

## 7. ANEXOS

### ANEXO I. FIGURAS Y TABLAS SUPLEMENTARIAS

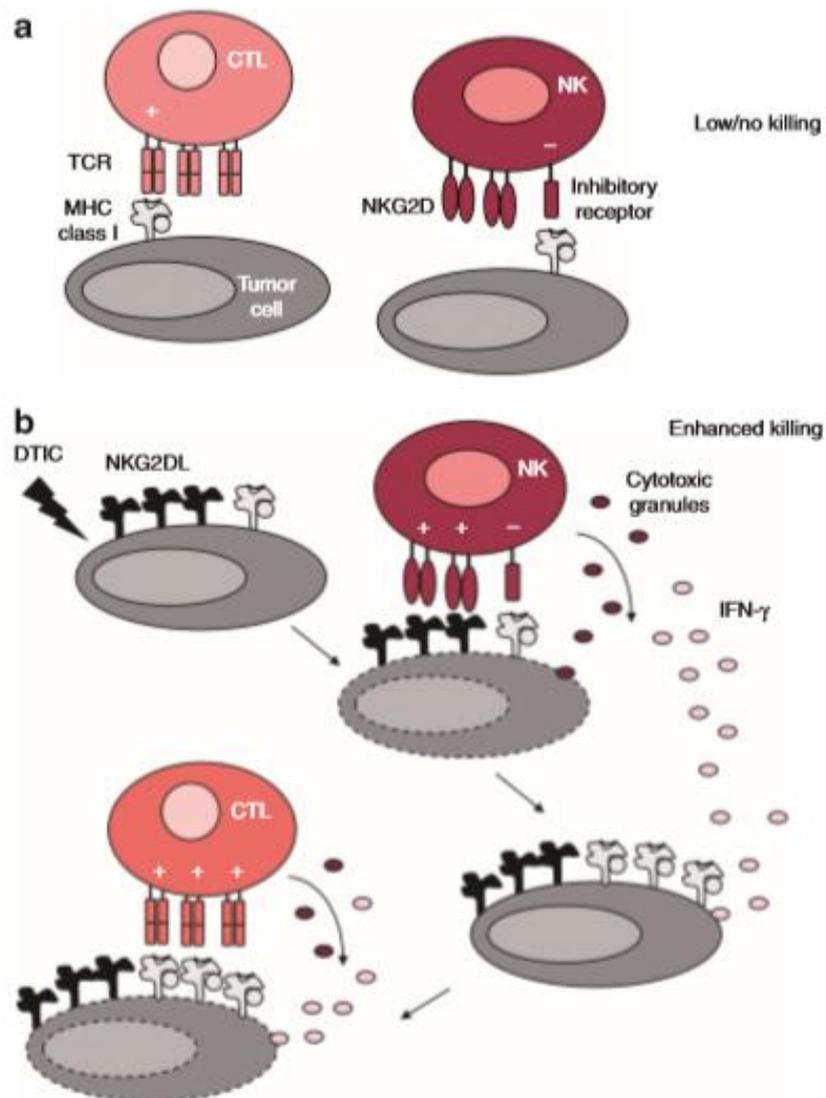


Figura suplementaria 1. Secuencia de respuestas inmunes antimelanoma inducidas por dacarbazina (DTIC). (Ugurel *et al.*, 2013).

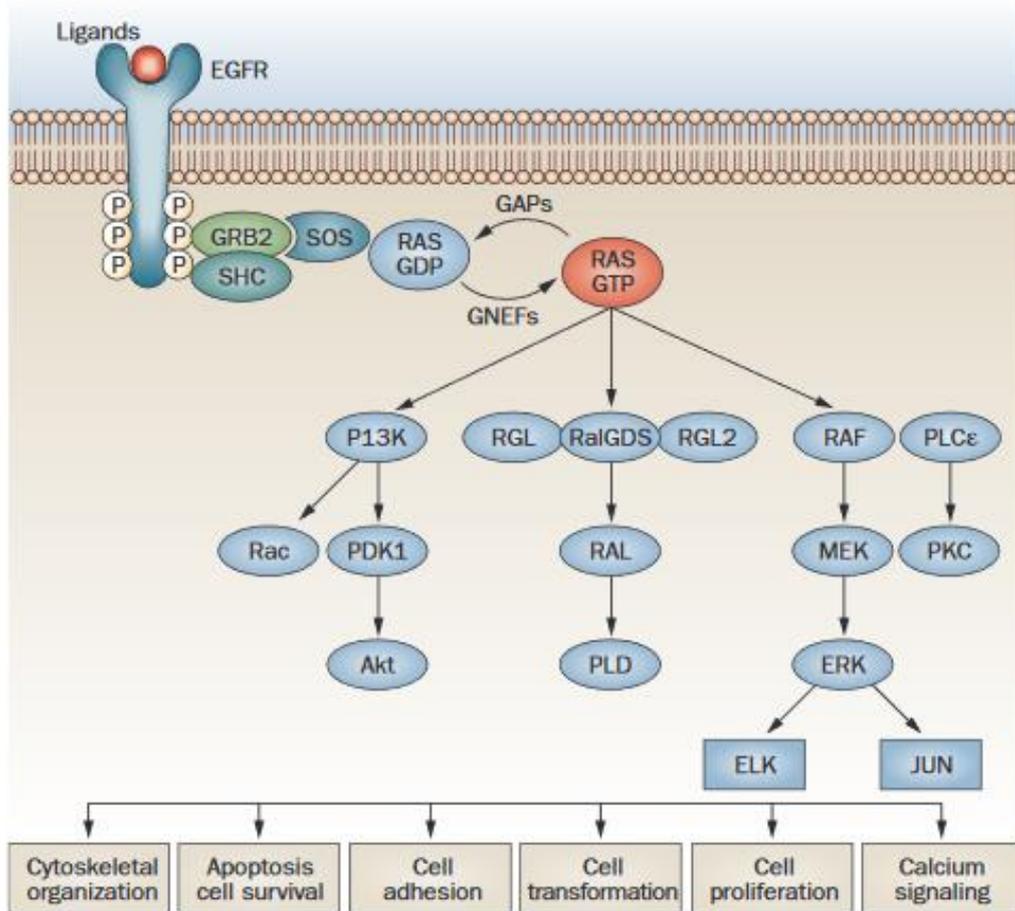


Figura suplementaria 2. Cascada de señalización de MAPK (Normanno *et al.*, 2009).

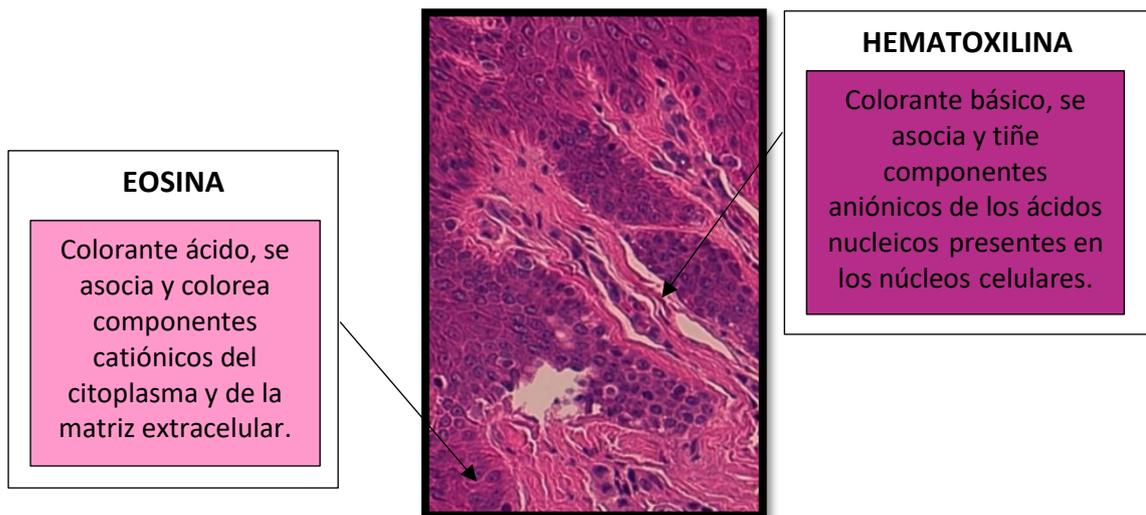
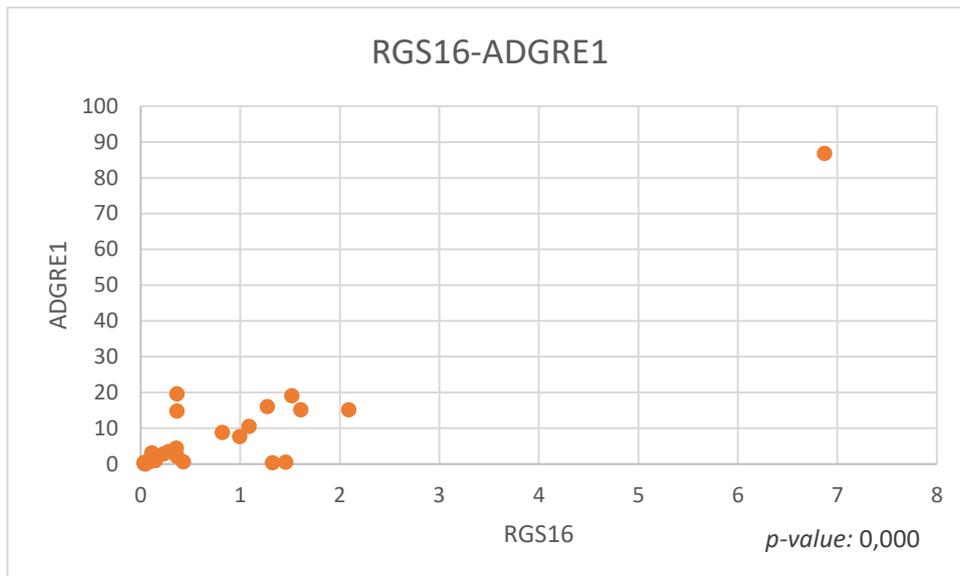


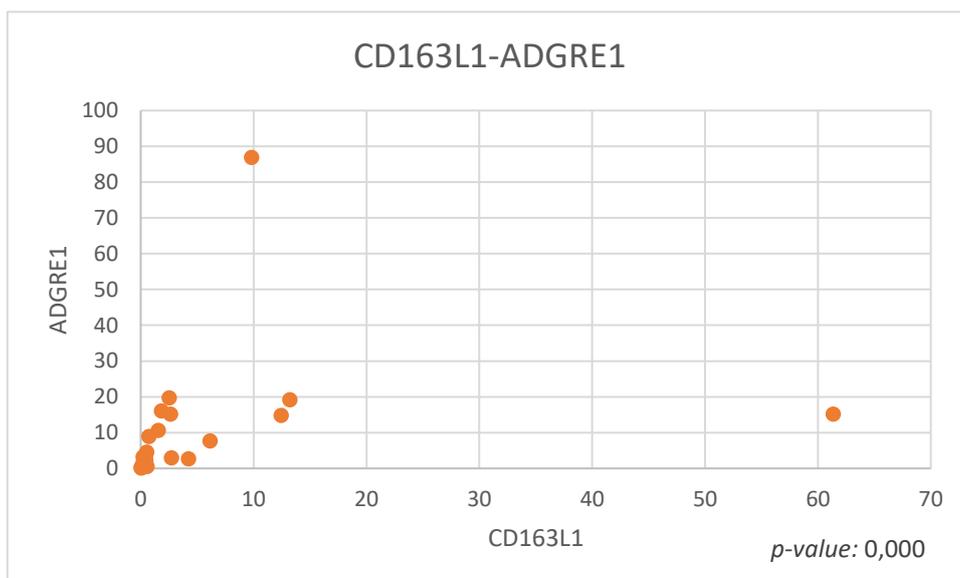
Figura suplementaria 3. Tinción H&E de una sección de muestra de piel del paciente 16.







**Figura suplementaria 8.** Correlación génica *RGS16-ADGRE1* experimental.



**Figura suplementaria 9.** Correlación génica *CD163L1-ADGRE1* experimental.

**Tabla suplementaria 1.** Características de los anticuerpos empleados en inmunohistoquímica.

ANTICUERPO	ISOTIPO	FUENTE	SOLUCIÓN
anti-ARNT2	IgG	Rabbit	1:250
anti-BMP6	IgG	Rabbit	1:200
anti-CCL19	IgG	Rabbit	1:250
anti-CD163L1	IgG	Rabbit	1:250
anti-ADGRE1	IgG	Rabbit	1:250
anti-RGS16	IgG	Rabbit	1:100
anti-MMP12	IgG	Rabbit	1:400
anti-SOCS2	IgG	Rabbit	2 µg/mL
anti-CD68	IgG	Rabbit	1:250

**Tabla suplementaria 2.** Características clinicopatológicas de los pacientes incluidos en el estudio.

PACIENTE	SEXO	TRATAMIENTO	B-RAF	HOSPITAL
1	F	-	NEGATIVO	HOSPITAL GENERAL ALICANTE
2	M	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL DE SAN JUAN
3	M	IFN/Ipilimumab	NEGATIVO	HOSPITAL DOCTOR PESET
4	M	Vemurafenib	POSITIVO	HOSP PROVINCIAL DE CASTELLÓN
5	F	-	NEGATIVO	HOSPITAL DOCTOR PESET
6	M	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL GENERAL DE VALENCIA
7	F	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL DE ELDA
8	F	Masatinib	NEGATIVO	HOSPITAL GENERAL DE ALICANTE
9	F	Fotemustina	POSITIVO	HOSPITAL CLÍNICO DE VALENCIA
10	M	-	NEGATIVO	HOSPITAL DE CUENCA
11	F	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL DE ELDA
12	M	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL CLINICO DE VALENCIA
13	F	-	NEGATIVO	HOSPITAL GENERAL DE ALICANTE
14	M	-	NEGATIVO	HOSPITAL GENERAL DE ALICANTE
15	F	Ipilimumab	NEGATIVO	HOSPITAL DE LA VILA JOIOSA
16	M	-	NEGATIVO	HOSPITAL UNIVERSITARIO DE MURCIA
17	M	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL DE TORREVIEJA
18	M	-	NEGATIVO	HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PLANA
19	F	Ipilimumab	NEGATIVO	HOSPITAL DOCTOR PESET
20	M	Interferón	NEGATIVO	HOSPITAL DE ELDA
21	F	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL DE REQUENA
22	M	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL DE SAN JUAN
23	M	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL ARNAU DE VILANOVA
24	F	Vemurafenib	POSITIVO	HOSPITAL DE SAN JUAN
25	F	Fotemustina/Ipilimumab	NEGATIVO	HOSPITAL DE GANDIA
26	F	-	POSITIVO	HOSPITAL GENERAL DE VALENCIA
27	M	-	POSITIVO	HOSPITAL GENERAL DE VALENCIA
28	M	-	POSITIVO	HOSPITAL DE TORREVIEJA
29	F	Ipilimumab	POSITIVO	HOSPITAL GENERAL DE VALENCIA
30	M	-	-	HOSPITAL GENERAL DE VALENCIA

## **ANEXO II. REVELADO IHC CON POLÍMERO**

**USO PREVISTO:** Diagnóstico *in vitro* en la especie humana. En otras especies el reactivo no ha sido testado.

**ESPECIFICIDAD, INTERFERENCIAS Y LIMITACIONES:** Este sistema de detección ha demostrado mayor sensibilidad con un incremento en la señal de la unión antígeno-anticuerpo. La novedosa tecnología de micropolímeros proporciona mayores ventajas que las técnicas convencionales de inmunohistoquímica y facilita la detección de antígenos en los diferentes compartimentos celulares (núcleo, citoplasma y membrana citoplasmática) debido al menor tamaño de la molécula. El procedimiento técnico utilizado elimina la tinción de fondo originada por la unión inespecífica a moléculas de biotina endógena ya que se trata de un procedimiento no basado en la reacción avidina/biotina. Este sistema de detección es altamente sensitivo, proporciona una baja tinción de fondo y los resultados obtenidos son superiores a los obtenidos con los procedimientos convencionales de Estreptavidina/Biotina o largos polímeros.

Este sistema puede utilizarse con:

- Anticuerpos primarios monoclonales obtenidos en ratón.
- Anticuerpos primarios monoclonales y policlonales obtenidos en conejo.

**APLICACIÓN DEL PRODUCTO:** Este producto está especialmente diseñado para su manejo en los inmunoteñidores automáticos o en las técnicas de inmunotinción manuales, utilizando anticuerpos primarios monoclonales o policlonales. Después de bloquear la posible peroxidasa endógena y tratar las secciones con el anticuerpo primario sin marcar, se aplica el amplificador universal de anticuerpos primarios, seguido de un complejo constituido por micropolímero con anticuerpo secundario universal y moléculas de peroxidasa. Tras los tiempos predeterminados de incubación y después de lavar, se revela utilizando DAB.