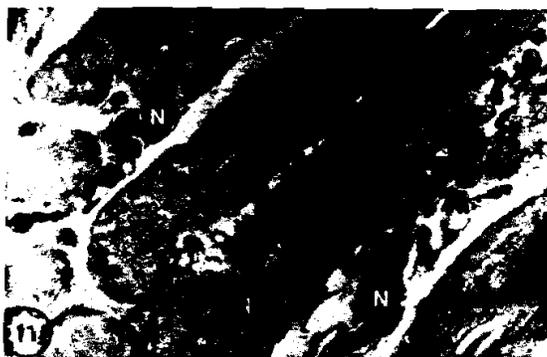


FIG. 11.—Corte de tejido muscular estriado (lengua). Músculo negativo (M). Compárese con trayectos nerviosos fuertemente teñidos (N). Inmunotinción para S-100, sistema ABC, contraste con hematoxilina de Meyer. (400 X.)

cantidad cien veces menor cuando se compara con la concentración de dicha proteína en tejido cerebral humano, determinada mediante análisis de fijación de microcomplemento (28, 40). Es interesante destacar que durante el procedimiento de inmunotinción utilizado por nosotros, no sometimos los especímenes a la digestión con tripsina, como lo preconiza *Armin* y cols. (21), método que aparentemente da un resultado más uniforme e intenso de la inmunotinción, no obstante nuestros resultados son claramente demostrativos de la presencia de la proteína S-100 en los casos de MCG estudiados.

La intensidad de la inmunotinción para proteína S-100 en neurofibromas y schwannomas,



FIG. 12.—Corte de tejido muscular liso (apéndice humano). Inmunotinción para S-100, sistema ABC, contraste hematoxilina de Meyer. (63 X.)

indican un ancestro común para estas neoplasias, representadas en la célula de Schwann, hecho que ha sido confirmado tanto histoquímica como ultraestructuralmente (41, 42).

La inmunorreactividad a la proteína S-100 en los casos de melanoma malignos estudiados, tanto a nivel del patrón celular epitelioides como fusiforme, sin guardar relación con el grado de pleomorfismo o melanización, indican que estos tumores se derivan de la cresta neural (origen neuroectodérmico) (43, 44), guardando estrecha relación ontogénica con los nevos pigmentados y schwannomas, los cuales presentan una distribución similar de dicha proteína en sus células. *Nakajima* y cols. sugieren que la proteína S-100 es un marcador útil para las patologías derivadas de la cresta neural (32).

La ausencia de proteína S-100, tanto en el músculo estriado (lengua), como del músculo liso (caso de pared muscular de apéndice humano, presentado en este informe), descarta definitivamente la posibilidad de que el MCG se derive de células mioblásticas primitivas como fue planteado originalmente por *Abrikossoff* (6) y *Murray* (45). De manera similar, la ausencia de la proteína S-100 en células como fibroblastos e histiocitos en desórdenes de la piel mostrando cambios xantomatosos; en condiciones histiocitarias no-X, como se observan en los casos de reticulohistiocitoma gigantocelular presentados en este trabajo; en xantogranuloma juvenil, etc., hablan en contra de un posible origen histiocitario del MCG, como fue propuesto por *Azzopardi* en 1956 (46).

La teoría neurogénica, la cual está basada sobre la estrecha relación o asociación de la neoplasia con las raíces nerviosas periféricas — como se evidencia en el caso de MCG de la vulva que presentamos — y las observaciones histoquímicas y ultraestructurales que sugieren esta relación, han ganado terreno en recientes investigaciones y reportes (15, 9, 17, 18, 47).

La presencia de células de Schwann y filetes nerviosos con axones mielinizados en áreas intra y peritumorales, observados en cortes gruesos de 0,5  $\mu$ m. y coloreados con azul de toluidina y

Local

visto  
vacío  
de l  
tica  
traci  
citoq  
ral y  
neur

Tre  
sido e  
la pro  
célula  
quím  
Se ob  
diados  
deriva  
nomas  
fibrom  
tinción  
rodean  
tumors  
concep

Nou  
granula  
protéin  
células  
avec la

Nou:  
cas etu

Nou:  
histoge  
figueme  
nomes)  
dans les  
nerveux  
l'origen

Three  
studied  
of the S  
immuno  
dified a  
observe  
study of

vistos al microscopio de luz, así como la observación ultraestructural de axones no mielinizados de localización aparentemente intracitoplasmática e intercelular (15, 47, 48), unido a la demostración de la proteína S-100 por medios inmunocitoquímicos en ambas estructuras —tejido neural y células de MCG— apoyan el posible origen neural del tumor.

## RESUMEN

Tres casos de mioblastoma de células granulares han sido estudiados para detectar la presencia y distribución de la proteína específica del sistema nervioso S-100 en las células tumorales, usando técnicas de tinción inmunocitoquímicas, mediante el método avidina-biotina modificado. Se observó inmunotinción positiva en los tres casos estudiados. El estudio comparativo de varios casos controles, derivados histogenéticamente del neuroectodermo (melanomas) y específicamente de la célula de Schwann (neurofibromas, schwannomas), así como la presencia de inmunotinción fuertemente positiva en las células de Schwann, que rodean los cilindros de trayectos nerviosos intra y peritumorales contenidos en los mioblastomas, soportan el concepto del origen neurogénico de este interesante tumor.

## RESUME

Nous avons étudiés trois cas de mioblastome des cellules granulaires pour déterminer la présence et distribution de la protéine spécifique du système nerveux S-100 dans les cellules tumorales, utilisant techniques d'immunocytochimie avec la méthode avidin-biotine modifiée.

Nous avons vu immunoréaction positive dans les trois cas étudiés.

Nous avons comparé avec plusieurs cas témoins, dérivés histogenétiquement du neuroectoderm (melanome) et spécifiquement de la cellule de Schwann (neurofibromes, schwannomes), aussi la présence d'immunoréaction très positive dans les cellules de Schwann, au tour de cylindres de trajet nerveux intra et peritumorales dans les mioblastomes, appui l'origine neurogénique de ce tumeur autant intéressant.

## SUMMARY

Three cases of granular cell myoblastoma have been studied in order to determine the presence and distribution of the S-100 specific protein in the neoplastic cells, using immunocytochemical staining techniques, through the modified avidin-biotin method. Positive immunostaining was observed in the three cases studied. The comparative study of various control cases histogenetically originating

from neuroectoderm (melanoma) and specifically from Schwann cells, as also the presence of strongly positive staining in Schwann cells of peripheral nerve fibres situated inside and outside the tumor, support the concept of the neurogenic origin of this interesting tumor.

## BIBLIOGRAFIA

1. LACK, E. E.; WORSHAM, G. F.; CALLIHAN, M. D., y cols.: «Granular cell tumor: A clinic-pathologic study of 110 patients», *J. Surgical Oncol.* 13: 301-316, 1980.
2. GARANCIS, J. C.; KOMOROWSKI, R. A., y KUZUMA, J. F.: «Granular cell myoblastoma», *Cancer*, 25: 542-550, 1970.
3. ALKEK, D. S.; JOHNSON, W. C., y GRAHAM, J. H.: «Granular cell myoblastoma. A histological and enzymatic study», *Arch. Derm.*, 98: 543-547, 1968.
4. APARICIO, S. R., y LUMSDEN, C. E.: «Light and electron microscopic studies on the granular cell myoblastoma of the tongue», *J. Pathol.*, 97: 339-355, 1969.
5. ABRIKOSSOFF, A. I.: «Über myome ausgehend von der quergestreiften willkürlichen muskulatur», *Virchows Arch. (Pathol. Anat.)*, 260: 215-335, 1926.
6. ABRIKOSSOFF, A. I.: «Weitere utersuchungen uber myoblastenmyome», *Virchows (Pathol. Anat.)*, 280: 723-740, 1931.
7. CHRIST, M. I., y OZZELLO, L.: «Myogenous origin of a granular cell tumor of the urinary bladder», *Am. J. Clin. Pathol.*, 56: 736-749, 1971.
8. KLEMPERER, P.: «Myoblastoma of the striated muscle», *Am. J. Cancer*, 20: 324-337, 1934.
9. SOBEL, H. J.; MARQUET, E., y SCHWARZ, R.: «Granular degeneration of appendicular smooth muscle», *Arch. Pathol.*, 92: 427-432, 1971.
10. CHURG, J., y WORK, J.: «Granular cell nodules of the gastro-intestinal tract», *Am. J. Pathol.*, 35: 692-693, 1959.
11. HOWE, C. W., y WARREN, S.: «Myoblastoma», *Surgery*, 53: 226, 1963.
12. COLE, H. N., y LUND, H.: «Nonlipid granular cell tumors», *Arch. Derm. Syph.*, 60: 765, 1949.
13. FUST, J. A., y CUSTER, R. P.: «On the neurogenesis of so-called granular cell myoblastoma», *Am. J. Clin. Pathol.*, 19: 522, 1949.
14. MONTGOMERY, H.: «Dermatopathology». Harper & Row Publishers, vol. II: 10058-1064, New York, 1967.
15. FISHER, E. R., y WECHSLER, H.: «Granular cell myoblastoma, a misnomer», *Cancer*, 15: 936, 1962.
16. SOBEL, H. J., y CHURG, J.: «Granular cell and granular cell lesions», *Arch. Pathol.*, 77: 132, 141, 1964.
17. SOBEL, H. J.; MARQUET, E.; AVRIN, E., y cols.: «Granular cell myoblastoma. An electron microscopic and cytochemical study illustrating the genesis of granules

- and aging of myoblastoma cell», *Am. J. Pathol.*, 65: 59-78, 1971.
18. SOBEL, H. J.; MARQUET, E., y SCHWARZ, R.: «Is Schwannoma related to granular cell myoblastoma», *Arch. Pathol.*, 95: 396-401, 1973.
  19. NAKAZATO, Y.; ISHIZEKI, J.; TAKAHASHI, K., y YAMAGUCHI, H.: «Immunohistochemical localization of S-100 protein in granular cell myoblastoma», *Cancer*, 49: 1624-1628, 1982.
  20. STEFANSSON, K., y WOLLMANN, R.: «S-100 protein in granular cell tumors (Granular Cell Myoblastoma)», *Cancer*, 49: 1834-1838, 1982.
  21. ARMIN, A.; CONNELLY, E., y ROWDEN, G.: «An immunoperoxidase investigation of S-100 protein in granular cell myoblastomas: Evidence for Schwann cell derivation», *Am. J. Clin. Pathol.*, 79: 37-44, 1983.
  22. ZUCKERMAN, J. E.; HERSCHMAN, H. R., y LEVINE, L.: «Appearance of a brain-specific antigen (the S-100 protein) during human fetal development», *J. Neurochem.*, 17: 247-251, 1970.
  23. GUESDON, J. L.; TERNYNCK y AVRAMEAS, S.: «The use of avidinbiotin interaction in immuno-enzymatic techniques», *J. Histochem Cytochem.*, 27: 1131-1139, 1979.
  24. HSU, S. M.; RAINE, L., y FANGER, H.: «Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques», *J. Histochem Cytochem.*, 29: 577-580, 1981.
  25. MOORE, B. W.: «A soluble protein characteristic of the nervous system», *Biochem Biophys Res Commun.*, 19: 739-744, 1965.
  26. PEREZ, V. J.; OLNEY, J. W.; CICERO, T. J., y cols.: «Wallerian degeneration in rabbit optic nerve: cellular localization in the central nervous system of the S-100 and 14-3-2 proteins», *J. Neurochem.*, 17: 511-519, 1970.
  27. STEFANSSON, K.; WOLLMAN, R. L., y MOORE, B. W.: «Distribution of S-100 protein outside the central nervous system», *Brain Res.*, 234: 309-318, 1982.
  28. COCCHIA, D.; MICHETTI, F., y DONATO, R.: «Immunohistochemical and immunocytochemical localization of S-100 protein in normal human skin», *Nature*, 294: 85-87, 1981.
  29. KAHN, H. J.; BAUMAL, R., y MARKS, A.: «The value of immunohistochemical studies using antibody to S-100 protein in Dermatopathology», *Int. J. Derm.*, 23: 38-44, 1984.
  30. TAKAHASHI, K.; YAMAGUCHI, H.; ISHIZEKI, J., y cols.: «Immunohistochemical and immunoelectron microscopic localization of S-100 protein in the interdigitating reticulum cell of the human lymph node», *Virchows Arch. (Cell Pathol.)*, 37: 125-135, 1981.
  31. STEFANSSON, K.; WOLLMAN, R. L.; MOORE, B. W., y ARNASON, B. G. W.: «S-100 protein in human chondrocytes», *Nature*, 295: 63-64, 1982.
  32. NAKAJIMA, T.; WATANABE, S.; SATO, Y., y cols.: «Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in malignant melanoma and pigmented nevus, and its diagnostic application», *Cancer*, 50: 912-918, 1982.
  33. SPRINGALL, D. R.; GU JIANG; COCCHIA, D., y cols.: «The value of S-100 immunostaining as a diagnostic tool in human malignant melanomas», *Virchow Arch. (Pathol Anat.)*, 400: 331-343, 1983.
  34. STEFANSSON, K.; WOLLMANN, R., y JERKOVIC, M.: «S-100 protein in soft tissue tumors derived from Schwann cell and melanocytes», *Am. J. Pathol.*, 106: 261, 1982.
  35. PFEIFFER, S. E.; KORNBLUTH, P. L.; CARES, H. L., y cols.: «S-100 protein in human acoustic neurinomas», *Brain Res.*, 41: 187-193, 1972.
  36. DOHAN, F. C.; KORNBLUTH, P. L.; WELLMUM, G. R., y cols.: «S-100 protein and 2',3'-cyclic nucleotide 3-phosphohydrolase in human brain tumors», *Acta Neuropathol (Berl)*, 40: 123-128, 1977.
  37. HAGLID, K.; HAMBERGER, A.; HANSSON, H. A., y STAVROU, D.: «An immunohistochemical study of human brain tumors concerning the brain specific proteins S-100 and 14-3-2», *Acta Neuropathol. (Berl)*, 24: 187-196, 1978.
  37. JACQUE, C. M.; KUJAS, M.; POREAU, A., y cols.: «GFA and S-100 protein levels as index for malignancy in human gliomas and neurinomas», *J. Natl Cancer Inst.*, 62: 479-483, 1979.
  39. YAMAGUCHI, H.: «Studies on the immunohistochemical localization of S-100 protein and GFA protein in the rat nervous system and in human brain tumors», *Brain and Nerve*, 32: 1055-1064, 1980.
  40. GAYNOR, R.; IRIE, R.; MORTON, D., y HERSCHMAN, H. R.: «S-100 protein is present in cultured human malignant melanoma», *Nature*, 286: 400-401, 1980.
  41. Winkelmann, R. K., y JOHNSON, L. A.: «Cholinesterases in neurofibromas», *Arch. Derm.*, 85: 106, 1962.
  42. WEBER, K., y BRAUN-FALCO, O.: «Zur ultrastruktur der neurofibromatose», *Hautarzt*, 23: 116, 1972.
  43. MISHIMA, Y.: «Melanotic and nevocytic malignant melanomas, cellular and subcellular differentiation», *Cancer*, 20: 632-649, 1967.
  44. MISHIMA, Y., y MATSUNAKA, M.: «Pagetoid premalignant melanosis and melanoma: differentiation from Hutchinson's melanotic fleckle», *J. Invest. Derm.*, 65: 434-440, 1975.
  45. MURRAY, M. R.: «Cultural characteristics of 3 granular cell myoblastoma», *Cancer*, 4: 857-865, 1951.
  46. AZZOPARDI, J. G.: «Histogenesis of granular cell "myoblastoma"», *J. Pathol. Bacteriol.*, 71: 85-94, 1956.
  47. SOBEL, H. J.; SCHWARZ, R., y MARQUET, E.: «Light — and electron — microscopic study of the origin of granular-cell myoblastoma», *J. Pathol.*, 109: 101-111, 1973.
  48. PLANAS-GIRON, G.; MENDOZA, S., y BRETANA, A.: «Mioblastoma de células granulares. Observaciones histoquímicas, enzimáticas y ultraestructurales», *Derm. Venez.*, XVIII, 1 y 2: 295, 1980.