



Algunas consideraciones sobre la inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial entre Mesotelioma y Adenocarcinoma

Jorge García Tamayo ¹.
Cathy Hernández ².

¹Anatomopatólogo novapath@yahoo.com

²Anatomopatólogo

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 31 de Diciembre del 2000 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Se estudiaron histológicamente y con inmunohistoquímica, 5 casos de biopsias pleurales en los cuales se planteó; el diagnóstico anatomopatológico de Mesotelioma. Se discute la importancia del uso de diversos anticuerpos para precisar el diagnóstico entre lesiones tumorales e inflamatorias de la pleura, y en particular sobre las dificultades del diagnóstico diferencial entre Adenocarcinoma y Mesotelioma.

SUMMARY

Histologic and immunohistochemical studies in five cases of pleural biopsies where the diagnosis of Mesothelioma was suspected were performed. The importance of using a variety of antibodies in the inflammatory and neoplastic lesions of the pleura was stressed, particularly when the differential diagnosis of Adenocarcinoma and Mesothelioma is examined.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico clínico e histopatológico del Mesotelioma no es fácil. La similitud entre el Mesotelioma y el Adenocarcinoma primario del pulmón, o metastásico, es una situación que se ve en la práctica de la patología quirúrgica con cierta frecuencia y que se agrava por la presencia de una gran variedad de subtipos morfológicos en los mesoteliomas, los clásicos que son el epiteliode, el bifásico, y el sarcomatode, y diversas variantes de esta neoplasia con apariencia túbulopapilar, deciduode, microquística, de células poligonales, desmoplásica y hasta linfohistiocítica (1,2,3).

Con el advenimiento de la inmunohistoquímica (IHQ), durante los pasados 15 años se ha discutido ampliamente sobre el uso de anticuerpos para facilitar el diagnóstico de los Mesoteliomas y no obstante, la controversia todavía persiste por lo que se siguen publicando trabajos sobre este tema.

El objetivo de esta investigación es revisar las observaciones histológicas, histoquímicas e inmunohistoquímicas planteadas en cinco casos de biopsias pleurales, recibidas en nuestro laboratorio en los primeros meses de este año y en las cuales fue considerado el diagnóstico de Mesotelioma. La finalidad de este trabajo es demostrar como se resolvieron los casos a través del estudio inmunohistoquímico de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los 5 casos de biopsias pleurales estudiados en este trabajo, fueron recibidos para su evaluación histológica e inmunohistoquímica en el Laboratorio de Patología Molecular NOVAPATH, en Caracas, Venezuela, durante los seis primeros meses del año 2002. Después de la evaluación de los datos clínicos y del estudio histológico. Los cortes de dos a cuatro micras de espesor fueron hechos en un micrótomos rotatorio, utilizando cuchillas descartables y recogidos en láminas sialinizadas o recubiertas con poli-L-lisina. Los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina (H&E) para confirmar histológicamente la impresión diagnóstica sugerida por clínicos y patólogos. Posteriormente, se decidió en cada caso hacer el estudio inmunohistoquímico y previamente se realizó la coloración de PAS con el reactivo de Schiff, usando la digestión con diastasa para la detección del glicógeno.

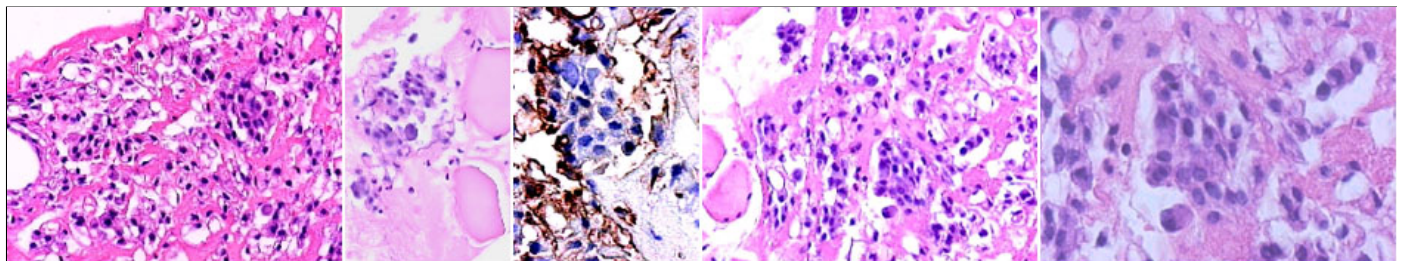
El bloqueo de la peroxidasa endógena se realizó con peróxido de hidrógeno-metanol, y se utilizó para la recuperación antigénica una solución de citrato de sodio a pH 6, en olla de presión dentro de un horno de microondas para elevar la temperatura a 100°C durante varios minutos. Se utilizó como cámara húmeda un sistema de capilaridad de la casa Shandon y los anticuerpos usados fueron todos de DAKO CA, a las diluciones correspondientes. Se examinó cada caso con una serie de anticuerpos de acuerdo con el diagnóstico planteado. De manera general se utilizaron los siguientes anticuerpos: CEA, EMA, Queratina AE1/AE3, Queratina 7, Queratina 20, Calretinina, CD68, Vimentina, y CD45.

HISTORIAS CLÍNICAS Y RESULTADOS

Caso No 1: NP 696-2002

Hombre de 30 años de edad con derrame pleural y pericárdico, quien presenta fiebre, disnea y adenomegalias. Es examinado y no se encuentran lesiones parenquimatosas pulmonares en la radiología. En la TAC se observa engrosamiento de la pleura. Se decide hacer una biopsia pleural que muestra una infiltración con células mononucleares y proliferación de células mesoteliales. Se plantea el diagnóstico de Mesotelioma vs. Pleuritis con proceso reactivo inflamatorio.

El estudio histológico de la biopsia pleural demostró grupos de células mononucleares, algunas con apariencia atípica. Con H&E el citoplasma de algunas era espumoso y los núcleos hipercromáticos. La Figura 2 muestra como algunos grupos de estas células se encontraban en la periferia de fibras musculares estriadas. En la Figura 3 se demuestra con CD45 (antígeno leucocitario común) como algunos nidos de estas células están rodeados por linfocitos, como se muestra también con H&E en la Figura 4, células que infiltran el tejido conjuntivo, en la vecindad de fibras musculares estriadas y las cuales a mayor aumento (400X) parecen macrófagos o células mesoteliales atípicas.

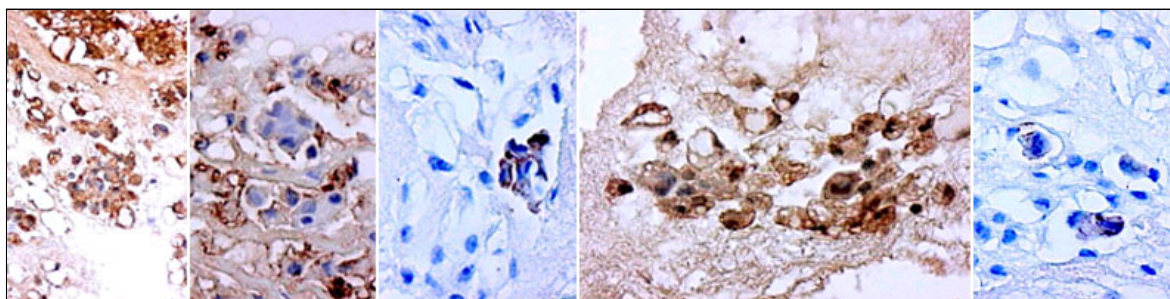


Caso No 1: NP 696-2002

De izquierda a derecha

Figura 1 Figura 2 Figura 3 CD45 200X Figuras 4 Figura 5

Para poder establecer esta situación y en vista de que el diagnóstico de Mesotelioma maligno está sugerido por las manera como estos grupos celulares parecen invadir el tejido conectivo subpleural, se examina el material con CD68 y con Calretinina y se demuestra que las células de los grupos sospechosos de ser células neoplásicas, son en su mayoría macrófagos que se inmunomarcaban con CD68 y hay escasas células mesoteliales reactivas, algunas con atipias nucleares como se demuestra en las Figuras 6 y 9 con CD68 y en las Figuras 8 y 10 con Calretinina. La Figura 7 demuestra el inmunomarcaje con antígeno carcinoembrionario (CEA), el cual puede verse en algunos macrófagos, mas no en las células mesoteliales.



Caso No 1: NP 696-2002 - Inmunohistoquímica

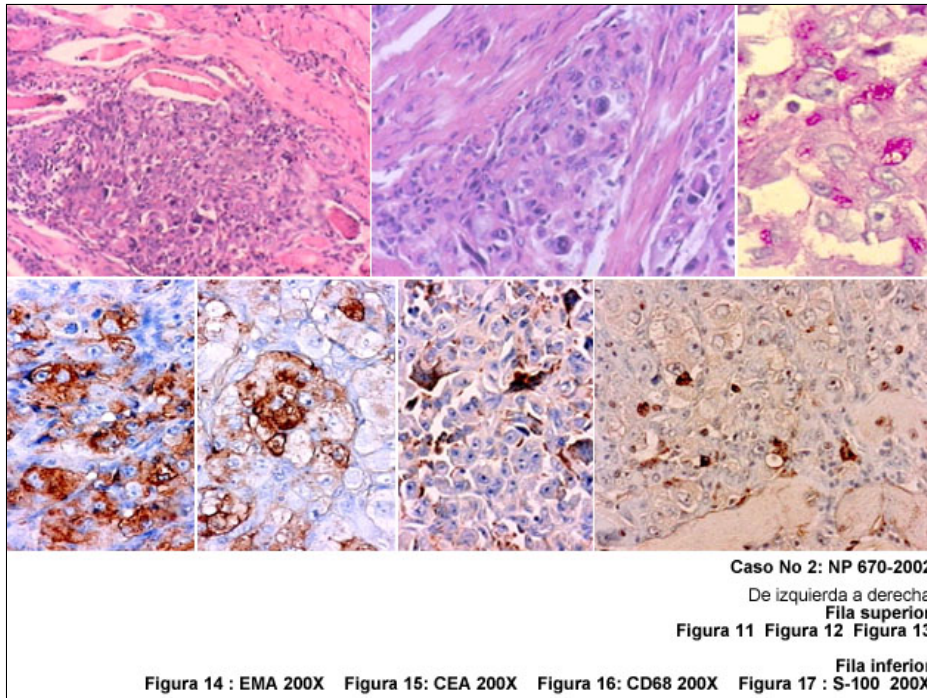
De izquierda a derecha

Figura 6: CD68 100X Figura 7: CEA 200X Figura 8: CALR 200X Figura 9: CD68 200X Figura 10: CALR 200X

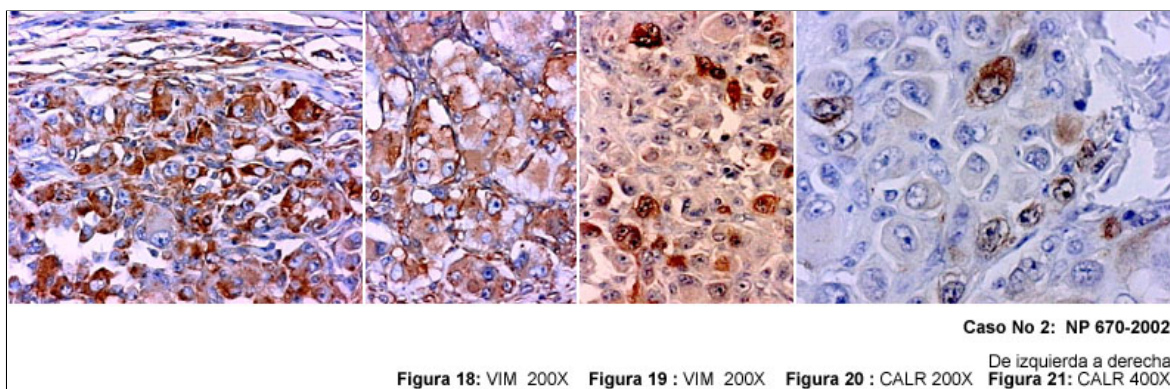
Caso No 2: NP 670-2002

Hombre de 79 años quien presenta un nódulo en región intercostal derecha y derrame pleural bilateral. Se practica toracocentesis, se hace biopsia y se coloca un tubo para drenaje en el hemitórax derecho. La impresión diagnóstica es de un Adenocarcinoma poco diferenciado y una semana después, se observa masa tumoral que emerge por el orificio del tubo. Se toma una nueva biopsia y se plantean los diagnósticos de Mesotelioma vs sarcoma vs Adenocarcinoma poco diferenciado.

La apariencia histológica de esta neoplasia es la de un tumor maligno indiferenciado, con la coloración de H&E (Figuras 11 y 12) las células tumorales se ven en masas e infiltran las fibras musculares y el tejido conjuntivo subpleural. La coloración de PAS (Figura 13) demuestra positividad citoplasmática; esta evidencia y la presencia de antígeno de membrana epitelial (EMA: Figura 14) y de CEA (Figura 15) señalan que el diagnóstico debe ser de Adenocarcinoma poco diferenciado. Sin embargo, el examen detallado con IHQ demuestra algunas otras evidencias interesantes. Hay numeroso macrófagos que se ven entre las células tumorales marcados con CD68 (Figura 16) y células dendríticas que se pueden detectar en la vecindad del conjuntivo entre las células neoplásicas y que se inmunomarcen con proteína S -100 en la Figura 17.



Es interesante señalar que las células tumorales inmunomarcaron igualmente con la vimentina (Figuras 18 y 19) y focalmente se detectó inmunomarcaje con calretininina, lo que se muestra en las Figuras 20 y 21.

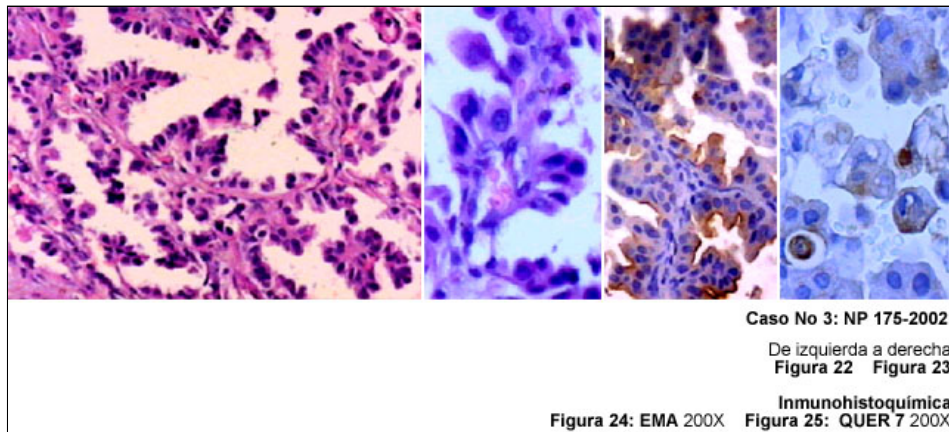


Caso No 3: NP 175-2002

Mujer de 68 años con derrame pleural y lesión tumoral en el lóbulo superior del pulmón izquierdo, detectada por radiología y TAC. Se hace una biopsia y se demuestra un tumor histológicamente de aspecto papilar, por lo que se plantean varias posibilidades diagnósticas: Mesotelioma vs Adenocarcinoma Papilar Pulmonar vs. metástasis de un Carcinoma Papilar del Tiroides vs metástasis de un Carcinoma Papilar del Ovario.

Se demuestra en la Figura 22 con la coloración de H&E la presencia de un tumor de aspecto papilar que crece en los espacios alveolares con tallos vascularizados tapizados por células cilíndricas, con núcleo hiper cromático, los cuales con mayor aumento muestran la apariencia de clavos de minero (Figura 23). La positividad para el antígeno de membrana epitelial (EMA) destaca la

membrana plasmática de las células neoplásicas (Figura 24). El carácter epitelial de las células tumorales está refrendado por la presencia de queratina 7, la cual se puede observar en la Figura 25.



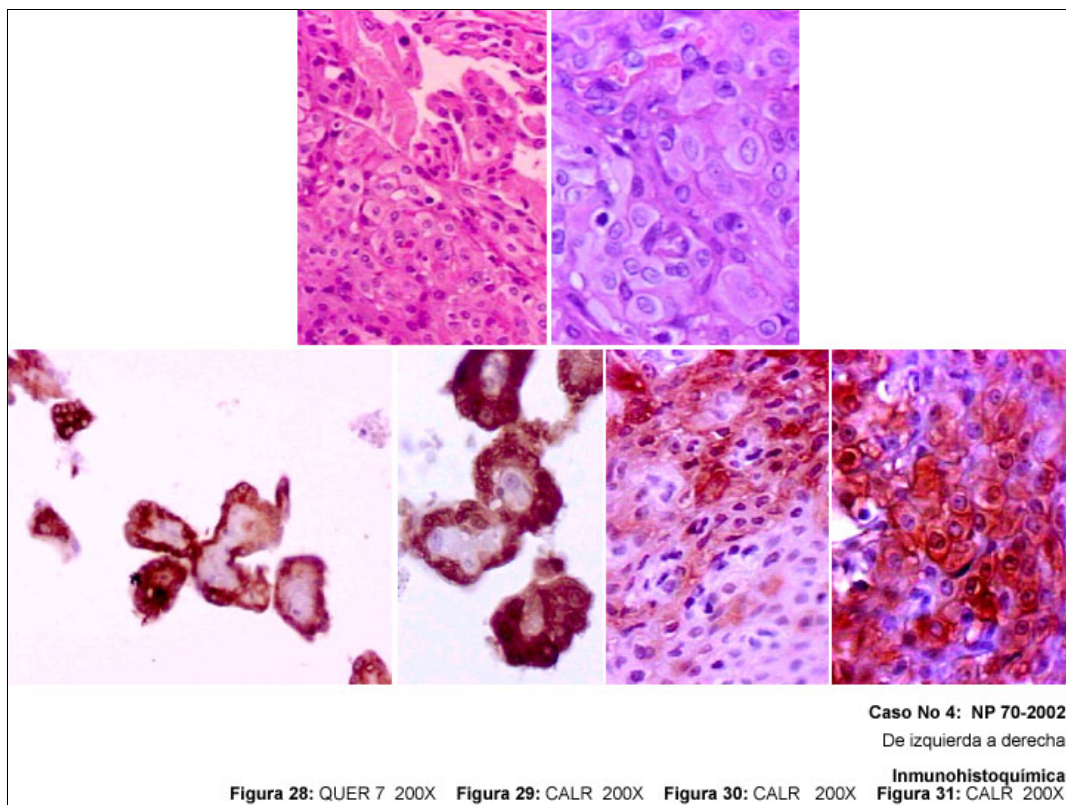
En este caso se descartó la posibilidad de un Carcinoma papilar del Tiroides, porque el anticuerpo contra la tiroglobulina y la vimentina resultaron negativos en las células tumorales. La positividad para CEA también fue focal y debil. La calretinina resultó también negativa por lo que se descartó el diagnóstico de Mesotelioma maligno. A pesar de no observarse cuerpos de psamoma se pensó en una metástasis de un Carcinoma Papilar del ovario, para ellos se hicieron pruebas de IHQ con anticuerpos para los receptores de estrógenos y de progesterona, los cuales resultaron negativos. El diagnóstico final fue de Adenocarcinoma papilar del pulmón izquierdo.

Caso No 4: NP 70-2002

Mujer de 57 años con derrame pleural, quien muestra una lesión tumoral en la pleura parietal del hemitórax izquierdo. Se practica una biopsia y se observa una neoplasia de apariencia epitelia, por lo cual se plantean los diagnósticos de Mesotelioma vs. Adenocarcinoma primario vs. Adenocarcinoma metastásico.

En este caso se hizo IHQ con antígeno de membrana epitelial (EMA), antígeno carcinoembrionario (CEA), queratina 7, queratina 20, vimentina, calretininina. En este primer examen se encontró negatividad para EMA y para CEA, así como para la queratina 20, con positividad para queratina 7 y para vimentina e inmunomarcaje positivo para calretininina, tanto nuclear como citoplasmática. Con estas evidencias se hizo el diagnóstico de Mesotelioma.

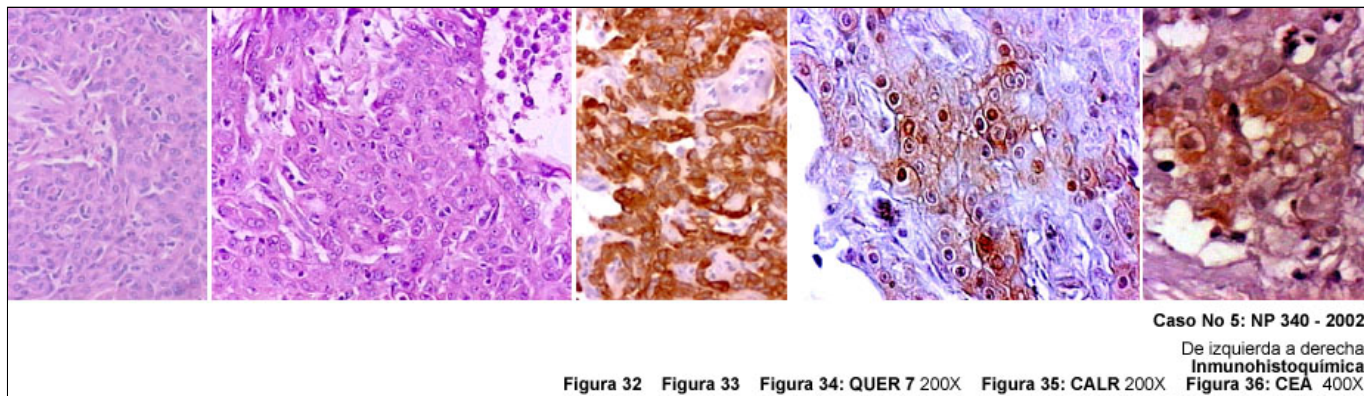
Las Figuras 26 y 27 demuestran con H&E las características histológicas del tumor, su aspecto papilar en la Figura 26, por lo que se consideró el diagnóstico de carcinoma papilar primario del pulmón y se planteó para una segunda instancia de ser necesario, pensar en una metástasis de un Carcinoma del ovario. La posibilidad de un primario en la glándula tiroides se consideró más remotamente porque la apariencia de los núcleos no era sugestiva de una neoplasia papilar tiroidea. A pesar de no haberse considerado una neoplasia del tubo digestivo, la negatividad para la queratina 20 contribuye a descartar este diagnóstico. La apariencia epitelioide destaca en la Figura 27 motivo por el cual se podrían considerar los tumores vasculares epitelioides, sin embargo no se ven luces intracitoplasmáticas ni las masas de células tumorales están muy vascularizadas, tampoco existen nucleolos prominentes. En algunas áreas, la apariencia papilar del tumor era muy evidente y esta se destaca en las Figuras 28 y 29 inmunomarcadas con queratina 7 (Figura 28) y con calretininina (Figura 29). En otras áreas, la apariencia epitelioide está presente y demostrada con el inmunomarcaje para la calretininina como se demuestra en núcleo y citoplasma de las células tumorales en las figuras 30 y 31.



Caso No 5: NP 340 - 2002

Mujer de 56 años con derrame pleural bilateral y tumor en la pleura visceral del pulmón izquierdo. Se practicó una biopsia pleural y se plantearon los diagnósticos de Adenocarcinoma primario vs. Adenocarcinoma metastásico vs. Mesotelioma.

El aspecto histológico de este tumor pleural, observado con H&E (Figuras 32 y 33) es de células epitelioides, con abundante citoplasma eosinofílico y núcleo redondeado algunos con nucleolo prominente, en otros sitios, como destaca en la Figura 34, la apariencia es de cordones de células que inmunomarcan con queratina 7 y que en la Figura 35 son positivas en el núcleo y en el citoplasma con calretinina. En este caso se observó presencia de vimentina, negatividad para la queratina 20 y positividad focal para el antígeno carcinoembrionario (CEA), hallazgo este que es poco frecuente en los Mesoteliomas y que es señalado en la Figura 36.



DISCUSIÓN

El diagnóstico diferencial de los tumores malignos de la pleura constituye en general un reto para el patólogo. Si bien es cierto que, no siempre se requieren técnicas auxiliares al examinar microscópicamente las biopsias pleurales en cortes teñidos con H&E, el objetivo de este trabajo es precisamente destacar las ventajas que varios anticuerpos usados en la práctica diaria de la IHQ, pueden tener en ciertos casos. En algunos países, la diferencia entre el diagnóstico de Mesotelioma o de Adenocarcinoma puede tener consecuencias importantes, puesto que uno de los aspectos significativos del Mesotelioma es ser una neoplasia relacionada en un 85 a 90% de los casos con la exposición al asbesto (4,5). Las posibles demandas judiciales hacen que el diagnóstico de esta neoplasia pueda tener implicaciones médico-legales. La revisión de los esquemas de protección para los trabajadores, ha sido planteada en países donde la incidencia de Mesoteliomas parece haber aumentado (6), y sin duda, este tema podría revisarse en nuestro país a

propósito de la puesta en vigencia de Leyes de Higiene y Seguridad Ambiental. No obstante, los mecanismos implicados en los efectos tumorigénicos del asbesto no están totalmente comprobados y se ha llegado a proponer que las fibras del asbesto son capaces de atravesar los pulmones, la pleura, el diafragma, o a través del mucus ingerido, cruzar el tracto gastrointestinal e ir hasta el peritoneo implicando el asbesto en el origen, no sólo de los Mesoteliomas pleurales si no de los Mesoteliomas del ovario, páncreas y del testículo (7).

Los elementos manejados por los patólogos para considerar el diagnóstico de Adenocarcinoma vs. Mesotelioma, han sido siempre el especto histopatológico de la lesión, las coloraciones especiales de PAS, de mucicarmín, y de PAS-azul anciano (8), y si existía la posibilidad de usar un microscopio electrónico se identificaban las largas vellosidades en la superficie luminal de las células neoplásicas (9). La presencia de mucinas neutras en las células tumorales se suponía favorecería el diagnóstico de adenocarcinoma. Igualmente, se usaba la demostración histoquímica de ácido hialurónico y el uso de hialuronidasa testicular para la demostración de glicoproteínas ácidas en los Mesoteliomas y neutras en los Adenocarcinomas. Sin embargo, todas estas técnicas no han demostrado ser suficientemente específicas (10). Hoy se insiste en que el patólogo, ante la posibilidad diagnóstica de Mesotelioma, y antes de decidirse a realizar estudios de IHQ, debe inicialmente decidir a cuál de las tres variedades más comunes corresponde el tumor que se investiga, si es un Mesotelioma sarcomatoide, bifásico o epitelioides (11). Hasta la aparición de las técnicas de IHQ la situación del diagnóstico de Mesotelioma permaneció complicada (12, 13, 14), y hoy, a pesar de que podemos contar con diferentes marcadores inmunohistoquímicos que facilitan el diagnóstico, a menudo los casos plantean situaciones complejas y los resultados de la IHQ pueden ser controversiales.

Para facilitar el diagnóstico de los mesoteliomas, algunos investigadores han propuesto el uso del anticuerpo BER-EP4, que es una glicoproteína proveniente de tumores del ovario y la cual es poco común en el Mesotelioma y frecuentemente positiva en los Adenocarcinomas (15,16). El uso de este anticuerpo y de la vimentina fue considerado como la mejor combinación para diagnosticar los Mesoteliomas, pues BER-EP4 presenta en los Adenocarcinomas una positividad de 82.6% con negatividad en el 100% para la vimentina (16). También presentaron resultados satisfactorios García-Prats y colaboradores (17), quienes destacan que el CEA está descrito en estudios previos entre el 85 y el 100% de los Adenocarcinomas, y ellos lo encuentran positivo sólo en un 65% de los casos, pero señalan que sólo han hallado el CEA positivo en los Mesoteliomas en un 2% de sus casos. Resultados descritos más recientemente por este mismo grupo de investigadores (18), demuestran el CEA en el 6.8% de los Mesoteliomas contra 73.5% de positividad en Carcinomas, y por otra parte, encuentran la vimentina en el 100% de los Mesoteliomas contra un 40% en los carcinomas. En este sentido, señalamos como en nuestro caso No. 2 la presencia de vimentina fue muy intensa en un Adenocarcinoma que fue considerado como un sarcoma o un mesotelioma sarcomatoide por su apariencia anaplásica. No obstante, el inmunomarcaje para CEA y la positividad para el PAS apoyaron el diagnóstico de Adenocarcinoma, a pesar de que la calretinina también resultó focalmente positiva. Como puede observarse, la IHQ debe también ser examinada con criterios firmes.

Algunos otros marcadores, como las moléculas de adhesión del tipo de la N- Cadherina, han sido también propuestos para el diagnóstico de los Mesoteliomas (19,20,21). Otro anticuerpo utilizado en la búsqueda de marcadores para el diagnóstico diferencial de los Mesoteliomas malignos ha sido en producto del gen del tumor de Wilms (WT1). Esta es una proteína nuclear que parece representar un gen supresor y que en los tejidos humanos se expresa en las células de Sertoli, en el mesangio del glomérulo renal, en las células del estroma y de la superficie del ovario, en algunas células musculares lisas del miometrio y en las células mesoteliales. Ha sido propuesto para ser usado en el diagnóstico de los Mesoteliomas para diferenciarlos de los adenocarcinomas (22). Recientemente, Attanos y col. (23) examinaron la expresión de dos citoqueratinas de uso común, el cocktail AE1/AE3 y la citoqueratina 5/6, demostrando que éstas podían verse en el 75% (AE1/AE3) y en el 29% (5/6) de los Mesoteliomas sarcomatoides, a pesar de que en los mesoteliomas en general se ha descrito que la queratina 5/6 posee una sensibilidad de hasta el 87% y una especificidad del 89% (24). De esta manera, es evidente que los estudios de IHQ no son siempre exactos y estas diferencias dependen de los procedimientos y criterios seguidos por diferentes laboratorios de IHQ o centros de investigación en patología.

Hemos presentado en este trabajo un caso en el que un proceso inflamatorio crónico terminaría siendo una tuberculosis, lo cual estimuló la hiperplasia de las células mesoteliales, hasta plantear el diagnóstico diferencial con un Mesotelioma maligno. Esta es una de las situaciones en las que la ayuda de la IHQ puede ser crucial, pues es bien sabido que las células mesoteliales reactivas sufren cambios morfológicos que pueden hacerlas simular una neoplasia, y por otra parte, cuando se produce una hiperplasia de células mesoteliales, con atipias, existe la posibilidad de que termine transformándose en un Mesotelioma infiltrante. El concepto de Mesotelioma insitu es nuevo y se basa en la no invasión de la grasa o músculo en la pared costal y su diagnóstico es difícil (25), por lo que afortunadamente en nuestro caso No.1, las células mesoteliales reactivas que reaccionaron con la Calretinina, mezcladas con gran cantidad de macrófagos positivos a CD68 eran aisladas y sin severas atípicas. No obstante, el hallazgo de células mesoteliales atrapadas en el conjuntivo debe hacer sospechar invasión, pero debe pensarse dos veces en los casos de hiperplasia antes de hacer el diagnóstico de malignidad. Debe ponerse especial atención al estroma, a la necrosis y cambios en el colágeno. Igualmente, debe destacarse el hecho de la escasa celularidad en los casos de Mesoteliomas malignos desmoplásicos, lo cual puede llevar igualmente a diagnósticos equivocados (26).

En el diagnóstico diferencial de los tumores de la pleura, no deben olvidarse los tumores de origen vascular y cuya apariencia epitelioides en ocasiones puede confundir con el diagnóstico de Mesotelioma (27,28). Algunos Mesoteliomas epiteliales muestran una apariencia semejante a la decidua, por lo que algunos investigadores prefieren denominarlos Mesoteliomas epiteliales con rasgos deciduoides (29). En el caso descrito por Z. Orosz y colaboradores, se observó positividad focal para el CEA, lo que nos lleva a discutir la presencia focal de este anticuerpo en las células de un Mesotelioma epitelioides, como lo descrito en nuestro caso No. 5. Debe señalarse que la positividad para el CEA en los Mesoteliomas epiteliales ha sido indicada también por González-Lois y col (18). No hemos mencionado en este trabajo a los linfomas en el diagnóstico diferencial del Mesotelioma, pero es obvio que la apariencia

epitelioide de las células neoplásicas de un tumor pleural, puede siempre confundirse con un linfoma de células grandes. En este sentido, se debe tener en cuenta siempre al Linfoma de Células Grandes Anaplásicas, especialmente en casos de punción biopsia y no confundir los linfocitos anaplásicos con células mesoteliales reactivas para lo que el uso de la inmunohistoquímica puede ser definitivamente concluyente (30). Es importante señalar que estos linfomas frecuentemente son negativos al CD45 (antígeno leucocitario común), son también positivos a la vimentina y pueden mostrar inmunoreactividad para la queratina (31), por lo que las dificultades diagnóstica son mayores cuando se trata de descartar un carcinoma indiferenciado, o un mesotelioma (32).

Aunque se han descrito Mesoteliomas en el peritoneo, el pericardio y en la túnica vaginalis del testículo. Estos casos no representan ni el 1% de todos los casos y debe señalarse que el Mesotelioma del ovario es una entidad realmente muy poco común. En un estudio reciente se analizaron cuatro Mesoteliomas del ovario y tres testiculares destacando la importancia de la inmunohistoquímica para el diagnóstico de estos tumores (7).

No hay duda que luego de los intentos para concentrar la atención del diagnóstico de los Mesoteliomas en la queratina 5/6 (24), ha sido la Calretinina el anticuerpo de elección y, no obstante, los hallazgos con el uso del mismo son en ocasiones contradictorios. La calretinina es una proteína que se expresa en el sistema nervioso central y periférico, así como en las células mesoteliales; parecería tener menor sensibilidad que la trombomodulina en los Mesoteliomas de células pequeñas. La trombomodulina es una glicoproteína con acción anticoagulante que se expresa en el endotelio, el epitelio escamoso, en las células sinoviales, el sincitiotrofoblasto y el mesotelio (34). Señalamos como en nuestro caso No. 2, a pesar de las evidencias histológicas e inmunohistoquímicas de la naturaleza maligna y anaplásica de un adenocarcinoma pulmonar, los hallazgos sobre la presencia de vimentina y calretinina en las células tumorales pueden despertar sospechas sobre otras neoplasias y temores sobre fallas en el inmunomarcaje diagnóstico. Algunos autores han opinado que ni siquiera la calretinina es confiable (32) y otros que este anticuerpo es más seguro que la mayoría de las queratinas y que tiene una gran sensibilidad (23, 34). En nuestra experiencia es un anticuerpo de gran utilidad para el diagnóstico de Mesotelioma, sumado a su expresión combinada con la de la vimentina. Puede concluirse este trabajo señalando que en la actualidad, la combinación de queratina 5/6 y calretinina son las armas más poderosas para el diagnóstico por IHQ del Mesotelioma maligno (35).

REFERENCIAS

1. Bedrossian CW, Bonsib S, Moran C. Differential diagnosis between mesotelioma and adenocarcinoma: a multimodal approach based on ultrastructure and immunocytochemistry. *Semin Diagn Pathol* 1992; 9: 124-140
2. Ordoñez NG. In search of a positive immunohistochemical marker for mesothelioma: an update. *Adv Anat Pathol* 1998; 5: 53-60
3. Hasleton P, King J. Malignant pleural Mesothelioma. *Curr Diagn Pathol* 1999; 5: 991-1005
4. Enticknap JB, Smither J. Peritoneal tumors in asbestosis. *Br J Ind Med* 1964; 21: 20-31
5. Acheson RD, Gardner MJ, Pippard EC y col. Mortality of two groups of women who manufacture gas masks from chrysotile and crocidolite asbestos: a 40 years follow-up. *Br J Ind Med* 1982; 39: 344-348
6. Peto J, Hodgson J, Matthews F, Jones J. Continuing increase in mesothelioma mortality in Britain. *Lancet* 1995; 345: 535-539
7. Attanoos RL, Gibbs AR. Primary Malignant gonadal mesothelioma and asbestos. *Histopathology* 2000; 37 : 150-159.
8. Fisher ER, Helstrom R. The periodic acid Schiff reaction as an aid in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Cancer* 1960; 13: 837-841
9. García Tamayo J. Aspectos ultraestructurales de la patología tumoral. *Invest Clin* 1982; 3: 123-215
10. Wagner JC, Munday DE, Harrington JS. Histochemical demonstration of hyaluronic acid in human mesotheliomas. *J Pathol Bacteriol* 1985; 16: 50-55
11. King JE, Hasleton PS. Immunohistochemistry and the diagnosis of malignant mesothelioma. *Histopathology* 2001; 38: 471-476
12. Brown RW, Clark GM, Tandon AK, Craig AD. Multiple-marker immunohistochemical phenotypes distinguishing malignant pleural mesotheliomas from pulmonary adenocarcinoma. *Hum Pathol* 1993; 24: 347-354
13. Skov BG, Lauritzen AF, Hirsch FR, Skov T, Nielsen HW. Differentiation of adenocarcinoma of the lung and malignant mesothelioma: predictive value and reproducibility of immunoreactive antibodies. *Histopathol* 1994; 25: 431-437
14. Sheibani K. Immunopathology of malignant mesothelioma. *Human Pathol* 1994; 25: 219-220
15. Sheibani K, Shin SS, Kezirian J, Weiss LM. BER-EP4 as a discriminant in the differential diagnosis of malignant mesothelioma versus adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 779-784
16. Gaffey MJ, Mills SE, Swanson PE y col. Immunoreactivity for Ber-EP4 in adenocarcinomas, adenomatoid tumors and malignant mesotheliomas. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 593-599
17. García-Prats MD, Caballero C, Sotelo T, López-Encuentra A, Mayordomo JI. A comparative evaluation of immunohistochemical markers for the differential diagnosis of malignant pleural tumors. *Histopathol* 1998; 32: 462-472
18. González-Lois C, Ballestín MT, Sotelo MT, López Ríos F, García Prats MD, Villena V. Combined use of novel epithelial (MOC-31) and mesothelial (HMB-1) immunohistochemical markers for optimal first line diagnostic distinction between mesothelioma and metastatic carcinoma in pleura. *Histopathol* 2001; 38: 528-534
19. Peralta-Soler A, Knudsen KA, Jaurand MC. The differential expression of N-Cadherin and E-Cadherin distinguishes pleural mesotheliomas from lung adenocarcinoma. *Human Pathol* 1995; 26: 1363-1369
20. Han A, Peralta-Soler A, Knudsen K y col. Differential expression of N-Cadherin in pleural mesotheliomas and E-Cadherin in lung adenocarcinomas. *Hum Pathol* 1997; 28: 641-645
21. Ordoñez N. Value of thyroid transcription factor-1, E-Cadherin, BG8, WT1 and CD44S immunostaining in distinguishing epithelial pleural mesothelioma from pulmonary and non-pulmonary adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 598-606

22. Amin KM, Litzky LA, Smythe WR, Moone AM, Morris JM, Mews DJ. Wilms Tumor 1 susceptibility (WT1) gene products are selectively expressed in malignant mesothelioma. *Am J Pathol* 1995, 146: 344-356.
23. Attanoos R, Dojcinov S, Webb R, Gibbs A. Antimesothelial markers in sarcomatoid mesothelioma and other spindle cell neoplasms. *Histopathol* 2000, 37: 224-231
24. Ordóñez N. Value of cytokeratin 5/6 in distinguishing epithelial mesothelioma of the pleura from adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1998, 22: 1215-1221
25. Henderson D, Shilkin K, Whitaker D. Reactive mesothelial hyperplasia vs mesothelioma, including mesothelioma in situ. *Am J Clin Pathol* 1998, 110: 397-404
26. King JE, Hasleton PS. Immunohistochemistry in the diagnosis of malignant Mesothelioma. *Histopathol* 2001, 38: 471-476
27. García Tamayo J, Ruíz ME. Hemangioma histiocitoide y hemangioendotelioma epiteliode. Estudio histológico, inmunohistológico y ultraestructural. *Patología (Esp)* 1989, 22:170-180
28. Lin BT, Colby T, Gown AM, Hammar SP, Merthens RB, Churg A y col. Malignant vascular tumors of the serous membranes mimic mesothelioma. A report of 14 cases. *Am J Surg Pathol* 1996, 20: 1431-1439
29. Orosz Z, Nagy P, Szentirmay Z, Zalatnai A, Hauser P. Epithelial mesothelioma with deciduoid features. *Virchos Arch* 1999, 434: 263-266
30. García Tamayo J, Picott E, Henández C, León Z. Estudio histológico e inmunohistoquímico en 120 casos de linfomas de linfocitos T. *Vitae: Academia Médica Digital* 2002, 12: <http://caibco.ucv.ve/Vitae/VitaeDoce/Articulos/Anatomia/ArchivosHTML/Introduccion.htm>
31. Frierson HF, Bellafiore FJ, Gaffey MJ, ScottMcCary W, Innes DJ, Williams ME. Cytokeratina in Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Modern Pathol* 1994, 7: 317-321
32. Oates J, Edwards C. HBM-1, MOC 31, WT1 and Calretinin: an assessment of recently described markers for mesothelioma and adenocarcinoma. *Histopathology* 2000, 36: 341-347
33. Collins C, Ordoñez ND, Schaefer R y col. Trombomodulin expression in malignant pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. *Am J Pathol* 1992, 141: 927-933
34. Attanoos RL, Webb R, Dojcinov , ER Gibbs. Malignant epithelioid Mesothelioma: anti-mesothelial marker expression correlate with histological pattern. *Histopathology* 2001, 39: 584-588
35. Ordoñez ND. The immunohistochemical diagnosis of epithelial mesothelioma. *Human Pathol* 1999, 33: 313-323