

Tesis Doctoral

Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid

**CORRELACIÓN MORFOLÓGICA
E INMUNOHISTOQUÍMICA DE LOS
MESOTELIOMAS MALIGNOS PLEURALES.
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL CON
OTROS TUMORES MALIGNOS PLEURALES**

Memoria presentada por:

D^a María Dolores García Prats
para optar el Grado de Doctor en Medicina y Cirugía

Dirigida por los Dres. D^a María Teresa Sotelo Rodríguez y
D. Claudio Ballestín Carcavilla

Madrid, Febrero de 1993

FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

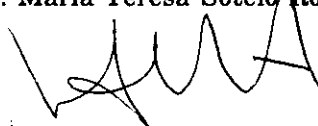
Profesora Dra. MARIA TERESA SOTELO RODRÍGUEZ, Profesora Asociada del Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICA QUE: D^a MARIA DOLORES GARCIA PRATS, ha realizado su trabajo de Tesis Doctoral sobre el tema "*Correlación morfológica e inmunohistoquímica de los mesoteliomas malignos pleurales. Diagnóstico diferencial con otros tumores malignos pleurales*", bajo mi dirección y la del Prof. D. Claudio Ballestín Carcavilla, habiendo recibido la autorización oficial del Decanato de esta Facultad.

La amplia consulta bibliográfica y el trabajo experimental desarrollado bajo nuestra dirección permiten considerarlo adecuado para su presentación como trabajo de Tesis Doctoral para optar al título de Doctor en Medicina y Cirugía por esta Facultad de Medicina.

Madrid, 8 de Febrero de 1993.

Fdo: Prof. María Teresa Sotelo Rodríguez



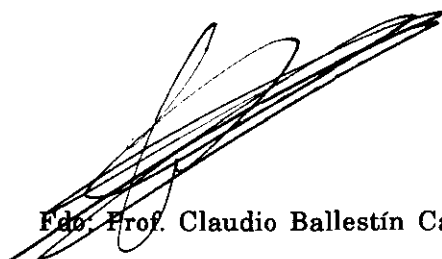
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Profesor Dr CLAUDIO BALLESTÍN CARCAVILLA, Profesor Asociado del Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICA QUE: D^a MARIA DOLORES GARCIA PRATS, ha realizado su trabajo de Tesis Doctoral sobre el tema "*Correlación morfológica e inmunohistoquímica de los mesoteliomas malignos pleurales. Diagnóstico diferencial con otros tumores malignos pleurales*", bajo mi dirección y la de la Prof. D^a. María Teresa Sotelo Rodríguez, habiendo recibido la autorización oficial del Decanato de esta Facultad.

La amplia consulta bibliográfica y el trabajo experimental desarrollado bajo nuestra dirección permiten considerarlo adecuado para su presentación como trabajo de Tesis Doctoral para optar al título de Doctor en Medicina y Cirugía por esta Facultad de Medicina.

Madrid, 8 de Febrero de 1993.



Fdo: Prof. Claudio Ballestín Carcavilla

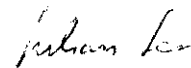
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

D. Julián Sanz Esponera, Catedrático de Anatomía Patológica y Director del Departamento de Anatomía Patológica de la Universidad Complutense de Madrid,

INFORMA que el trabajo *“Correlación morfológica e inmunohistoquímica de los mesoteliomas malignos pleurales. Diagnóstico diferencial con otros tumores malignos pleurales”*, ha sido realizado por D^a M^a Dolores García Prats bajo la dirección de la Profesora D^a M^a Teresa Sotelo Rodríguez y el Profesor D. Claudio Ballestín Carcavilla.

Este trabajo reúne las condiciones adecuadas para ser admitida su lectura con el fin de obtener el grado de Doctor.

Lo que firmo en Madrid a 22 de Febrero de 1993



Prof. D. Julián Sanz Esponera

A José Ignacio

AGRADECIMIENTOS:

A mis directores de Tesis, los Profesores D^a M^a Teresa Sotelo Rodríguez y D. Claudio Ballestín Carcavilla por su amistad y por su constante apoyo y colaboración en este trabajo.

Al Departamento de Anatomía Patológica del Hospital 12 de Octubre de Madrid, y en su nombre al Profesor D. Francisco J. Martínez Tello por su amabilidad y por la confianza que ha depositado en mí.

Al Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FISS), con cuya Beca se ha financiado este trabajo de investigación.

A M^a Angeles Moya Silva por su paciencia y su infatigable labor en el tratamiento de textos.

A Rosa y José Ramón por su labor técnica de Laboratorio.

A mis padres y hermanos por todo su cariño y dedicación hacia mí.

A José Ignacio, por todo.

ÍNDICE

	Pág.
1.- INTRODUCCIÓN.....	1
I.- EPIDEMIOLOGÍA.....	3
I.1.- Asbesto.....	3
• I.1. a. Evidencias epidemiológicas.....	3
• I.1. b. Carcinogenesis por asbesto.....	6
• I.1. c. Riesgo de neoplasias tras exposición a asbesto.....	8
I.2.- Otros factores epidemiológicos.....	9
II.- CLÍNICA.....	11
II.1.- Mesotelioma pleural maligno.....	11
- Sintomatología.....	11
- Historia natural.....	11
- Factores pronósticos.....	12
II.2.- Otros mesoteliomas malignos.....	18
II.3.- Mesotelioma benigno (mesotelioma fibroso localizado).....	19
II.4.- Mesotelioma papilar bien diferenciado del peritoneo.....	20
II.5.- Mesotelioma benigno multiquístico del peritoneo.....	20
II.6.- Mesotelioma benigno del tracto genital (tumor adenomatoide).....	21
III.- DIAGNÓSTICO.....	22
III.1.- Técnicas diagnósticas.....	22
III.1.a.- Citología de líquido pleural.....	23
III.1.b.- Biopsia pleural a ciegas.....	26
III.1.c.- Toracoscopia.....	26
III.1.d.- Toracotomía diagnóstica.....	26
III.1.e.- Diagnóstico de otros tipos de mesotelioma.....	27
III.2.- Anatomía patológica del mesotelioma maligno pleural.....	27
III.2.a.- Histogenesis del mesotelioma maligno pleural. Histología pleural.....	27
III.2.b.- Macroscopía.....	30
III.2.c.- Microscopía óptica. Clasificación.....	30
III.2.d.- Características histoquímicas.....	34
III.2.e.- Características ultraestructurales.....	35
III.2.f.- Características inmunohistoquímicas.....	36
• Principios de la inmunohistoquímica.....	36
• Objetivos de la inmunohistoquímica.....	45
• Causas de error en inmunohistoquímica.....	47
• Caracterización inmunohistoquímica de los tumores humanos.....	55
• Características inmunohistoquímicas del mesotelioma pleural maligno.....	57

IV.- <u>DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL MESOTELIOMA</u>	
<u>PLEURAL MALIGNO</u>	60
IV.1.- Descripción de otros tumores y pseudotumores pleurales.....	60
IV.1.a.- Hiperplasia mesotelial reactiva.....	60
IV.1.b.- Mesotelioma fibroso solitario.....	62
IV.1.c.- Adenocarcinoma pulmonar.....	63
IV.1.d.- Metástasis pleurales de adenocarcinomas extrapulmonares.....	69
IV.1.e.- Otros mesoteliomas.....	75
• Peritoneal.....	76
• Túnica vaginal.....	79
• Pericárdico.....	79
• Tumor adenomatoide.....	79
IV.2.- Valor de la histoquímica en el diagnóstico diferencial del mesotelioma maligno pleural.....	80
IV.3.- Valor de la microscopía electrónica en el diagnóstico diferencial del mesotelioma maligno pleural.....	81
IV.3.a.- Mesoteliomas epiteliales.....	81
IV.3.b.- Mesotelioma sarcomatoide.....	82
IV.4.- Valor de la inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial del mesotelioma maligno pleural.....	82
IV.4.a.- Mesotelioma vs. adenocarcinoma.....	83
IV.4.b.- Mesotelioma vs. sarcoma.....	89
V.- <u>TRATAMIENTO DEL MESOTELIOMA PLEURAL MALIGNO</u>	91
V.1.- Tratamientos locales paliativos.....	92
V.2.- Tratamiento quirúrgico radical.....	93
V.3.- Radioterapia.....	95
V.4.- Tratamiento fotodinámico intrapleural.....	95
V.5.- Quimioterapia.....	96
V.6.- Bioterapia.....	99
2.- PROPOSITO DE LA TESIS	101
3.- JUSTIFICACION DEL ESTUDIO	104
4.- MATERIAL Y MÉTODOS	107
5.- RESULTADOS	111
A.- Características de los mesoteliomas pleurales malignos.....	113
B.- Características de los carcinomas metastásicos.....	119
C.- Valor del panel inmunohistoquímico empleado en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y carcinoma	125
6.- DISCUSIÓN	131
7.- CONCLUSIONES	147
8.- BIBLIOGRAFÍA	149

INTRODUCCIÓN

El mesotelioma maligno es un tumor descrito en 1.908 por Adami (1), que acuñó el término mesotelioma. Otros términos sinónimos son endotelioma (2), papilomatosis (3) y carcinosarcoma (4), todos ellos en desuso. Klemperer y Rabin en 1.931 (5) describieron y definieron los tipos epitelioides y fibroso de mesotelioma maligno.

Descrito como un tumor rarísimo (menos de 100 casos publicados antes de 1.960), su frecuencia está aumentando en los últimos años (6). Dado que es uno de los pocos tumores malignos que se asocia casi constantemente a un factor de riesgo bien conocido, la exposición al asbesto, que se ha empleado ampliamente en la industria hasta hace una década, y puesto que el intervalo medio entre la exposición al asbesto y la aparición del mesotelioma oscila entre 20 y 40 años, es de temer que la incidencia del mesotelioma maligno siga creciendo en los próximos años.

El mesotelioma maligno es un tumor de las superficies serosas, y es tres veces más frecuente en la cavidad pleural que en el peritoneo. No es raro que afecte a ambas cavidades por extensión directa a través del diafragma. Se ha descrito también en el pericardio y en la túnica vaginal del testículo, pero cada una de estas localizaciones primarias representa menos del 5% de los casos de mesotelioma maligno. En cada una de estas localizaciones suele manifestarse como un crecimiento difuso o con menor frecuencia localizado.

En la actualidad se estima que la incidencia anual de mesotelioma maligno es de 2,2 a 2,6 casos por cada millón de habitantes (7). Afecta preferentemente a varones de 50 a 70 años de edad. El mesotelioma es raro antes de los 20 años de edad, si bien se han descrito casos en niños (14-16). Casi todos ellos son morfológicamente sarcomatoides, siendo raros los epitelioides. Es excepcional en niños menores de 10 años.

El mesotelioma pleural maligno existe también en otras especies animales, e incluso se ha descrito en mamíferos salvajes (26).

I.- EPIDEMIOLOGÍA DEL MESOTELIOMA MALIGNO

I.1.- ASBESTO

I.1.a. Evidencias epidemiológicas

El asbesto ha sido muy empleado en la industria desde 1.940 a 1.970 (8). Su papel como carcinógeno ha sido objeto de muchos estudios, si bien el mesotelioma es un tumor raro (2200 casos al año en U.S.A.).

En el medio urbano en el que nos movemos, existen múltiples reservorios de asbesto en cementos y cañerías, suelos, uralita, aislantes, telas, talco, agua potable en zonas industriales, etc. La fuerza del asbesto y su resistencia a la combustión hacen que se emplee desde el 2500 a. C., sin embargo, no fue hasta 1.898-1.930 cuando se describió en trabajadores de asbestos la asbestosis: enfermedad intersticial pulmonar que tras grandes exposiciones a asbestos llega a la fibrosis mortal en 10-15 años tras la exposición. En 1.930, se limitó el nivel de exposición a asbestos permisible. Por ello, la asbestosis desapareció y los trabajadores, expuestos a bajos niveles de asbesto sobrevivieron suficiente tiempo para desarrollar tumores:

- Adenocarcinoma pulmonar (el más frecuente y su frecuencia aumenta si además se asocia al hábito de fumar). En 1.935 se describió el primer caso en un trabajador del asbesto, y en 1.955 la primera serie amplia.
- Mesotelioma. El primer caso de mesotelioma en un trabajador del asbesto fue descrito en 1.942 por Stout y Murray, pero la asociación asbesto-mesotelioma no fue aceptada por todos hasta 1.960 cuando Wagner (9) describió 47 casos en mineros surafricanos de crocidolita, 22 de los cuales sólo referían exposición mínima.

Tipos de asbestos

El asbesto incluye 6 minerales de origen natural: crisotilo, crocidolita, amosita, antofilita, tremolita y actinolita.

Existen dos grupos de fibras:

- Fibras gruesas. de configuración serpentina (fibras serpentinas). El único miembro de este grupo es el crisotilo (asbesto blanco), compuesto casi exclusivamente de magnesio y sílice.
- Fibras finas (fibras anfíbolitas), todas ellas muy poco degradables, casi indestructibles, por lo que permanecen en el organismo de por vida. Incluyen:
 - crocidolita (asbesto azul) y amosita, ricas en hierro.
 - antofilita, rica en magnesio.
 - tremolita y actinolita, ricas en calcio y magnesio.

Ya en 1952 el gobierno surafricano se interesó por si todos los tipos de fibras de asbesto causaban el mismo tipo de enfermedades. Los primeros casos de mesotelioma pleural se describieron en 1.956 en mineros expuestos a asbestos azul (crocidolita). El extenso estudio llevado a cabo desde entonces en Sudafrica, único país del mundo en el que se extraen los tres tipos de as-

besto (crocidolita, amosita y crisotilo), y casi el único productor mundial de crisotilo (96%), ha proporcionado los siguientes resultados:

- 1.- La crocidolita se asocia con muy elevada frecuencia a mesoteliomas pleurales y peritoneales en mineros y personas que viven cerca de las minas. Son escasos los tumores descritos en mineros de amosita y es difícil descartar que hayan estado expuestos también a crocidolita. No se han descrito casi mesoteliomas en mineros que han trabajado exclusivamente en minas de crisotilo.
- 2.- Los pacientes con mesotelioma referían exposiciones a la crocidolita tan cortas como tres meses y el intervalo desde la exposición hasta la aparición del tumor era muy prolongada.

Posteriormente, las investigaciones en trabajadores de la industria manufacturera del asbesto mostraron un riesgo elevado de mesotelioma pleural y peritoneal y de adenocarcinoma de pulmón.

En ambos ambientes se constató que la mayoría de los casos de mesotelioma aparecían en personas no directamente expuestas al asbesto, sobre todo familiares o vecinos. A este respecto se reconocen hoy tres tipos de exposición al asbesto: (10)

- a) Exposición primaria. En trabajadores mineros y textiles. De ellos, el 8-13% desarrollarán mesotelioma tras 15 años o más (pico máximo a los 20-45 años), tras la exposición. En los muy expuestos, son más frecuentes los mesoteliomas peritoneales en proporción 3: 2 (11-13).
- b) Exposición secundaria. En trabajadores manufactureros.
- c) Exposición terciaria. En ellos aparecen la mayoría de los casos de mesoteliomas (33%), que son pleurales en proporción 5:2 respecto a los peritoneales, y en relación a un bajo nivel de exposición. Este grupo incluye a mujer e hijos de trabajadores de asbesto y a personas que viven cerca de minas o factorías de asbesto. En la familia, las fibras de asbesto son traídas por el trabajador de asbesto, y pasan al resto de los miembros a través de la ropa (por ejemplo en la lavadora). Desde 1.972 se exige ducha y cambio de ropa en el trabajo. De los familiares que conviven con un trabajador del asbesto, un 33% tiene alteraciones radiológicas sugerentes de exposición al asbesto y un 1% desarrollan mesotelioma pleural.

En los últimos 30 años se han desarrollado métodos mucho más sensibles y específicos que la historia clínica para identificar la exposición al asbesto en pacientes a los que se diagnostica mesotelioma pleural, y para cuantificar el grado de exposición y el tipo de fibra implicada (9). Anatomopatológicamente, sólo se visualizan una minoría de las fibras de asbesto al examen del tejido pulmonar. Las que se visualizan presentan un aspecto denominado "cuerpos de asbesto"; estructuras pardo-doradas en "cabeza de

chincheta" constituidas por una fibra de asbesto rodeado de mucopolisacáridos ácidos y gránulos de hemosiderina. Puesto que raramente pueden formarse estructuras similares a partir de otras fibras distintas del asbesto, debería preferirse denominar a estas estructuras cuerpos ferruginosos. (6), si bien el examen ultraestructural demuestra que en la mayoría de los casos estas estructuras contienen cuerpos de asbesto. (17). Los diversos métodos intentan identificar las fibras de asbesto en el tejido pulmonar obtenido en la autopsia (18, 19). El método más empleado en la actualidad consiste en el análisis dispersivo de energía de rayos X (EDAX) en un microscopio electrónico de transmisión, con lectura computerizada de las fibras que se extraen de una cantidad conocida de tejido pulmonar. Por estos métodos se ha demostrado un predominio de las fibras anfíbolíticas, sobre todo crocidolita y amosita, y ocasionalmente tremolita, en los pulmones de los casos de mesotelioma comparados con los controles. La Secretaria de Empleo Británica concluyó en 1.979 que la crocidolita es la fibra asociada a un mayor riesgo de mesotelioma, el crisotilo se asocia a un riesgo mínimo, y la amosita puede ser intermedia entre las dos (20). Hallazgos similares han sido descritos en otros estudios (21). No se han descrito mesoteliomas malignos en pacientes expuestos exclusivamente a crisotilo, y en los escasos pacientes con mesotelioma que referían exclusivamente una historia de exposición al crisotilo, se ha demostrado en tejido pulmonar que también están presentes fibras de tremolita, una anfíbolita de escasa importancia comercial que contamina los depósitos de crocidolita y talco y puede ser responsable de algunos casos de mesotelioma.

En la actualidad se admite que sólo en menos del 10% de los pacientes que fallecen por mesotelioma no se identifican fibras de asbesto en el tejido pulmonar en la necropsia. Por ello se asume que en más del 90% de los casos el mesotelioma se debió a exposición al asbesto, si bien al realizar la historia clínica exhaustiva, un 33-50% de los pacientes no recordaban el contacto con el asbesto. Es importante señalar que la mayoría de los contactos fueron contactos terciarios (familiares de trabajadores) más frecuentemente que contactos ocupacionales directos. En una pequeña serie de mesoteliomas en pacientes menores de 40 años (10), se encontraron antecedentes de exposición al asbesto en 7 de 10 casos (5 de ellos, exposición familiar), y el periodo de latencia medio entre la exposición y la aparición del mesotelioma fue de 19 años. No se encontró predominio de sexos, por lo que parece que la mayor incidencia en varones descrita en la población general se debe a que las industrias de asbesto emplean sobre todo a varones. A este respecto es curioso el estudio de Jones (22), que demuestra que en Gran Bretaña los casos de mesotelioma descritos en mujeres aparecieron sobre todo en mujeres expuestas durante la Segunda Guerra Mundial, mientras en varones la incidencia de mesotelioma pleural es 5 veces más alta, y puesto que no se aplicaron medidas restrictivas ocupacionales hasta 1.980, se espera que el número de muertes en varones no cese de aumentar hasta por lo menos el año 2.000 (22, 23).

En la actualidad, la producción mundial de asbestos (5 millones de toneladas en 1.976), incluye un 97% de crisotilo, cuyas principales minas están en los Urales (URSS), provincia de Quebec (Canadá), Zimbabwe y Swazilandia (Africa), Alpes Italianos y Chipre en Europa. Las escasas minas de crocidolita se localizan en Sudafrica, si bien hasta hace pocos años se extraía también en Australia Occidental, y la amosita se extrae casi exclusivamente en la provincia de Transvaal, también en Sudafrica, aunque se han descubierto además importantes depósitos en el Sur de la India.

A lo largo de los últimos 100 años, la crocidolita, muy resistente a ácidos y al agua de mar, se ha empleado en barcos, tejidos a prueba de fuego, calderas de vapor, y aislamiento sonoro. La amosita se ha empleado para aislamiento térmico, suelos y barcos. El crisotilo se emplea en muchos productos, especialmente cemento, aislamiento, tejidos a prueba de fuego y materiales de fricción.

Desde 1.969, la legislación de muchos países europeos limita el empleo de crocidolita, pero la demolición de edificios, barcos y otros productos que la contienen sigue siendo una fuente importante de contaminación. La legislación estadounidense (8) limita la exposición máxima permisible a menos de 0,2 fibras de aspecto de más de 5μ de longitud por ml de aire cada 8 horas. Hay que destacar que los estudios epidemiológicos no han encontrado un umbral seguro por debajo del cual no haya riesgo de neoplasias asociadas al asbestos.

En la mayoría de países occidentales la legislación prevee una indemnización para los trabajadores del asbestos que fallezcan por neoplasias. En España, únicamente el mesotelioma maligno pleural o peritoneal es una enfermedad profesional en trabajadores expuestos al asbestos. No se incluye como tal el adenocarcinoma pulmonar y otras neoplasias que aparezcan en estos trabajadores, ni tampoco los mesoteliomas que aparezcan en familiares de trabajadores ni en residentes cerca de factorias de asbestos. Se han descrito las siguientes enfermedades relacionadas con la exposición al asbestos:

- 1.- Presencia de cuerpos de asbestos en el esputo.
- 2.- Placas pleurales y fibrosis pleural difusa (asbestosis).
- 3.- Carcinoma pulmonar.
- 4.- Mesotelioma difuso pleural y peritoneal.
- 5.- Carcinomas gastrointestinales y de laringe, cuya incidencia está aumentada en personas expuestas al asbestos.

Existen varias comunicaciones de pacientes con mesotelioma asociado a un segundo tumor maligno (24, 25).

I.1.b. Carcinogénesis por Asbesto

La importancia del tamaño de las fibras en la inhalación y retención de los minerales fibrosos es máxima. El factor crucial es el diámetro, más que la longitud de la fibra. A partir de múltiples estudios (27), se acepta actualmente que las fibras de asbestos responsables de los mesoteliomas tienen

un diámetro de menos de 0,25 μm y probablemente una longitud de más de 5 μm . Las fibras de hasta 3 μm de diámetro que son inhaladas y retenidas en las vías aéreas periféricas se asocian a fibrosis pulmonar, siempre que su longitud sea de 10 μm ó más (28). Es decir, parece necesaria una longitud mayor de 5-10 μm para que las fibras de asbesto sean capaces de inducir fibrosis y tumores (29). Existen 2 tipos de fibras de asbesto:

- a) Fibras gruesas (configuración serpentina): crisotilo. Poco carcinógenas.
- b) Fibras finas (indestructibles de por vida): anfíbolitas (crocidolita, amosita, tremolita). Muy carcinógenas.

Del asbesto aspirado, un 67% se expectora o se traga eliminándose por heces (ocurre sobre todo en fibras gruesas), un 33% va a bronquios pequeños y alveolos (fibras finas), y en 1 mes el 75% de éste penetra en intersticio tras ser fagocitado por macrófagos, o directamente pasa a través del endotelio al tejido intersticial. Se acumula en el tercio inferior pulmonar, en zonas periféricas cercanas a la pleura visceral. Allí probablemente inducen carcinogénesis física (quizá la aguja altera la metafase), no química. Las fibras de asbestos son pobres mutágenos, pero al alterar la metafase inducen anormalidades cromosómicas. Hay que señalar a este respecto las múltiples anormalidades cromosómicas descritas en las células de mesotelioma maligno humano (30-32), que discutiremos en la sección de factores pronósticos.

Las fibras de asbesto se unen al magnesio, el cual rompe la membrana lisosomal. Activan el complemento por la vía alterna acuden los leucocitos y aparece fibrosis. No se conoce realmente el mecanismo por el que los asbestos causan mesotelioma. Sí se sabe por qué causan carcinoma de pulmón, al menos en parte: las fibras adsorben carcinógenos (ej. humo de tabaco) y los introducen en las células endoteliales. El macrófago alveolar activa algunos de estos hidrocarburos carcinógenos, ayudado quizá por los radicales libres liberados por la rotura lisosomal causada por el asbesto.

Los ensayos en animales para inducir tumores con fibras de asbesto incluyen inhalación de fibras (vía intrabronquial) y la instilación intrapulmonar. Se han ensayado también las vías subcutánea, intraperitoneal y oral. En cuanto a la exposición intrabronquial, el principal problema es que muchos animales desarrollan fibrosis pulmonar masiva y mueren precozmente. Salvando este problema, se ha demostrado desde hace muchos años que la inhalación de asbesto induce carcinoma pulmonar en ratones (33-35), y la implantación de asbesto subcutáneo o intraperitoneal producen sarcomas en el lugar de implantación. Un estudio que logró inducir tumores en ratas (casi todos adenocarcinoma de pulmón y con muy baja frecuencia mesotelioma) administrando intrabronquialmente crisotilo impuro, asociado o no a benzopireno, ilustra las dificultades de estos estudios experimentales: un 24% de los animales desarrollaron tumores, pero se requirió una observación de 1 a 3 años (29). Y la gran mayoría de los tumores inducidos fueron adenocarcinomas de pulmón. Es muy difícil sacar conclusiones acerca de la

patogénesis del mesotelioma cuando menos del 5% de los animales expuestos desarrollaron este tumor.

En resumen la patogénesis de la fibrosis pulmonar y tumores pleuropulmonares causados por los asbestos no ha sido clarificada en la actualidad (36). Existen 2 teorías: La teoría mecánica es insuficiente, pues según ella, cualquier fibra de igual longitud y diámetro que la crocidolita induciría tumores (por ejemplo fibra de vidrio), hecho que no se ha demostrado en humanos. La teoría citotóxica es poco creíble aisladamente, pues los asbestos son mutágenos débiles. Ninguna de las teorías da una explicación completa plausible de la patogénesis de los tumores inducidos por asbesto (36).

1.1.c. Riesgo de neoplasias tras exposición a asbesto

En los últimos años, varios estudios han intentado estimar el riesgo de morir por mesotelioma maligno en personas expuestas al asbesto (37). Teniendo en cuenta que la incidencia de mesotelioma es muy baja y que se ha demostrado que la exposición al asbesto produce mesotelioma, se puede asumir que todos los casos de mesotelioma que aparecen en personas expuestas al asbesto son debidas a tal exposición. Sin tener en cuenta la intensidad de la exposición, los datos en trabajadores expuestos a distintos tipos de fibras son los siguientes (Tabla 1).

Tabla 1. Mesotelioma y carcinoma de pulmón en sujetos expuestos a asbesto

Tipo de fibra	Nº fallecidos	Cáncer de pulmón + mesotelioma Casos observados/esperados	Mesotelioma. Casos observados (% del exceso de tumores pleuropulmonares)
Crisotilo	5500	407 / 308	12 (12%)
Amosita	861	144/59	19 (22%)
Crocidolita	735	80/49	52 (165%)
Varias Fibras	6751	960/475	320 (65%)

Tomado de Hughes y Weill, 37

Resumiendo los grandes estudios, en trabajadores expuestos a la crocidolita incluso durante pocos meses, por ejemplo en la manufactura de máscaras antigás (38) o en la manufactura de filtros para cigarrillos (39), un 16-19% de todos los fallecimientos fueron atribuibles a mesotelioma, y muchos otros a cáncer de pulmón. En contraste, menos del 0,5% de las muertes en mineros de crisotilo fueron debidas a mesotelioma (40) (11 de 4447 muertes), y todos menos tres habían estado expuestos además a crocidolita o amosita. Los excasísimos casos restantes, así como el ligero aumento de carcinoma pulmonar observado en estos pacientes, pueden ser debidos a contaminación del crisotilo por tremolita, si bien hay opiniones discordantes (41).

Puesto que se ha demostrado una relación entre la dosis de fibras y el riesgo de mesoteliomas, los mismos autores han intentado establecer un mo-

delo que prediga el riesgo de mesotelioma y cáncer de pulmón en trabajadores expuestos a fibras mixtas de asbesto a las dosis legalmente autorizadas en Gran Bretaña, (0,5 fibras por ml de aire cada 8 horas) y en escolares expuestos a fibras de asbesto presentes en el edificio de la escuela (aproximadamente 0,003 fibras por ml de aire cada 8 horas). Los resultados son tranquilizadores: en los trabajadores, tras 40 años de exposición, el riesgo de morir por mesotelioma es de 3 fallecimientos / 10.000 trabajadores, y el exceso de muertes por carcinoma de pulmón es de 51. En los escolares, tras seis años de exposición, se espera que aparezcan a lo largo de la vida 13 muertes /1.000.000 por mesotelioma y 2 muertes excesivas por carcinoma de pulmón a lo largo de la vida, asumiendo una exposición a fibras mixtas de asbesto, y sólo 2,5 muertes por mesotelioma y 2 por carcinoma de pulmón si la exposición era exclusivamente a crisotilo. El riesgo en escolares es mínimo si se compara con otros riesgos: del millón de estudiantes expuestos 60 morirán accidentalmente jugando al fútbol, 84 al caerse de la bicicleta y 5-20 por complicaciones de vacunación de la tos ferina. A la luz de estos datos, parece más importante evitar que sigan existiendo trabajadores expuestos masivamente al asbesto que centrarse en aquellas industrias que cumplan las normativas legales, especialmente en aquellas que emplean únicamente crisotilo y no crocidolita ni amosita (40).

Se han realizado también estudios en grupos de trabajadores expuestos masivamente al asbesto para cuantificar el riesgo de otras neoplasias (29, 42). En cuanto a la prevención, casi todos los esfuerzos se dirigen a la prevención primaria (evitar la exposición a fibras de crocidolita y amosita). Las escasas acciones de prevención secundaria (diagnóstico precoz del tumor en expuestos) no han demostrado un impacto importante en la supervivencia (44).

I.2.- OTROS FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS

En más del 90% de los casos de mesotelioma se detectan fibras de asbestos en el tejido pulmonar. En los raros casos de mesotelioma sin exposición detectable al asbesto, se han implicado otros factores: radiaciones ionizantes, thorotrast, otros minerales fibrosos y predisposición hereditaria.

Radiaciones ionizantes Se han descrito casos de mesotelioma en técnicos de rayos X (45), y en pacientes sometidos años antes a radioterapia por carcinoma de mama (46) o enfermedad de Hodgkin (47).

Thorotrast El thorotrast, químicamente dióxido de torio, es un producto que se empleaba hace años como contraste radiológico. No se utiliza actualmente para este cometido.

Otras fibras minerales probablemente asociadas a mesotelioma Existen múltiples minerales de estructura fibrosa que han sido hallados en el tejido pulmonar de trabajadores. Destaca la zeolita, un silicato fibroso que se encuentra en los depósitos de cenizas volcánicas. En personas que viven en algunas áreas de Turquía Central, donde las fibras de zeolita están presentes en las paredes de las casas y el suelo, la incidencia de mesotelioma es la mayor del mundo (21 caso en 320 habitantes en 5 años) (48). No hay claras

evidencias que impliquen a otros minerales fibrosos naturales o a fibras minerales sintéticas en la génesis de mesoteliomas, si bien son muchos los minerales fibrosos en estudio, entre ellos los barros absorbentes, en concreto la sepiolita y atapulgita, alguna de cuyas fibras son extraídas en minas españolas y han demostrado en animales causar mesoteliomas.

D.- Predisposición hereditaria Un punto actual de discusión es si existe predisposición hereditaria a la aparición de mesoteliomas en personas expuestas al asbesto. ¿Por qué unos trabajadores del asbesto desarrollan mesotelioma y otros no?

Se han descrito un total de 8 agrupaciones familiares de mesotelioma (diagnóstico de mesotelioma en 2 ó más miembros de una misma familia). (49-58). En todos los casos alguno de los miembros de la familia había estado expuesto, por lo cual parece claro que muchos de estos casos se debieron a exposición al asbesto en el ambiente familiar a partir de un caso de exposición ocupacional. Queda por dilucidar si en estas familias existe algún factor genético que predispone a la carcinogenesis por asbesto. Cabe señalar factor que en estudios con animales (29), sólo un 24% de las ratas expuestas a asbesto desarrollaron mesotelioma o adenocarcinoma pulmonar a pesar de que se trataba de ratas endogámicas, de una raza que ha sido mantenida pura a lo largo de 25 años , por lo que su dotación genética debe ser casi idéntica.

II.- CLÍNICA

II.1.- MESOTELIOMA DIFUSO MALIGNO PLEURAL

II.1.a.- Sintomatología

El mesotelioma maligno pleural afecta más a varones en proporción 2,5: 1, en relación con su situación laboral y en edades comprendidas entre los 50 y 80 años aunque también se han descrito en edades más tempranas. Cursa con disnea y dolor costal y a veces se acompaña de pérdida de peso. Pueden asociarse otros síntomas, como tos crónica y dolor de origen pleurítico referido al hombro o al brazo. La auscultación pulmonar demuestra semiología de derrame pleural unilateral (abolición de los ruidos respiratorios en un hemitórax). Raramente existe osteoartropatía hipertrófica neumica, que es mucho más frecuente en carcinomas de pulmón y en el mesotelioma fibroso benigno.

Raramente los pacientes presentan otro síntoma inicial, tal como adenopatías periféricas, cervicales o inguinales (60), que requieren un cuidadoso estudio anatomopatológico para llegar al diagnóstico de mesotelioma y que sugieren un origen primario peritoneal, si bien se han descrito algunos casos de mesotelioma maligno pleural que debutaron con adenopatías. Se ha descrito 1 caso de muerte súbita por mesotelioma pleural maligno asociado a tromboembolismo pulmonar (61).

La radiografía demuestra casi siempre derrame pleural unilateral (95%), que es del lado derecho en un 60% de los casos (62). Es excepcional que debute con derrame pleural bilateral, si bien se han comunicado algunos casos (63). Suele asociarse una masa multilobulada de localización extrapulmonar (pleural), más a menudo situada en la parte inferior del hemitórax. A menudo el pulmón adyacente presenta atelectasia, y no es rara la presencia de nódulos intrapulmonares. Es muy frecuente que en la radiografía de tórax se aprecien asimismo signos radiológicos de exposición al asbesto, en concreto placas pleurales calcificadas (visibles en un 20% de los pacientes con mesotelioma). El TAC torácico aprecia placas pleurales hasta en un 50% de los pacientes, y en la autopsia demuestra fibras de asbesto en un 90% de los casos de mesotelioma. El líquido pleural es un exudado viscoso, a menudo hemorrágico, en el que se encuentran en un alto porcentaje de casos niveles elevados de ácido hialurónico (64), si bien este hallazgo puede existir más raramente en otras neoplasias, no siendo específico de mesotelioma.

II.1.b. Historia natural

La evolución incluye progresiva pérdida de volumen pulmonar y posible aparición de escoliosis. Tras varias toracocentesis el líquido se localiza o desaparece. Cuando se colapsa el pulmón, aparece insuficiencia respiratoria por shunt, que responde mal a oxigenoterapia.

Invasión local Es frecuente la aparición de masas en pared costal tras varias toracocentesis evacuadoras (ocurre en el 10% de los casos aproximadamente). Más tarde, el tumor invade mediastino, frecuentemente traquea, costillas, (dolor), esófago (disfagia), vértebras (compresión medu-

lar), nervios (Horner, braquialgia), incluso puede llegar a producir síndrome de vena cava superior. Asimismo puede invadir las dos hojas del pericardio llegando a causar pericarditis.

Metástasis a distancia Aunque no son frecuentes las metástasis a distancia del mesotelioma pleural maligno, se han descrito casos de metástasis en prácticamente todos los órganos (65-68), si bien incluso en series autopsicas como la de Kannerstein (69), menos de la mitad de los casos presentaban metástasis a distancia. Por orden de frecuencia, las más frecuentes son:

- Nódulos pulmonares (es dudoso si son metástasis a distancia o simple extensión local).
- Ganglios linfáticos regionales hiliares y mediastínicos (60). Con menos frecuencia, pueden afectarse también ganglios cervicales, abdominales y supraclaviculares (8).
- Hígado.
- Médula ósea.
- Suprarrenales, riñon y huesos.
- Cerebro. Se han descrito 21 casos en la literatura, (67, 70-74) pero todos menos dos (73, 74) fueron hallazgos autopsicos.
- Carcinomatosis meníngea, con engrosamiento difuso de toda la superficie de las meninges craneoespinales (75).

Al desarrollarse mejores métodos de tratamiento, que permiten prolongar la supervivencia de los pacientes con mesotelioma maligno, puede estarse modificando la historia natural del tumor, que producía la muerte de los pacientes por invasión local e insuficiencia respiratoria, y parece estar aumentando la frecuencia de metástasis a distancia (74), tal como ha sucedido en otros tumores malignos como el carcinoma escamoso de laringe al mejorar el control local del tumor primario. Se acepta que los mesoteliomas sarcomatosos y desmoplásicos producen metástasis a distancia con mucha mayor frecuencia que los mesoteliomas epitelioides, hecho que también sucede en los mesoteliomas experimentales en ratones (76).

Síndromes paraneoplásicos Son frecuentes los síndromes paraneoplásicos asociados a mesotelioma pleural. A pesar de la rareza del mesotelioma pleural, se han descrito algunos casos de los siguientes:

- 1.- Fiebre tumoral. Frecuente, pero tardía en la evolución.
- 2.- Coagulación intravascular diseminada y anemia hemolítica Coombs positiva. Aparecen en el 20% de los casos de mesotelioma peritoneal maligno (77).
- 3.- Trombocitosis y episodios de tromboembolismo pulmonar (78).
- 4.- Dermatomiositis (rara), también descrita en mesotelioma peritoneal.

II.1.c. Factores pronósticos

Sin tratamiento, la supervivencia mediana es de aproximadamente 6-18 meses (rango: semanas a 16 años). Las causas de muerte en pacientes afectos de mesotelioma maligno son en primer lugar la disnea, la obstrucción intestinal por invasión peritoneal (33%) y raramente por afectación pericárdica y miocárdica. Sin embargo existen casos de supervivencia prolongada (hasta 16 años) en pacientes que suelen reunir ciertos rasgos al diagnóstico:

- Jóvenes con edad comprendida por debajo de los 55-65 años.
- Buen estado general.
- Histología epitelial (mesotelioma epitelial).
- No dolor al diagnóstico
- Buena respuesta al tratamiento, consistente este en pleuroneumectomía más quimioterapia.

Resulta en todo caso difícil definir los factores pronósticos que predigan una supervivencia mayor más o menos prolongada en pacientes con mesotelioma maligno. Puesto que el diagnóstico histológico de mesotelioma maligno requiere a menudo un largo proceso diagnóstico con múltiples biopsias (el retraso diagnóstico medio desde el primer síntoma son 3 meses) (62), se acepta que el parámetro a medir es la supervivencia desde el primer síntoma más que la supervivencia desde el diagnóstico.

No existe un sistema de estadiaje aceptado universalmente, que si existe en otros tumores malignos, si bien varios autores (79, 80) aplican el sistema de estadiaje de Butchart (Tabla 2), que también es aplicable a mesoteliomas malignos de otras localizaciones.

Tabla 2. Sistema de estadiaje del mesotelioma

Estadio I:	Tumor confinado a una única cavidad serosa.
Estadio II:	Tumor que afecta a la pared torácica, pared abdominal, mediastino o pericardio.
Estadio III:	Tumor que afecta dos cavidades serosas.
Estadio IV:	Metastasis hematógenas.

Tomado de Butchart et al., 80

En varios estudios se ha demostrado también la importancia pronóstica del estadio general (situación funcional o performance status, que se cuantifica según las escalas de Karnofski y de la ECOG (Tabla 3).

Tabla 3. Escalas de medida de la situación funcional

A- Escala de Karnofski

- 100: Asintomático.
- 90: Mínimos síntomas, actividad física normal.
- 80: Síntomas moderados, permiten actividad física normal.
- 70: Actividad física limitada.
- 60: Capaz únicamente de aseo personal. En cama < 50% del día.
- 50: En cama más de la mitad del día.
- 40: En cama la mayor parte del día.
- 30: Confinado en cama. Requiere frecuentes visitas médicas.
- 20: Hospitalizado. Requiere cuidados médicos constantes.
- 10: Agonizante.

B- Escala de la ECOG

- 0: Asintomático.
- 1: Sintomático, completamente ambulatorio.
- 2: Sintomático, en cama < 50% del día.
- 3: Sintomático, en cama > 50% del día.
- 4: Confinado en cama.

Resumiremos a continuación los factores pronósticos en pacientes con mesotelioma maligno pleural encontrados en 6 grandes estudios retrospectivos sobre mesotelioma maligno pleural. (79-85).

Cronológicamente, el primer estudio que analiza los factores pronósticos en mesotelioma pleural maligno es el de Antman et al, del Dana Farber Cancer Institute, publicado en 1.980 (82). En 40 pacientes, los factores pronósticos asociados con una supervivencia más prolongada fueron:

- 1.- Sexo femenino.
- 2.- Estadío I de Butchart.
- 3.- Duración de los síntomas mayor de 6 meses antes del diagnóstico.

El segundo estudio es el de Sorensen et al. del Hospital Monte Sinaí (81), publicado en 1.985. En un grupo de 69 pacientes con mesotelioma pleural maligno que fueron randomizados a ser tratados con Adriamicina o Ciclofosfamida. Los factores pronósticos asociados a una supervivencia más prolongada en estos pacientes fueron:

- 1.- Localización pleural (respecto a localización peritoneal).
- 2.- Tipo histológico epitelioide.
- 3.- Edad menor 65 años.
- 4.- Buen estado general (performance status = 0-1 en la escala del ECOG).
- 5.- Extirpación completa.
- 6.- Respuesta a la quimioterapia.

El mayor estudio publicado hasta la actualidad (167 pacientes con mesotelioma pleural) fue el de Chailleux et al., del Hospital de Nantes (62). Los factores asociados a una más prolongada supervivencia en esta serie fueron:

- 1.- Edad menor de 60 años.
- 2.- Localización en el lado izquierdo.
- 3.- Duración de los síntomas mayor de 2 meses.
- 4.- Tratamiento con cirugía, quimioterapia, talcaje o varios).

A diferencia de otros estudios, no se demostró valor pronóstico significativo para el tipo histológico. La supervivencia mediana de toda la serie fue de 13 meses.

Una actualización del estudio de Antman et al. (79), publicada en 1.988, incluye el análisis de 136 pacientes con mesotelioma pleural. Los factores pronósticos en esta serie fueron:

- 1.- Buen estado general (performance status = 0-1).
- 2.- Ausencia de dolor torácico (el dolor torácico suele deberse a invasión de los nervios intercostales por el tumor).
- 3.- Histología epitelial.
- 4.- Duración de los síntomas mayor de 6 meses.
- 5.- Tratamiento con quimioterapia y pleuroneumectomía.

La supervivencia mediana de los pacientes en esta serie fue de 15 meses.

La serie de Calavrezos et al. (85), publicada en 1.988, incluye 132 pacientes con mesotelioma pleural maligno. La supervivencia mediana de las pacientes no tratados fue de 6 meses, y los factores pronósticos asociados a una supervivencia prolongada fueron:

- 1.- Buena situación funcional.
- 2.- Estadio I y II de Butchart
- 3.- Ausencia de dolor torácico.
- 4.- Edad menor de 50 años.
- 5.- Histología epitelioides.

La revisión de Umeki et al. (83), de Japón, publicada en 1.989 sobre 56 casos de mesotelioma pleural encontró que los siguientes factores se asociaban a una supervivencia más prolongada:

- 1.- Sexo femenino.
- 2.- Edad menor de 50 años.
- 3.- Duración de los síntomas más de 6 meses.
- 4.- Test cutáneo a la tuberculina positivo.
- 5.- No metástasis a distancia.
- 6.- Tratamiento con cirugía.

El último gran estudio publicado hasta la fecha es el de Schildge et al. (84) de Alemania Federal publicado en 1.989. En 84 pacientes evaluables, los factores asociados a una supervivencia más prolongada fueron:

- 1.- Tipo histológico epitelioides o bifásico.
- 2.- Tratamiento con cirugía asociada o no a quimioterapia.

Los demás factores pronósticos identificados en estudios anteriores no tuvieron valor pronóstico significativo en esta serie. La supervivencia mediana fue de 8,4 meses.

Cabe citar el pequeño estudio de Chahinian (88), que fue uno de los primeros en sugerir que el mesotelioma epitelioides se asociaba a una supervivencia más prolongada que otros tipos histológicos.

El único estudio español de este tipo es el de López-Encuentra et al. (89) publicado en 1.987. De 19 casos evaluables, los 4 casos de larga evolución (2 años ó más desde el diagnóstico) eran mesoteliomas epitelioides, mientras los 2 casos de mesotelioma mesenquimal tuvieron una supervivencia de menos de 4 meses. Un hallazgo adicional de este último estudio fue que el grado histológico de malignidad tal como se determina en otros tumores malignos (según el grado de atipia citológica) no tuvo valor pronóstico significativo.

Recientes estudios emplean técnicas sofisticadas para intentar predecir qué casos de mesotelioma maligno pleural tienen evolución larga o más breve.

El estudio de Burmer et al (90) analiza por citometria de flujo el contenido de DNA y el porcentaje de células en fase S (fracción proliferativa) en las células de 46 casos de mesotelioma y 31 casos de tumores pulmonares primarios y metastásicos. A diferencia de los tumores malignos no mesoteliales, que en un 85% eran aneuploides (contenido de DNA mayor de 2,5 N), y la

gran mayoría tenían una fracción de células en fase S mayor del 10%, los mesoteliomas malignos fueron diploides en un 65% de los casos, y el porcentaje medio de células en fase S fue del 6,5%. En conclusión, la gran mayoría de los mesoteliomas tienen contenido de DNA diploide, y bajo índice proliferativo. Falta por analizar si los mesoteliomas malignos aneuploides o con alta fracción proliferativa se asocian a una evolución clínica más agresiva.

El estudio de Dazzi et al. (91) analiza la expresión del receptor de crecimiento epidérmico por inmunohistoquímica en las células del mesotelioma maligno pleural de 34 pacientes. Encontraron que el 68% de los tumores presentaban receptores al factor de crecimiento epidérmico (tinción positiva en más del 5% de las células). Los mesoteliomas epitelioides presentaban mayor frecuencia de positividad (87%) que los sarcomatosos y mixtos (56,25%). La supervivencia de los pacientes cuyos tumores presentaban receptores para factor de crecimiento epidérmico fue significativamente más prolongada que la de los pacientes con tumores negativos (supervivencia mediana = 446 días vs 299 días, $p = 0,04$). Este hallazgo es contrario a los resultados en otros tumores malignos, en los cuales generalmente la positividad de este receptor se asocia a una mayor agresividad clínica. Sin embargo, al tener en cuenta los subgrupos histológicos de mesotelioma, la presencia de receptor a factor de crecimiento epidérmico no fue un factor pronóstico significativo ($p = 0,08$). Los autores consideran que la tinción inmunohistoquímica para el factor de crecimiento epidérmico no es útil para el diagnóstico diferencial con los tumores malignos pleurales metastásicos, pero sí puede identificar a los tumores de evolución clínica más lenta, si bien hacen falta estudios más amplios.

En resumen, los factores que se asocian a una supervivencia más prolongada en pacientes con mesotelioma maligno son en la gran mayoría de los estudios citados y en otros (92-97) son los siguientes:

- 1.- Pacientes jóvenes con edad por debajo de 55-65 años.
- 2.- Buen estado general (performance status 0-1).
- 3.- Histología epitelioides.
- 4.- Duración de los síntomas más de 6 meses.
- 5.- Extirpación quirúrgica completa.
- 6.- Respuesta a la quimioterapia.

Alguno de los estudios encuentran factores pronósticos favorables adicionales:

- 1.- Sexo femenino.
- 2.- Estadio I de Butchart.
- 3.- Ausencia de dolor torácico.
- 4.- Localización en el lado izquierdo.
- 5.- Test cutáneo a la tuberculina positivo.
- 6.- Ausencia de metástasis a distancia

Hay que señalar que ninguno de los estudios anteriores encuentra que la historia de exposición previa al asbesto sea un factor pronóstico significativo en los pacientes con mesotelioma maligno pleural.

Anormalidades cromosómicas en mesotelioma maligno humano

En los últimos tres años, se han publicado tres estudios de análisis citogenéticos de las células tumorales de mesoteliomas pleurales malignos humanos.

En los dos estudios de Tiainen et al., de la Universidad de Helsinki (30-31), analizando las células tumorales en metafase por técnicas de bandeado cromosómico - G, sólo en 9 de 34 pacientes (28%) las células tumorales no tenían anomalías cromosómicas clonales. Las anomalías cromosómicas identificadas en los 25 pacientes restantes (75%) fueron múltiples. Por orden decreciente, las alteraciones más frecuentes fueron:

- 1.- Monosomía 22 (- 22) parcial o total (56% de los tumores).
- 2.- Polisomía 7 (+ 7), parcial o total (52%), especialmente el brazo p.
- 3.- Monosomía 1 (- 1), parcial o total (48%).
- 4.- Monosomía 3 (- 3), parcial o total (48%).
- 5.- Monosomía 9 (- 9), parcial o total (45%).
- 6.- Polisomía 11 (+ 11), parcial o total (45%).
- 7.- Monosomía 14 (- 14), parcial o total (45%).
- 8.- Translocaciones y deleciones con punto de rotura en el cromosoma 1 (segmento 1 p 11 - p 22), (42%).
- 9.- Monosomía 15 (- 15), parcial o total (42%).
- 10.- Monosomía 4 (- 4), parcial o total (39%).
- 11.- Polisomía 5 (+ 5), parcial o total (36%).
- 12.- Polisomía 12 (+ 12), parcial o total (32%).

Tal heterogeneidad de alteraciones cromosómicas aparece también en otros tumores sólidos humanos y resulta difícil discernir qué alteraciones son primarias durante la malignización y cuales aparecen cuando ya existe el mesotelioma maligno por mutaciones sucesivas. De hecho, muchos de estos tumores contienen varias clonas cariotípicamente diferentes (30).

Sin embargo, si pueden diferenciarse claramente dos grupos de mesoteliomas malignos pleurales según sus alteraciones en el cariotipo:

- a) Mesoteliomas con ganancias cromosómicas (polisomía 7, muy frecuentemente asociada a polisomas 5, 11 y 12) ("grupo de anomalías del cromosoma 7") (14 casos (41%).
- b) Mesoteliomas con pérdidas cromosómicas (monosomía 3 y/o punto de rotura 1p 11- p 22), las cuales se asocian con frecuencia a monosomía 14, monosomía 15, monosomía 4, monosomía 9 y monosomía 22), (11 casos, (32%).
- c) Un tercer grupo serían los mesoteliomas sin alteraciones cariotípicas detectables con las técnicas actuales (9 casos (28%).

Cabe señalar que sólo en tres casos el tumor asociaba características de los dos primeros tipos a) y b). Aquellos mesoteliomas malignos asociados a un mayor contenido de fibras de asbesto en el pulmón, presentaron con mayor frecuencia pérdida de los cromosomas 1 y 4, y punto de rotura 1 p 11- p

22 (grupo b). En otros tumores sólidos humanos, la presencia de polisomías se ha asociado a amplificación de oncogenes presentes allí, y la delección de segmentos cromosómicos a la pérdida de antioncogenes, que representa un paso importante en la génesis de tumores malignos. Falta identificar los oncogenes y antioncogenes implicados en la génesis del mesotelioma (59). Es muy significativo que la supervivencia mediana de los pacientes con polisomía 7 fue significativamente menor ($p = 0.02$) que la de los pacientes cuyos tumores no presentaban esta anomalía. Cabe suponer que en la amplificación de algunos de los oncogenes presentes en el brazo corto del cromosoma 7, es la responsable de la mayor agresividad biológica de esos mesoteliomas, tal como se ha descrito en otros tumores malignos (100, 101).

Tales hallazgos han sido confirmados independientemente en 40 casos de mesotelioma por un grupo holandés (32), que además encuentra frecuentemente polisomía 20 asociada a la polisomía 7. Asimismo 3 líneas celulares de mesotelioma humano, presentaban alteraciones en los cromosomas 1, 3, 9 y 22 (103).

II.2.- OTROS MESOTELIOMAS MALIGNOS

A) Mesotelioma peritoneal

Aparece en grandes expuestos al asbesto (50% tienen placas pleurales en la radiografía de tórax), mientras en el mesotelioma pleural sólo un 20% de los pacientes presentan placas pleurales en la radiografía de tórax. La triada clínica más frecuente es: ascitis, dolor abdominal y masa palpable, (104). Los pacientes refieren una historia de molestias abdominales o dolor epigástrico que aumenta después de las comidas. A menudo se añaden otros signos de suboclusión abdominal como estreñimiento, náuseas o vómitos. La ascitis, en más del 90% de los casos es masiva y recidivante. La exploración física detecta ascitis y con frecuencia una masa abdominal mal definida. Pueden existir adenopatías palpables, inguinales o cervicales con mayor frecuencia. Confinado en abdomen casi toda su evolución, tardíamente puede invadir la pleura. Cuando el tumor es muy voluminoso, se ha descrito hipoglucemia, que desaparece al extirpar el tumor. Es asimismo frecuente el adelgazamiento. La radiografía de abdomen a menudo demuestra signos de oclusión intestinal y la ecografía y el TAC abdominal muestran engrosamiento del peritoneo parietal y visceral, junto con ascitis masiva (105). El líquido ascítico tiene las mismas características que el derrame pleural en el mesotelioma maligno pleural. La supervivencia es corta (4 a 12 meses). El tratamiento es quirúrgico con el fin de reseca la mayor parte del tumor y la quimioterapia y radioterapia postquirúrgicas son de eficacia limitada.

Dos variantes raras de evolución natural mucho más lenta son el mesotelioma maligno papilar bien diferenciado y el síndrome de quistes mesoteliales recidivantes. Las describiremos aparte, fuera de los mesoteliomas malignos clásicos.

B) Mesotelioma de la túnica vaginal testicular

Más del 50% de los pacientes con mesotelioma de la túnica vaginal testicular recuerdan haber tenido algún contacto con el asbesto. Clínicamente se manifiesta con hidrocele cuya cirugía es diagnóstica y terapéutica (86). Puede afectar ganglios abdominales al diagnóstico. La supervivencia es algo más larga que en los mesoteliomas malignos pleurales o peritoneales (107, 137).

C) Mesotelioma pericárdico

Es raro. Se manifiesta clínicamente con derrame pericárdico y signos de constricción pericárdica. Se han descrito casos incluso en niños. Resulta a menudo difícil saber si el origen primario del tumor es el pericardio o bien se trata de una extensión tumoral a partir de la pleura. Se han descrito raros casos de mesotelioma maligno presuntamente primario del ventrículo derecho (106).

IL3.- MESOTELIOMA BENIGNO

Sinónimos: mesotelioma fibroso localizado (108), tumor fibroso solitario benigno de la pleura (109), fibroma submesotelial (119), mesotelioma fibroso localizado. Descrito en 1.931 por Klemperer y Rabin (5), no está relacionado con la exposición al asbesto. Su frecuencia es la tercera parte de la frecuencia del mesotelioma maligno. Las localizaciones más frecuentes del mesotelioma benigno son las siguientes: pleura, peritoneo, túnica vaginal testicular, nodo auriculo-ventricular cardiaco, mediastino y nasofaringe. Procede del tejido conectivo submesotelial más que del mesotelio en sí, por tanto debería ser clasificado como una variante de fibroma (119).

Clínicamente suele afectar a individuos de 40 -70 años de edad. Es ligeramente más frecuente en varones que en mujeres. Los mesoteliomas fibrosos pleurales suelen ser asintomáticos, y se descubren en una radiografía de tórax de una forma casual. Sólo los tumores más grandes pueden causar síntomas leves como dolor torácico vago, tos crónica o disnea. La radiografía revela una masa bien delimitada solitaria en la cavidad pleural o peritoneal. A veces la masa es pediculada (110-111).

Produce síndromes paraneoplásicos con más frecuencia que el mesotelioma maligno pleural. El 35% de los casos se asocian a osteoartropatía hipertrófica néumica y el 4% a hipoglucemia, con síntomas simpáticos o psiquiátricos. (76, 112, 113) (en relación con el tamaño del tumor). El tamaño tumoral oscila entre 1 y 36 cm. y se han descrito varios casos con peso mayor de 1 Kg (114, 115). El 80% de los mesoteliomas benignos son pleurales (pleura visceral) siendo el derrame pleural serosanguinolento el dato clínico más importante. El mejor tratamiento para este tipo de tumor es la extirpación amplia. Sólo el 12% de los pacientes fallecen por recidiva tras décadas.

Se han descrito casos de mesotelioma fibroso en el peritoneo (116-118), en la túnica vaginal testicular (8) y más raramente en el nódulo A-V cardiaco (129), incluso en el mediastino sin conexión con la pleura (120). A diferencia de los mesoteliomas fibrosos pleurales, los peritoneales se han des-

crito preferentemente en varones (7: 3) de 27 a 64 años, y casi todos los tumores han sido de tamaño grande (más de 9 cm), y han producido síntomas clínicos importantes. Su extirpación se ha seguido de la curación.

Se han descrito algunos casos de mesotelioma fibroso maligno, tanto histológicamente como clínicamente. También se le ha denominado fibrosarcoma pleural o peritoneal (105).

II.4.- MESOTELIOMA PAPILAR BIEN DIFERENCIADO DEL PERITONEO

Aparece con mayor frecuencia en varones. Se trata de una forma clínicamente benigna de mesotelioma peritoneal que se manifiesta como una masa única o múltiple peritoneal (121). Raramente causa sintomatología y suele ser un hallazgo casual durante la cirugía. No se ha relacionado con la exposición al asbesto, y a pesar de ser frecuentemente multifocal la extirpación del tumor suele ser curativa, por lo que parece innecesario asociar radioterapia o quimioterapia (121, 122).

II.5.- MESOTELIOMA BENIGNO MULTICÍSTICO DEL PERITONEO

Este término se empleó para describir una rara lesión mesotelial que requiere ser considerada por separado debido a sus peculiares características clínicas e histológicas. No está relacionado con la exposición al asbesto, (sí se ha descrito un caso en un paciente con antecedentes de exposición a asbesto) (87). Descrito por Plaut (123), el proceso aparece casi siempre en mujeres de alrededor de 35 años, (102, 124), que a menudo refieren una historia de cirugía previa, endometriosis o enfermedad inflamatoria pélvica y presentan a veces sintomatología vaga de dolor pélvico, suboclusión intestinal, pero más frecuentemente están asintomáticas. La laparotomía exploradora, o bien la laparotomía por otra razón descubre numerosos quistes transparentes de pared delgada distribuidos por los tejidos serosos y subserosos del peritoneo parietal y visceral, generalmente pegados a órganos pélvicos. El tamaño de los quistes varía de unos pocos milímetros a más de 15 centímetros (98, 99). Microscópicamente, los espacios quísticos, separados por tejido conectivo fibroso edematoso, están rodeados de una hilera de epitelio plano o cuboidal. La naturaleza mesotelial de la entidad ha sido corroborada por datos inmunohistoquímicos y ultraestructurales (98, 160, 164). Se han descrito casos con transición hacia tumor adenomatoide (6).

Presenta un curso clínico recidivante tras la extirpación. Algunos autores (125), no admiten que se trate de una lesión neoplásica y sugieren que representa múltiples quistes peritoneales de inclusión secundarios a un factor irritante ginecológico. Por ello, el nombre de proliferación mesotelial multicística les parece más apropiado. No obstante, en general se acepta la naturaleza neoplásica del mesotelioma multicístico del peritoneo (6), como entidad diferente de la proliferación mesotelial multicística reactiva, que debe considerarse dentro del diagnóstico diferencial junto con el "mesotelioma papilar benigno" (267, 274) y otros tumores papilares).

II.6.- MESOTELIOMA BENIGNO DEL TRACTO GENITAL (tumor adenomatoide)

Se trata de un tipo de mesotelioma confinado al tracto genital masculino y femenino de comportamiento clínico benigno. Aparece en ambos sexos y afecta en varones al epidídimo (donde es el tumor más frecuente), la túnica vaginal testicular y el cordón espermático. En mujeres afecta al útero cerca de los cuernos del fondo uterino, trompas y raramente el ovario. Clínicamente se manifiesta como una masa indurada no dolorosa, generalmente única. La extirpación es curativa. La principal importancia de este tumor es diferenciarlo de un mesotelioma maligno (6).

III.- DIAGNÓSTICO DEL MESOTELIOMA PLEURAL MALIGNO

III.1.- TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

El diagnóstico del mesotelioma pleural maligno se basa en el examen anatómopatológico del tejido tumoral en cantidad suficiente. Posteriormente discutiremos cuáles son las técnicas más adecuadas para obtener tejido tumoral.

En el análisis de líquido pleural, que suele ser un exudado, existen dos características que orientan al diagnóstico de mesotelioma. La primera de ellas es el contenido de ácido hialurónico (126). El ácido hialurónico es un mucopolisacárido ácido que es producido en grandes cantidades por las células de los mesoteliomas malignos, y en mucha menor cantidad por los carcinomas. Varios trabajos antiguos (127, 128) encontraron que las concentraciones elevadas de ácido hialurónico en líquido pleural eran altamente predictivas de mesotelioma pleural maligno, pero si bien es cierto que casi todos los mesoteliomas se asocian a una alta concentración de ácido hialurónico en líquido pleural (64, 130), también se han descrito niveles elevados en otros tumores malignos epiteliales o mesenquimales e incluso en derrames pleurales no neoplásicos. Sólo los niveles mayores de 800 mgr/l. son muy sugerentes de mesotelioma maligno pleural. La concentración de ácido hialurónico en células tumorales de mesotelioma, es muy elevada (media = 0,74 mgr/gr. de tejido), mucho mayor que en adenocarcinomas pulmonares (0,08 mgr/gr. de tejido), pero hay que señalar que los sarcomas de tejidos blandos presentan también una alta concentración (media = 2,01 mgr/gr de tejido). Por ello, los autores de este estudio (126) concluyen que una concentración elevada de ácido hialurónico en tejido tumoral sólo es de ayuda cuando los diagnósticos alternativos son mesotelioma y adenocarcinoma de pulmón, no cuando existe la duda de si se trata de un sarcoma. Además, la técnica de determinación de ácido hialurónico en tejido tumoral es mucho más compleja que las tinciones histoquímicas. Otros autores (131, 132), han determinado la concentración de ácido hialurónico en sangre, y han descrito que la presencia de valores superiores a 200 µgr/l. en pacientes con derrame pleural, son sugerentes de la presencia de un mesotelioma pleural maligno. Pero otras neoplasias pueden producir elevaciones moderadas del ácido hialurónico en sangre.

El segundo rasgo, más inespecífico aún, es la presencia de eosinofilia en el líquido pleural. Teniendo en cuenta que la práctica repetida de toracocentesis produce por sí misma eosinofilia, por lo que el recuento de eosinófilos debe hacerse en la primera muestra de líquido pleural, puede tener algún valor diagnóstico el considerar que el mesotelioma es una de las causas de eosinofilia de líquido pleural (133).

En cuanto a las técnicas confirmatorias, de menor a mayor agresividad (y de menor a mayor rendimiento diagnóstico), las podemos ordenar de la siguiente forma:

III.1.a.- Citología de líquido pleural (con examen citológico, citoquímico o inmunocitoquímico).

III.1.b.- Biopsia pleural a ciegas con aguja.

III.1.c.- Toracoscopia con biopsia pleural dirigida.

III.1.d.- Toracotomía con biopsia pleural abierta.

III.1.a.- Valor diagnóstico de la citología de líquido pleural.

El examen citológico de líquido pleural en pacientes con mesotelioma pleural maligno, que suele ser hemorrágico, encuentra células reconocibles como malignas en poco más de la mitad de los casos en la serie de Wanebo et al (134) y 45% en la serie de Edmundstone (135), porcentaje similar al de otros derrames pleurales malignos. (136). El aspecto citológico típico de un mesotelioma epitelioide en el líquido pleural muestra células aisladas o acúmulos celulares a menudo de aspecto papilar, a veces de aspecto en tachuela, sin tallo fibrovascular y compuestos de células mesoteliales de núcleo central o paracentral, moderadamente grande, con mínimo aumento de la relación nucleocitoplásmica y cromatina irregular. El citoplasma que contiene generalmente espacios claros ("ventana") características del mesotelio, muestra en algunas células rasgos atípicos: células en anillo de sello, células gigantes y células multinucleadas con algún rasgo mesotelial y citoplasma de tinción densa. Raramente se observan mitosis anormales. El fondo de la extensión se compone de eritrocitos y alguna célula mononuclear con escasa necrosis o detritus. El examen citológico de líquido pleural sólo permite el diagnóstico de certeza de mesotelioma en un 10-20% del total de casos (136, 138), si bien en más de la mitad de los casos, se obtiene un diagnóstico citológico de malignidad y en muchos de ellos un diagnóstico de sospecha de mesotelioma (Tabla 4).

Tabla 4. Valor del estudio citológico de líquido pleural en el diagnóstico de mesotelioma

Autor (Referencia)	Número de casos de mesotelioma	% diagnóstico citológico de ma- lignidad	% sugestivo de mesotelioma	% diagnóstico de mesotelioma
Wanebo (134)	35	42%	-	14%
Salzer et al (136)	36*	80%	30%	22%
Edmundstone (135)	16	45%	-	-

* Solamente se incluyeron mesoteliomas epitelioides y bifásicos.

Para aumentar el porcentaje de diagnósticos citológicos de certeza de mesotelioma, se han empleado en los últimos años técnicas de inmunocitoquímica y microscopia electrónica. Las técnicas de preparación y de tinción de la muestra que describimos seguidamente, son similares a las de la inmunohistoquímica con algunas variaciones. La aplicación de las técnicas de inmunotinción a las muestras obtenidas por punción citológica o a los líquidos procedentes de cavidades serosas requiere una reducción de los tiempos

debido al menor tamaño de la muestra, y en ocasiones pueden ser útiles técnicas que permitan concentrar las células problema (técnica de los bloques celulares). Es deseable procesar la muestra rápidamente. Prestando atención a que la fijación no sea excesiva, se pueden realizar inclusive tinciones para marcadores de superficie leucocitarios. Los detalles técnicos de la preparación de las muestras de líquido pleural u otros líquidos de cavidades serosas se resumen en las tablas 5 y 6.

Tabla 5. Técnica de procesamiento de derrames serosos para inmunocitoquímica

- Centrifugado a 1000-2000 rpm. durante 10 minutos.
 - Lavado del pellet en tampón a 1000 rpm durante 5 minutos (elimina detritus y sangre asociados a derrames).
 - Resuspensión en tampón a la concentración deseada. (Es importante que las células estén suficientemente separadas, pues si están muy concentradas no acceden bien a ellas los anticuerpos).
 - Citocentrifugado a 600 rpm durante 10 minutos.
 - Extracción rápida de los portas: Inmersión en alcohol de 96° y secado al aire.
-

Tabla 6. Técnica de bloques celulares (Bussolati)

- Centrifugado y lavado del pellet.
 - Pellet suspendido en etanol de 96° para fijado.
 - Rellenado del tubo de centrifugación con celoidina al 10% en alcohol absoluto-eter.
 - Decantado de la celuidina.
 - Rellenado del tubo con la solución problema.
 - Centrifugado y decantado (sin alterar el pellet).
 - Extracción del saco de celuidina.
 - Inmersión en eosina y procesamiento habitual.
-

Para obtener resultados fiables en técnicas inmunocitoquímicas, es esencial el procesado inmediato de la muestra tras su obtención. En su defecto, puede conservarse el material a 4° C. Nunca debe realizarse la tinción pasada más de una semana.

En los últimos dos años se han publicado al menos cinco estudios definiendo las características inmunocitoquímicas (ICQ) de las células del mesotelioma maligno presentes en el líquido pleural.

El estudio de Guzman et al (139), analiza las características morfológicas e inmunocitoquímicas de las células de mesotelioma en 14 pacientes. En 2 de las 14 muestras correspondientes a pacientes con mesotelioma bifásico, no se encontraron células tumorales, aunque sí linfocitosis T, que es un hallazgo presente en mesotelioma y en otras muchas entidades. En los 12 mesoteliomas epitelioides, se identificaron células tumorales que constituían 2-71% del total de células. El patrón típico de estas células fue CEA (-), Leu M1 (-), EMA (+), BMA-120 (+) (marcador endotelial), MY-4 (+) (marcador de monocitos y macrófagos) y BA-2 (+) (marcador células linfoides inmadu-

ras). Estos marcadores permiten diferenciar con bastante fiabilidad mesoteliomas de otros tumores malignos, pero no es posible diferenciar mesotelioma maligno de hiperplasia mesotelial reactiva, por lo que este diagnóstico diferencial sigue dependiendo de criterios morfológicos: número de células, tamaño y presencia de acúmulos celulares.

El estudio de Linari y Bussolati (140) incluye 1314 casos de derrame pleural, 1009 de líquido ascítico y 39 de derrame pericárdico. De ellos, el estudio morfológico de las células permitió un diagnóstico de malignidad en un 23% de los casos, y de benignidad en un 64%. En un 15% (352 casos), procedentes de 296 pacientes, no se llegó a un diagnóstico cierto de benignidad o malignidad por criterios morfológicos. Se efectuó examen ICQ de estos 352 casos con el anticuerpo monoclonal HMFG-2, y en los casos de sospecha de mesotelioma se efectuó también tinción con CEA y B 72.3. En 185 pacientes de 296, la tinción para HMFG-2, fue positiva, y 170 de ellos (170/185) fueron finalmente diagnosticadas por otros procedimientos, de derrame pleural maligno. Es decir, la especificidad del anticuerpo para diagnosticar neoplasia maligna en derrames citológicamente sospechosos fue muy alta. Sin embargo, más de la mitad de los pacientes con tinción negativa o dudosa para HMFG-2 fueron finalmente diagnosticados de neoplasias malignas, por lo que el anticuerpo tiene una especificidad muy baja (41%). De los 11 casos de mesotelioma presentes, 10 se tiñeron positivamente para HMFG-2, con típico patrón de falta de correlación entre morfología e inmunotinción: de las células atípicas morfológicamente, algunas se teñían con HMFG-2, y otras no, y de las células morfológicamente típicas existía también esta variabilidad. La negatividad del CEA y la positividad focal de B 72.3, permitieron el diagnóstico de certeza en 10 de los 11 casos. El caso restante que no se tiñó con HMFG-2 era un mesotelioma sarcomatoso.

El trabajo de Domínguez et al (141) confirma el valor diagnóstico de la inmunocitoquímica en el líquido pleural. En 70 muestras de líquido (41 pleurales, 28 peritoneales y 1 pericárdico), que por estudio citológico convencional se diagnosticaron de negativo para células malignas (26 casos), sospechoso (12 casos) y positivo (32 casos: 21 carcinomas, 1 mesotelioma y 10 no clasificable), se aplicó inmunocitoquímica con anticuerpos monoclonales frente a EMA, CEA, CD 15, Vimentina y anticuerpo B 72.3. El de mayor poder discriminativo fue el marcador B 72.3 (positivo en el 87% de los carcinomas y en el 0% de hiperplasia mesotelial o mesotelioma). Marcadores también útiles fueron el CEA y el CD 15. Globalmente, el estudio inmunocitoquímico confirmó el diagnóstico de malignidad realizado por examen microscópico convencional en 32 casos (31 carcinomas y 1 mesotelioma), clasificó los 12 casos sospechosos en carcinoma (6), mesotelioma (2) e hiperplasia mesotelial (4) y permitió diagnosticar carcinoma en 2 de las 26 muestras consideradas negativas para células malignas por técnicas convencionales.

Un estudio más reducido de Nance y Silverman (43), empleando EMA, CEA, B 72.3 y Leu M₁ como marcadores corrobora estos resultados: un 96% de los carcinomas marcaron positivamente para uno o más marcadores.

res, hecho que no sucedió en ningún caso de hiperplasia mesotelial reactiva. Además, el estudio inmunocitoquímico identificó células malignas en un 10% de los casos en los que por tinciones habituales se había diagnosticado de negativo para células malignas.

En la actualidad, se acepta que la ICQ de líquido pleural puede proporcionar información adicional esencial para el diagnóstico en un 50% de los casos de derrame pleural maligno (142).

III.1.b.- Biopsia pleural a ciegas con aguja de Abrams.

A pesar de la baja rentabilidad terapéutica del mesotelioma, su diagnóstico exige en casi todos los casos pruebas agresivas, salvo en los casos de diagnóstico citológico de certeza en el líquido pleural. La biopsia pleural a ciegas con aguja representa después de la citología el método diagnóstico menos agresivo. A pesar de ello, se trata también del método con menor rentabilidad diagnóstica, lo cual no es sorprendente pues que tanto el mesotelioma difuso como los tumores metastásicos producen afectación pleural focal. Las complicaciones son mínimas; y el riesgo de hemorragia o neumotorax es mínimo. Existe el riesgo de producción de implantes tumorales en la zona del trayecto de la aguja. En derrames pleurales malignos, su rendimiento diagnóstico oscila entre el 40 ó 69% según los autores (135, 136, 143-151). En el caso concreto del mesotelioma, el rendimiento es similar (60% de diagnósticos de malignidad en la serie de Edmundstone) (135). Si bien casi todos los autores aceptan que este rendimiento es menor que el de otras técnicas, incluida la citología de líquido, la biopsia pleural por aguja es un procedimiento poco agresivo que puede proporcionar algunos diagnósticos adicionales en pacientes con citología negativa o dudosa sin necesidad de recurrir a procedimientos más agresivos (136).

III.1.c.- Toracoscopia con biopsia pleural dirigida

Así como la biopsia pleural con aguja es un método diagnóstico empleado ampliamente en Estados Unidos (135, 152, 153), la biopsia pleural guiada por toracoscopia con fibra óptica es el procedimiento más empleado en Europa (135, 154-157), y en nuestro medio (89). Permite biopsiar bajo control visual nódulos pleurales de aspecto tumoral. Se asocia a un riesgo de hemorragia, neumotorax e implante tumoral ligeramente mayor que el de la biopsia a ciegas. En la serie de Edmundstone (135), casi exclusivamente constituida por mesoteliomas, el rendimiento diagnóstico de la toracoscopia en cuanto a diagnóstico de malignidad fue del 65%.

III.1.d.- Toracotomía diagnóstica con biopsia abierta

A pesar de que es una prueba muy agresiva que requiere anestesia general puede llegar a ser necesaria hasta en un tercio de los casos de mesotelioma, especialmente, en mesoteliomas no epiteloides, cuando el resto de pruebas no son diagnósticas. Cabe ensayar en primer lugar la biopsia por minitoracotomía y si esta no es diagnóstica, nueva biopsia por toracotomía reglada, que es diagnóstica prácticamente en el 100% de los casos. El grupo de Antmann (158, 159), considera que la toracotomía diagnóstica puede com-

prometer cualquier futuro intento de extirpación quirúrgica al interrumpir el plano de clivaje extrapleural del tumor. Por ello, algunos autores defienden la toracotomía diagnóstica y terapéutica en un sólo acto (80, 161), si bien esta conducta no es aceptada por la mayoría de los autores.

En resumen, tras un procedimiento diagnóstico mínimamente invasivo como es el estudio del líquido pleural extraído por toracocentesis, que permite un diagnóstico de malignidad en aproximadamente un 50% de los casos, y un diagnóstico de certeza de mesotelioma de un 10-20% (probablemente el doble asociando inmunocitoquímica), el segundo escalón de pruebas diagnósticas sería la biopsia pleural bien a ciegas (con aguja de Abrams) o bien guiada por toracosopia, según la experiencia de cada grupo de trabajo (89). Cuando estas técnicas no permiten un diagnóstico histológico concluyente (un 15% en la serie de Edmundstone (135), y probablemente el doble en la práctica clínica habitual), es necesaria la toracotomía con biopsia abierta.

III.1.e.- Diagnóstico de otros tipos de mesotelioma

1.- Mesotelioma peritoneal maligno

El estudio citológico de líquido ascítico tiene un rendimiento similar al de líquido pleural en mesotelioma pleural maligno, así como el empleo de técnicas inmunocitoquímicas (140). En algunos casos, la laparoscopia con biopsia peritoneal dirigida permite el diagnóstico preoperatorio (162). En el resto de los casos, el diagnóstico se basa en la biopsia obtenida durante la laparotomía diagnóstica y terapéutica. Sí existen adenopatías periféricas, la biopsia de estas con estudio anatomopatológico cuidadoso, permite el diagnóstico (60).

2.- Otros mesoteliomas

El procedimiento para obtener muestras histológicas para el diagnóstico de otros tipos de mesoteliomas depende principalmente de la localización del tumor, y requiere a menudo de cirugía diagnóstica.

Señalamos únicamente que los mesoteliomas fibrosos pleurales no suelen acompañarse de derrame pleural, por lo que no son útiles la citología de líquido pleural ni tampoco puede realizarse toracosopia, ya que esta exploración requiere la presencia de una cámara de líquido pleural.

III.2.- ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL MESOTELIOMA MALIGNO PLEURAL

III.2.a.- Histogenesis del mesotelioma maligno pleural. Histología pleural.

La cavidad celómica primitiva, recubierta por células mesoteliales, aparece precozmente en el embrión, a partir del mesodermo. Todos los órganos móviles que posteriormente se desarrollan en esta cavidad como los pulmones, corazón e intestinos, van siendo recubiertos por la capa de células mesoteliales (68, 163). En el adulto, la primitiva cavidad celómica ha dado lugar a cuatro cavidades; las cavidades pleural, peritoneal y túnica vaginal tes-

ticular del varón, todas ellas completamente separadas y sólo comunicadas entre sí por vasos linfáticos, y la cavidad pericárdica, que puede mantener una comunicación con la cavidad pleural.

La cavidad pleural es un espacio virtual entre la pleura visceral, que recubre toda la superficie del pulmón incluyendo las fisuras interlobares, y la pleura parietal, que recubre la superficie interna de la caja torácica, mediastino y diafragma. La pleura visceral se refleja en el hilio pulmonar para continuarse con la pleura parietal. Las capas opuestas de células mesoteliales están separadas sólo por una capa de líquido rico en ácido hialurónico que en ausencia de patología no sobrepasa las 20 micras de grosor. La apariencia macroscópica de la pleura es una superficie lisa, brillante y semitransparente. Por microscopia óptica, ambas cubiertas pleurales tienen un revestimiento de células mesoteliales con membrana basal, continua descansando sobre tejido conectivo bien vascularizado. Pueden distinguirse cinco capas:

- 1.- Capa mesotelial.
- 2.- Capa de tejido conectivo submesotelial.
- 3.- Capa elástica superficial.
- 4.- Capa elástica conectivo laxo subpleural.
- 5.- Capa fibroelástica densa profunda.

Todos estos elementos derivan del mesodermo. El grosor de cada capa es muy variable en distintas zonas. La capa más profunda se adhiere fuertemente al parenquima pulmonar o a la pared torácica según sea pleura visceral o parietal respectivamente.

La capa mesotelial está constituida por células mesoteliales dispuestas en monocapa. Dichas células, cuyo tamaño oscila entre las 10-50 micras, son muy deformables, por lo que pueden aparecer como planas, cuboidales o columnares. En general, las células cuboidales o columnares indican o bien que las capas subyacentes son laxas, como en los senos costodiafragmáticos, o que las células son metabólicamente activas. Las células aplanadas son células quiescentes aplastadas de la pleura visceral, o bien células de la pleura parietal que recubren una estructura muy rígida como por ejemplo una costilla. Ultraestructuralmente, las células mesoteliales se caracterizan por la abundancia de microvellosidades alargadas en cepillo de 0,1 micras de diámetro y hasta 3 micras o más de longitud (8). Las microvellosidades atrapan ácido hialurónico, el cual actúa como lubricante para disminuir el rozamiento entre el pulmón y la pared torácica. El citoplasma es rico en vesículas pinocíticas, mitocondrias y otras organelas, y contiene haces de tonofilamentos citoplásmicos de prequeratina. Existen también uniones intercelulares apicales y desmosomas. El estudio inmunohistoquímico de estas células muestra positividad para queratinas de alto y bajo peso molecular (165-167).

Las células subserosas o submesoteliales tienen rasgos ultraestructurales de fibroblastos, y expresan el filamento intermedio vimentina, pero no

queratina. Sin embargo, cuando estas células subserosas multipotenciales proliferan en procesos reactivos, coexpresan queratina y vimentina.

El conocimiento de los rasgos microscópicos, ultraestructurales e inmunohistoquímicos de las células mesoteliales y de las células subserosas en condiciones normales, en procesos reactivos y en procesos neoplásicos ha sido clave para conocer la histogénesis de los tumores pleurales.

El tejido seroso reactivo no neoplásico sirve como modelo útil para comprender los rasgos de los mesoteliomas. Los experimentos en animales y en tejidos humanos (168, 169), han sugerido que las células del tejido conectivo subseroso son las que proliferan ante una agresión. Se ha introducido el término "célula subserosa multipotencial" en reconocimiento al fenotipo único de estas células. La lesión serosa produce la pérdida de la capa superficial mesotelial, y seguidamente proliferan las células subserosas multipotenciales del tejido conectivo subyacente. La microscopia electrónica demuestra que aparecen rasgos de miofibroblastos, con prolongaciones alargadas, abundante retículo endoplásmico rugoso y miofilamentos dispuestos periféricamente. A pesar de la ausencia de rasgos ultraestructurales de diferenciación epitelial, los estudios inmunohistoquímicos revelan que, además de expresar positividad para vimentina, las células subserosas que proliferan en procesos reactivos adquieren positividad para actina, y también para citoqueratinas de bajo peso molecular (68). Esto contrasta con el típico fenotipo de los miofibroblastos, que coexpresan únicamente actina y vimentina (170, 171). La célula subserosa multipotencial es capaz de diferenciarse a mesotelio de superficie, apareciendo entonces microvellosidades en su superficie, desmosomas, tonofilamentos y membrana basal, a la vez que presenta positividad para citoqueratinas de alto peso molecular y pierde progresivamente la positividad para vimentina.

Hay muchos paralelismos fenotípicos entre el tejido seroso reactivo no neoplásico y los mesoteliomas. Los mesoteliomas desmoplásicos y sarcomatoides muestran semejanzas con la célula subserosa multipotencial. Ambos tienen rasgos ultraestructurales propios de células mesenquimales, con cantidad variable de retículo endoplásmico rugoso, filamentos dispersos al azar de 10 nm de diámetro, típicos de vimentina, y escasos miofilamentos periféricos. Coexpresan citoqueratinas de bajo peso molecular y vimentina. Los mesoteliomas epiteliales difusos se asemejan al mesotelio de superficie. Tienen microvellosidades de superficie largas, desmosomas bien desarrollados, tonofilamentos citoplásmicos y membrana basal. El estudio inmunohistoquímico demuestra un patrón complejo de citoqueratinas, con un amplio rango de queratinas de alto y bajo peso molecular. Los mesoteliomas mixtos tienen rasgos de célula subserosa multipotencial en las áreas de células fusiformes, y de mesotelio de superficie en las áreas epiteliales. Los mesoteliomas transicionales manifiestan rasgos morfológicos e inmunocitoquímicos propios de un estadio de maduración intermedio entre los dos tipos celulares. Pueden contener sutiles evidencias de diferenciación epitelial a microscopia óptica, y rasgos ultraestructurales tales como tonofilamentos, desmosomas

variablemente desarrollados, y escasas microvellosidades de superficie, pero carecen de los hallazgos típicos de un mesotelioma epitelial. Por inmunohistoquímica aparece también un patrón transicional, con coexpresión de vimentina, queratinas de bajo peso molecular y queratinas de alto peso molecular.

En resumen, la capacidad de las células del tejido seroso normal de alterar su forma y expresión de filamentos intermedios ayuda a comprender la diversidad morfológica de los mesoteliomas malignos pleurales, y ayuda a enfrentarse al difícil diagnóstico de los tumores pleurales.

III.2.b.- Macroscopía

El aspecto macroscópico es similar en todos los subtipos histológicos de mesotelioma pleural maligno (6,8, 68). El tumor crece por extensión directa, rodeando e infiltrando los pulmones. Es difícil determinar si se originó en la pleura parietal o visceral, pero suele afectar a ambas, dejando un espacio entre ellas (68). Inicialmente, existen numerosos pequeños nódulos o placas de color gris recubriendo la superficie de las pleuras parietal y visceral. En un estadio más avanzado, los nódulos confluyen y forman un grueso (hasta 5 cm) recubrimiento difuso que engloba las dos hojas pleurales, y tiende a ser más gruesa en la pleura que recubre el lóbulo inferior y el diafragma. Tal cubierta invade sólo la superficie del pulmón, pero constriñe y comprime todo el pulmón. En fases tardías puede comprimir el corazón por invasión pericárdica, y la tráquea, esófago y grandes vasos por invasión mediastínica. También invade el diafragma y la pared torácica. Pueden aparecer implantes tumorales en la pared torácica tras una biopsia con aguja, toracoscopia o toracocentesis.

La consistencia del tejido tumoral es muy variable, puede ser firme y gomoso o blando y gelatinoso. Al corte, es generalmente blanco-grisáceo brillante y con frecuencia muestra focos de hemorragia y necrosis. En la autopsia deben buscarse placas pleurales hialinas, que indican exposición al asbesto, y suelen localizarse en la pleura parietal lateral y diafragmática. Son difíciles de encontrar en mesoteliomas muy extendidos (68).

III.2.c.- Microscopia óptica

El mesotelioma es un tumor mesodérmico cuyo diagnóstico es difícil, por lo que deben reservarse fragmentos de tejido para su examen ultraestructural e inmunohistoquímico. Aunque no hay dos mesoteliomas que presenten un aspecto exactamente igual en la microscopia óptica, y existe una amplia variedad de patrones histológicos dentro de un mismo tumor (6), se distinguen 6 tipos histológicos de mesotelioma, con algunas variedades peculiares, que se enumeran en la tabla 7. La frecuencia de los distintos tipos histológicos de mesotelioma se describe en la tabla 8.

Podemos ver en la tabla que el tipo más frecuente es el mesotelioma epitelioide que en casi todas las series representa el 45-60% de los casos. Le sigue en frecuencia el tipo mixto (en el que probablemente se han incluido casos de mesotelioma transicional y el sarcomatoide). El mesotelioma desmoplásico es muy raro y difícil de diagnosticar y no fue descrito hasta 1980(68).

Tabla 7. Clasificación histológica de los mesoteliomas pleurales malignos

- a) Epitelial.
- Tubulopapilar.
 - Epitelioide.
 - Glandular.
 - Células grandes - células gigantes.
 - Células pequeñas.
 - Adenoide quístico.
 - De células en anillo de sello.
- b) Sarcomatoide (fibroso, sarcomatoso, mesenquimal).
- c) Mixto epitelial - sarcomatoide (bifásico) (2 zonas).
- d) Transicional (1 tipocelular con rasgos mixtos).
- e) Desmoplásicos.
- f) Mesotelioma fibroso localizado.*

* El mesotelioma fibroso localizado, es un tumor benigno, y probablemente no es de origen pleural por lo que describiremos separadamente.

Tomado de Dail, 68.

Tabla 8. Frecuencia de los distintos tipos histológicos de mesotelioma

Referencia	Nº de casos	% epitelioide	% sarcomatoide	% mixto
80	46	39	9	52
173	9	44	56	0
174	50	30	22	48
175	34	53	20	27
152	57	72	10,5	17,5
176	149	68	32	0
172	28	56	33	11
154, 158	150	53	21	26
156	32	69	19	12
89	23	65	22	13
78	167	80	1,6	15
79	136	42	11	20
87	84	50	12	38
91	34	47	26	26

A continuación describimos el aspecto microscópico de los distintos tipos histológicos de mesotelioma (6, 68):

A) Mesoteliomas epiteliales. Según su patrón de crecimiento se distinguen 7 variedades:

A.1.- Mesotelioma tubulopapilar Es la variedad más frecuente.

Sus células son aplanadas, cuboidales o poligonales, uniformes y poseen un núcleo redondo central vesiculoso, uno o dos nucleolos poco evidentes y abundante citoplasma eosinófilo con límites citoplásmicos claramente definidos. No suelen verse mitosis, aunque existen algunos tumores de este tipo más indiferenciados con algunas células grandes, gran núcleo y nucleolo prominente (68), en los cuales si se observan mitosis abundantes. Estas células forman estructuras papilares con un tallo fibrovascular, que suelen encontrarse en el interior de grandes espacios quísticos irregulares recubiertos por una monocapa de células aplanadas epiteliales, dando un aspecto que semeja al de un carcinoma papilar. En otras áreas, las células forman pequeñas estructuras tubulares, que varían desde pequeñas hendiduras a zonas de patrón "en lazo". Pueden existir calcificaciones psamomatosas (calcosferitas), igual que en cualquier tumor papilar (68). Aparecen en un 5-10% de los casos.

A.2.- Mesotelioma epitelioides Es el segundo patrón más frecuente.

Las células forman estructuras lineales o en cordón o bien láminas y nidos sólidos, a veces asociadas a tejido conectivo estromal de aspecto edematoso mixoide. Las células son redondas o poligonales, con núcleo redondo, grandes nucleolos y abundante citoplasma de aspecto eosinófilo cristalino cuando se las examina con hematoxilina-eosina. A menudo, existe una zona clara perinuclear o bien vacuolas, que son PAS positivas por contener abundante glucógeno. A veces la fusión o rotura de vacuolas individuales lleva a la formación de grandes lagos rellenos de mucina. Un rasgo asociado de importancia diagnóstica para el diagnóstico diferencial del mesotelioma es la pérdida de cohesión celular, con células redondas o poligonales que quedan flotando libremente en los lagos mucinosos o dispersas en el estroma laxo.

A.3.- Mesotelioma glandular Son mesoteliomas epiteliales cuyas células forman predominantemente estructuras glandulares, que pueden ser idénticas en forma y tamaño a las de adenocarcinomas (68). A veces un mismo tumor presenta zonas con patrón glandular y otras áreas tubulopapilares o epitelioides.

- A.4.- Mesotelioma adenoide quístico Es una rara variedad de mesotelioma epitelial en el cual las células adoptan un patrón similar al de un carcinoma adenoide quístico. (68).
- A.5.- Mesotelioma de células pequeñas Está formado por células pequeñas uniformes con un aumento de la relación núcleo / citoplasma (68).
- A.6.- Mesotelioma de células grandes-células gigantes Constituido por células grandes pleomorfas de aspecto claramente epitelial (68).
- A.7.- Mesotelioma de células en anillo de sello Formado por láminas celulares relativamente sólidas compuestas por células que contienen muchas vacuolas citoplásmicas, de modo análogo a células en anillo de sello (68). También se denomina mesotelioma adenomatoide de pleura (177).
- B) Mesotelioma sarcomatoide. Está constituido por células fusiformes bien orientadas de aspecto fibroblástico, a las cuales suelen añadirse células redondas u ovoideas. Un segundo rasgo característico es que a menudo existe una fuerte hialinización. Las células pueden adoptar diversos patrones:
- B.1.- Patrón similar a fibrosarcomas o leiomiomas, que es el que hemos descrito.
 - B.2.- Patrón estoriforme o de pericitoma, difícil de diferenciar de un histiocitoma fibroso maligno, hemangiopericitoma y sarcoma pleomorfo.
 - B.3.- Metaplasia cartilaginosa y/o ósea (178), rara.
- Los mesoteliomas sarcomatoides son mucho más difíciles de diagnosticar que los epitelioides, y es muy difícil hacer el diagnóstico diferencial con sarcomas de partes blandas salvo en los raros casos en que se asocia algún área de diferenciación epitelial.
- C) Mesotelioma desmoplásico. Descrito en 1980, (179), es el tipo de mesotelioma más difícil de diagnosticar, pues aunque su aspecto macroscópico es típico de mesotelioma, microscópicamente es casi indistinguible de tejido pleural reactivo benigno, por ejemplo de una pleuritis crónica postempiema. En biopsias suficientemente grandes, la presencia de áreas estrelladas de necrosis y de atipia celular ayuda al diagnóstico, como también ayudan los datos clínicos: presencia de dolor crónico e invasión de la pared torácica, pulmón o hueso en la radiografía de tórax (68).
- D) Mesotelioma transicional ("mesotelioma pobremente diferenciado). Está constituido por un sólo tipo celular cuyos rasgos son transicionales entre mesotelioma epitelial y mesotelioma epitelioide. Se trata de células grandes, poligonales o fusiformes gruesas, que se disponen sin patrón característico u ocasionalmente formando ni-

dos (68). Histogenéticamente podrían originarse a partir de la célula subserosa multipotencial.

- E) Mesotelioma bifásico o mixto. Este tipo de mesotelioma puede diagnosticarse en general sin grandes dificultades (6). Presenta rasgos histológicos epiteliales y sarcomatoides: coexisten áreas típicas de mesotelioma epitelial y otras sarcomatoides. Además de células de aspecto intermedio. Este aspecto bifásico recuerda mucho al sarcoma sinovial (6). El componente sarcomatoide puede diferenciarse de la matriz fibrosa de un mesotelioma puramente epitelial por su mayor celularidad.

III.2.d. Características histoquímicas

A) Mucinas Las mucinas (mucopolisacaridos, proteoglicanos, glucosaminglicanos, mucosustancias o glucoconjugados) son carbohidratos complejos con una porción proteica, que son sintetizados por diversos tipos de células. Pueden ser de tres tipos: mucinas altamente ácidas, mucinas débilmente ácidas y mucinas neutras.

Su porción proteica se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso de la célula. El aparato de Golgi añade los carbohidratos. Los análisis bioquímicos han demostrado que tanto el mesotelio normal como las células de más del 95% de los mesoteliomas producen cantidades elevadas de mucopolisacaridos altamente ácidos, en concreto ácido hialurónico y, condroitín-sulfato. Se trata del mismo tipo de mucinas que son secretadas por todas las células de origen mesenquimal como por ejemplo los sarcomas de partes blandas (126). En contraste, las células epiteliales producen principalmente mucopolisacáridos neutros o débilmente ácidos. En la serie de Chiu et al (126), sólo la mitad de los adenocarcinomas contenían cantidades detectables de ácido hialurónico. Según los datos de Nakano et al (180), la cantidad total de mucinas era 7,9 veces mayor en las células de mesotelioma que en las de adenocarcinoma pulmonar (32 micromoles de ácido urónico por gramo de peso seco frente a sólo 4,25). El ácido hialurónico representaba un 45% de las mucinas totales en los mesoteliomas (126, 180) frente a sólo un 28% en los adenocarcinomas de pulmón. Dado el mayor contenido de mucinas en los mesoteliomas, el contenido absoluto de ácido hialurónico en el tejido tumoral fue mucho mayor en los mesoteliomas (media 0,74 mgr/gr) que en los adenocarcinomas de pulmón (media 0,08 mgr/gr), si bien otros tipos de tumores no primitivos de pulmón, como los sarcomas de partes blandas y los carcinomas serosos de ovario, también tenían alto contenido en ácido hialurónico (126).

Las técnicas histoquímicas para detectar mucinas son mucho menos sensibles que la cuantificación bioquímica:

- 1.- La tinción con *ácido periódico de Schiff (PAS)* con digestión por diastasa, la cual destruye el glucógeno que también se

- tiñe con PAS, detecta la presencia de mucopolisacaridos neutros, y es constantemente negativa en los mesoteliomas.
- 2.- La tinción de *mucicarmina de Myer*, que tiñe preferentemente mucopolisacaridos débilmente ácidos suele ser débilmente positiva o negativa en el mesotelioma pleural maligno.
 - 3.- Lo mismo sucede con tinción metacromática con *azul de toluidina*, de significado similar a la mucicarmina.
 - 4.- La tinción con *azul Alcian* a pH = 2'5, que detecta mucopolisacaridos ácidos, es positiva en aquellos mesoteliomas que sintetizan grandes cantidades de ácido hialurónico, que representan un 20% del total de mesoteliomas, y preferentemente son mesoteliomas epiteliales.
 - 5.- La tinción con *hierro coloidal* señala también la presencia de mucinas altamente ácidas y es positiva en las vacuolas citoplásmicas, luz tubular y agregados celulares del 20% de los mesoteliomas.
 - 6.- La desaparición de la positividad al azul alcian o al hierro coloidal con *digestión por hialuronidasa*, confirma que la mucina teñida era ácido hialurónico.
- B) Glucógeno En aproximadamente el 50% de los mesoteliomas epiteliales, existe suficiente cantidad de glucógeno intracelular para dar positiva la tinción de PAS, aunque no suele ser fuertemente positiva.
- C) Reticulina La tinción de reticulina muestra fibras de reticulina en cantidad variable entre las células tumorales, y a menudo descubre la presencia de un patrón bifásico oculto en mesoteliomas sarcomatoides.

III.2.e. Características ultraestructurales

Ya en 1968, Echevarría y Arean describieron los rasgos del mesotelioma difuso pleural en microscopia electrónica, que confirmaron la naturaleza mesotelial del tumor (181). Las características ultraestructurales de los mesoteliomas pleurales han sido revisadas recientemente por Coleman et al (182).

A) Mesoteliomas epiteliales Las células de los mesoteliomas epiteliales, de forma poligonal, presentan muchas microvellosidades ramificadas largas, presentes tanto en la superficie libre de las células como en las características luces intracitoplásmicas, y en luces intercelulares. El núcleo es grande con nucleolo prominente, el citoplasma contiene un moderado número de mitocondrias, rodeadas por retículo endoplásmico rugoso, frecuentes gránulos de glucógeno y haces de filamentos citoplásmicos. Son escasos el retículo endoplásmico liso, los lisosomas y el aparato de Golgi, y se han descrito ocasionalmente estructuras laminares osmiófilas (183). Suelen estar,

rodeadas de una membrana basal incompleta y plegada, que a menudo se relaciona con vesículas micropinocíticas y las separa del tejido fibrovascular. Existen abundantes estructuras de unión intercelulares, especialmente desmosomas y tonofilamentos, que se insertan en la base de los desmosomas. Este es el aspecto típico de un mesotelioma túbulopapilar. Algunos rasgos peculiares de otras variedades son la abundancia de agregados de glucógenos intracitoplásmicos en el mesotelioma epitelioide y la ausencia de microvellosidades en el mesotelioma de células pequeñas.

B) Mesotelioma sarcomatoide Sus células son de aspecto fibroblástico, fusiformes, con núcleo alargado, mucho retículo endoplásmico rugoso en cortas cisternas distendidas, que a menudo contienen material electrón denso en su interior, y un prominente aparato de Golgi. La matriz intercelular contiene abundante colágeno. A veces, la forma y tamaño celular son más variables, y existen uniones intercelulares moderadamente bien formadas, incluso algún agregado de filamentos intermedios y raramente microvellosidades.

En algunas ocasiones, las células tumorales semejan miofibroblastos, con filamentos de actina en el citoplasma periférico y cisternas cortas de retículo endoplásmico rugoso perinucleares.

C) Mesotelioma transicional Existe un único tipo de células, que presentan a la vez rasgos epiteliales (uniones celulares bien formadas, agregados de mitocondrias) y sarcomatoides, que incluyen filamentos intermedios citoplásmicos de Vimentina y a veces filamentos de actina bajo la membrana. Suelen carecer de microvellosidades y sólo ocasionalmente tienen desmosomas.

D) Mesotelioma bifásico Contiene células de rasgos epiteliales (microvellosidades, tonofilamentos, etc) y células de aspecto sarcomatoide, con zonas intermedias que contienen alguna célula con rasgos transicionales.

E) Mesotelioma desmoplásico Su aspecto es variable, y las células son semejantes a las de un mesotelioma sarcomatoide (68).

III.2.f. Características inmunohistoquímicas

• Principios de la inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica es la aplicación de principios y técnicas inmunológicas al estudio de células y tejidos (184), para caracterizar células, agentes infecciosos o macromoléculas de forma más precisa que las tinciones histoquímicas no basadas en la inmunología (185).

El método original, descrito por Coons (196), consistía en marcar con una sustancia fluorescente un anticuerpo obtenido en conejos, y en buscarlo (y, por tanto, buscar el antígeno contra el que se dirigía el anticuerpo), en cortes de tejido examinados con microscopio de fluorescencia. Las mejores técnicas llevadas a cabo en años posteriores han permitido que los estudios inmunohistoquímicos sean actualmente una técnica complementaria indis-

pensable en cualquier laboratorio de Anatomía Patológica. Existen diversos procedimientos, pero los dos métodos más comunmente empleados en la actualidad son el método de inmunocomplejo peroxidasa - antiperoxidasa y la técnica inmunoenzimática avidina - biotina - peroxidasa. Ambos métodos utilizan como marcador visible de la reacción anti-geno-anticuerpo a la peroxidasa. La peroxidasa empleada es una proteína de 40 kilodaltons que contiene un centro de hemoproteína y una cubierta externa de 8 cadenas de carbohidratos neutros (186).

Hasta que se desarrollaron los modernos métodos peroxidasa-antiperoxidasa y avidina-biotina-peroxidasa, los anticuerpos unidos a peroxidasa se fabricaban uniendo covalentemente grupos aldehído de los carbohidratos de la peroxidasa al anticuerpo. La peroxidasa se demuestra por su capacidad para reducir peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a agua (H_2O) en presencia de un donante de electrones. Es la reacción cromógena (Figura 1), así llamada porque el producto oxidado de la sustancia donante de electrones es coloreado, visible a microscopio óptico. Existen multitud de sustancias cromógenas con la peroxidasa (Tabla 9). Los factores que influyen en la elección del sustrato donante de electrones son:

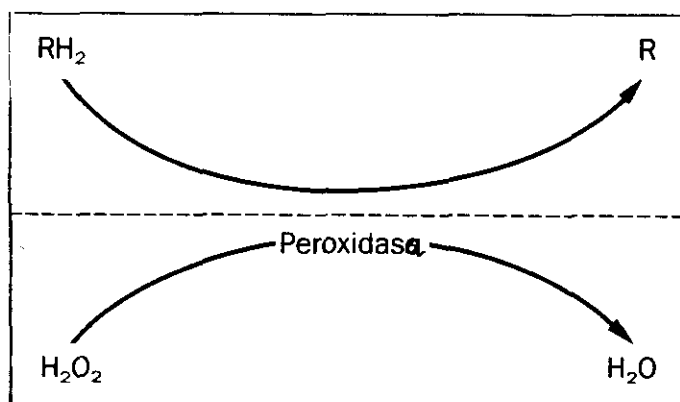
- 1.- **Color:** El color debe contrastar con otros colores presentes en el tejido a examinar. Por ejemplo, puede elegirse un cromógeno no marrón para que contraste con la melanina, y si se desea hacer una doble tinción inmunohistoquímica, el segundo cromógeno debe ser de color diferente al primero.
- 2.- **Solubilidad:** Sólo la diaminobencidina (DAB) precipita. El resto de los cromógenos son solubles en disolventes orgánicos.
- 3.- **Sensibilidad**
- 4.- **Utilidad para inmunomicroscopía electrónica**

De todos los cromógenos, la DAB (187), al formar un precipitado insoluble, es el único que resiste largos periodos de almacenamiento. Además, es uno de los cromógenos más sensibles (188), y al igual que el 4-cloro-1-naftol, su producto oxidado puede hacerse electródenso para inmunomicroscopía electrónica por osmicación. El único inconveniente serio de la DAB es su carcinogenicidad.

La coloración de la DAB puede ser aumentada por contratinción con metales pesados tales como el osmio (187), oro coloidal seguido por plata y níquel o cobalto. La repetición de la incubación con anticuerpo secundario y terciario, (por ejemplo peroxidasa-antiperoxidasa), también aumenta la detectabilidad (189).

Se emplean ocasionalmente otras enzimas como marcadores en inmunohistoquímica. Las principales son la fosfatasa alcalina (190), empleada casi exclusivamente en protocolos de doble inmunotinción, y la glucosa-oxidasa, (190), poco utilizada tradicionalmente debido a la poca estabilidad de sus sustratos, problema en vías de solución (191).

Figura 1. Capacidad de la peroxidasa de reducir peróxido de hidrógeno a agua en presencia de un donante de electrones y de oxidar el cromógeno (RH₂) a una forma coloreada (R).



RH₂ = Forma reducida soluble del cromógeno. R = Forma coloreada oxidada del cromógeno.

Tomado de True, 185

Tabla 9. Sustratos para la peroxidasa

Cromógeno	Color	Solubilidad (1)
Diaminobencidina	Marrón	-
3-Amino-9-etilcarbazol	Rojo	+
4-Cloro-1-naftol	Azul	+
Alfa-naftol-pironina	Rosa	+
Bencidina	Azul	-
p-Fenilenediamina y pirocatecol (reactivo de Harker-Yates)	Negro	-
Tetrametilbencidina	Azul	-

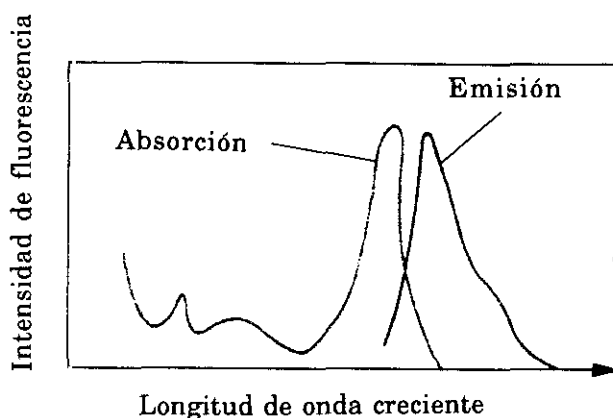
Tomado de True, 185

(1) Solubilidad en disolventes orgánicos

El marcaje de los anticuerpos con peroxidasa ha venido a sustituir casi por completo a otros marcadores. Únicamente cabe señalar la utilización de ciertos metales (mercurio, hierro y sobre todo oro) en inmunoelectrónica y los métodos de inmunofluorescencia.

Los compuestos fluoresceinados emiten luz de una frecuencia determinada y característica de cada compuesto fluorescente cuando son excitados por luz de cualquier longitud de onda. De acuerdo con la ley de Stokes, la luz emitida tiene un nivel de energía menor (y por tanto una longitud de onda mayor) que la luz excitadora (Figura 2).

Figura 2. Grado de absorción de luz e intensidad de la fluorescencia emitida por una sustancia fluorescente.

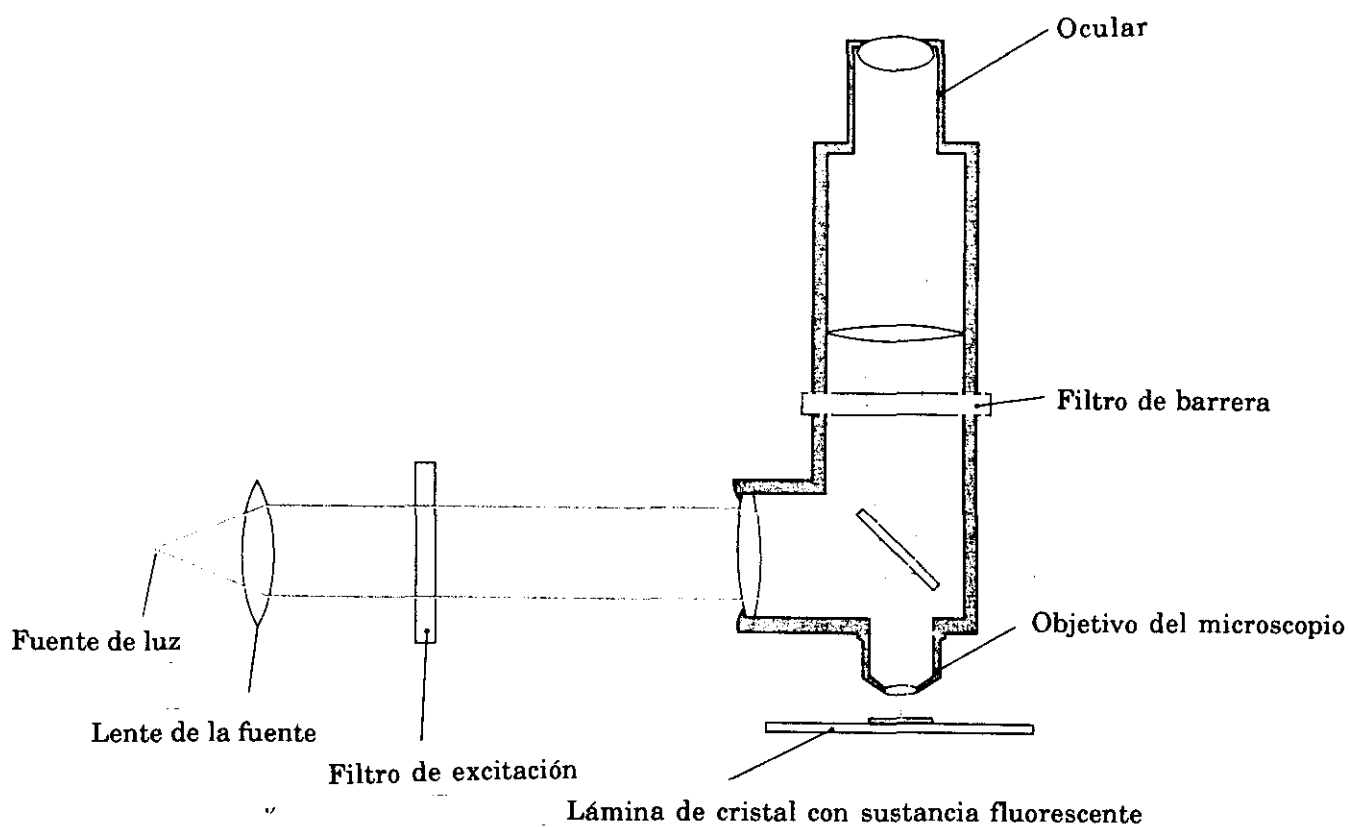


NOTA: La longitud de onda de la luz emitida es siempre la misma para una sustancia fluorescente determinada, y es siempre mayor que la longitud de onda de la luz absorbida

Tomado de True, 185

La inmunofluorescencia requiere un aparataje mucho más complejo que la microscopia óptica inmunoenzimática. Se necesitan: una fuente de luz que emite luz intensa de longitud de onda corta (azul); un camino óptico que optimice el contraste de intensidad de luz entre señal y fondo (sistema de epifluorescencia); y un sistema de filtración que permita la llegada a la muestra únicamente de luz de onda corta (filtro de excitación) y que permita que llegue al observador sólo la luz emitida (filtro de barrera) (192). Todo el sistema se muestra en la Figura 3.

Figura 3. Esquema del recorrido de la luz en un dispositivo de epifluorescencia. La luz incidente (línea continua) excita a la sustancia fluorescente situada en la preparación, y la hace emitir luz (línea discontinua) que es filtrada por el filtro de barrera para impedir que la luz excitatoria sea visible para el observador.



La ventaja de la inmunofluorescencia es su facilidad de utilización. La conjugación directa de un anticuerpo con fluoresceína da una mayor señal visible que el empleo de anticuerpos conjugados directamente con enzimas, y localiza con mayor precisión al antígeno (193). Las desventajas de emplear marcadores fluorescentes son:

- 1.- Los marcadores fluorescentes pierden esta capacidad con el tiempo y la exposición a la luz. El proceso puede enlentecerse artificialmente (194).
- 2.- La deshidratación de las preparaciones inactiva y solubiliza al compuesto fluorescente.
- 3.- Los requerimientos de filtración de luz impiden ver la preparación con luz de amplio espectro.
- 4.- Los requerimientos de filtración son complejos. Dado que la longitud de onda de excitación se diferencia menos de 30 nanómetros de la luz emitida, debe restringirse por filtración la luz excitadora para evitar que se superponga con la luz emitida y produzca excesiva iluminación de fondo (195).
- 5.- Autofluorescencia. La autofluorescencia de baja intensidad de cualquier tejido aumenta con la fijación y almacenamiento prolongado, pudiendo hacerse indistinguible de la señal específica.

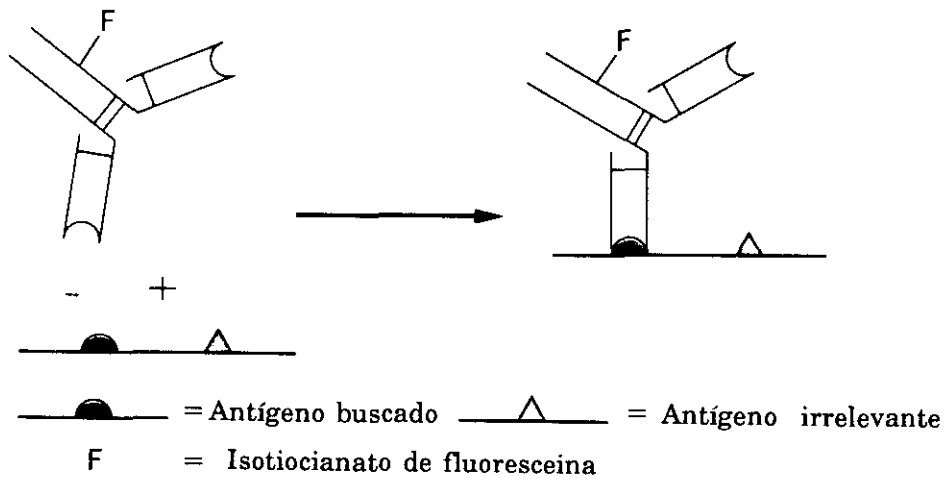
Existen dos tinciones fluorescentes usuales: isotiocianato de fluoresceína (excitación a 490 nm, emisión a 525 nm) (azul) e isotiocianato de tetrametilrodamina (excitación a 530 nm, emisión a 580 nm) (rojo). Ambos pueden utilizarse como marcadores independientes en tinciones inmunofluorescentes dobles.

Aunque el método de marcaje directo de anticuerpos con fluoresceína (Figura 4), que fue la primera técnica inmunohistoquímica (196) sigue siendo empleado para localizar inmunocomplejos en riñón o piel, las técnicas de determinación indirecta del antígeno (Figura 5), basadas en la peroxidasa son las más empleadas en la actualidad.

La detección indirecta implica la localización del antígeno mediante un anticuerpo primario no marcado, y la adición de un anticuerpo secundario marcado con peroxidasa, dirigido específicamente frente al anticuerpo primario, aprovechando que cada inmunoglobulina tiene varios determinantes antigénicos en su región constante (8 en el caso de la IgG), contra los que pueden crearse anticuerpos específicos (por ejemplo, anticuerpos anti-IgG). La ventaja de la detección indirecta de antígenos es su sensibilidad, mucho mayor que la de la inmunofluorescencia directa. Variaciones a partir de métodos de detección indirecta han conducido a los actuales métodos de peroxidasa-antiperoxidasa (PAP) y avidina-biotina-peroxidasa (ABC), cuya sensibilidad y sencillez técnica son aún mayores.

Figura 4. Método de inmunofluorescencia directa.

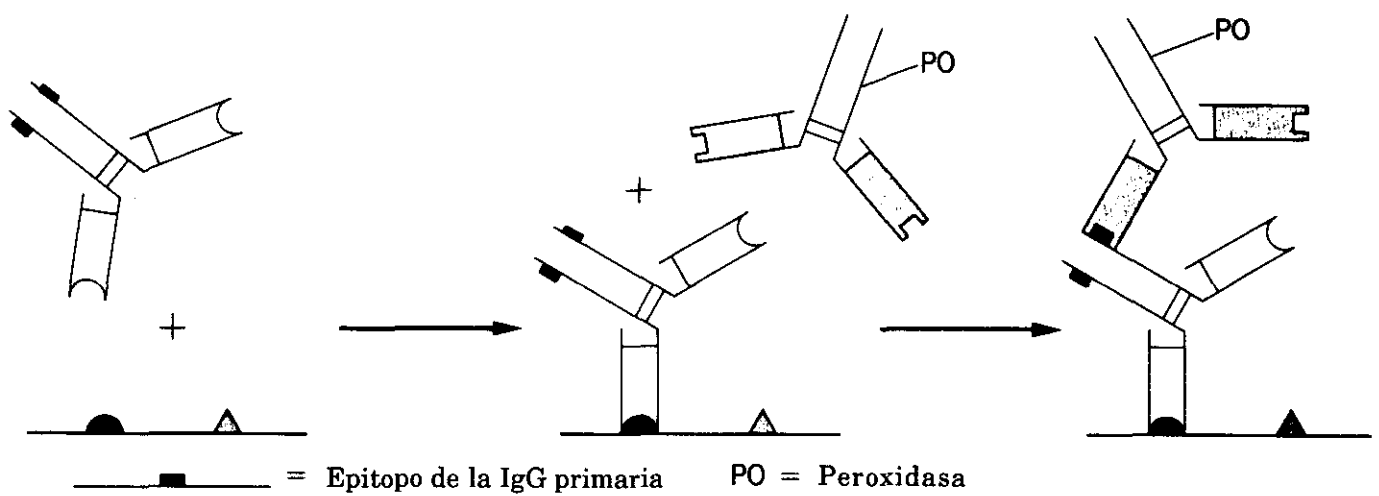
(Se ha omitido el paso final, la reacción cromogénica)



Tomado de True, 185

Figura 5. Método indirecto de inmunoperoxidasa.

(Se ha omitido el paso final, la reacción cromogénica)

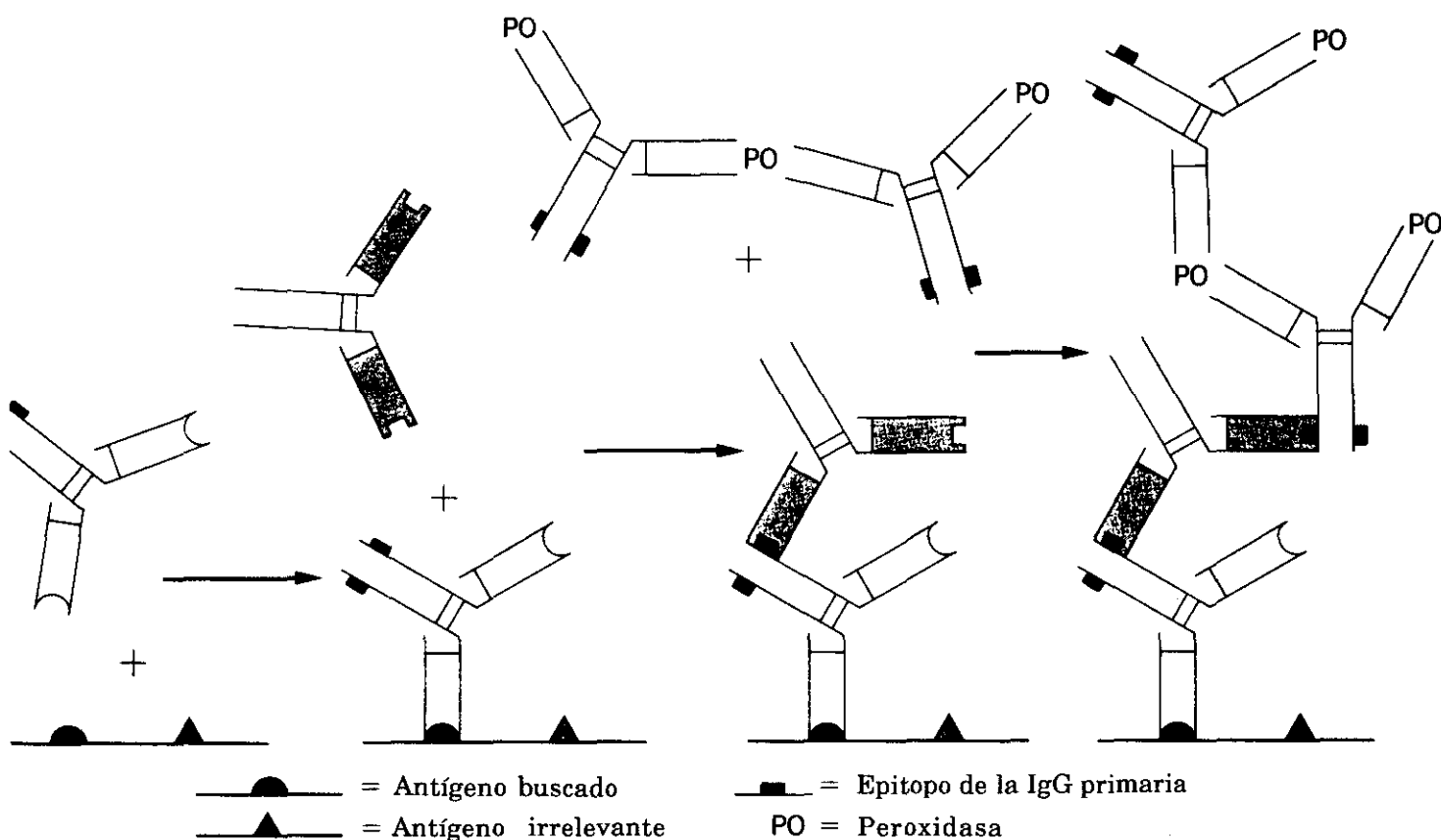


Tomado de True, 185

A- El procedimiento del complejo inmune peroxidasa-antiperoxidasa (método de inmunoperoxidasa (PAP) implica la utilización de un anticuerpo primario no marcado, dirigido contra el antígeno problema, un anticuerpo secundario ("puente") dirigido frente a la fracción constante del anticuerpo primario (teniendo en cuenta el tipo de inmunoglobulina y la especie animal que la produce, por ejemplo IgG de conejo), que se une, por una de sus dos regiones captadoras de antígeno, al anticuerpo primario, y un anticuerpo terciario (del mismo tipo de inmunoglobulina y especie animal que el anticuerpo primario) antiperoxidasa, unido específicamente a la enzima peroxidasa. El anticuerpo terciario se une específicamente por su región constante al anticuerpo secundario formándose un complejo terciario marcado con peroxidasa, fácilmente detectable mediante cualquiera de las reacciones cromogénicas descritas previamente. Toda la reacción se ilustra en la Figura 6.

Figura 6. Método peroxidasa-antiperoxidasa.

(Se ha omitido el paso final, la reacción cromogénica)

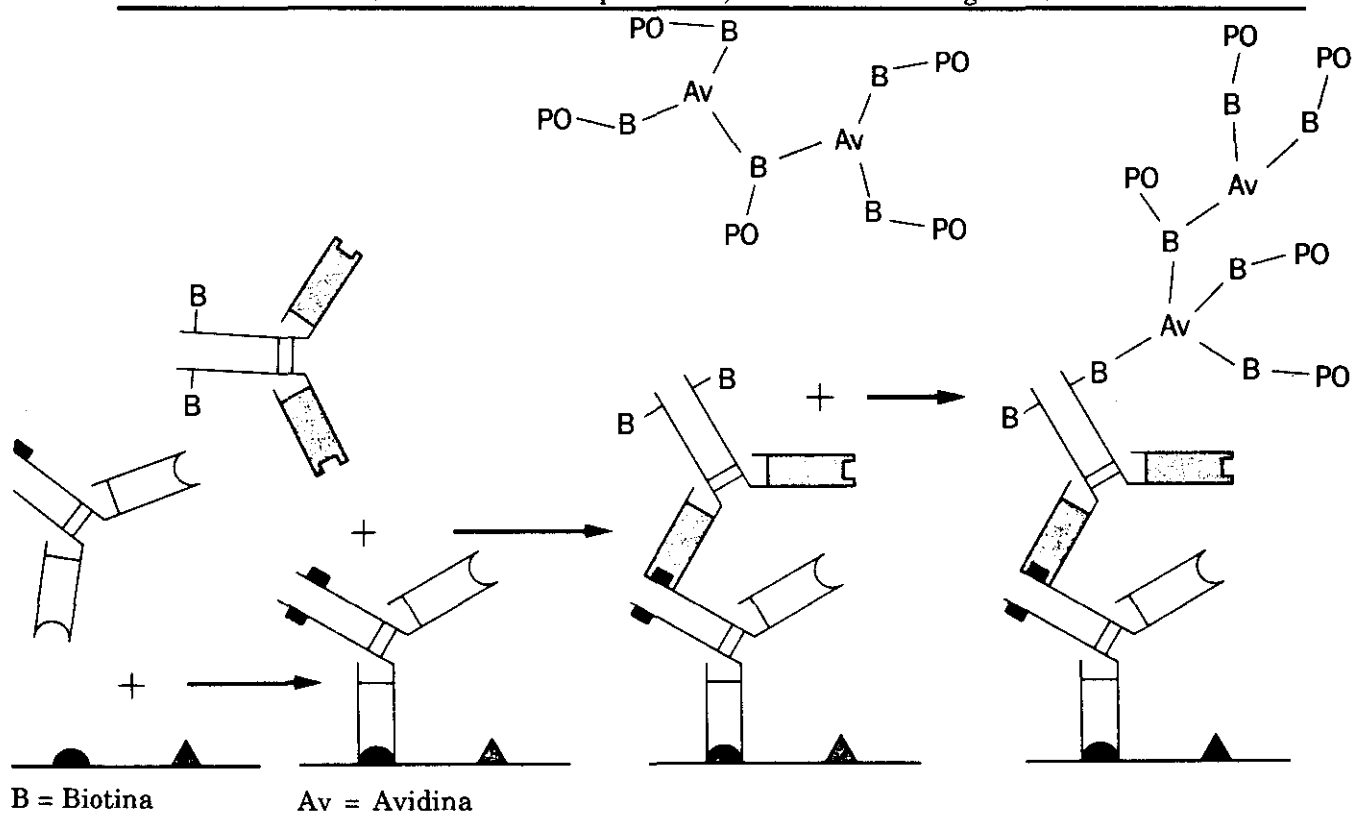


B- Los métodos inmunoenzimáticos avidina-biotina aprovechan la gran afinidad de la avidina por la biotina para que la peroxidasa llegue a unirse al anticuerpo empleado. De las diversas variantes de esta técnica, la más empleada actualmente es la ABC (complejo avidina-biotina-peroxidasa), descrito por Hsu et al. (197), cuya sensibilidad supera a las primeras técnicas que emplearon avidina y biotina (198).

Las avidinas son glucoproteínas que captan con gran avidéz (constante de disociación, $K_d = 10^{-15}$) a la vitamina biotina, de 244 kilodaltons. Esta afinidad es mucho mayor que la de cualquier reacción antígeno-anticuerpo. La avidina más empleada es la de la clara de huevo, que es una glucoproteína básica de 68 kilodaltons, con 4 sitios de unión a biotina de alta afinidad. El anticuerpo primario, tras unirse al antígeno, es detectado por un anticuerpo secundario conjugado con biotina (199). La peroxidasa (marcador) llega a unirse al anticuerpo secundario mediante un complejo de avidina-biotina y peroxidasa, que debe prepararse poco antes de su uso. Teóricamente, este complejo podría unirse inespecíficamente a proteínas tisulares, pero en la realidad esta tinción de fondo es mínima. La estreptavidina, proteína de 60 kilodaltons obtenida de la bacteria *Streptomyces avidinii*, que contiene 4 subunidades, cada una de ellas con un sitio de unión a biotina, tiene propiedades físico-químicas que permiten reducir al mínimo la tinción de fondo. El método ABC se resume en la figura 7.

Figura 7. Método del complejo avidina-biotina-peroxidasa.

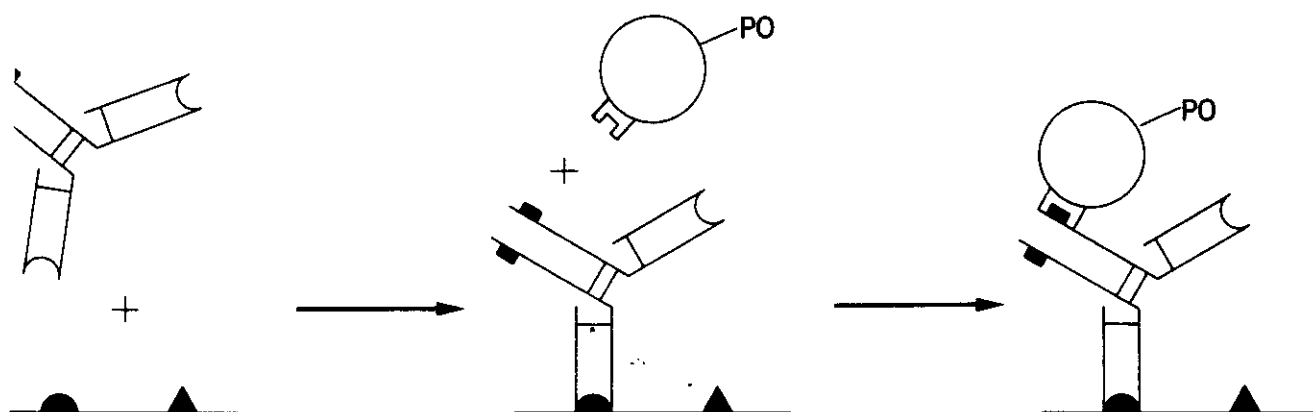
(Se ha omitido el paso final, la reacción cromogénica)



Es discutible si la técnica ABC es más o menos sensible que la PAP. Hay opiniones contrapuestas al respecto (197, 200). Ambas técnicas son al menos 10 veces más sensibles que el ingenioso método de la proteína A estafilocócica (201), que aprovechaba la gran afinidad de esta proteína por la región constante de las IgG, y la posibilidad de conjugarla con peroxidasa, fluoresceína u oro. El método de la proteína A estafilocócica (con peroxidasa como marcador) se lustra en la figura 8.

Figura 8. Método de la proteína A estafilocócica.

(Se ha omitido el paso final, la reacción cromogénica)



Tomado de True, 185

• **Objetivos de la inmunohistoquímica**

El objetivo de la inmunohistoquímica es caracterizar células, agentes infecciosos o macromoléculas de forma más precisa que las tinciones histoquímicas no inmunológicas. Para determinar los rasgos diferenciales en células morfológicamente mal caracterizables, por ejemplo tumores indiferenciados, hay que tener en cuenta que la precisión de la determinación de la histogénesis varía según el tipo de células y de tejido. En algunos diagnósticos diferenciales basta con la identificación de un único antígeno, por ejemplo la localización de queratina es generalmente diagnóstica de diferenciación epitelial. En otros casos, el tejido debe ser analizado con múltiples anticuerpos, debido a la variabilidad de expresión de diversos antígenos. Así sucede con la distinción entre adenocarcinoma y mesotelioma (Tabla 10).

Tabla 10. Porcentaje de tumores cuyas células contienen diversos antígenos

Tumor	Antígeno		
	EMA	CEA	Leu-M ₁
Mesotelioma	< 10%	< 10%	0
Adenocarcinoma	> 90%	> 90%	> 50%

Tomado de True, 185

Se ha intentado correlacionar la expresión de un antígeno o un conjunto de varios con un determinado tipo celular o tisular. Por ejemplo, la expresión de diferentes queratinas parece ser característica de células epiteliales de distintos tejidos (202, 203). En concreto, los adenocarcinomas de pulmón carecen de una queratina de 44 kilodaltons que es detectable inmunohistoquímicamente en el carcinoma de células escamosas (204). En cualquier caso, los datos actuales sugieren que la caracterización de diferentes carcinomas por su patrón de queratinas no es completamente específica. Así, carcinomas ováricos derivados del epitelio de superficie cuyo aspecto histológico es idéntico tiene distintos patrones de expresión de queratinas (205), y carcinomas escamosos de esófago pueden diferir también en los tipos de queratinas (206). También la inmunohistoquímica puede caracterizar funcionalmente a lesiones, hiperplásicas o neoplásicas. Por ejemplo, las células de un tumor insular pancreático o de un adenoma pituitario pueden identificarse por su contenido hormonal. La posibilidad de cuantificar el porcentaje de células de un tumor que expresan un determinado antígeno puede tener valor pronóstico, independientemente del estadio y del aspecto histológico. Así, un alto porcentaje de células de Langerhans en carcinomas puede asociarse a un mejor pronóstico (207), y un mayor porcentaje de células de carcinoma de próstata que contengan el producto de un oncogén ras se correlaciona con un peor grado histológico (208). Los melanomas con mucha positividad para proteína S-100 parecen tener un peor pronóstico (209). La cuantificación del antígeno en células tumorales puede también tener importancia terapéutica. Así, la cuantificación inmunohistoquímica de receptores a estrógenos en células de cáncer de mama predice la respuesta al tratamiento hormonal (210, 211). También se ha descrito que aquellos carcinomas medulares de tiroides que expresan calcitonina detectable inmunohistoquímicamente, suelen formar parte del síndrome de neoplasias endocrinas múltiples tipo I (MEN-I), mientras que los carcinomas medulares esporádicos contienen sólo unas pocas células positivas para calcitonina (212).

La proporción entre tipos celulares puede ayudar a un diagnóstico más preciso de la enfermedad, tal como sucede con el porcentaje de células plasmáticas que expresan las distintas cadenas pesadas de inmunoglobulinas, que ayuda a distinguir la enfermedad de Crohn de la colitis ulcerosa (213). Por inmunohistoquímica puede identificarse de forma específica la presencia de agentes infecciosos en un tejido. En cuanto a la detección de macromoléculas por inmunohistoquímica, puede ayudar al diagnóstico de enfermedades inmunológicas (por ejemplo, inmunoglobulinas en enferme-

dades cutáneas y renales) y metabólicas (por ejemplo, alfa-1-antitripsina en cirrosis). También puede localizar dentro de la célula a una determinada molécula, con mayor precisión que las técnicas bioquímicas. Así, la inmunohistoquímica permitió conocer que los receptores de estrógenos se localizan en el núcleo (214).

Nos centraremos a partir de ahora en el papel de la inmunohistoquímica en el diagnóstico de tumores morfológicamente indiferenciados. La hipótesis de partida es que los tumores malignos retienen parcialmente las características del tejido normal a partir del cual se originan. En tumores bien diferenciados, estas características pueden detectarse morfológicamente por microscopia óptica (por ejemplo, formación de glándulas en un adenocarcinoma). En tumores menos diferenciados en los que la microscopia óptica no identifica rasgos morfológicos específicos, la microscopia electrónica puede identificar rasgos morfológicos ultraestructurales que permitan un diagnóstico específico (por ejemplo, identificación de pre-melanosomas en un melanoma en el que la microscopia óptica no identifica melanina). En tumores altamente indiferenciados, incluso la microscopia electrónica puede no identificar estructuras que sugieran un diagnóstico específico. Pero en todo caso, las células de ese tumor contienen diversas proteínas más o menos específicas de tipo celular, que pueden ser identificables por inmunohistoquímica. Es de destacar la importancia de la identificación de filamentos intermedios.

Evidentemente, la inmunohistoquímica no logra en todos los casos llegar a un diagnóstico preciso. Incluso se han desarrollado ya nuevos métodos diagnósticos: así, en un tumor totalmente indiferenciado, la identificación de rearreglamiento de cadenas de inmunoglobulinas por técnicas de genética molecular, permite asegurar su origen linfoide. Con todo, la sencillez técnica de la inmunohistoquímica hace de ella el método complementario de primera elección en tumores indiferenciados no diagnosticables por microscopia óptica.

La multitud de anticuerpos disponibles comercialmente, así como la dificultad de interpretación de los resultados en ciertos casos hacen necesario sistematizar qué marcadores deben emplearse en la identificación de tumores indiferenciados. Pasaremos a esa cuestión, no sin antes considerar las causas de error en la interpretación de los resultados de un panel de estudio inmunohistoquímico.

- Causas de error en inmunohistoquímica

Probablemente ninguna otra técnica ha revolucionado tanto la histopatología en los últimos 50 años como la inmunohistoquímica. Sus ventajas son obvias: alta sensibilidad y especificidad, aplicabilidad a material procesado rutinariamente (incluso tras largos periodos de almacenamiento) y buena correlación con los parámetros morfológicos tradicionales. Es compatible con la mayoría de los fijadores empleados habitualmente en cualquier laboratorio de Anatomía Patológica (si bien ciertos antígenos celulares de superficie, en especial marcadores leucocitarios, se destruyen fácilmente y es recomendable buscarlos en tejido fijado por congelación) (215), e incluso

vencionales tales como la impregnación con plata en la misma preparación. Ha reemplazado y dejado obsoletas a muchas tinciones especiales y en ciertos casos, a la microscopia electrónica.

Como cualquier otra técnica, los estudios inmunohistoquímicos presentan potenciales errores que necesitan ser conocidos para evitar interpretaciones equivocadas. Muchos de estos errores pueden prevenirse con metodología escrupulosa, control periódico de la actividad de los anticuerpos y empleo apropiado de controles positivos y negativos.

Describiremos a continuación algunas causas de resultados falsamente positivos o falsamente negativos de un estudio inmunohistoquímico:

a) Resultados falsamente negativos:

- 1.- Anticuerpo inapropiado, desnaturalizado o a concentración errónea.
- 2.- Pérdida de antígeno por autólisis y/o difusión. Sucede preferentemente con ciertos antígenos (factor VIII), que difunden en muestras dejadas demasiado tiempo en fijador (formol).
- 3.- Presencia de antígeno a densidad menor que el umbral de detección de la técnica empleada.

Por todo ello, no debe descartarse por completo un diagnóstico fuertemente sugerido por la clínica y morfología por el simple hecho de que el estudio inmunohistoquímico con un marcador dé resultado negativo.

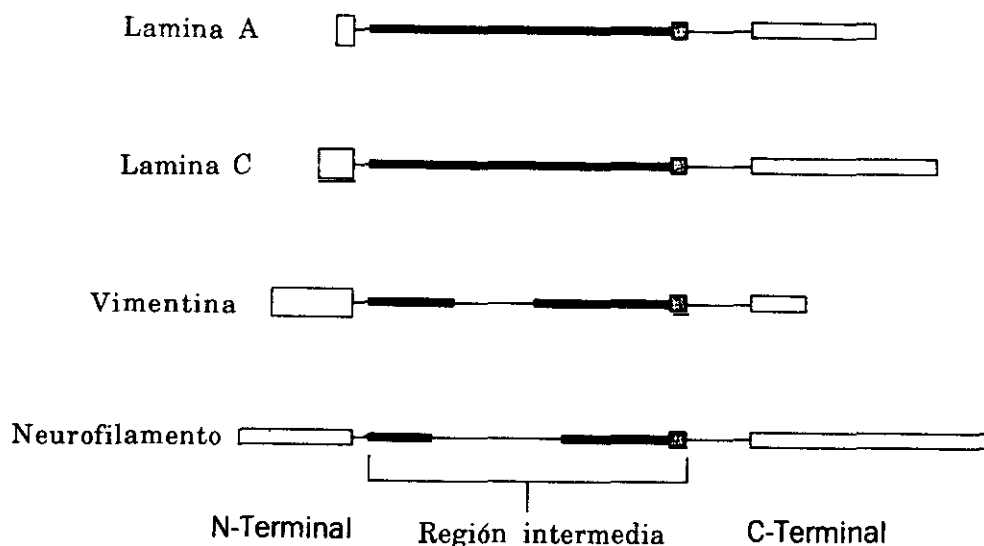
b) Resultados falsamente positivos: Pueden deberse o bien a unión específica del anticuerpo a antígenos distintos del esperado, relacionados estructuralmente con él, o a unión no antígeno-específica.

- 1.- Reactividad cruzada del anticuerpo con antígenos distintos al que se está buscando. Ello puede deberse a varios motivos:

** Homología en la secuencia de aminoácidos.*

Muchas moléculas comparten parte de su secuencia de aminoácidos, por ejemplo gastrina con colecistoquinina, alfa-1-antitripsina con alfa-1-antiquimotripsina, proteína S-100 con calmodulina y los diversos filamentos intermedios entre sí. Anticuerpos dirigidos contra una de estas sustancias pueden localizar a ambas. A menos que el investigador conozca la identidad antigénica parcial de ambas moléculas y la especificidad del anticuerpo para el determinante antigénico común, puede concluir erróneamente que se ha localizado específicamente una molécula. Tal problema es especialmente grave en el caso de los filamentos intermedios. Por ejemplo la vimentina tiene áreas de homología con los neurofilamentos y con dos proteínas asociadas a la membrana nuclear, la lámina A y la lámina C. Tal como se señala en la figura 9, las cuatro proteínas difieren casi exclusivamente en sus extremos. Por ello, la localización de actividad antineurofilamento en el núcleo de una célula puede representar reactividad cruzada con la lámina nuclear (223).

Figura 9. Esquema de las áreas de homología en la secuencia de aminoácidos entre las proteínas asociadas a la membrana nuclear lámina A y lámina C y los filamentos citoesqueléticos vimentina y neurofilamento. Estas cuatro proteínas difieren en sus extremos amino y carboxi terminales.



Tomado de True, 185

* *Antigenicidad similar.*

Incluso en antígenos con secuencias de aminoácidos totalmente diferentes, la presencia de determinados grupos de carbohidratos, tales como los reconocidos por el anticuerpo monodonal Leu-7, ó grupos fosfodiester, reconocidos por algunos anticuerpos lúpicos, puede dar lugar a reacciones cruzadas (224).

* *Anticuerpos contaminantes.*

Sobre todo en preparaciones de anticuerpos policlonales, pueden existir anticuerpos diversos además del esperado. Al igual que casi todos los humanos adultos tienen anticuerpos anti-neurofilamentos (225), y con cierta frecuencia anticuerpos anti-vimentina y/o anti-queratina, los conejos pueden tener anticuerpos anti-queratina endógenos. Esto puede explicar que los carcinomas escamosos muestran positividad para anticuerpos policlonales anti factor VIII (226). Se ha intentado purificar las preparaciones de anticuerpos mediante cromatografía de afinidad con el antígeno (si se conoce) o mediante cromatografía de afinidad con otros antígenos estructuralmente relacionados con el buscado, tratando de eliminar reacciones cruzadas.

El empleo de anticuerpos monoclonales ha permitido disminuir este problema, pero no eliminarlo por completo. Así, un 6% de los hibridomas obtenidos a partir de células plasmáticas de ratones recién nacidos contienen auto-anticuerpos, con frecuencia dirigidos frente a proteínas citoesqueléticas tales como la tubulina y la actina (227).

2.- Unión inespecífica del anticuerpo al tejido (228).

Hay muchas fuentes de falsa positividad por unión no específica del anticuerpo al tejido. La porción Fc de los anticuerpos puede unirse a receptores a Fc presentes en fagocitos y células cebadas del tejido (229). Tales receptores a Fc son lábiles y se inactivan rápidamente durante la fijación. También, los anticuerpos IgG pueden unirse a complemento presente en el tejido (230). El complemento es también lábil a la fijación. Ciertos anticuerpos tienen afinidad mediada electrostáticamente por células endocrinas del intestino, que puede simular reacción antígeno-anticuerpo (231). Tal actividad puede abolirse cambiando el pH y concentración salina de la solución. Asimismo, grupos aldehído libres procedentes de fijadores sobrantes pueden unir inespecíficamente los anticuerpos al tejido (232).

Ciertos péptidos neurohormonales como la ACTH y el VIP tienen afinidad por varios reactantes, como por ejemplo las inmunoglobulinas unidas a peroxidasa, la proteína A y la estreptavidina (233). Estas fuentes de falsa positividad son muy raras si se emplean sistemáticamente anticuerpos diluidos, y pueden detectarse si se emplea siempre como control positivo un anticuerpo irrelevante (185).

3.- Presencia de peroxidasa endógena en el tejido, o afinidad del tejido por el complejo avidina-biotina.

Existe actividad peroxidasa endógena en todos los tejidos que contienen hemoproteínas con grupos porfirina (hemoglobina, mioglobina o citocromos), entre ellos células epiteliales (mama, endometrio secretor), megacariocitos, células cebadas y tejido hepático entre otros. En la realidad, la fijación y deshidratación de los tejidos suprime tal actividad peroxidasa endógena (234, 235). En el caso de los tejidos que contienen muchos hematíes, neutrófilos, eosinófilos, basófilos o histiocitos, pueden requerirse técnicas que inactivan esta actividad enzimática (229).

El riñón, páncreas e hígado contienen altas concentraciones de biotina, que se une inespecíficamente al complejo avidina-biotina-peroxidasa. Tal unión puede bloquearse preincubando el tejido con avidina libre (236).

Debe también tenerse en cuenta que la peroxidasa tiene afinidad por membranas celulares, si bien ello desaparece tras la fijación (237). La afinidad del virus de la hepatitis B por la peroxidasa si puede dar falsas positividades incluso en tejido fijado (238) y requerir técnicas de neutralización previas (239). La avidina tiene afinidad por los núcleos y por la heparina de las células cebadas.

- 4.- Atrapamiento de tejidos normales por las células del tumor. Ejemplos de esto son: atrapamiento de músculo esquelético por un tumor de partes blandas (240), atrapamiento de epitelio folicular tiroideo por un linfoma de tiroides (241), y presencia de células epiteliales tímicas atrapadas en los linfomas que invaden el timo (242). Por este fenómeno, debe ponerse en duda cualquier caso de tumor endocrino con secreción multihormonal (243). El problema de atrapamiento de estructuras normales es tan difícil que sólo puede resolverse con estudio inmunohistoquímico de una metástasis en un órgano que carezca del componente tisular problema.
- 5.- Liberación de proteínas solubles por células adyacentes al tumor, y absorción inespecífica o bien fagocitosis de tales proteínas por células tumorales. Aunque esto puede representar un artefacto de laboratorio, se ha demostrado in vivo la captación de inmunoglobulinas por células de Reed-Sternberg (244), tiroglobulina por muy diversos tumores malignos que metastatizan en el tiroides (245, 241), factor VIII u otros marcadores endoteliales por tumores malignos que invaden vasos sanguíneos (246), y mioglobina por carcinomas de mama que invaden el músculo pectoral (247).

Un resultado falsamente positivo es extremadamente peligroso, pues puede conducir a un error diagnóstico mucho más fácilmente que un falso negativo. Pero la principal fuente de error diagnóstico en inmunohistoquímica reside en la *interpretación* de los resultados, más que en los errores de la técnica. Debe tenerse en cuenta siempre la posibilidad de que un marcador que en el presente se considera específico de un tipo celular demuestre en el futuro reaccionar con otros (248). La historia de la inmunohistoquímica incluye entre otros los siguientes ejemplos:

- Enolasa neuronal específica. Inicialmente se creyó específica de células derivadas de la cresta neural, en la actualidad se debe que también se expresa en otros tipos celulares (249).
- Alfa-1-antitripsina. Al principio se empleó como marcador de histiocitos y células reticulares, pero en la actualidad su utilidad diagnóstica es mínima tras haberse demostrado que se expresa en muchos otros tejidos, normales o neoplásicos, incluidos carcinomas, sarcomas y melanomas (250, 251).

- Proteína S-100. Originalmente se creyó específica de células del sistema nervioso central, pero hoy se sabe que también se expresa en muchos otros tipos celulares, desde las células reticulares a los condrocitos (252).
- Vimentina. No sólo la expresan células de origen mesodérmico sino tumores neurales (253) y epiteliales, incluidos algunos casos de carcinoma (254-257).
- Antígeno de membrana epitelial. Primero se creyó específico de epitelio mamario, luego de mama y anejos cutáneos, más tarde de células epiteliales en general, y hoy se sabe que muchos tumores mesenquimales y linforeticulares también lo expresan (258).

El número de antígenos detectables por inmunohistoquímica en cortes histológicos es gigantesco, y se incrementa día a día. Teóricamente, cualquier sustancia cuya antigenicidad persista en cortes de tejido puede ser determinada por técnicas inmunohistoquímicas. Debe prestarse especial atención al anticuerpo empleado en cada estudio, pues antígenos inicialmente detectados con anticuerpos policlonales, de escasa utilidad debido a las múltiples reacciones cruzadas, pueden detectarse hoy con anticuerpos monoclonales, de mucha mayor especificidad. Tal es el caso del antígeno carcinoembrionario (259). Además, debe considerarse que anticuerpos monoclonales de distintas casas comerciales pueden ir dirigidos a diferentes epitopos de un mismo antígeno. Debe tenerse en cuenta siempre que la prueba de que una molécula está realmente presente en un tejido debería ser en último caso la prueba de que es funcionalmente activa, hecho no detectable por inmunohistoquímica. Además, el hecho de que prácticamente todos los laboratorios de inmunohistoquímica dependen en cuanto a datos de sensibilidad y especificidad de un anticuerpo de las referencias del proveedor, puede dar lugar a resultados inesperados (260).

Finalmente, resumiremos unas reglas básicas de interpretación, esenciales para los estudios inmunohistoquímicos (185):

- 1.- El sitio donde se localiza la sustancia puede no indicar el sitio donde se ha sintetizado (por ejemplo, los macrófagos pueden fagocitar hemoglobina (261)). La localización por inmunomicroscopia electrónica del antígeno en el retículo endoplásmico sugiere fuertemente que es allí donde se sintetiza (262).
- 2.- La expresión de un antígeno por un tipo celular no es siempre estable y puede depender de la fase del ciclo celular (263). Las células mesoteliales disminuyen su síntesis de algunas queratinas, y aumenta la síntesis de vimentina y otras queratinas cuando crecen rápidamente (264, 265).
- 3.- Las células de un tumor no son homogéneas en la producción de un antígeno. Así, el porcentaje de células de carcinoma de pulmón que marcan positivamente para queratina oscila entre

el 1% y el 100% (266), y lo mismo sucede en tumores endocrinos funcionantes respecto a la síntesis hormonal (243).

- 4.- La nomenclatura debe expresar correctamente los hechos. Por ejemplo, el que un tumor sea "positivo para queratina" no debe hacernos olvidar que: sólo parte de las células contienen queratina y que la queratina no es una proteína única, sino al menos 20 proteínas diferentes. Dado que además el anticuerpo empleado sólo detecta un determinado epitopo presente en algunas queratinas, la no detección de queratina no debe hacernos afirmar categóricamente que el tumor no contiene queratinas.
- 5.- Las afirmaciones de la literatura sobre la especificidad de un determinando antígeno para un tipo celular pueden no ser correctas.
- 6.- El significado clínico de un diagnóstico basado exclusivamente en datos inmunohistoquímicos no se conoce todavía. En concreto, no se sabe si los tumores morfológicamente indiferenciados en los que se llega a un diagnóstico por el estudio inmunohistoquímico se comportan clínicamente como el resto de tumores de esa estirpe. Así, los tumores muy indiferenciados que por inmunohistoquímica se diagnostican de melanomas parecen responder mucho mejor a la quimioterapia que los melanomas usuales (268).

Los filamentos intermedios son probablemente el área más interesante de la inmunopatología moderna (185), debido a su amplia aplicación en el diagnóstico de enfermedades neoplásicas y no neoplásicas. Estas proteínas fibrosas intracelulares están presentes prácticamente en todas las células de mamíferos, y ayudan a mantener la estructura de cada célula al formar parte importante del citoesqueleto. Desde su descripción ultraestructural en 1968, se ha suscitado un enorme interés por estas proteínas. El examen ultraestructural permitió inicialmente diferenciar tres tipos de filamentos citoplásmicos, clasificados según su diámetro:

- Filamentos finos: actina (6 nm de diámetro).
- Filamentos intermedios (10 nm).
- Filamentos gruesos: miosina (15 nm) y microtúbulos (25 nm).

La caracterización bioquímica e inmunológica de los filamentos intermedios permitió distinguir 5 subclases principales: queratinas, desmina, vimentina, neurofilamentos y proteína ácida fibrilar glial (269). Los filamentos intermedios son el principal componente del citoesqueleto y forman una fina red fibrilar desde la membrana celular hasta el núcleo (270), por lo que se cree que funcionan como elementos de anclaje para el núcleo y las organelas dentro del espacio intracelular.

Pronto se observó que las diferentes subclases de filamentos intermedios eran características de diferentes tipos de células, y que en tejidos adultos sólo se expresaba una subclase de filamento intermedio en cada tipo celu-

lar: queratinas en células epiteliales, desmina en células mesenquimales miogénicas, vimentina en células mesenquimales no miogénicas, neurofilamentos en células neurales, y proteína ácida fibrilar glial en células gliales. Los primeros investigadores encontraron evidencias de que podría determinarse el origen celular de cualquier tumor humano caracterizando sus filamentos intermedios citoesqueléticos. En años posteriores se ha confirmado en general la validez de estas evidencias, pero se ha encontrado que la biología de los filamentos intermedios es más complicada de lo que se había creído inicialmente. Puede encontrarse coexpresión de varios filamentos intermedios en algunos tejidos, generalmente fetales o neoplásicos (271, 272). También se ha observado que la expresión de filamentos intermedios en una célula puede alterarse según el estado proliferativo y la exposición a fármacos. A pesar de la precaución suscitada por estas observaciones, los filamentos intermedios se han demostrado muy importantes para definir categorías de neoplasias (205; 273; 275).

La expresión de filamentos intermedios en neoplasias humanas, salvo excepciones, es como sigue:

queratinas: carcinoma, mesotelioma, cordoma, tumores germinales no seminomatosos, sarcoma sinovial, sarcoma epitelióide.

vimentina: neoplasias mesenquimales no miogénicas, melanoma maligno, linfomas, algún carcinoma.

desmina: tumores mesenquimales miogénicos (músculo liso o estriado).

proteína ácida fibrilar glial: astrocitoma, ependimoma, meduloblastoma.

neurofilamentos: neuroblastoma, ganglioneuroma, ganglioneuroblastoma, feocromocitoma, paraganglioma, carcinoma pulmonar de células pequeñas, tumor de Merkel.

La estructura de cada uno de los filamentos intermedios se conoce de forma bastante precisa: las queratinas son la subclase más compleja, con alrededor de 30 tipos reconocidos (272) de los cuales Moll ha podido catalogar 19 por electroforesis bidimensional en gel (202). Su peso molecular oscila entre 40 y 70 kilodaltons. El resto de las subclases de filamentos intermedios son menos complejos: la desmina es una única proteína de 52 kilodaltons, lo mismo que la vimentina (53 kilodaltons) y la proteína ácida fibrilar glial (50 kilodaltons), mientras que los neurofilamentos son un triplete de proteínas cuyos pesos moleculares son 65 kilodaltons, 105 kilodaltons y 135 kilodaltons. La estructura de todos los filamentos intermedios tiene rasgos comunes, con una hélice alfa, y un enrollamiento de varias hélices en soga alrededor de un eje común. La secuencia de aminoácidos de la porción central de cada una de estas proteínas es muy similar, y similar también a las de varias proteínas de la lámina interna de la cubierta nuclear (laminas A, B y C) (277, 223). Los diversos filamentos intermedios difieren principalmente en sus extremos amino y carboxi terminales. Si se emplean anticuerpos dirigidos contra zonas del filamento comunes con otros filamentos intermedios o con las laminas A o C; pueden surgir errores de interpretación.

Se han publicado varias revisiones sobre la utilización de los anticuerpos dirigidos frente a filamentos intermedios en Anatomía Patológica, bien sea sobre tejidos, sobre citología de líquidos o en muestras obtenidas por punción aspiración con aguja fina (278-284).

• Caracterización inmunohistoquímica de los tumores humanos

De la experiencia acumulada en los últimos 20 años ha llegado a confeccionarse un panel de marcadores inmunohistoquímicos para clasificar tumores indiferenciados (Tabla 11). Tras conocer los resultados de los marcadores iniciales, debe apoyarse el diagnóstico con marcadores adicionales, diferentes según la estirpe tumoral que se sospeche.

Tabla 11. Marcadores para la clasificación de tumores indiferenciados

Diagnóstico	Subtipo (s)	Marcador (es) inicial (es)	Marcador (es) adicional (es)
Carcinoma:	Carcinoma escamoso Adenocarcinoma	Citoqueratina, EMA desmoplaquina	Citoqueratinas 5 y 6 Citoqueratinas 8,18y 19
Tumores bifásicos:	Sinoviosarcoma Sarcoma epiteliode Mesotelioma	Citoqueratina, vi- mentina Citoqueratina, vi- mentina Citoqueratina, vi- mentina	
Linfomas:	de células B de células T	Antígeno leucocita- rio común (LCA) Inmunoglobulinas	Antígenos de célulasB Antígenos de célulasT
Melanoma:		ProteínaS-100, NKI/C3	HMB-45
Sarcomas:		Vimentina Laminina, colágeno tipo IV	Desmina, miosina, mioglobina. Antígeno relaciona- do con el factor VIII
- reactivos para membrana basal:	Miosarcomas Angiosarcoma		
- no reactivos	Liposarcoma para membrana basal: Fibrosarcoma Histiocitoma fibroso maligno		

Una vez se ha identificado a un tumor como carcinoma, se plantea la pregunta ¿qué tipo de carcinoma?. Como primer paso, deben diferenciarse los carcinomas escamosos de los adenocarcinomas y de los carcinomas neuroendocrinos. A este respecto el tipaje de las queratinas es muy útil. Los 20 polipéptidos de citoqueratina identificados (202) pueden distinguirse por electrofóresis bidimensional (Tabla 12). Las citoqueratinas básicas 5 y 6 se expresan casi exclusivamente en carcinomas de células escamosas, mientras que las citoqueratinas 7 y 8 (básicas) y las 18 y 19 (ácidas) aparecen predominantemente en adenocarcinomas, carcinomas neuroendocrinos y carcinomas de células transicionales (286). Se han desarrollado anticuerpos específicos frente a algunas de estas queratinas, que permiten subdividir los carcinomas por inmunohistoquímica. Están en estudio marcadores que permitan identificar o clasificar de forma más precisa los tumores epiteliales. Así, el espectro de queratinas del adenocarcinoma de mama presenta diferencias con el de otros carcinomas (288).

Tabla 12. Catálogo de las citoqueratinas

Peso molecular (kilodaltons)	Nº de Moll Básicas	Ácidas	Tipo de epitelio	Reactividad con anticuerpos		
67	1		Escamoso	AE3		
	2					
		9			Escamoso y ductal	
60	3					
	4					
	5					
		10				
	6					
		11				
55		12				
	7				Simple y ductal	AE1
		13				
50	8					
		14,15				
		16		CAM		
		17		5.2		
45		18				
40		19				

Tomado de Moll, 202

• Caracterización inmunohistoquímica del mesotelioma pleural maligno

Las características inmunohistoquímicas del mesotelioma pleural maligno son las propias de un tumor de origen mesenquimal que presenta algunos rasgos de diferenciación epitelial.

Los mesoteliomas no epiteliales coexpresan dos tipos de filamentos intermedios: citoqueratinas de bajo peso molecular (diferenciación epitelial) y vimentina (diferenciación mesenquimal). Los mesoteliomas epiteliales expresan citoqueratinas de alto y bajo peso molecular, pero no vimentina. Las características inmunohistoquímicas de los distintos tipos histológicos de mesotelioma se resumen en la tabla 13.

Tabla 13. Rasgos inmunohistoquímicos de los mesoteliomas pleurales

Variante histológica	Antígenos					
	Vimentina	Queratinas bajo p.m.	Queratinas alto p.m.	EMA	HMFGP*	CEA
a) EPITELIAL						
• Tubulopapilar	(-)	+	+	+	+	(-)
• Epitelioide	(-)	+	+	+	+	(-)
• Glandular	+	+	+	+	+	(-)
• Células grandes	+ / (-)	+	+	+	+	(-)
• Células pequeñas	+ / -	+	+	+	+	(-)
• Adenoide quístico	(-)	+	+	+	+	(-)
• Anillo de sello	(-)	+	+	+	+	(-)
b) SARCOMATOIDE	+	+	(-)	+ / -	+ / -	(-)
c) BIFASICO (Mixto)						
• Células epiteliales	(-)	+	+	+	+	(-)
• Células sarcomatoides	+	+	(-)	+ / (-)	+ / (-)	(-)
d) TRANSICIONAL	+	+	+ / (-)	+ / (-)	+ / (-)	(-)
e) DESMOPLASICO	+	+	(-)	+ / (-)	+ / (-)	(-)
f) M. fibroso localizado	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

* Proteína de los glóbulos grasos de la leche humana, muy relacionada estructuralmente con el antígeno de membrana epitelial (EMA).

Tomado de Dail, 68

a) Mesoteliomas epiteliales Las células de los mesoteliomas epiteliales marcan positividad para queratinas de alto y bajo peso molecular. Tal tinción es difusa, pero con una cierta acentuación perinuclear en anillo, especialmente frente a queratinas de alto peso molecular, correspondiendo a la zona de tonofilamentos perinucleares apreciable con microscopía electrónica. También muestran positividad a lo largo de la membrana celular para dos antígenos de membrana, el antígeno epitelial de membrana (EMA) y la proteína de los glóbulos grasos de la leche humana. Estos dos antígenos parecen estar relacionados entre sí. Como todos los mesoteliomas, son constantemente negativos para el antígeno carcinoembrionario (CEA). En general, los mesoteliomas epiteliales son negativos para vimentina, si bien casi todos los mesoteliomas de células pequeñas y alguno de células grandes marcan positividad para vimentina.

b) Mesotelioma sarcomatoide Sus células marcan positividad para queratinas de bajo peso molecular y para vimentina. Son negativos para queratinas de alto peso molecular y CEA, y presentan un patrón de tinción variable frente al EMA y la proteína de los glóbulos grasos de la leche humana.

c) Mesotelioma bifásico Las células de aspecto epitelial presentan los mismos rasgos inmunohistoquímicos que las de los mesoteliomas epiteliales, y las células sarcomatoides marcan como un mesotelioma sarcomatoide.

d) Mesotelioma transicional En general marca positivamente para queratinas de bajo peso molecular y vimentina, negativamente para CEA, y puede marcar positiva o negativamente para queratinas de alto peso molecular, EMA y proteína de los glóbulos grasos de la leche humana.

c) Mesotelioma desmoplásico Las células tumorales de esta rara variedad de mesotelioma marcan positivamente para vimentina y queratinas de bajo peso molecular, negativamente para CEA y queratinas de alto peso molecular, y de forma variable frente al EMA y la proteína de los glóbulos grasos de la leche humana.

IV.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL MESOTELIOMA PLEURAL MALIGNO

IV.1.- DESCRIPCIÓN DE OTROS TUMORES Y PSEUDOTUMORES PLEURALES

IV.1. a) Hiperplasia mesotelial reactiva

No siempre es posible diferenciar los mesoteliomas epiteliales con poca anaplasia de las proliferaciones mesoteliales reactivas si sólo se dispone de un pequeño espécimen biopsico (6). La cubierta mesotelial que recubre la superficie de la pleura tiene una gran capacidad de sufrir alteraciones hiperplásicas floridas cuando es irritada (163). Algunas de las causas posibles de hiperplasia mesotelial reactiva se describen en la tabla 14.

Tabla 14. Principales causas de hiperplasia mesotelial reactiva

-
- 1.- Neumonía antigua.
 - 2.- Hemotórax organizado.
 - 3.- Tuberculosis.
 - 4.- Vecindad a tumores.
 - 5.- Afecciones autoinmunes.
 - 6.- Asbestosis.
 - 7.- Otras (endometriosis, amiloidosis, etc).
-

Tomado de Rosai, 8

Histológicamente, la hiperplasia mesotelial reactiva está compuesta de láminas de células mesoteliales dispuestas en la superficie pleural, mezcladas con fibrina e infiltrado inflamatorio mononuclear con algunas células cebadas. Las células mesoteliales son planas, cuboidales o columnares con núcleos grandes y nucleolos prominentes. A veces, las células hiperplásicas producen masas pseudotumorales a lo largo de la pleura visceral (290). Tales proliferaciones se limitan a la superficie de la serosa, y suele observarse una transición gradual entre el mesotelio normal y el hiperplásico, rasgos ambos que faltan en el mesotelioma (6).

Kawai et al. (290), han estudiado los rasgos histoquímicos de la hiperplasia mesotelial y del mesotelioma. Las células de la hiperplasia mesotelial se tiñen con hierro coloidal en la membrana plasmática, son débilmente positivas con azul Alcian, positividad que desaparece con hialuronidasa y contienen gránulos PAS- diastasa positivos. Los autores demostraron histoquímicamente la presencia de enzimas lisosomiales tales como la beta-glucuronidasa, la N-acetil-beta-glucosaminidasa (débilmente positiva) y la fosfatasa ácida. También fueron positivas la alfa-naftil-acetato-esterasa y la naftol ASD acetato-esterasa en las células hiperplásicas, mientras no se demostró actividad de fosfatasa alcalina o ATP-asa. Las tinciones con hierro coloidal y PAS resultaron más intensas en los mesoteliomas que en las células hiperplásicas, que parecen contener menos glucógeno que las primeras (290). También Kawai et al (290) en 1981 señalaron la importancia de la relación núcleo-citoplásmica en el diagnóstico diferencial entre hiperplasia mesotelial y mesotelioma.

En una revisión posterior, McCaughey (291) señaló que el grado de proliferación y atipia celular medidos por el tamaño e irregularidad nuclear, hipercromatismo y pleomorfismo son las características principales que permiten diferenciar ambas entidades, si bien otras características pueden ser orientativas (Tabla 15).

Tabla 15. Rasgos orientativos de mesotelioma

-
- 1.- Nódulos macroscópicos.
 - 2.- Proliferación mesotelial papilar.
 - 3.- Necrosis.
 - 4.- Atipia citológica.
 - 5.- Invasión.
-

Tomado de McCaughey (291) y Rosai (289)

En los últimos años se reconoce la inutilidad de los exámenes inmunohistoquímicos para diferenciar hiperplasia mesotelial de mesotelioma (292), pues las células mesoteliales reactivas tienen rasgos inmunohistoquímicos prácticamente idénticos a las de mesoteliomas, a pesar de algunos artículos que señalaban diferencias (293, 294).

Sí parecen extremadamente útiles las técnicas morfométricas que cuantifican el área nuclear. Kwee et al. (295) analizaron 25 casos de hiperplasia mesotelial reactiva y 27 casos de mesotelioma pleural maligno. En todos los casos de hiperplasia, el área nuclear medida a 100 aumentos en muestras teñidas con hematoxilina-eosina fue menor de 30 milimicras cuadradas (rango 15,11-29,91), mientras que en los mesoteliomas la media fue 59,3 milimicras cuadradas (rango 36-101). Se han empleado técnicas morfométricas en la evaluación diagnóstica de citologías de líquido pleural (296, 297), utilizando análisis digital de la imagen. Christen et al (297) encontraron que con este método podían determinar parámetros de textura y momentos de invarianza capaces de discriminar entre mesotelioma e hiperplasia reactiva. En especímenes biópsicos, Robutti et al. (298) determinaron rasgos nucleares empleando ordenador (13 parámetros) o no (7 parámetros) en 17 mesoteliomas y 10 casos de hiperplasia mesotelial. El índice de contorno nuclear, la desviación estandar del área nuclear y la media del perímetro nuclear fueron los rasgos diferenciales más útiles.

Establecido ya que las características del núcleo son el rasgo diferencial más útil entre mesotelioma e hiperplasia mesotelial (299), un problema adicional es que raramente se han descrito proliferaciones mesoteliales papilares de apariencia benigna que acabaron progresando a mesoteliomas malignos (300-302). El hallazgo de Kwee et al. (295) de que el área nuclear elevada de las células de una de estas lesiones preneoplásicas permitió diferenciarla de las hiperplasias mesoteliales usuales abre una vía para el diagnóstico diferencial de estas entidades.

La diferenciación entre fibrosis pleural reactiva y mesotelioma es un problema de importancia creciente en anatomía patológica desde que en 1980 se describió el mesotelioma desmoplásico, variante de mesotelioma difuso en

la que las células malignas son escasas y están inmersas en un estroma fibroso casi idéntico al observado en casos de pleuritis crónica organizada con fibrosis. El diagnóstico diferencial es casi imposible en biopsias pleurales pequeñas, y es difícil incluso en especímenes de decorticación (291). Es básico a este respecto señalar que, así como los mesoteliomas desmoplásicos pueden contener áreas idénticas microscópicamente a tejido cicatricial, pueden encontrarse zonas moderadamente hipercelulares en casos de fibrosis reactiva.

Una dificultad adicional es que el antecedente de exposición al asbesto no es muy orientativo, pues muchos de estos pacientes presentan únicamente placas pleurales fibrosas secundarias al asbesto, las cuales suelen originarse en la pleura parietal y contienen tejido fibroso hialino pobremente celular con un típico patrón "en cesta". Tales placas pueden estar aisladas o en la vecindad de un mesotelioma.

Puesto que las características histoquímicas e inmunohistoquímicas de las lesiones fibrosas pleurales benignas y de los mesoteliomas desmoplásicos son superponibles, el diagnóstico diferencial entre ambas entidades se basa actualmente en rasgos histológicos (Tabla 16).

Tabla 16. Rasgos histológicos de sospecha de mesotelioma desmoplásico en una lesión fibrosa pleural

-
- 1.- Atipia nuclear.
 - 2.- Necrosis.
 - 3.- Presencia de patrones tisulares complejos bien desarrollados, por ejemplo fascicular o estoriforme.
 - 4.- Infiltración de tejidos adyacentes.
-

Tomado de McCaughey, 291.

En casos de duda, y dado la rápida y fatal evolución de los mesoteliomas desmoplásicos, el curso clínico es muy importante para el diagnóstico final.

IV.1. b) Mesotelioma fibroso solitario (Tumor fibroso localizado de cavidades serosas)

Se trata de un tumor fusocelular generalmente benigno que suele localizarse en pleura, aunque también se han descrito casos en peritoneo (303) y pericardio (304). En la actualidad se considera que procede del tejido conectivo submesotelial más que del mesotelio en sí (6), por lo que se debería clasificar como una variante de fibroma, mientras los raros casos de tumor fibroso localizado maligno serían en realidad fibrosarcomas. Macroscópicamente, está siempre bien circunscrito y a veces incluso encapsulado. Al corte, es un tumor firme, lobulado, blanco-grisáceo o blanco-amarillento, con frecuentes remolinos y faciculación, que recuerda a un leiomioma uterino. El diámetro medio es de 6 centímetros, aunque puede llegar a superar los 20 centímetros (306). Suele estar conectado con la pleura visceral (80%), y más raramente con la pleura parietal, o la fisura interlobular. Muy raramente puede localizarse dentro del parénquima pulmonar sin conexión pleural (307, 308). Microscópicamente, existe una trama densa de células de

aspecto fibroblástico, junto con depósito de abundantes fibras de reticulina y de colágeno. El grado de celularidad es variable de caso a caso. Son frecuentes las áreas con vascularización que simula hemangiopericitoma (304). Los tipos más celulares pueden confundirse con fibrosarcoma o schwannoma maligno, pero sólo en casos en los que existan aberraciones nucleares o frecuentes mitosis, debe sospecharse el raro diagnóstico de tumor fibroso localizado maligno (309-311). En algunos casos pueden encontrarse acúmulos de células cuboidales formando papilas, túbulos o nidos sólidos en la periferia de un tumor predominantemente fibroso, probablemente por atrapamiento de tejido no neoplásico adyacente. Ultraestructuralmente, las células muestran rasgos fibroblásticos. El tumor está constituido por células fusiformes homogéneas, que muestran rasgos mesoteliales, inmersas en una matriz colágena, y con escasas organelas. No se identifican rasgos mesoteliales (304). Los estudios inmunohistoquímicos de este tumor han mostrado inmunorreactividad citoplásmica difusa para vimentina (304, 68, 312-319), mientras que las tinciones para queratina y otros marcadores epiteliales (EMA, proteína de los glóbulos grasos de la leche humana y antígeno carcinoembrionario, entre otros) son siempre negativas (68).

Aunque durante mucho tiempo se ha considerado a este tumor como una forma de mesotelioma, debido sobre todo al patrón de crecimiento de las células tumorales en cultivo de tejidos (320), los hallazgos ultraestructurales e inmunohistoquímicos han hecho que en la actualidad se considere que este tumor surge a partir de células mesenquimales presentes en el tejido subyacente al mesotelio, por lo que los términos fibroma submesotelial o tumor fibroso localizado parecen mucho más apropiados que el de mesotelioma fibroso benigno. La citometría de flujo llevada a cabo en 14 casos de tumor fibroso localizado por El - Naggar et al. (304) mostró en todos los casos contenido diploide de DNA y bajo porcentaje de células en fase S, como podría esperarse en un tumor de comportamiento clínico benigno. Con el término mesotelioma epitelial benigno, se han descrito excepcionalmente en cavidad pleural dos lesiones que son más frecuentes en peritoneo y a las que nos referiremos al hablar de mesoteliomas peritoneales: el mesotelioma papilar bien diferenciado (321), y la proliferación mesotelial multiquística ("mesotelioma multiquístico") (305).

IV.1. c) Adenocarcinoma pulmonar

El cáncer de pulmón es la causa más frecuente de mortalidad por cáncer en el mundo occidental, tanto en varones como, en Estados Unidos, en mujeres (en mujeres españolas, su frecuencia es menor que la del carcinoma de mama). El constante aumento de frecuencia de estos tumores, que se ilustra en las Figuras 10 y 11, ha sido paralelo a la extensión del hábito de fumar en la población. A principios de este siglo se escribió que "el cáncer de pulmón, si bien debe existir, es uno de los tipos de tumor más raros" (323). La popularización del hábito de fumar fue paralela a las guerras mundiales. El consumo de tabaco en varones aumentó dramáticamente tras la Primera Guerra Mundial, y en mujeres tras la Segunda Guerra Mundial.

En 1958, Hammond y Horn (324) publicaron su ahora famoso estudio prospectivo que encontró una marcadísima asociación entre el cáncer de pulmón y el hábito de fumar tabaco. El riesgo relativo de morir por cáncer de pulmón en fumadores respecto a no fumadores osciló entre 23 y 88. Posteriores estudios encontraron una clara relación dosis-respuesta (Tabla 17).

Tabla 17. Relación entre el número de cigarrillos fumados diariamente y el riesgo de morir por cáncer de pulmón

<i>Número de cigarrillos/día</i>	<i>Riesgo relativo</i>
No fumador	1,00
1-9	3,89 - 9,50
10-19	8,62 - 15,8
20-39	14,69 - 16,70
40 ó más	18,71 - 23,70

Tomado de De Vita, 8

Globalmente, el 87-100% de los pacientes que se diagnostican de cáncer de pulmón son fumadores o ex-fumadores (325-332). El riesgo de desarrollar cáncer de pulmón disminuye marcadamente en aquellos que dejan de fumar, tal como encontraron Peto y Doll (333), llegando a ser casi equiparable al de los no fumadores transcurridos 15 años sin fumar (Tabla 20).

Tabla 20. Riesgo de morir por cáncer de pulmón en ex-fumadores según el número de años sin fumar

<i>Años sin fumar</i>	<i>Riesgo relativo</i>
0 (fumadores)	11,28 - 14,00
1-4	16,00 - 18,83
5-9	5,90 - 7,73
10-14	4,71 - 5,30
15-19	4,81
20 ó más	2,10
Nunca fumaron	1,00

Tomado de De Vita, 8

Otros factores de riesgo para cáncer de pulmón, de mucha menor importancia cuantitativa, son el convivir con fumadores (fumador pasivo) (334-348), la exposición a gases radioactivos naturales (radon) (349-351), y factores ocupacionales, especialmente exposición a asbesto (el cáncer de pulmón es el tipo de tumor maligno más frecuente en trabajadores de asbesto).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó en 1981 la última clasificación histológica de tumores pulmonares (tabla 21) que diferencia cuatro tipos histológicos principales: carcinoma escamoso, carcinoma indiferenciado de células pequeñas, adenocarcinoma y carcinoma de células grandes. Los criterios diagnósticos de cada uno se resumen en la Tabla 22.

Tabla 22. Clasificación histológica de tumores pulmonares (OMS)

- 1.- Carcinoma escamoso (carcinoma epidermoide). Variante:
 - a) Fusocelular (carcinoma escamoso).
 - 2.- Carcinoma de células pequeñas
 - a) Carcinoma de células en grano de avena (oat cell).
 - b) Tipo de células intermedias.
 - c) Carcinoma oat cell combinado.
 - 3.- Adenocarcinoma
 - a) Adenocarcinoma acinar.
 - b) Adenocarcinoma papilar.
 - c) Carcinoma bronquioloalveolar.
 - d) Carcinoma sólido con formación de moco.
 - 4.- Carcinoma de células grandes . Variantes:
 - a) Carcinoma de células gigantes.
 - b) Carcinoma de células claras.
 - 5.- Carcinoma adenoescamoso
 - 6.- Carcinoide
 - 7.- Carcinomas de glándulas bronquiales
 - a) Adenoide quístico.
 - b) Carcinoma mucoepidermoide.
 - c) Otras.
 - 8.- Otros.
-

Tomado de la Organización Mundial de la Salud, 352.

Tabla 22. Criterios diagnósticos de las neoplasias malignas de pulmón

CARCINOMA ESCAMOSO:

Tumor epitelial maligno con queratinización y/o puentes intercelulares entre células adyacentes.

CARCINOMA INDIFERENCIADO DE CÉLULAS PEQUEÑAS

Tumor maligno constituido por pequeñas células uniformes con núcleos redondos u ovalados densos, cromatina difusa, y nucleolos inaparentes.

ADENOCARCINOMA

Tumor epitelial maligno con formación definida de glándulas, o producción de moco detectable con tinciones especiales (PAS-diafásica, mucicarmina, etc.).

CARCINOMA INDIFERENCIADO DE CÉLULAS GRANDES

Tumor epitelial maligno con grandes células de núcleo grande, nucleolo eosinófilo prominente y sin diferenciación escamosa o glandular detectable por microscopía óptica.

Tomado de Dail, 68

El adenocarcinoma de pulmón es el tipo de cáncer de pulmón más heterogéneo morfológicamente, y en las dos últimas décadas, su frecuencia ha aumentado mucho, pasando a ser el tipo histológico más frecuente de cáncer de pulmón, por encima del carcinoma escamoso (Tabla 23).

Tabla 23. Aumento de la frecuencia relativa de adenocarcinoma de pulmón

Tipo histológico	Frecuencia (% de los cánceres pulmonares)	
	1963-1967	1974-1976
Carcinoma escamoso	25%	26%
Adenocarcinoma	33%	44%
Ca. de células pequeñas	17%	15%
Ca de células grandes	17%	7%

Tomado de Valaitis, 353.

El adenocarcinoma es el tipo más frecuente de cáncer de pulmón en mujeres (353), y en no fumadores (354, 355), aunque el riesgo de adenocarcinoma está aumentado en fumadores (354). La mayoría de los adenocarcinomas surgen en la periferia del pulmón (356-358), y es frecuente la invasión directa de la cavidad pleural (289). Es por ello por lo que se plantea con frecuencia el diagnóstico diferencial anatomopatológico con los mesoteliomas pleurales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica histológicamente los adenocarcinomas de pulmón en cuatro categorías:

- 1.- Adenocarcinomas acinares, en los que las células tumorales forman acini o glándulas.
- 2.- Adenocarcinomas papilares, en los que predominan las estructuras papilares.
- 3.- Carcinomas bronquioloalveolares, en los que las células tumorales tapizan las paredes de alveolos preexistentes. Se ha subdividido en dos categorías según los rasgos citológicos de las células tumorales: células mucosecretoras o células cilíndricas no mucosecretoras (parecidas a las células Clara).
- 4.- Adenocarcinomas sólidos con formación de moco, en los que se identifican mucosustancias por tinciones especiales. Esta categoría es difícil de separar de los carcinomas indiferenciados de células grandes, en la mayoría de los cuales pueden identificarse mucosustancias.

Una característica asociada a los adenocarcinomas de pulmón es la abundancia de tejido fibroso acelular ("cicatricial"), que durante años se ha creído evidencia de que la mayoría de los adenocarcinomas surgen a partir de cicatrices pulmonares preexistentes (359-363). Una interpretación más aceptada en la actualidad es que la "cicatrización" es una reacción desmoplásica del tumor más que una cicatriz pulmonar preexistente.

Clínicamente, el adenocarcinoma pulmonar suele presentarse como un nódulo pulmonar periférico que a menudo invade la pleura por contigüidad produciendo derrame pleural y múltiples implantes (68). El tumor pleural maligno más frecuente es la metástasis pleural de un adenocarcinoma (68). Roberts (364) encontró 25 carcinomas de pulmón invadiendo pleura por cada mesotelioma, e incluso en trabajadores de asbesto O'Donnell et al. (365) encontraron 5 carcinomas de pulmón por cada mesotelioma. En la experien-

Tabla 23. Aumento de la frecuencia relativa de adenocarcinoma de pulmón

Tipo histológico	Frecuencia (% de los cánceres pulmonares)	
	AFIP (1970)	Clínica Mayo (1979)
Carcinoma escamoso	40%	34%
Adenocarcinoma	20%	26%
Ca. de células pequeñas	20%	22%
Ca de células grandes	20%	16%

Tomado de De Vita, 8.

El adenocarcinoma es el tipo más frecuente de cáncer de pulmón en mujeres (353), y en no fumadores (354, 355), aunque el riesgo de adenocarcinoma está aumentado en fumadores (354). La mayoría de los adenocarcinomas surgen en la periferia del pulmón (356-358), y es frecuente la invasión directa de la cavidad pleural (289). Es por ello por lo que se plantea con frecuencia el diagnóstico diferencial anatomopatológico con los mesoteliomas pleurales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica histológicamente los adenocarcinomas de pulmón en cuatro categorías:

- 1.- Adenocarcinomas acinares, en los que las células tumorales forman acini o glándulas.
- 2.- Adenocarcinomas papilares, en los que predominan las estructuras papilares.
- 3.- Carcinomas bronquioloalveolares, en los que las células tumorales tapizan las paredes de alveolos preexistentes. Se ha subdividido en dos categorías según los rasgos citológicos de las células tumorales: células mucossecretoras o células cilíndricas no mucossecretoras (parecidas a las células Clara).
- 4.- Adenocarcinomas sólidos con formación de moco, en los que se identifican mucosustancias por tinciones especiales. Esta categoría es difícil de separar de los carcinomas indiferenciados de células grandes, en la mayoría de los cuales pueden identificarse mucosustancias.

Una característica asociada a los adenocarcinomas de pulmón es la abundancia de tejido fibroso acelular ("cicatricial"), que durante años se ha creído evidencia de que la mayoría de los adenocarcinomas surgen a partir de cicatrices pulmonares preexistentes (359-363). Una interpretación más aceptada en la actualidad es que la "cicatrización" es una reacción desmoplásica del tumor más que una cicatriz pulmonar preexistente.

Clínicamente, el adenocarcinoma pulmonar suele presentarse como un nódulo pulmonar periférico que a menudo invade la pleura por contigüidad produciendo derrame pleural y múltiples implantes (68). El tumor pleural maligno más frecuente es la metástasis pleural de un adenocarcinoma (68). Roberts (364) encontró 25 carcinomas de pulmón invadiendo pleura por cada mesotelioma, e incluso en trabajadores de asbesto O'Donnell et al. (365) encontraron 5 carcinomas de pulmón por cada mesotelioma. En la experien-

cia de Chernow y Sahn (366), el 33% de las metástasis pleurales de adenocarcinoma proceden de un adenocarcinoma de pulmón. En 1976, Harwood et al. (367) describieron un tipo de adenocarcinoma pulmonar periférico con poca afectación parenquimatosa que invade masivamente la pleura y causa una reacción desmoplásica que simula un mesotelioma. Se ha denominado a esta entidad adenocarcinoma pulmonar pseudomesoteliomatoso. En años posteriores, se han descrito numerosos casos de esta entidad (68, 299, 368, 369), y parece claro en la actualidad que el simple examen a microscopía óptica no permite diferenciar con seguridad esta entidad del mesotelioma pleural maligno. Parece clave para este difícil diagnóstico diferencial el estudio inmunohistoquímico. Los rasgos inmunohistoquímicos de los carcinomas de pulmón se resumen en la Tabla 24.

Tabla 24. Rasgos inmunohistoquímicos de los carcinomas de pulmón

Tipo de neoplasia	Citoqueratina ^a - tinas de bajo p.m.	Citoqueratina ^a - tinas de alto p.m.	CEA ^a	HMFG ^a	endoclasa ^a neuronal específica	Cromogranina ^a
Carcinoma epidermoide	+ ^b	+	+/- ^c	+/-	-	-
Adenocarcinoma	+	+	+	+	+/-	-
Carcinoma indifer. células grandes	+	+/-	+/-	+/-	+/-	-
Carcinoma indif. células pequeñas	+	-	+/-	+/-	+/-	+/-
Carcinoide maduro	+	+/-	+/-	+/-	+	+
Carcinoide atípico	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-
Carcinoide neuroendo- crino de células grandes	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-

^a Antígeno probado.

^b (+) = reacción positiva. (-) = reacción negativa.

^c Algunos lo encuentran positivo otros negativo.

Tomado de Dail, 68.

Todas las categorías de adenocarcinoma de pulmón muestran rasgos inmunohistoquímicos similares. Típicamente las células tumorales expresan queratinas de alto y bajo peso molecular, antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno de membrana epitelial (EMA), y proteína de los glóbulos grasos de la leche humana (HMFGP) (370, 371). Se ha encontrado que una minoría de los adenocarcinomas pulmonares expresan vimentina (372, 373), proteína S-100 (374) y otros antígenos (375).

Las características inmunohistoquímicas de los adenocarcinomas pseudomesoteliomatosos parecen ser similares al resto de adenocarcinomas de pulmón (299, 369). Además de su positividad para antígeno carcinoembrionario, EMA, Leu M₁ y B 72.3, la presencia en los tres casos publicados por Dessy y Pietra (369) de positividad para apoproteína surfactante, y la presencia a microscopía electrónica de cuerpos lamelares, parecen indicar que

este tipo de adenocarcinoma se origina a partir de neumocitos tipo II ó células Clara. El comportamiento clínico muy agresivo de los adenocarcinomas pseudomesoteliomatosos y la dificultad de su diagnóstico anatomopatológico los hace merecedores de mayor interés del que sugiere que sólo hayamos encontrado 17 casos publicados en la literatura médica mundial (299, 367-369, 375-379).

IV.1. d) Metástasis pleurales de adenocarcinomas extrapulmonares

El tumor maligno más común de la cavidad pleural es el adenocarcinoma metastásico. En la serie de 96 casos de metástasis pleurales de carcinoma de Chernow y Sahn (366), un 33% de los casos eran metástasis de carcinoma de pulmón (en su gran mayoría, adenocarcinomas). Los dos tercios restantes eran metástasis de tumores malignos extrapulmonares. Dentro de ellos, y por orden de frecuencia destacan los adenocarcinomas de mama (20,9%), de primario desconocido (13%) y de estómago (7,3%). Otros autores (380) consideran que en orden decreciente de frecuencia, los tumores más frecuentes como causa de metástasis pleurales son: adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma de mama, adenocarcinoma de ovario, adenocarcinoma de estómago, linfoma, melanoma y sarcoma. Es curioso reseñar que en el 92% de los casos de derrame pleural unilateral debido a carcinomas de pulmón, mama y ovario, el tumor primario es ipsilateral con respecto al derrame (366). El que el derrame sea uni o bilateral no permite asegurar que el tumor primario sea pulmonar o extratorácico.

Tabla 25. Localizaciones primarias de tumores que dan metástasis en pleura

Localización Primaria	Número con metástasis Pleurales	Porcentaje
Pulmón	32	33%
Mama	20	21%
Desconocido	13	13%
Ovario	9	9%
Estómago	7	7%
Páncreas	3	3%
Colon	3	3%
Próstata	2	2%
Útero	2	2%
Suprarrenal	1	1%
Uretra	1	1%
Mandíbula	1	1%
Riñón	1	1%
Hígado	1	1%
TOTAL	96	100%

Tomado de Chernow y Sahn, 366.

Teniendo en cuenta que las metástasis pleurales de adenocarcinoma extratorácico son el tumor maligno pleural más frecuente, resulta sorprendente que en la bibliografía revisada, la serie de Chernow y Dahn, cuyos datos exponemos en la Tabla 25, siga siendo 15 años después de su publicación la más completa.

Cabe señalar algunas razones para intentar explicar la escasez de estudios clínico-patológicos sobre la frecuencia relativa de diversos tumores malignos como causa de metástasis pleurales:

- 1.- En más de la mitad de los casos, las metástasis pleurales aparecen en un paciente ya diagnosticado previamente del tumor primitivo (366), y en la mayoría de ellos hay otras localizaciones metastásicas más accesibles por lo que no llega a hacerse biopsia pleural, diagnosticándose las metástasis pleurales por otros métodos, si bien sería deseable confirmar siempre la naturaleza neoplásica del derrame, pues un 26% de los derrames pleurales en pacientes neoplásicos no son debidos a metástasis pleurales (380).
- 2.- En la actualidad el estudio citológico de líquido pleural puede hacer innecesaria la práctica de biopsia pleural.
- 3.- Un importante grupo de estos pacientes presenta grave deterioro del estado general, consecuencia de la enfermedad neoplásica diseminada, por lo que a menudo no llegan a efectuarse exploraciones agresivas.

Estos hechos deben tenerse en cuenta al interpretar los resultados de las otras dos series autópsicas sobre metástasis pleurales (381, 382), que encontraron que el lugar primario más frecuente dentro de los tumores con metástasis pleurales era el pulmón, sobre todo los adenocarcinomas de pulmón. La serie española de Rodríguez et al. incluye 55 casos de derrame pleural maligno. De ellos, 39 eran metástasis de carcinoma de pulmón, y el resto (26 casos) de órganos extratorácicos. Es de destacar la alta frecuencia de metástasis pleurales de linfomas (7 casos). Esta serie concuerda con la de Chernow y Sahn en que el tipo histológico más frecuente que da metástasis pleurales es el adenocarcinoma, pero difiere totalmente en cuanto a la localización el tumor primario, pues no aparece más que un caso (1%) de carcinoma de mama, el segundo tumor más frecuente en la serie de Chernow, y ningún caso de tumores de primario desconocido, de estómago o de ovario. Cabe suponer que la serie autópsica citada no es representativa de la frecuencia real de metástasis pleurales, y de hecho la frecuencia relativa de los diversos tumores malignos recogidos en la serie de Rodríguez et al. difiere notablemente de la frecuencia de los diversos tumores malignos en la población española. En la población española, que suele negarse a la práctica de necropsia clínica en la mayoría de los casos en que ésta es solicitada, parece existir un porcentaje aún mayor de negativas cuando el fallecido había sido diagnosticado del tumor maligno hacía largo tiempo, y cuando había recibido múltiples tratamientos. Además, estos pacientes de larga evolución suelen fallecer en su domicilio. Por todo ello, las series autópsicas probablemente

infraestiman la frecuencia de metástasis pleurales debidas a tumores malignos muy sensibles a quimioterapia u hormonoterapia, como puede ser el caso del adenocarcinoma de mama, primera causa de mortalidad por cáncer en mujeres y en el que las metástasis pleurales son muy frecuentes.

En cuanto al diagnóstico histológico, existe consenso en que los rasgos observables por microscopia óptica no permiten diferenciar unos adenocarcinomas metastásicos de otros (383). Por ello resulta esencial conocer el patrón inmunohistoquímico de los principales adenocarcinomas que metastatizan en la pleura. Cuando el patólogo se enfrenta a un depósito metastásico de adenocarcinoma, dispone de muy pocas evidencias histológicas que puedan orientarle sobre el origen primario del tumor. Las tinciones histoquímicas y la microscopía electrónica pueden ayudar a establecer el tipo de carcinoma (por ejemplo, adenocarcinoma), pero ayudan muy poco a identificar el origen primario (384).

La misma dificultad existe para el clínico. Hasta un 15% de los tumores malignos se presentan como neoplasias de origen desconocido (neoplasias histológicamente demostradas en las que no puede identificarse el origen primario tras anamnesis, exploración física completa, analítica elemental de sangre y orina, radiografía de tórax y sangre oculta en heces), y un 60%-70% de ellas son adenocarcinomas (385). Las pruebas radiológicas en estos pacientes suelen aportar datos confusos más que información útil (386). Dado que pocos de estos pacientes son subsidiarios de tratamiento eficaz (adenocarcinomas de mama, ovario, próstata y probablemente tiroides), sería interesante disponer de métodos rápidos y poco molestos para el paciente que permitieran descartar los tumores tratables y evitar pruebas innecesarias a pacientes con metástasis de adenocarcinoma de pulmón, páncreas y otros tumores para los cuales no se dispone en la actualidad de tratamiento eficaz.

A este respecto adquiere interés la utilización de marcadores inmunohistoquímicos que han demostrado ser positivos en ciertos casos de adenocarcinoma. Únicamente se han encontrado marcadores específicos en cuanto al origen del tumor en dos tipos de adenocarcinoma: la expresión de tiroglobulina en carcinomas de tiroides (387, 388) y la expresión de antígeno prostático específico (PSA) en adenocarcinoma de próstata (402). La demostración inmunohistoquímica de estos marcadores en tejido tumoral ha permitido en algunos pacientes llegar a un tratamiento eficaz. La especificidad de otros marcadores es mucho menor. Es interesante el estudio de Ellis y Hitchcock (384), que realizaron estudio inmunohistoquímico de 120 casos de adenocarcinomas de diversos orígenes con una batería de anticuerpos para determinar si los resultados orientaban sobre el origen del tumor. Los anticuerpos empleados fueron CEA policlonal (con reacción cruzada con el antígeno inespecífico de reacción cruzada (NCA)), CEA monoclonal (sin reacción cruzada), NCA, CA 19.9 y CA 12.5. Los resultados, resumidos en las tablas 26 a 30, sugieren que el patrón inmunohistoquímico puede orientar sobre el origen primario de un adenocarcinoma, si bien no permite en la actualidad

un diagnóstico de certeza. Una utilidad ya establecida es el precisar cuales de estos marcadores son detectables en un tumor extirpado, para monitorizar los niveles en suero de esos marcadores como forma de detectar precozmente la recidiva, y no pedir determinaciones en suero de marcadores que no se expresaban en el tumor, pues no cabe esperar que se eleven en suero en caso de recidiva.

Tabla 26. Inmunoreactividad en adenocarcinomas. Positividades significativas: anticuerpo versus localización primaria del tumor

Anticuerpo	Positividad fuerte o difusa	Positividad débil o focal
EMA	Mama	Riñón, urotelio, pulmón, estómago, endometrio, mesotelio, vesícula biliar y ovario (no mucinoso)
CEA	Intestino grueso	0
CEA/NCA	Pulmón, árbol biliar e intestino grueso	Vesícula biliar, cervix (adenocarcinoma), ovario (mucinoso)
CEA (CIS)	Intestino grueso	0
CA 12-5	0	Ovario (no mucinoso)
CA 19-9	Arbol biliar	Vesícula biliar, ovario (mucinoso), endometrio, cervix (adenocarcinoma)

NOTA: 0 = inmunorreactividad variable

Tomado de Ellis y Hitchcock, 384.

Tabla 27. Inmunoreactividad en adenocarcinomas. Positividades significativas: Localización del tumor primario versus anticuerpo

Localización del tumor primario	Positividad fuerte o difusa	Positividad débil o focal
Mama	EMA	0
Riñón	0	EMA
Vejiga	0	EMA
Endometrio	0	EMA, CA 19-9
Arbol biliar	CEA/NCA, CA 19-9	0
Vesícula biliar	0	CA 19-9, EMA
Estómago	0	CEA/NCA, EMA
Intestino grueso	CEA, CEA(CIS), CEA/NCA	0
Pulmón	CEA/NCA	EMA
Mesotelio	0	EMA
Ovario (no mucinoso)	0	CA 12-5, EMA
Ovario (mucinoso)	0	CA 19-9, CEA/NCA
Cérvix (adenocarcinoma)	0	CA 19-9, CEA/NCA

NOTA: 0 = inmunorreactividad variable

Tomado de Ellis y Hitchcock, 384.

Tabla 28. Inmunoreactividad en adenocarcinomas. Negatividades significativas: anticuerpo versus localización del tumor primario

Anticuerpo	Negatividad
EMA	Tiroides (folicular)
CEA	Tiroides (folicular), Tiroides (todos), riñón, hígado y próstata
CEA/NCA	Riñón, tiroides (folicular), y mesotelio
CA 19-9	Glándula salivar y tiroides (folicular)
CA 12.5	Glándula salivar, estómago, intestino delgado, vesícula biliar, riñón, hígado, vejiga, próstata, tiroides (folicular) y ovario (mucinoso)
CEA (CIS)	Tiroides (folicular), riñón, hígado, próstata y glándula salivar

Tomado de Ellis y Hitchcock, 384.

Tabla 29. Inmunoreactividad en adenocarcinomas. Negatividades significativas: Localización del tumor primario versus anticuerpo

Localización primaria	Negatividad
Tiroides (folicular)	Todos negativos
Tiroides (todos)	CEA
Riñón	CEA, CEA (CIS), CEA/NCA, CA 12.5
Mesotelio	CEA/NCA
Hígado	CEA, CEA (CIS), CA 12.5
Vejiga	CA 12.5
Próstata	CEA, CEA (CIS), CA 12.5
Estómago, intestino delgado y vesícula biliar	CA 12.5
Glándula salivar	CA 12.5, CA 19-9, CEA (CIS)
Ovario (mucinoso)	CA 12-5

Tomado de Ellis y Hitchcock, 384.

En los últimos años siguen apareciendo anticuerpos que pretenden ser específicos para un determinado tipo de adenocarcinomas. Citaremos como ejemplo los anticuerpos anti-progastricsina (una proenzima segregada por las glándulas gastroduodenales), que marcan positivamente a un 40% de los adenocarcinomas de estómago, y también a un 40% de los adenocarcinomas de páncreas, pero raramente a tumores de otros orígenes. Reid et al. (389) analizaron 236 casos de adenocarcinoma metastásico con este anticuerpo, y encontraron que, si bien un 34% de los adenocarcinomas de estómago, próstata y páncreas marcaron positivamente, también lo hicieron un 9,8% de los adenocarcinomas de otras localizaciones.

Tabla 30. Inmunoreactividad en adenocarcinomas. Resumen de los hallazgos.

Sitio primario	EMA	CEA	CEA/ NCA	CEA (CIS)	CA 19-9	CA 12.5
Glándulas salivares	O	O	O	N	N	N
Estómago	P	O	O	O	O	N
Intestino delgado	O	O	O	O	O	N
Intestino grueso	O	PP	PP	PP	O	O
Hígado	O	N	O	N	O	N
Vesícula biliar	P	O	P	O	P	N
Árbol biliar	O	O	PP	O	PP	O
Páncreas	O	O	O	O	O	O
Tiroides (folicular)	N	N	N	N	N	N
Tiroides (todos)	O	N	O	O	O	O
Pulmón	P	O	PP	O	O	O
Mesotelio	P	O	N	O	O	O
Mama	PP	O	O	O	O	O
Ovario (no mucinoso)	P	O	O	O	O	P
Ovario (mucinoso)	O	O	P	O	P	N
Endometrio	P	O	O	O	P	O
Cérvix (escamoso)	O	O	O	O	O	O
Cérvix (adenocarcinoma)	O	O	P	O	P	O
Riñón	P	N	N	N	O	N
Vejiga	O	O	O	O	O	N
Próstata	O	N	O	N	O	N

PP = Marcada positividad.

P = Positividad focal.

N = Negatividad.

O = Inmunoreactividad variable.

Tomado de Ellis y Hitchcock, 384.

Otros anticuerpos han proporcionado resultados más esperanzadores. De los diversos marcadores inmunohistoquímicos presuntamente específicos para adenocarcinoma de mama son una larga lista los que no han confirmado tal especificidad: caseína, glucoproteína beta-1 específica del embarazo, lactoferrina, proteína S-100, glucoproteína del virus del tumor mamario murino, etc. La lista sigue alargándose. Así, el anticuerpo anti glucoproteína BCA-225, cuya especificidad para adenocarcinomas de mama figura reconocida en el tratado de Anatomía Patológica de Ackerman (122), no ha demostrado tal especificidad en el estudio de Loy et al. (390), quienes encontraron que se expresa con variable frecuencia en prácticamente en todos los adenocarcinomas. Mayor utilidad práctica puede tener el marcador apocrino GCDFP-15 (proteína del líquido de la enfermedad fibroquística), que en

el amplio estudio de Wick et al. (391) marcó positivamente en un 72% de los adenocarcinomas de mama, así como en enfermedad de Paget extramamaria, algunos carcinomas de glándulas salivares y anejos cutáneos y un 10% de los adenocarcinomas de próstata, pero no en otros tumores. Su especificidad para adenocarcinoma de mama fue significativamente mayor que la de la alfa-lactalbúmina. Si se excluyen los carcinomas de próstata, glándulas salivares y anejos cutáneos (que es poco probable que planteen problemas de diagnóstico diferencial con carcinoma de mama), la especificidad y valor predictivo positivo fueron del 99%, con una sensibilidad del 74%, incluidos algunos casos con receptores hormonales negativos (otro de los marcadores inmunohistoquímicos propuestos para cáncer de mama, no del todo específico (392)).

Cabe esperar que en el futuro nuevos marcadores permitan sugerir el origen primario de un adenocarcinoma por inmunohistoquímica. A este respecto, el patólogo debe también tener en cuenta conjuntamente los datos clínicos e histopatológicos, tal como remarca Cook (393). Así, si un adenocarcinoma metastásico que por microscopia óptica parece poco sugerente de origen mamario (10% de probabilidad) marca positivamente para un antígeno "mamario" que tiñe a un 90% de los carcinomas de mama y a un 30% de otros adenocarcinomas, la probabilidad combinada de que se trate de un adenocarcinoma de mama sería de un 25%.

IV.1. e) Otros mesoteliomas

Describimos a continuación los mesoteliomas localizados fuera de la pleura con sus diversas variantes histológicas.

⊕ Mesoteliomas peritoneales Los tipos de mesotelioma descritos en el peritoneo son similares a los que se encuentran en la pleura, pero su frecuencia relativa es muy diferente. Así, los mesoteliomas fibrosos solitarios son menos frecuentes en el peritoneo, mientras que es relativamente frecuente el mesotelioma papilar benigno del peritoneo, que sólo excepcionalmente ha sido descrito en la cavidad pleural (394).

- a) Mesotelioma papilar bien diferenciado del peritoneo (mesotelioma epitelial benigno). Se trata de lesiones solitarias de aspecto papilar, recordando a los plexos coroideos, que suelen hallarse accidentalmente tras cirugía. Suele darse con más frecuencia en mujeres (395). Microscópicamente, el tumor está constituido por múltiples papilas revestidas por una capa única de epitelio plano o cuboidal, con mínima atipia. Ultraestructuralmente, las papilas están recubiertas de células poligonales con múltiples microvellosidades. Histoquímicamente, el citoplasma de las células tumorales contiene sustancias PAS-positivas no resistentes a la diastasa.

Se considera en general que se trata de una lesión más reactiva que neoplásica (396), pero se ha descrito un caso aislado de evolu-

ción a mesotelioma maligno epitelial tubulopapilar (397). Raramente, se ha descrito en pleura (394).

- b) Mesotelioma fibroso benigno (tumor fibroso solitario del peritoneo). Su aspecto macroscópico y microscópico es semejante al de los tumores fibrosos solitarios de la pleura, si bien el número de casos descritos es mucho menor (398).
- c) Mesotelioma quístico del peritoneo (mesotelioma benigno multiquístico). El aspecto macroscópico de esta lesión, que suele ser única y localizada en la pelvis de mujeres adultas con antecedentes de cirugía, endometriosis o enfermedad inflamatoria pélvica (398, 399) es característico: masa transparente multiquística de hasta 15 centímetros de diámetro, que rodea o engloba los órganos pélvicos. Microscópicamente los quistes están recubiertos por células mesoteliales planas o cuboidales de aspecto endotelioides. Hay estroma conectivo laxo entre los quistes. El líquido intraquístico se tiñe con la tinción azul Alcian. Los rasgos ultraestructurales (presencia de desmosomas, tonofilamentos y microvellosidades) y el estudio inmunohistoquímico, con positividad para queratinas y negatividad para el antígeno relacionado con el factor VIII, confirman la naturaleza mesotelial de esta lesión. Se acepta que se trata de una lesión reactiva y no de un auténtico tumor. Se han descrito casos aislados en varones, y un único caso en pleura (400).
- d) Mesotelioma maligno peritoneal. Macroscópicamente el mesotelioma maligno peritoneal aparece como múltiples placas o nódulos dispersas por el peritoneo parietal y visceral, en individuos fuertemente expuestos al asbesto. Puede añadirse la presencia de adherencias peritoneales densas y de acortamiento del mesenterio. Prácticamente siempre existe ascitis. En fases finales, el tumor recubre todos los órganos intraabdominales, llegando a invadirlos superficialmente. A veces existen placas fibrosas peritoneales, y casi siempre hay placas pleurales, como signo de exposición al asbesto.

El aspecto microscópico es muy variable. Se han descrito los mismos tipos histológicos que en el mesotelioma maligno pleural, pero su frecuencia es muy distinta: predomina el tipo bifásico, es menos frecuente el tipo epitelial y es rarísimo el tipo sarcomatoide. Las células individuales suelen ser bastante uniformes, con citoplasma acidófilo o vacuolado, y núcleo grande vesicular o hiperromático. En algunas variantes, como el mesotelioma peritoneal secretor (401), el aspecto citológico es inocente, a pesar de que clínicamente se comportan como tumores malignos.

Los rasgos histoquímicos, inmunohistoquímicos y ultraestructurales son similares a los del mesotelioma maligno pleural: a grandes rasgos, las células tumorales contienen mucopolisacáridos ácidos en el citoplasma y matriz extracelular, que se tiñen con

el hierro coloidal y azul Alcían, desaparecen con hialuronidasa y son PAS-negativos. El patrón inmunohistoquímico incluye fuerte positividad para queratinas, antígeno de membrana epitelial (EMA), proteínas relacionadas con la membrana basal (colágeno tipo IV, laminina), positividad variable para vimentina y negatividad para antígeno carcinoembrionario y Leu M₁. La microscopia electrónica muestra que las células tumorales están recubiertas por abundantes microvellosidades rodeadas de material borroso, y contienen luces intra y extracelulares, gránulos de glucógeno, estructuras de unión, tonofilamentos y lámina basal. Frecuentemente coexisten células de aspecto sarcomatoide o transicional.

El diagnóstico diferencial de los mesoteliomas malignos peritoneales ha planteado problemas tan complejos como en el caso de la pleura (104). Los criterios clásicos para el diagnóstico diferencial frente a los adenocarcinomas metastásicos a peritoneo incluyen, ausencia de mucina epitelial PAS-diastasa resistente y negatividad para el antígeno carcinoembrionario por inmunohistoquímica. A menudo, estos criterios ayudan a diferenciarlo de los carcinomas (sobre todo carcinomas serosos de ovario con diseminación peritoneal), pero en la práctica, un diagnóstico diferencial correcto debe basarse en una batería de anticuerpos, como los empleados por Khoury et al. (403). Los rasgos ultraestructurales también son discriminantes (404).

Debe tenerse siempre en mente la posibilidad diagnóstica de carcinoma seroso peritoneal (carcinoma histológicamente indistinguible del cistoadenocarcinoma seroso de ovario, que invade la cavidad peritoneal, pero sin afectación profunda del ovario, por lo que se piensa que surge a partir del mesotelio peritoneal, con diferenciación exclusivamente epitelial). Aparece siempre en mujeres. Sus características histológicas, ultraestructurales e inmunohistoquímicas son similares a las de un cistoadenocarcinoma seroso de ovario (404). Resumiremos finalmente los rasgos más útiles para diferenciar un mesotelioma maligno peritoneal de un carcinoma seroso, ovárico o peritoneal: (Tabla 31).

Tabla 31. Rasgos útiles para diferenciar un mesotelioma epitelial de un carcinoma seroso

Rasgo	Carcinoma seroso	Mesotelioma maligno epitelial
Edad	19-75	43-86 (frecuente más de 50)
Sexo	Mujeres	Más frecuente varones
Exposición a Asbesto	No	Frecuente
Distribución del tumor	Uni o multifocal, con o sin masa dominante. Infiltra pelvis, epiplon, y a veces intestino.	Difuso. Toda la cavidad peritoneal está llena de nódulos. Puede presentarse como masa localizada.
Microscopía óptica	Estructuras papilares evidentes. Células columnares pseudoestratificadas apretadas, con penachos epiteliales, o áreas sólidas, o glándulas infiltrantes.	Áreas túbulo-alveolares, papilas mal definidas o zonas sólidas con hendiduras. Células cuboidales laxas con núcleo vesicular central regular y abundante citoplasma.
Cuerpos de Psammoma	Numerosos	Escasos
Mucina epitelial	Positiva (80%), a veces focal	Negativa
Inmunohistoquímica		
- CEA	(+) (35%), débil y focal	(-)
- Leu M ₁	(+) (30%), fuerte y focal	(-)
- B 72.3	(+) (65%)	(-) (Raro positivo focalmente)
Ultraestructura		
Forma de las células	Columnar	Cuboidal o poligonal
Microvellosidades	Número y longitud variable. Confinadas a la superficie de las papilas y luz de las glándulas.	Numerosas, exuberantes largas y céricas. Aparecen en todos los lados de la célula
Cilios	Múltiples o únicos. Ausentes en carcinoma indiferenciado	Ausentes
Gránulos de mucina	Raro	Ausentes
Microacinis con o sin secreción o complejos de barra terminal	Usualmente presentes	Ausentes

Tomado de Khoury et al., 403.

⊕ Mesoteliomas de la túnica vaginal En su gran mayoría son mesoteliomas malignos (405) y dentro de ellos predomina el tipo epitelial.

⊕ Mesoteliomas del pericardio La mayor parte de los mesoteliomas del pericardio aparecen en adultos y son mesoteliomas malignos. Pueden presentarse como una masa única bien circunscrita, como múltiples tumores o como un crecimiento difuso que constriñe al corazón. A veces coexiste un mesotelioma pleural y es difícil llegar a saber cual era la localización primaria. Microscópicamente, puede tratarse de mesoteliomas malignos epiteliales, sarcomatoides o mixtos. El diagnóstico diferencial con la hiperplasia mesotelial reactiva y el carcinoma metastásico plantea problemas similares a los de la pleura, si bien debe tenerse en cuenta que en el pericardio la frecuencia del mesotelioma es bajísima, siendo lo más frecuente la hiperplasia mesotelial.

⊕ Mesotelioma benigno del tracto genital (tumor adenomatoide) Se trata de un tipo peculiar de mesotelioma confinado al tracto genital. En varones, es el tumor más frecuente del epidídimo, y puede también aparecer en el cordón espermático (406) y en la túnica vaginal testicular. En mujeres, afecta frecuentemente a las trompas, menos al útero (donde se localiza preferentemente en los cuernos) y muy raramente al ovario. Su comportamiento clínico es benigno en todas estas localizaciones. En todos estos órganos, se presenta como un pequeño nódulo, generalmente de unos 2 centímetros, grisáceo, duro y a veces con pequeños quistes. Microscópicamente, la lesión, no encapsulada, contiene una proliferación de células cuboidales o aplanadas, que forman cordones sólidos de aspecto epitelial (patrón adenóide), a las que a veces se añaden áreas quísticas. El abundante estroma contiene músculo liso y fibras elásticas. Puede existir vacuolización citoplásmica en las células tumorales. Histoquímicamente, hay abundantes mucosustancias sensibles a hialuronidasa, y ausencia de lípidos. Inmunohistoquímicamente hay positividad para queratinas y antígeno de membrana epitelial (EMA), y negatividad para antígeno carcinoembrionario y antígeno relacionado con el factor VIII (407, 408). Al microscopio electrónico, las células tumorales tienen microvellosidades prominentes, desmosomas y tonofilamentos, y los espacios intercelulares están dilatados. Existe un acuerdo general, basado en los hallazgos inmunohistoquímicos y ultraestructurales, en que éste tumor es de origen mesotelial (anti-guamente se habían propuesto sucesivamente un origen wolffiano, mülleriano y endotelial), y representa una variante peculiar de mesotelioma benigno localizada casi exclusivamente en el aparato genital.

IV.2.- VALOR DE LA HISTOQUÍMICA EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL MESOTELIOMA MALIGNO PLEURAL

a) Mucinas (Tabla 32)

Tabla 32. Características histoquímicas del mesotelioma pleural difuso y del adenocarcinoma

	Mesotelioma	Adenocarcinoma
<i>Mucina intracelular (1)</i>		
PAS con diastasa (2)	-	+
Azul Alcian	+	+
Azul Alcian con hialuronidasa	- ó (+)	+
Mucicarmina	(+ ó +)	+
<i>Mucina extracelular</i>		
PAS con diastasa	-	-
Azul Alcian	+	+
Azul Alcian con hialuronidasa	-	-
Mucicarmina	(+)	(+)

(1) Incluyendo mucina dentro de espacios glandulares.

(2) Existe glucógeno intracelular PAS - positivo en la mayoría de los mesoteliomas, sensible a diastasa.

- Negativo. + Positivo. (+) Débilmente positivo.

Tomado de Enzinger, 6.

La técnica diferencial más útil es la tinción con PAS-diastasa. La mayoría de los adenocarcinomas son fuertemente positivos en sus vacuolas intracelulares e intraacinares, aunque no en los espacios intercelulares. La positividad, debida a la abundancia de mucopolisacaridos neutros, excluye el diagnóstico de mesotelioma. Es necesario asegurarse de que la digestión con diastasa se realiza correctamente (68).

Las técnicas que detectan mucopolisacaridos ácidos como el azul Alcian a $ph = 2.5$ y el hierro coloidal, son positivas intra y extracelularmente en la mayoría de los adenocarcinomas y mesoteliomas, pero el tratamiento con hialuronidasa hace desaparecer la tinción en los mesoteliomas, en los que el mucopolisacarido teñido era ácido hialurónico. La negativización de la tinción tras tratamiento con hialuronidasa asegura el diagnóstico de mesotelioma, pero hay que señalar que sólo un 20% de los mesoteliomas epiteliales producen suficiente ácido hialurónico para dar positivas estas tinciones (aproximadamente aquellos que contienen más de 0,5 miligramos de ácido hialurónico por gramo de tejido seco) (126). La única fuente de error puede provenir de la positividad del estroma de un adenocarcinoma, que también contiene ácido hialurónico (68).

La tinción de mucicarmina de Myer tiñe mucopolisacáridos débilmente ácidos, y es positiva intracitoplásmicamente en un 70% de los adenocarcinomas pulmonares. Una fuerte positividad es muy sugerente de adenocarcinoma, pero bastantes mesoteliomas epiteliales son débil o modera-

damente positivos. El problema es que un 25% de los mesoteliomas epiteliales no se tiñen con ninguna de las técnicas citadas, por no contener la cantidad suficiente de mucopolisacaridos ácidos. En resumen, en aquellos tumores que son PAS-diestasa negativos y no presentan positividad para azul Alcian a $ph = 2,5$ (6 hierro coloidal) sensible a hialuronidasa, el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma exige estudios adicionales.

La positividad de la tinción de PAS debida a la presencia de glucógeno es inespecífica. Sólo en algunos tumores que se tiñen masivamente (ejemplo carcinoma de células claras), la positividad del PAS unida al aspecto de "citoplasma vacio" con hematoxilina-eosina, asegura el diagnóstico de carcinoma (68).

IV.3.- VALOR DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL MESOTELIOMA MALIGNO PLEURAL

Aunque los mesoteliomas epiteliales comparten algunas características ultraestructurales con los adenocarcinomas (6), el examen a microscopio electrónico suele ser suficiente para hacer un diagnóstico diferencial correcto (68).

IV.3. a.- Mesoteliomas epiteliales

Los tumores más semejantes a la microscopia óptica con los cuales es necesario hacer un diagnóstico diferencial ultraestructural son los adenocarcinomas pulmonares o metastásicos. Los rasgos diferenciales entre ambos tumores se resumen en la tabla 33.

La revisión de Warhol y Corson (409), comparando los rasgos ultraestructurales de 15 mesoteliomas, 15 adenocarcinomas de pulmón y 15 adenocarcinomas de mama, resalta el valor diferencial de la relación longitud/diámetro de las microvellosidades (15,7 en los mesoteliomas frente a una media de 6,9 en los adenocarcinomas). La longitud de las microvellosidades fue el rasgo esencial para diferenciar mesoteliomas de adenocarcinomas de mama, mientras que ambos tumores mostraron contener luces intracitoplásmicas, que no existían en ninguno de los casos de adenocarcinomas de pulmón. La cantidad de tonofilamentos intracitoplásmicos fue mucho mayor en los mesoteliomas que en los adenocarcinomas de pulmón, pero los adenocarcinomas de mama presentan tonofilamentos casi tan abundantes como los mesoteliomas. Hay que señalar que la presencia de una estructura determinada no debe considerarse diagnóstica por sí sola. Así sucede con la presencia de estructuras lamelares, presuntamente específicas de adenocarcinoma de pulmón (409), pues se han descrito también en algunos casos de mesotelioma maligno (183). La presencia de rasgos de metaplasia intestinal (abundantes gotas de mucina, cilios y ocasionalmente gránulos de centro denso) es sugerente de adenocarcinomas de colon, ovario o endometrio (8).

Tabla 33. Diagnóstico diferencial entre mesotelioma epitelial y adenocarcinomas, especialmente pulmonares, por microscopía electrónica

	Mesotelioma epitelial	Adenocarcinoma pulmonar
Microvellosidades	Largas, sinuosas, lisas, ramificadas	Cortas, generalmente rectas, cubiertas por glucocálix desdibujado
Uniones intercelulares	Complejos de unión (junto a luz glándular), grandes desmosomas	Complejos de unión (junto a luz glándular), pequeños desmosomas
Producción de moco	No gránulos de mucosustancia citoplásmica 20% <u>Ácido hialurónico</u> : Mucosustancia de electrodensidad media, en la superficie celular (recubre los microvillis) Cristalización de la mucosustancia	Gránulos de moco citoplásmico (60-75%) Cuerpos glicocaliceales Moco en luz grandular
Filamentos inter-dios citoplásmico	Abundantes Frecuentemente, perinucleares Abundantes tonofilamentos	Comunes (menos abundantes) Frecuentemente distribuidos por todo el citoplasma Variables tonofilamentos (pocos)
Inclusiones citoplásmicas	Infrecuentes. Algún lisosoma	Frecuentes En carcinoma bronquioloalveolar (de células Clara o neumocitos tipo II), hay frecuentes cuerpos multivesiculares y cuerpos lamelares
Luces intracelulares	Presentes	Ausentes

Tomado de Dail y De Vita (8, 68)

IV.3. b.- Mesotelioma sarcomatoide

A microscopia óptica, la única duda razonable en el diagnóstico diferencial suelen ser los sarcomas de partes blandas. La microscopia electrónica puede apoyar el diagnóstico de mesotelioma sarcomatoide si se encuentra algún rasgo de diferenciación epitelial (membrana basal, microvellosidades o uniones intercelulares elaboradas), pero si no es así, persiste la duda, y es esencial la información clínica de que el tumor es primitivo de pleura, y tiene rasgos macroscópicos típicos.

IV.4.- VALOR DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL MESOTELIOMA MALIGNO PLEURAL

Ya hemos señalado los principios fundamentales del examen inmunohistoquímico de tumores. Parece hoy aceptado por la mayoría de los autores que en un tumor muy indiferenciado que haya perdido toda característica de estirpe en el examen a microscopio óptico y a microscopio electrónico, pueden ser todavía reconocibles por inmunohistoquímica marcadores que permitan filiarlo.

Eso sí, debe quedar claro que el examen inmunohistoquímico debe reservarse para aquellos tumores en los cuales no sea posible un diagnóstico

seguro con el estudio habitual por microscopia óptica completado con las técnicas histoquímicas adecuadas. Es esencial recordar que los estudios inmunohistoquímicos permiten filiar la estirpe de una célula pero no determinan si esta es normal, reactiva o neoplásica. Además, los resultados de un estudio inmunohistoquímico no son infalibles. Tanto si se emplea la fijación en alcohol (60% de metanol, 30% de ácido acético y 10% de cloroformo), la fijación por congelación o la fijación en formol, y aún empleando la técnica ABC con acentuación por cloruro de níquel, existen dificultades técnicas y errores de manejo de la muestra que pueden falsear los resultados (68). Un problema importante es la preservación de los antígenos al procesar la muestra. La fijación con formol puede alterar algunos antígenos. Si bien se trata sobre todo de antígenos de membrana de células linfoides, sería ideal emplear otros métodos de fijación (alcohol o congelación) en las muestras que van a ser sometidas a examen inmunohistoquímico. Si en algún momento la muestra ha sido expuesta a temperaturas mayores de 60°C, el calor habrá alterado irreversiblemente los antígenos proteicos. Aun con un procesamiento cuidadoso, los resultados de una tinción inmunohistoquímica pueden diferir entre distintos laboratorios. La causa de esta variabilidad es que existen comercialmente disponibles distintos anticuerpos monoclonales o policlonales presuntamente dirigidos frente a un mismo antígeno. La realidad es que muchos de ellos poseen una especificidad antigénica algo diferente entre sí. En la actualidad se intenta uniformizar internacionalmente la nomenclatura de los anticuerpos empleados en inmunohistoquímica, y su especificidad antigénica exacta (68).

Resumimos a continuación la contribución de la inmunohistoquímica al diagnóstico diferencial de los mesoteliomas pleurales malignos con otros tumores que pueden presentar rasgos microscópicos e histoquímicos similares.

IV.4. a.- Mesotelioma versus Adenocarcinoma

El examen microscópico e histoquímico de un tumor pleural es a menudo insuficiente para obtener un diagnóstico diferencial seguro entre mesotelioma (especialmente epitelial) y adenocarcinoma pulmonar o de otro origen metastásico en pleura.

Clásicamente se acepta que la tinción positiva para antígeno carcinoembrionario (CEA) tiene un gran valor. Los anticuerpos dirigidos contra esta glucoproteína de peso molecular 200.000 Daltons, detectan su presencia en la mayoría de los adenocarcinomas, mientras los mesoteliomas nunca marcan positividad intensa, y sólo en un 15% de los casos se tiñen muy débilmente (8, 68). Empleando anticuerpos monoclonales, la especificidad del CEA en inmunohistoquímica puede ser aún mayor (299, 411). El problema es que algunos tipos de adenocarcinoma (riñón y próstata especialmente) no suelen marcar positividad para CEA, y en algunos casos de adenocarcinoma de ovario, endometrio o cualquier otra localización tampoco la tinción es positiva.

Se han ensayado tinciones inmunohistoquímicas frente a otros marcadores tumorales de naturaleza mucinosa (CA 19.9, CA 125 y otros). En el estudio de Chenard et al. (413), el CEA marcó positivamente un 80% de los adenocarcinomas y un 0% de los mesoteliomas. El CA 19.9 mostró la misma especificidad (0% de mesoteliomas se tiñeron), pero menor sensibilidad (65% de los adenocarcinomas se tiñeron) para el diagnóstico de adenocarcinoma, pero marcó dos adenocarcinomas (10%), uno de ovario y uno de estómago, que no marcaron para el CEA, por lo que el 90% de los adenocarcinomas se tiñeron positivamente para CEA y/o para CA 19.9, mientras todos los mesoteliomas fueron negativos para estos dos marcadores. El anticuerpo monoclonal 47 D10, dirigido contra una familia de antígenos relacionados con el CEA, los antígenos inespecíficos de reacción cruzada (NCAs), parece tener una utilidad similar al CEA en la serie de Radosevich et al (414).

En los últimos años se han efectuado numerosos estudios para probar la utilidad de otros marcadores tumorales, generalmente mucinas denominados "marcadores de segunda generación", que son reconocidos por anticuerpos monoclonales (415). Tal es el caso ya comentado del anticuerpo CA 19.9. Otros anticuerpos que también reconocen tumores malignos epiteliales, como el CA 125 que inicialmente se pretendió específico de carcinoma de ovario, no han demostrado una utilidad clara. Así, Chenard et al. (413) encontraron que el porcentaje de mesoteliomas que se tiñen con CA 12.5 es similar al de adenocarcinomas. Incluso se ha descrito elevación del antígeno reconocido por el CA 12.5 en la sangre de pacientes con mesotelioma (416).

Un segundo pilar para el diagnóstico diferencial son las tinciones para *citoqueratinas*. Recordemos que las citoqueratinas no son un tipo único de proteína, a diferencia de los demás tipos de filamentos intermedios. Existen hasta 19 tipos de citoqueratinas (además del tipo 20, recientemente caracterizado y de otros varios aún por purificar) cuyo peso molecular oscila entre 40 y 68000 Daltons. El catálogo de Moll ordena los 19 tipos en orden creciente de pesos moleculares (202). Una célula con diferenciación epitelial puede contener entre 2 y 10 tipos distintos de citoqueratinas, dependiendo del tipo de epitelio y de si es normal, reactiva o neoplásica. Las citoqueratinas de menor peso molecular son propias de epitelio simple o glandular, mientras las de alto peso molecular son propias de epitelios estratificados.

Hasta muy recientemente, sólo disponíamos comercialmente de anticuerpos que marcaban simultáneamente varios tipos de queratinas. Así, los anticuerpos 35 BH 11 y PKK1 marcaban preferentemente queratinas de bajo peso molecular, el 34 BE-12 y PKK 12 marcaban queratinas de alto peso molecular, y el AE₁ AE₃ y MAK 6 marcaban queratinas de ambos tipos. ("panqueratinas"). Empleando tales anticuerpos, se acepta que aunque tanto los mesoteliomas como los adenocarcinomas marcan para queratinas de bajo peso molecular, el patrón de tinción es diferente. Las células de los mesoteliomas se tiñen más en la periferia celular y en el anillo perinuclear que en el resto del citoplasma, mientras en los adenocarcinomas la tinción del citoplasma es más homogénea, falta el anillo perinuclear y globalmente la tin-

ción suele ser más débil, aunque algunos adenocarcinomas de mama marcan muy positivamente (8, 68). Modificando la técnica, acortando la tinción con diaminobencidina a menos de dos minutos, se evidencian más claramente los distintos patrones de tinción: los adenocarcinomas muestran un patrón en tela de araña, los tumores carcinoides en punteado o en creciente, y los mesoteliomas un patrón perinuclear (68). La tinción con anticuerpos que marcan queratinas de alto peso molecular, si bien no marca los mesoteliomas sarcomatoides, sí es positiva en los mesoteliomas epiteliales, que son el tipo que plantea dificultades más importantes de diagnóstico diferencial con el adenocarcinoma en la microscopía óptica. Los anticuerpos comerciales que marcan queratinas de alto peso molecular (34 BE 12, AE₁ y AE₃), marcan con mayor intensidad los mesoteliomas epiteliales que los adenocarcinomas, y permiten evidenciar con mayor claridad los distintos patrones de tinción, sobre todo el anillo perinuclear (68).

En los últimos años se han acumulado evidencias de que ciertos tipos de queratinas de alto peso molecular, presentes en los mesoteliomas epiteliales, pueden faltar en los adenocarcinomas (68). Así, un estudio de Moll (417), analiza el valor de la tinción inmunohistoquímica con el anticuerpo monoclonal AE 14, específico para la citoqueratina 5 (peso molecular = 58000 Daltons), que tiñe las células basales de los epitelios estratificados y pseudoestratificados, algunas células mioepiteliales, las células reticulares tímicas, ciertas células ductales pancreáticas y la mayoría de las células mesoteliales. Empleando fijación por congelación, 12 de 13 mesoteliomas epiteliales o bifásicos marcaron fuertemente con este anticuerpo, mientras sólo 6 de 21 adenocarcinomas pulmonares, y algunos adenocarcinomas de páncreas mostraron tinción positiva en unas pocas células, y el resto de los adenocarcinomas pulmonares y los de colon y riñón, no se tiñeron. Una queratina de peso molecular 63000 Daltons parece tener un significado opuesto, pues se detecta en todos los adenocarcinomas pulmonares y carcinomas de células grandes, mientras que está ausente en todos los mesoteliomas y un 50% de los carcinomas escamosos de pulmón (418).

El antígeno epitelial de membrana (EMA) y la proteína de los glóbulos grasos de la leche humana son dos glucoproteínas de membrana de elevado peso molecular y estructura antigénica relacionada que son constantemente positivas en los adenocarcinomas, y pueden ser positivas o negativas en los mesoteliomas. En la experiencia de Dail (68), aquellos tumores que no marcan para la proteína de los glóbulos grasos de la leche humana, son siempre mesoteliomas, mientras que marcan positivamente todos los adenocarcinomas y un 50-70% de los mesoteliomas. Este rasgo es muy útil, especialmente en los tumores no claramente negativos para el CEA.

Un reciente estudio de Leong et al (419), encuentra que el patrón de tinción para EMA en 13 casos de mesotelioma es peculiar, con membranas celulares "gruesas" en la perifería de los acúmulos celulares y en células aisladas. Este patrón de tinción, que parece corresponder a la localización de las microvellosidades (también se marcan las luces intracelulares, que con-

tienen microvellosidades), es muy distinto a la fuerte tinción citoplásmica difusa observada en 33 casos de adenocarcinoma. Patrones similares fueron observados por Ordóñez et al (420), tanto para el EMA como para la HMFG-2, aunque no les atribuyó un valor diagnóstico definitivo.

Mucho mayor valor parece tener el anticuerpo monoclonal B 72.3, que está dirigido contra una proteína de alto peso molecular asociada a tumores, denominada TAG-72 (421, 422), la cual se obtuvo de fracciones de membrana de un adenocarcinoma mamario metastásico humano. Los resultados iniciales de Lefebvre (423), que encontró que 17 de 20 adenocarcinomas marcaban positivamente con este anticuerpo, mientras sólo 2 de 10 mesoteliomas presentaban mínimo marcaje focal, han sido confirmados por muchos otros autores (68, 411, 424).

En los últimos años se han efectuado ensayos con anticuerpos dirigidos frente a diversas glucoproteínas de membrana propias de células epiteliales (aunque algunas de ellas están presentes en otros tipos celulares) que aparentemente no son expresadas por células mesoteliales. Los describiremos aproximadamente por orden cronológico de aparición en la literatura médica:

- 1.- El antígeno Leu M₁ es un azúcar (la lacto-N-fucopentosa III) ligada a proteínas y lípidos que está presente en la membrana de las células de Reed-Sternberg de la enfermedad de Hodgkin (424) y se empleó inicialmente como marcador inespecífico diferencial con los linfomas no Hodgkin. Posteriormente se comprobó su presencia en células de diversas enfermedades mieloproliferativas y de adenocarcinomas. Sin embargo, el antígeno Leu M₁ es uniformemente negativo en los mesoteliomas, mientras que en la experiencia de Sheibani (425), se detecta en un 94% de los adenocarcinomas. Sin embargo, la experiencia de otros autores (413), si bien confirma que ningún mesotelioma marca para Leu M₁, reduce el porcentaje de adenocarcinomas pulmonares y de otros orígenes que marcan, positivamente a menos del 50%. Empleando la misma técnica y anticuerpo monoclonal, otros autores refieren que hasta un 91-100% de los adenocarcinomas marcan positivo (299, 426).
- 2.- La glucoproteína beta-1 específica del embarazo (SP-1) es una de las denominadas proteínas específicas del embarazo. Inicialmente Gibbs et al. (427) encontraron positividad para SP-1 en el 85% de 27 adenocarcinomas de pulmón y en ninguno de 29 mesoteliomas, por lo que su valor diagnóstico sería similar al del Leu M₁ (413). Posteriores estudios de Pfalz (428) y Ordóñez (411) redujeron el porcentaje de adenocarcinomas que marcan a un 59 y 34,8% respectivamente, por lo que, aunque el porcentaje de mesoteliomas que marca es casi nulo (6% y 0% respectivamente), este marcador no es muy útil para el diagnóstico diferencial y más teniendo en cuenta que la positividad para este marcador

suele ser focal. Los resultados descritos son con anticuerpos policlonales.

- 3.- Empleando anticuerpos policlonales anti-lactógeno placentario humano (anti-HPL), no marca ningún mesotelioma epitelial, en un total de 48 casos (429), pero muy pocos adenocarcinomas son claramente positivos (7 de 52 en las series de Gibbs y Ordoñez), por lo que su valor diagnóstico parece mínimo.
- 4.- El componente secretorio (SC) es una proteína secretada por las células epiteliales que pasa a formar parte de la inmunoglobulina A secretora (IgA secretora). Los resultados empleando anticuerpos policlonales son conflictivos, pues mientras parece claro que más de la mitad de los adenocarcinomas lo expresan, unos autores han descrito su presencia en más de la mitad de los mesoteliomas epiteliales (413, 430), mientras que otros dos autores que emplearon otro antisuero (Dako) encontraron positividad en 39 de 63 adenocarcinomas pulmonares (61%), mientras ninguno de 30 mesoteliomas de todas las variedades marcó (411, 431). Este marcador puede ser útil, si bien sería deseable emplear anticuerpos uniformes, preferentemente monoclonales.
- 5.- El anticuerpo monoclonal 44-3A6, ensayado por Spagnolo et al. (432) en bloques celulares derivados de especímenes celulares, marca positivamente casi todos los adenocarcinomas de pulmón, mama, tracto gastrointestinal o tumores mucinosos ováricos. La negatividad de 35 de 36 mesoteliomas sugiere que este anticuerpo puede ser útil para el diagnóstico diferencial, especialmente en combinación con otros.
- 6.- El anticuerpo monoclonal CSLEX-1, parece tener un significado similar al B 72.3, pues marca 60 de 70 adenocarcinomas, (más que el B 72.3) y sólo 1 de 31 mesoteliomas, en la serie de Koukoulis (433).
- 7.- Wick et al. (434) han investigado la presencia de antígenos mielomonocíticos similares al *Leu M₁* en adenocarcinomas y mesoteliomas. El antígeno LN-2 se expresa preferentemente en adenocarcinomas y no en mesoteliomas, mientras el LN-1 es frecuentemente expresado por ambos tipos de tumores y el Mac 387 no es expresado por ninguno de ellos.
- 8.- Los antígenos de grupo sanguíneo son diversos grupos de glicoproteínas que se expresan en la membrana de los hematies. En los últimos años se está reconociendo su presencia en células de adenocarcinoma pulmonar y su ausencia en las de mesoteliomas. Empleando anticuerpos monoclonales, Wick et al. (299) y Kawai et al. (435), han detectado la presencia de isoantígenos relacionados con los grupos sanguíneos ABH en un 67% y 83% respectivamente de los adenocarcinomas y en ningún mesotelioma. Kawai et al. emplearon también la aglutinina de *Helix pomatia*, que aglutina

los eritrocitos del grupo sanguíneo A. Esta aglutinina marca un 94 y 100% de los adenocarcinomas de pacientes de grupo sanguíneo A o AB y ningún mesotelioma.

- 9.- Los antígenos de grupo sanguíneo Lewis (Le^a , Le^b , Le^x , Le^y) son también glucoproteínas. El anticuerpo CA 19.9 reconoce antígenos similares a los del grupo Lewis a (Le^a). Dos estudios (436, 437) han detectado la presencia del antígeno Le^x en 40 de 47 adenocarcinomas, mientras sólo 7 de 46 mesoteliomas presentaron una tinción granular en muy pocas células, que fue interpretada como negativa. El antígeno Le^y parece ser aún más sensible, pues 18 de 18 adenocarcinomas (100%) mostraron positividad difusa para este marcador, mientras sólo 7 de 30 muestras de mesotelioma mostraron tinción granular en pocas células. Falta confirmar la utilidad de estos marcadores en estudios más amplios.
- 10.- La reciente descripción de dos casos de mesotelioma pleural maligno con células sincitiotrofoblásticas productoras de gonadotropina coriónica humana (HCG) detectable por inmunohistoquímica (533), puede tener algún interés para el diagnóstico diferencial de los tumores pleurales, si bien debe señalarse que entre un 8% y un 36% de los tumores no trofoblásticos incluido el cáncer de pulmón segregan o producen HCG.

Se reconoce que existen diferencias en el patrón de lectinas entre las células del mesotelioma y las de adenocarcinomas (68), pero por el momento esta sencilla técnica no ha encontrado su lugar en el diagnóstico diferencial entre ambos tumores.

Otros antígenos propios de células epiteliales no parecen presentar diferente expresión en mesoteliomas y en adenocarcinomas. Así sucede en la experiencia de Chenard et al. (413) con el Egp 34, alfa-1-antitripsina y α -1 antiqumotripsina

Se han ensayado anticuerpos frente a marcadores mesenquimales, pero únicamente la proteína S-100 presenta un comportamiento similar al *Leu M₁* en la experiencia de Chenard (413), y puede ser de utilidad limitada en el diagnóstico diferencial. Otros marcadores, como la lisozima, desmina, factor VIII y los componentes de la membrana basal (colágeno tipo IV y laminina) no parece ser útiles para diferenciar mesoteliomas de adenocarcinomas (413, 438).

Un dato a resaltar es que aunque tradicionalmente se considera que los mesoteliomas epiteliales son negativos para vimentina (68), se han descrito posteriormente varios casos positivos para este marcador (439, 440), hasta un 57% en la serie de Chenard et al (413), y ello puede ser útil en el diagnóstico diferencial con los adenocarcinomas, que sólo en un 10% expresan vimentina. Se han descrito también algunos carcinomas de células grandes que expresan positividad para la vimentina (441-443).

El mayor problema que persiste en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma es que por desgracia el diagnóstico de mesotelioma se basa en la ausencia de tinción a marcadores (sobre todo CEA, Leu M₁ y B 72.3). Sería altamente deseable disponer de un anticuerpo que detectase un antígeno que estuviese presente sólo en células mesoteliales y ausente en adenocarcinomas (444), permitiendo un diagnóstico positivo de mesotelioma. En los últimos años se están intentando desarrollar anticuerpos específicos para antígenos que estén sólo presentes en células mesoteliales (68, 276, 285, 287). El anticuerpo ME₁, un anticuerpo monoclonal generado frente a una línea de células mesoteliales, es el primer anticuerpo que reconoce positivamente células mesoteliales. En la serie de O'Hara et al. (444), mostró una alta sensibilidad para reconocer células mesoteliales, reactivas o malignas, mientras no marcó casi ningún adenocarcinoma (Tabla 34).

Tabla 34. Valor del anticuerpo ME 1 en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma pleural y adenocarcinoma

Tumor	Nº de casos	% positivos	% mínimamente positivos
Mesotelioma epitelial	40	100	0
Adenocarcinoma pulmonar	19	21	0
Adenocarcinoma de mama	20	10	40
Adenocarcinoma de estómago	5	20	0
Adenocarcinoma de colon	4	0	25
Adenocarcinoma de riñón	4	0	0
Adenocarcinoma de páncreas	2	50	0
Adenocarcinoma de próstata	1	0	0
Adenocarcinoma de ovario	20	10	70

Tomado de O'Hara et al., 444.

En los únicos 6 adenocarcinomas claramente positivos para ME₁, la presencia de otros marcadores inmunohistoquímicos de adenocarcinoma (CEA y Leu M₁), evitó cualquier error diagnóstico. Por tanto, y puesto que al parecer todos los mesoteliomas epiteliales marcan para ME₁, puede ser interesante incluir este anticuerpo en los paneles diagnósticos de tumores pleurales junto con marcadores de adenocarcinoma (CEA, Leu M₁ y B 72.3). La mayor limitación del anticuerpo ME₁ es que sólo reacciona en tejido congelado, y no permite evaluar muestras fijadas en parafina.

IV.4. b.- Mesotelioma versus sarcoma

Al examen microscópico, los mesoteliomas sarcomatoides sin componente epitelial presentan una apariencia similar a sarcomas de partes blandas. La demostración por inmunohistoquímica de que un tumor pleural coexpresa vimentina y queratinas de bajo peso molecular, apoya fuertemente el diagnóstico de mesotelioma, pues la mayoría de los sarcomas de partes blandas no expresan citoqueratinas, y sí vimentina u otros tipos de filamentos in-

termedios como la desmina. La excepción son los sarcomas epitelioides y sarcomas sinoviales que coexpresan vimentina y citoqueratinas y pueden presentar un aspecto microscópico similar al de un mesotelioma. La localización del tumor primario es esencial para el diagnóstico diferencial en esos casos. Hay que señalar que los mesoteliomas suelen expresar proteínas de la membrana basal como colágeno tipo IV y laminina (438), que también son expresadas por algunos tipos de sarcomas.

Es curioso que a pesar de que los mesoteliomas sarcomatoides y bifásicos representan un 22 y 24% respectivamente de los mesoteliomas (445), y que a menudo las técnicas de microscopia óptica son insuficientes para diferenciarlos de sarcomas, sólo dos artículos (446, 447) han revisado el diagnóstico diferencial entre ambas entidades. El estudio más completo es el de Cagle et al. (447), que realizaron un estudio inmunohistoquímico de 4 mesoteliomas sarcomatoides, 1 desmoplásico y 2 epiteliales, y simultáneamente de 4 carcinomas escamosos fusocelulares y 8 sarcomas de tejidos blandos. En su experiencia, 6 de los 7 mesoteliomas expresaban citoqueratina, y 5 de 7 vimentina. Entre los mesoteliomas no epiteliales, 4 de 5 coexpresaban citoqueratinas y vimentina, hecho que no sucedía en ninguno de los sarcomas. El patrón inmunohistoquímico de los carcinomas escamosos fusocelulares fue idéntico al de los mesoteliomas sarcomatoides, y hay que tener en cuenta que no se incluyó ningún sarcoma epitelioides ni sinovial en la serie, pero en tumores pleurales fusocelulares que no sean clínicamente ni microscópicamente compatibles con sarcoma epitelioides ni sinovial, la expresión de citoqueratinas (casi siempre asociada a expresión de vimentina) es el mejor marcador inmunohistoquímico para distinguir un mesotelioma sarcomatoide de un sarcoma, mientras que la diferenciación con un carcinoma escamoso fusocelular no puede hacerse por inmunohistoquímica (447).

Ya hemos señalado previamente que el diagnóstico diferencial entre un mesotelioma desmoplásico y tejido fibroso o mesotelial reactivo es difícil, y en ambas entidades el estudio inmunohistoquímico demuestra coexpresión de vimentina y queratinas de bajo peso molecular (291).

V.- TRATAMIENTO DEL MESOTELIOMA PLEURAL MALIGNO

Resulta esencial a la hora de hacer un diagnóstico diferencial anatómopatológico plantearse si el que el paciente presente un tipo u otro de tumor va a tener implicaciones terapéuticas.

El mesotelioma pleural maligno es prácticamente siempre fatal, y la mayoría de los pacientes fallecen de la enfermedad en 1 ó 2 años, si bien unos pocos pacientes pueden tener una evolución más lenta. En la serie de Oels et al. (448), la supervivencia mediana de los pacientes con mesotelioma epitelioide difuso fue de 18 meses, mientras fue sólo de 5 meses en los casos de mesotelioma bifásico y 4 meses para el mesotelioma difuso sarcomatoide. En la mayoría de las series la supervivencia mediana de los pacientes con mesotelioma no tratados es ligeramente mayor de 1 año, y el porcentaje de supervivencia a 2 años oscila entre el 9% y 22% (80, 89, 449, 450). Menos del 5% de los pacientes no tratados tienen supervivencias mayores de 5 años (78, 79, 89). El caso con supervivencia más prolongada sin tratamiento descrito es 16 años. Si bien no existe un sistema de estadiaje universalmente aceptado para el mesotelioma pleural maligno, el sistema de estadiaje de Butchart (80) ha sido empleado por muchos autores y permite separar a 4 grupos de pacientes con distinta extensión tumoral y distinta indicación terapéutica, aunque en algunas series su supervivencia mediana sin tratamiento no parece ser muy diferente (Tabla 35).

Tabla 35. Estadios del mesotelioma maligno pleural (Butchart)

A - Definición de los estadios (80)

Estadio	I -	Tumor confinado a una cavidad serosa.
Estadio	II -	Tumor que invade la pared torácica, mediastino o pericardio.
Estadio	III -	Tumor que invade dos cavidades serosas.
Estadio	IV -	Metástasis hematógenas

B - Frecuencia de cada estadio

Referencia		79	84
Nº de pacientes		136	84
Estadio	I (%)	58%	10%
Estadio	II (%)	24%	89%
Estadio	III (%)	18%	0%
Estadio	IV (%)	1%	1%

C - Supervivencia mediana por estadios (meses)

Referencia		79
Nº de pacientes		136
Estadio	I	16 meses
Estadio	II	17 meses
Estadio	III	17 meses
Estadio	IV	-

Tomado de Butchart, 80

V.1.- TRATAMIENTOS LOCALES PALIATIVOS

Antes de plantear ningún tratamiento es esencial conocer la historia natural del tumor no tratado. Tal como hemos referido en la sección de clínica, en el periodo que transcurre entre el diagnóstico de mesotelioma pleural maligno y el fallecimiento, los pacientes presentan progresivamente insuficiencia respiratoria secundaria a compresión pulmonar por el tumor, es decir síntomas "locales", y a menudo requieren toracocentesis muy repetidas, lo cual limita su capacidad de llevar una vida normal. Sólo muy tardíamente aparecen complicaciones adicionales debidas a propagación a distancia (6).

Por ello, históricamente los tratamientos paliativos más empleados han perseguido evitar la reacumulación continua de líquido pleural en estos pacientes, aunque no hayan mejorado la supervivencia mediana. A este respecto, la instilación de tetraciclinas durante la toracoscopia produce una pleurodesis química, lo cual se asocia a la no reacumulación de líquido pleural y con ello disminuye la necesidad de toracocentesis periódicas. Se trata de un método sencillo para mejorar el confort de los pacientes, y para algunos autores permite una supervivencia tan prolongada como terapéuticas más agresivas (451). Hay que señalar que en los pacientes con derrame pleural masivo, la efectividad de las tetraciclinas es máxima si previamente se evacua por completo el líquido pleural. La aplicación de talco intrapleural produce una pleurodesis química de modo similar a las tetraciclinas, pero se ha abandonado su empleo porque induce la aparición de granulomas pleurales a cuerpo extraño.

Un método más agresivo de población es la Pleurectomía subtotal parietal o decorticación, intervención quirúrgica que extirpa casi toda la cubierta pleural. Si bien la extirpación tumoral es siempre incompleta (6), la intervención evita en más del 95% de los casos la reacumulación de líquido pleural a lo largo de la vida de los pacientes, consiguiendo por tanto una excelente paliación. Es interesante citar la serie de Brancatisano et al (452), en la que se incluyen 50 pacientes, que fueron sometidos a toracotomía diagnóstica y terapéutica. Sólo en 5 pacientes no fue técnicamente posible realizar la pleurectomía, y se practicó una pleurodesis química. Sólo hubo un fallecimiento postoperatorio, y sólo un paciente desarrolló reacumulación de líquido pleural. La supervivencia mediana fue 16 meses (rango 3-54), y el 21% de los pacientes sobrevivieron 2 años ó más. Los resultados en cuanto a supervivencia no parecen ser mejores que los de la pleurodesis química, y además esta técnica requiere anestesia general, pero sus ventajas respecto a la pleurodesis química son un menor riesgo de reacumulación de líquido pleural y el permitir la reexpansión del pulmón si se practica simultáneamente una decorticación fina de la pleura visceral (en un 52% de los pacientes de la serie de Brancatisano), lo cual debe traducirse en una mejoría de la función respiratoria. Desde un punto de vista práctico, la pleurectomía puede ser la técnica paliativa de elección en aquellos pacientes con mesotelioma que requieren toracotomía para llegar al diagnóstico. Una indicación

adicional podrían ser aquellos pacientes con derrame pleural recidivante tras pleurodesis ineficaz, o pacientes con derrame pleural encapsulado, así como algunos casos de dolor torácico muy intenso debido al crecimiento tumoral (453).

V.2.- TRATAMIENTO QUIRÚRGICO RADICAL

La única intervención quirúrgica con intención radical en el mesotelioma pleural maligno es la pleuroneumectomía total extrapleural con resección en bloque del pericardio y el diafragma, con restauración de la cubierta diafragmática. Esta intervención, descrita ya hace muchos años, se asociaba clásicamente a una mortalidad postoperatoria del 30%, pero en los últimos años la mejoría de las técnicas operatorias y cuidados postoperatorios, ha permitido disminuirla a menos del 10% (455).

Tal intervención sólo puede lograr la extirpación tumoral completa en aquellos pacientes en estadio I (tumor limitado a una cavidad pleural), y en algunos casos en estadio II (tumor pleural unilateral con extensión a diafragma o pericardio). Un requisito adicional indispensable es que la reserva respiratoria tras la extirpación del pulmón afecto sea suficiente (flujo espiratorio máximo en un segundo (VEMS) esperado mayor de 1 litro).

Establecidas estas premisas, analizaremos los resultados de esta intervención y su impacto en la historia natural del mesotelioma pleural maligno, planteándonos dos preguntas.

- 1.- ¿Se han descrito supervivencias libres de enfermedad en pacientes sometidos a pleuroneumectomía?
- 2.- ¿Es mayor la supervivencia de los pacientes en estadios "operables" si son sometidos a cirugía radical que si sólo se administra tratamiento paliativo?

Supervivientes a largo plazo Respondiendo a la primera pregunta, se han descrito unos pocos pacientes que han sido aparentemente "curados" con la intervención (es decir, siguen vivos más allá de 5 años y sin evidencia de recidiva del tumor) (80, 457-459).

La serie clásica de Butchart (80) incluye 29 pacientes sometidos a pleuroneumectomía, de los cuales 3 (10%) sobrevivieron más de dos años. La mortalidad operatoria en aquel momento fue muy alta (7 pacientes, 31%), mucho mayor que en series más recientes. Una de las mayores series de pleuroneumectomía extrapleural es la de Geroulanos et al (459). De 18 pacientes sometidos a este tratamiento quirúrgico, la mortalidad operatoria y en el primer mes del postoperatorio fue del 6% (1 paciente). La supervivencia mediana de todos los pacientes fue de 20 meses. Otros autores (460) encuentran supervivencias medianas similares, entre 18 y 24 meses y el grupo de Antman et al. en 16 pacientes tratados con pleuroneumectomía obtuvo una supervivencia mediana de 18 meses (79).

Impacto en la Historia natural La literatura médica de los últimos 20 años está llena de opiniones encontradas sobre la utilidad de la cirugía radical en el tratamiento del mesotelioma (89). Un grupo de autores obtienen al-

gunas supervivencias prolongadas y un alargamiento de la supervivencia mediana, con la pleuroneumectomía radical (79, 80, 89, 455, 457-463), y otros grupos practican la intervención, en muy pocos casos, y obtienen resultados decepcionantes, lo cual les lleva a sugerir que no merece la pena intentar la resección en ningún paciente con mesotelioma pleural maligno (78, 89, 464). Tal como señala López-Encuentra en su revisión (89), hay que ser muy cautos al comparar la supervivencia de series de pacientes sometidos a cirugía radical con la de pacientes no intervenidos. Los pacientes a los que se interviene son pacientes relativamente jóvenes, con buen estado general, sin insuficiencia respiratoria y con tumor en estadios precoces. Todos estos factores se asocian a una supervivencia prolongada aún sin tratamiento quirúrgico radical. Por ello, incluso los autores que encuentran una supervivencia más prolongada en los pacientes sometidos a pleuroneumectomía asociada a quimioterapia (79) señalan que tal dato debe ser interpretado con precaución dado que no es un estudio randomizado.

Uno de los estudios más recientes al respecto es el de Harvey et al. (465), que analiza la supervivencia de 94 pacientes con mesotelioma pleural maligno tratados desde 1965 hasta 1988, según el tipo de tratamiento. La mayoría de los pacientes (grupo 1) fueron tratados sólo con pleurodesis, los pacientes del grupo 2 fueron tratadas con cirugía paliativa (pleurectomía), y los pacientes del grupo 3 fueron tratadas con pleuroneumectomía extrapleural. Si bien los grupos no son comparables, los únicos dos supervivientes a largo plazo de la serie, se encuentran entre los sometidos a cirugía radical. Los autores concluyen que es importante en la actualidad estadiar adecuadamente en los pacientes para seleccionar a aquellos tratables con pleuroneumectomía.

El estudio de Calavrezos et al (466), incluye 93 de 132 pacientes con mesotelioma pleural maligno que fueron elegibles para tratamiento entre 1981 y 1985. Según las preferencias de los pacientes, 57 fueron sometidos a tratamiento agresivo (cirugía radical si era posible, poliquimioterapia o radioterapia en casos con respuesta parcial a la quimioterapia) o sólo tratamiento sintomático de soporte (36 pacientes). La supervivencia mediana fue de 13 meses para los pacientes tratados y 7 meses los no tratados (y 5 meses los no susceptibles de tratamiento). Incluso teniendo en cuenta otros factores pronósticos, el tratamiento agresivo se asoció a una ligera prolongación en la expectativa de vida.

Asímismo el reciente estudio prospectivo de Ball y Cruickshank (467) en 35 pacientes con mesotelioma pleural confinado a un hemitórax, encuentra una supervivencia mediana de 17 meses en los 13 pacientes sometidos a cirugía radical, frente a 9 meses los 22 pacientes no intervenidos. La diferencia se acerca a la significación estadística ($p = 0,01$).

Las revisiones más recientes sobre el papel de la cirugía en el tratamiento del mesotelioma maligno pleural (455, 461, 463) concluyen que la pleuroneumectomía radical es el único tratamiento curativo del mesotelioma pleural maligno, pero que sólo está indicado en pacientes en estadio I

(y quizá algunos en estadio II), en excelente estado físico. Además, la mayoría de los pacientes intervenidos con cirugía radical acaban recidivando y falleciendo por el tumor, por lo que muchos grupos asocian radioterapia y/o quimioterapia postoperatoria (455, 460, 461), con lo cual parecen obtenerse mejores resultados (461).

V.3.- RADIOTERAPIA

Se ha empleado en el tratamiento del mesotelioma pleural maligno, bien como tratamiento único o asociada a cirugía o quimioterapia. Los resultados en general no han sido satisfactorios, por lo que la mayoría de los autores consideran que el mesotelioma es un tumor poco radiosensible, pero en algunos casos se obtiene paliación de los síntomas.

La radioterapia externa radical, según la técnica más ampliamente establecida (467-469), administra 50 Gy al hemitorax afecto. En la serie de Ball (467), de 15 pacientes sometidos a radioterapia radical, 3 no pudieron completarla y 2 fallecieron por efectos secundarios del tratamiento (una hepatitis rádica y una mielopatía rádica). La supervivencia mediana de los 12 pacientes que completaron el tratamiento fue de 17 meses, y 17% seguían vivos a los dos años. Estos resultados son comparables a los de la cirugía radical, pero la morbilidad y mortalidad del tratamiento es muy alta: además de las complicaciones sobre órganos vecinos, la alta dosis de radiación que recibe el pulmón, produce en todos una neumonitis rádica a partir de 1-2 meses de completado el tratamiento y que progresa a la fibrosis con pérdida total de la función pulmonar a los 12 meses (469, 470). Por ello, en la actualidad son pocos los centros que la administran, pues los efectos finales de la irradiación de un hemitórax a altas dosis son similares a las de la pleuroneumonectomía (469). La radioterapia externa paliativa, a menor dosis, si parece útil para disminuir los síntomas, especialmente el dolor. En la serie de Ball se consiguió una mejoría al menos parcial en el 65% de los pacientes (467) y es un tratamiento paliativo antiálgico generalmente aceptado (471).

A lo largo de los años se ha ensayado la instilación intrapleural de isótopos radiactivos en el tratamiento del mesotelioma pleural maligno. Los isótopos empleados han sido el ^{198}Au , y el ^{32}P que tiene la ventaja de ser un emisor β puro, por lo que el paciente tratado no emite prácticamente radiaciones al ambiente, mientras el ^{198}Au emite también radiaciones γ que tienen un gran poder de penetración y pueden afectar a las personas que viven con el paciente. A pesar de resultados paliativos esperanzadores en los primeros estudios (472, 473), en la actualidad se consiguen resultados similares con otros tratamientos paliativos y el empleo de isótopos radiactivos en el tratamiento del mesotelioma está en desuso (474).

V.4.- TRATAMIENTO FOTODINÁMICO INTRAPLEURAL

El tratamiento fotodinámico de los tumores malignos humanos se basa en administrar a los pacientes sustancias fotosensibilizantes, espe-

cialmente porfirinas, que se concentran preferentemente en las células tumorales y posteriormente aplicar sobre ellas luz visible, la cual descompone las porfirinas produciendo metabolitos tóxicos que son letales para la célula tumoral.

Largamente empleado para el tratamiento de tumores cutáneos, en los últimos años se está empleando como terapia paliativa en tumores de órganos huecos accesibles por endoscopia (esófago y pulmón sobre todo). En el último año, han aparecido estudios experimentales de terapia fotodinámica subcutánea en ratones desnudos (475) a los que se había implantado mesotelioma humano. Una vez comprobado en esos animales que las células de mesotelioma humano son sensibles al tratamiento fotodinámico, se han iniciado ensayos en humanos aplicando terapia fotodinámica intrapleural bien en el curso de la toracoscopia (476) o bien intraoperatoriamente (477).

V.5.- QUIMIOTERAPIA

Desde los primeros ensayos se sabe que el mesotelioma pleural maligno es un tumor poco sensible a los fármacos citotóxicos más empleados. Ningún fármaco aislado produce más de un 35% de respuestas objetivas (reducción del tamaño tumoral en más del 50% que se mantiene al menos durante un mes), tal como se muestra en la tabla 36.

Como vemos en la Tabla, el fármaco más activo parece ser la adriamicina, que si bien en los primeros ensayos proporcionó un 40% de respuestas objetivas, evaluado en ensayos multicéntricos y con criterios estrictos de respuesta, produjo sólo un 14% de respuestas, y sólo 4% de respuestas completas. El estudio de Falkson (478) combinando radioterapia y procarbina como agente radiosensibilizante, obtuvo un porcentaje mayor de respuestas ligeramente más alto que el obtenido con procarbina sola.

Además, prácticamente todas las respuestas a la monoquimioterapia son parciales, con escasa prolongación de la supervivencia. Sólo algunos casos excepcionales del escaso grupo que obtuvo respuesta a la quimioterapia han presentado respuestas prolongadas. Así, hay descrita una remisión completa de 15 años de duración con Metil-CCNU (25).

Tabla 36. Porcentaje de respuesta a la quimioterapia en mesotelioma maligno pleural (fármacos únicos)

Fármaco	Pacientes evaluables	Número de respuestas	% respuestas
Antraciclinas			
Adriamicina	164	29	18
Doxorubicina	21	9	43
Agentes Alquilantes			
Ciclofosfamida	14	4	28
Mecloretamina	6	2	
Tiotepa	7	1	
Melfalan	3	2	
Procarbacin	6	2	
Mitomicina C	12	2	17
Dacarbacin (DTIC)	4	1	
Cisplatino	49	5	10
Dibromodulcitol	5	0	
Nitrosoureas			
BCNU	2	0	
Metil CCNU	3	0	
ACNU	2	0	
Estreptozotocina	1	0	
Vincas y agentes relacionados			
Etopósido (VP-16)	8	0	
Vindesina	37	1	3
Antimetabolitos			
5-Fluorouracilo	28	4	14
Metotrexate, dosis alta	9	4	
Metotrexate, dosis estándar	1	0	
Antifolato de Baker	3	0	
Diclorometotrexate	1	0	
5-Azacitidina	7	0	
Bleomicina	6	1	
Actinomicina D	3	0	
Ara-C, dosis alta	1	1	
Miscelánea			
Maitansina	5	0	
Metil-GAG	2	1	
Glucosamina	2	0	
Hidroxiurea	2	0	
DDMP	2	0	
Bruceantina	1	0	
M-AMSA	19	1	5
Cicloleucina	7	2	
AZQ	20	0	0

NOTA: Se ha omitido el porcentaje de respuestas en aquellos fármacos que han sido ensayados en grupos menores de 10 pacientes.

Tomado de De Vita, 8.

Continuamente se están evaluando nuevos fármacos citotóxicos para el tratamiento del mesotelioma pleural maligno (Tabla 37), pero ninguno de ellos ha producido un porcentaje de respuestas objetivas claramente mayor del 25%.

Tabla 37. Nuevos fármacos ensayados en el mesotelioma pleural maligno

Fármaco	Nº de pacientes	% de respuesta	Referencia
Cicloleucina	7	29%	474
Bleomicina	3	33%	474
Carboplatino	40	7%	479
Pirarubicina	8	37,5%	480

Como en otros tumores sólidos humanos, se ha ensayado la combinación de varios fármacos cototóxicos con el fin de aumentar la efectividad de éstos. Las combinaciones que han proporcionado mayores porcentajes de respuestas son las siguientes (Tabla 38):

Tabla 38. Poliquimioterapia del mesotelioma pleural maligno

Fármacos	Número de pacientes	% de respuestas	Referencia
Adriamicina + Ciclofosfamida + Vincristina	15	33%	482 - 484
Cisplatino + Mitomicina C	30	31%	485, 486
Cisplatino + ARA-C (Intrapleurales)	39	51%	487, 488
Ifosfamida + Adriamicina	14 (*)	28,5%	481, 489

(*) Pacientes sin quimioterapia previa

Todas estas combinaciones han sido ensayadas en grupos pequeños de pacientes, y algunas otras sólo han producido respuestas anecdóticas en grupos menores de 5 pacientes, como por ejemplo la combinación de pirarubicina y cisplatino (490), y la combinación de Ara-C, hidroxiurea + cisplatino (491).

Es atractiva la administración de fármacos citotóxicos por vía intrapleural, con los que se consigue someter al tumor a altas concentraciones del fármaco con mínima toxicidad sistémica. Administrando por esta vía cisplatino y arabinósido de citosina semanalmente, el grupo europeo de estudio del cáncer de pulmón ha obtenido un alto porcentaje de respuestas que requiere ser confirmado en series más amplias de pacientes. Es esperanzador el hecho de que un grupo importante de pacientes alcancen respuesta completa, hecho excepcional con los esquemas de quimioterapia intravenosa.

Como podemos ver, las combinaciones que emplean fármacos activos frente al mesotelioma obtienen hasta un 50% de respuestas, que es el umbral a partir del cual es esperable un aumento de la supervivencia mediana. Es interesante el hallazgo de que la quimioterapia es más activa cuando se ad-

ministra a pacientes con masa tumoral mínima tras cirugía (80, 457, 458). Por ello, diversos grupos emplean actualmente un abordaje terapéutico agresivo en el mesotelioma maligno combinando cirugía radical seguida de radioterapia en los casos operables, y quimioterapia asociada a radioterapia en los casos inoperables. Con este abordaje, parecen obtener una prolongación de la supervivencia, (460, 461, 463), si bien no existen estudios prospectivos randomizados y parece difícil llevarlos a cabo en un tumor no demasiado frecuente como es el mesotelioma maligno pleural.

V.6.- BIOTERAPIA

Existen diversas razones que hacen sospechar que una depresión de la inmunidad antitumoral del huésped juega un papel importante en la génesis del mesotelioma pleural maligno. La primera es el largo intervalo que transcurre entre la exposición al asbesto y la aparición del mesotelioma, lo cual hace suponer un proceso carcinogénico de varios pasos y larga duración. Una reciente evidencia ha sido el hallazgo de que *in vitro*, la presencia de fibras de asbesto (crisotilo, amosita o crocidolita) suprimen la función de las células LAK y su producción (492). Las células LAK son linfocitos natural killer (asesinos naturales) activados por interleukina -2 (IL-2), y son efectores importantes de la inmunidad antitumoral.

Por ello no es extraño que varios grupos hayan iniciado ensayos de tratamiento del mesotelioma pleural maligno con IL-2 por vía intrapleural (493-495). Si bien el número de pacientes es sumamente reducido y no se han observado respuestas tumorales espectaculares, se ha demostrado que la IL-2 administrada produce diversos efectos biológicos, que son más acusados en la cavidad pleural que sistémicamente. El más espectacular de los efectos, aunque probablemente no el de mayor importancia antitumoral, es la aparición de eosinofilia en el líquido pleural debida a la actividad estimulante de las colonias de eosinófilos de diversas citokinas (IL-5, IL-3 y GM-CSF entre otras), cuya liberación es inducida por la IL-2.

La eosinofilia en sangre periférica es un efecto conocido de la IL-2 administrada por vía intravenosa. Resulta curioso que los pacientes con mesotelioma pleural maligno no tratados presenten con frecuencia eosinofilia en el líquido pleural, lo cual sugiere que existe en ellos una inmunidad antitumoral, que podríamos estimular terapéuticamente cuando conociéramos mejor los mecanismos implicados en ella.

A este respecto, recientemente se han publicado los resultados de dos estudios que administran intrapleuralmente gamma-interferón dos veces por semana a dosis de 40 millones de unidades internacionales ó IL-2 (496-497). La lógica de estos ensayos es la siguiente: existen dos tipos de linfocitos efectores importantes en la inmunidad antitumoral. Por un lado los linfocitos NK (asesinos naturales), son un tipo de linfocitos no T - no B capaces de destruir células tumorales sin necesidad de que éstas posean en su superficie antígenos HLA, y sin especificidad clonal. Por otro lado, los linfocitos T citotóxicos son células capaces de destruir células tumorales siempre que és-

tas posean en su superficie antígenos HLA, y con especificidad clonal (cada clon de linfocitos T citotóxicos es capaz de reaccionar frente a un determinado antígeno). Las células de tumores humanos muestran a menudo una pérdida de los antígenos HLA, que presumiblemente impide que el tumor sea destruido por los linfocitos T citotóxicos. La IL-2 activa tanto a los linfocitos NK, transformándolos en células LAK "superasesinas", como a los linfocitos T citotóxicos, pero es probable que estos últimos sean poco eficaces si el tumor no expresa antígenos HLA (498). El interferón gamma in vitro y en animales, aumenta la expresión de antígenos HLA de superficie en tumores malignos, y se ha confirmado en animales que existe un efecto sinérgico antitumoral entre el interferón-gamma y la IL-2 (499).

A las dosis tolerables, el interferón-gamma administrado sistémicamente ha demostrado poca eficacia en tumores sólidos humanos, en general. Por ello resultan impresionantes los resultados obtenidos por un grupo francés con interferón gamma por vía intrapleural (496, 497) (Tabla 39). Como señalan los autores, un porcentaje de respuestas completas del 33% es excepcional en pacientes con mesotelioma en estadio I (497).

Tabla 39. Resultados del tratamiento intrapleural con interferón-gamma en el mesotelioma pleural maligno

Tratamiento	Referencia	Nº pacientes	Respuesta (%)	Respuestas completas (%)	Respuestas en estadio I
IFN-gamma	496	22	6 (27%)	4 (18%)	5/12 (4 completas)
IL-2	497	14	7 (50%)	1 (7%)	3/3 (2 completas)

El interferón-beta, cuya función es biológicamente distinta, ha sido ensayado por vía sistémica en 14 pacientes un mesotelioma pleural maligno sin ninguna respuesta objetiva (500).

El factor de necrosis tumoral (TNF), una monokina de efecto antitumoral directo, parece tener poca actividad in vitro frente al mesotelioma (501) y no es sinérgica con la IL-2 para inducir actividad LAK frente a ese tumor. No se han obtenido efectos antitumorales espectaculares en humanos en ningún ensayo de los realizados en tumores malignos (502).

¿Cuál es el papel actual de la bioterapia en el tratamiento del mesotelioma maligno pleural?. Como señala Ruffie en su reciente revisión (503), no existe ninguna terapéutica a la que podamos llamar tratamiento estándar del mesotelioma, salvo en los raros casos tratables con cirugía radical, pues ni la cirugía ni la radioterapia ni la quimioterapia alteran el curso fatal de la mayoría de los pacientes. Por ello es muy importante el hallazgo de que el interferón-gamma administrado por vía intrapleural puede producir respuestas completas duraderas (confirmadas por toracoscopia con biopsia) (496, 497) y probablemente algunas curaciones en pacientes con mesotelioma pleural maligno estadio I. Los modificadores de la respuesta biológica tales como el interferón-gamma y la IL-2 podrían bien ser el futuro abordaje terapéutico del mesotelioma pleural maligno (503).

Como conclusión, debemos considerar que el tratamiento del mesotelioma pleural maligno no está resuelto. La cirugía radical (pleuroneumonectomía), sólo o asociada a radioterapia y/o quimioterapia, ofrece una oportunidad de supervivencia a largo plazo a pacientes con mesotelioma maligno en estadio I (tumor limitado a un hemitórax, sin afectación de ganglios regionales). En el resto de pacientes, la poliquimioterapia (en concreto, las combinaciones de adriamicina + ciclofosfamida o bien cisplatino + mitomicina C) producen respuestas objetivas temporales en un 30% de los casos, y la radioterapia puede emplearse localmente en algún caso. El empleo de modificadores de la respuesta biológica puede representar un avance en el tratamiento del mesotelioma maligno pleural, si se confirman los alentadores datos preliminares.

PROPÓSITO DE LA TESIS

La aparición de anticuerpos monoclonales bien caracterizados y el desarrollo de técnicas inmunohistoquímicas altamente sensibles ha revolucionado la práctica de la Anatomía Patológica. No obstante, pasado el periodo de entusiasmo inicial, deben evaluarse críticamente las indicaciones de esta técnica en el diagnóstico histopatológico, teniendo en cuenta que el método diagnóstico de mayor rentabilidad en Anatomía Patológica, por su sencillez, bajo costo, rapidez de realización, reproductibilidad y resultados es el examen óptico de preparaciones histológicas teñidas con hematoxilina-eosina. Es en aquellos casos en los que las características ópticas no permiten llegar a un diagnóstico de certeza en los que está indicado evaluar la aplicación de técnicas complementarias.

El estudio inmunohistoquímico permite detectar la presencia de un antígeno en una célula aplicando anticuerpos dirigidos contra él a la muestra de célula o tejido. La presencia de ciertas proteínas, y especialmente los filamentos intermedios citoplásmicos, es característica de un tipo celular. Cada célula normal humana posee generalmente un sólo tipo de filamento intermedio: citoqueratinas en células epiteliales, vimentina en las mesenquimales, neurofilamentos en células neurales, proteína ácida fibrilar glial en células gliales y desmina en células musculares. El patrón de expresión de filamentos intermedios en células tumorales es complejo, incluso en determinados tumores como el mesotelioma es frecuente la coexpresión de varios tipos. Sin embargo, en tumores indiferenciados que han perdido toda característica óptica de estirpe, e incluso los rasgos ultraestructurales diferenciales, a menudo se conserva la expresión de filamentos intermedios y otras proteínas que permiten conocer la estirpe del tumor mediante estudios inmunohistoquímicos.

¿Por qué hemos escogido el problema del diagnóstico de los tumores pleurales para evaluar el valor de la inmunohistoquímica?. En primer lugar, por lo difícil que resulta en tales casos llegar al diagnóstico de certeza con técnicas convencionales. En segundo lugar, porque suele ser necesario analizar múltiples biopsias, con el gasto financiero y humano que ello representa. Y, en último lugar, pero aún más importante que las razones previas, porque si mediante el empleo de técnicas complementarias como puede ser la inmunohistoquímica es posible un diagnóstico correcto en una primera biopsia, ello ahorraría al paciente la repetición de maniobras diagnósticas cada vez más agresivas.

Existen múltiples estudios en la literatura médica sobre el valor de la inmunohistoquímica en el diagnóstico de los tumores pleurales, a menudo con resultados contradictorios. Queremos analizar el valor diagnóstico empleando un papel de anticuerpos disponibles comercialmente en la práctica clínica habitual como técnica complementaria al estudio por microscopía óptica.

El problema del diagnóstico de los tumores pleurales ha sido un área de interés prioritario en nuestro Departamento en los últimos diez años, tanto empleando técnicas ópticas e histoquímicas para el estudio de los mesoteliomas pleurales (89) como analizando muestras de líquido pleural de pacientes con sospecha de tumor pleural mediante técnicas de inmunocitoquímicas (141).

Deseamos que la aplicación de nuestros resultados al diagnóstico diferencial de los tumores pleurales permita una mejor caracterización de las diferentes entidades, como requisito básico para un mejor tratamiento de los pacientes.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Desde la primera descripción de mesotelioma maligno pleural (1) en 1908, el diagnóstico de este tumor ha seguido siendo un difícil problema para el patólogo. Hasta hace poco más de veinte años, sólo se aceptaba el diagnóstico de certeza de mesotelioma maligno tras estudio autopsico. Actualmente, es posible en casi todos los casos llegar al diagnóstico en vida del paciente. Pero ni el examen óptico de la biopsia teñida con hematoxilina-eosina, ni ninguna de las técnicas complementarias (histoquímicas, microscopía electrónica, inmunohistoquímica, citometría de flujo, etc.) son suficientemente satisfactorias de forma aislada, siendo necesaria la práctica de varias de ellas.

Históricamente, las primeras técnicas complementarias útiles para el diagnóstico de los tumores pleurales son las tinciones histoquímicas. Inicialmente acogidas con entusiasmo, en la actualidad se acepta que su valor es muy limitado, pues sólo permite un diagnóstico positivo en aquellos adenocarcinomas que son PAS-diestasa resistentes (50-70%) y en aquellos mesoteliomas que muestran tinción con azul Alcian a pH=2,5, sensible a hialuronidasa (aproximadamente un 25%).

El examen de la biopsia al microscopio electrónico suele ser suficiente para un diagnóstico diferencial correcto. Sin embargo, la necesidad de procesar la muestra de modo diferente al habitual (por lo que a menudo es necesario repetir la biopsia) y la necesidad de disponer del equipo adecuado, suelen traducirse en un intervalo de tiempo hasta el diagnóstico demasiado prolongado como para considerar satisfactoria esta técnica. Asimismo cabe señalar que los estudios que evalúan nuevas técnicas (p. ej. inmunohistoquímica) en el diagnóstico de tumores pleurales incluyen sólo casos claramente tipificables por microscopía electrónica, excluyendo los casos dudosos, pero estos últimos existen.

La aplicación de principios y técnicas inmunológicas al estudio de células y tejidos en la segunda mitad de este siglo ha conducido al desarrollo de las técnicas inmunohistológicas. Sucesivamente se han desarrollado métodos más sensibles y específicos. Uno de los más empleados actualmente es el método del complejo avidina-biotina-peroxidasa, descrito por Hsu en 1981. La utilización de esta técnica para la detección de antígeno carcinoembrionario en tejido tumoral es útil para el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y carcinoma, pero su especificidad es menor de la que se creyó inicialmente. Otros marcadores positivos en adenocarcinomas (Leu M1, B72.3, etc.), han demostrado posteriormente su utilidad. Pero la aparición de resultados contradictorios en estudios sucesivos obliga a subrayar la necesidad de estandarizar qué anticuerpo (de los varios disponibles comercialmente frente a un mismo antígeno) se emplea. La aparición de los anticuerpos monoclonales ha permitido simplificar el problema. Hoy en día, el mayor problema que persiste es que no disponemos de anticuerpos específicos frente a antígenos mesoteliales, que permitirían un diagnóstico positivo de mesotelioma.

En este estudio analizamos el valor diagnóstico de un panel de doce anticuerpos (queratina 20, Cam 5.2, EP4, CEA, Leu M1, B72.3, vimentina, desmina, Ber H2, K903, EMA y Ca 12.5) para diferenciar mesotelioma pleural de carcinoma en muestras de biopsia pleural fijadas en formol e incluidas en parafina.

Se plantean los siguientes objetivos:

- 1.- Determinar las características inmunohistoquímicas de los mesoteliomas pleurales malignos procesados de forma habitual.
- 2.- Determinar las características inmunohistoquímicas de los carcinomas metastásicos en pleura.
- 3.- Determinar qué anticuerpos del panel propuesto son más útiles en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma pleural maligno y carcinoma metastásico en pleura.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han evaluado todas las biopsias pleurales diagnosticadas en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid entre Junio de 1974 y Diciembre de 1992. Se han seleccionado los 61 casos con diagnóstico de mesotelioma pleural, y de ellos se han incluido en el estudio todos aquellos en los que se disponía de suficiente tejido tumoral para realizar el panel inmunohistoquímico propuesto (Tabla 40).

Asimismo se ha recogido el número de biopsias pleurales con diagnóstico de tumor maligno distinto de mesotelioma. Se han seleccionado al azar 23 casos de carcinoma pulmonar o extrapulmonar metastásicos en la pleura para su estudio, empleando el mismo panel.

La secuencia seguida para el análisis de las muestras se resume en la Tabla 41. Una vez obtenidos cortes de 4 micras de grosor del bloque de tejido tumoral incluido en parafina, se aplicó la técnica del complejo avidina-biotina-peroxidasa tal como se describe en la Tabla 42. Las características de los anticuerpos empleados se describen en la Tabla 43.

Tras el examen de la muestra teñida con hematoxilina-eosina, se estudió la positividad o negatividad de las técnicas inmunohistoquímicas utilizando la escala descrita en la Tabla 44.

La sensibilidad y especificidad de cada marcador inmunohistoquímico fueron calculadas tal como se describe en la Tabla 45. Los resultados se han expresado como porcentajes.

Tabla 40: Criterios de inclusión en el estudio

-
- 1.- Biopsia pleural con diagnóstico de mesotelioma (mesotelioma pleural maligno o fibroso benigno) o adenocarcinoma.
 - 2.- Confirmación del diagnóstico óptico.
 - 3.- Disponibilidad de tejido tumoral suficiente incluido en parafina para obtener 16 secciones de 4 micras de grosor.
-

Tabla 41: Secuencia de análisis de las muestras

-
- 1.- Obtención de 16 secciones de 4 micras de grosor.
 - 2.- Tinción de una de las secciones con hematoxilina-eosina.
 - 3.- Tinción de 12 de las secciones con el método del complejo avidina-biotina peroxidasa con 12 anticuerpos.
-

Tabla 42: Técnica del complejo avidina-biotina-peroxidasa

- 1- Estufa a 37° durante 24 horas
- 2- Xilol (2 pases de 15 minutos).
- 3- Alcohol absoluto (1 pase de 10 minutos).
- 4- Alcohol de 96° (1 pase de 10 minutos).
- 5- Proteasa (1 minuto). Protease de Sigma. Sólo para aquellos anticuerpos que precisan tripsinización.
- 6- Metanol/agua oxigenada en proporción 100 cc/1,5 cc
- 7- Kit DAKO LSAB.
 - 1º paso: bloqueante durante 20 minutos
 - 2º paso: anticuerpo primario durante 30-45 minutos
 - 3º paso: puente biotinizado durante 20 minutos
 - 4º paso: complejo estreptavidina durante 20 minutos
- 8- Diaminobencidina durante 7 minutos (MERCK).
- 9 - Lavar con agua.
- 10- Hematoxilina durante 1 minutos.
- 11- Alcohol 96° (1 pase).
- 12- Alcohol absoluto (1 pase).
- 13- Xilol (1 pase)
- 14- Montar.

Tabla 43: Características de los anticuerpos empleados en el estudio.

Anticuerpo (nombre comercial)	Origen (empresa, ciudad, país)	Dilución
queratina 20 (T) (anti- Cytokeratin No. 20, Ks 20)	PROGEN, Heidelberg, Alemania	1/10
Cam 5.2 (T) (anti-Human Cytokeratin)	BECTON DICKINSON, Erembodegem, Belgica	1/2
Ber EP4 (T) (Epithelial Antigen)	DAKO, Glostrup, Dinamarca	1/100
CEA (T) (Carcinoembryonic Antigen)	DAKO, Glostrup, Dinamarca	1/50
Leu M1 (Anti-Human Leu-M1 (CD15))	BECTON DICKINSON, Erembodegem, Bélgica	1/2
B 72.3 (Breast CA. B 72.3)	BioGenex, San Ramón CA, USA	puro
vimentina (DAKO Vimentin)	DAKO, Glostrup, Dinamarca	1/10
desmina (DAKO-desmin-D33)	DAKO, Glostrup, Dinamarca	1/100
Ber H2 (T) (KI-1 Antigen, CD 30 (DAKO-Ber-H2)	DAKO, Glostrup, Dinamarca	1/20
K 903 (T) (Keratin squam. Epith)	MERCK, Darmstadt-Alemania	puro
EMA (Epithelial Membrane Antigen) (DAKO-EMA)	DAKO, Glostrup, Dinamarca	1/50
Ca 125 (T) (Histo-CA 125)	INTERNATIONAL CIS Saint-Quentin-Yvelines Francia	1/10

(T): Anticuerpos que precisan tripsinización

Tabla 44: Escala de valoración del estudio inmunohistoquímico

Tinción negativa	-
Tinción focal, < 30% de las células	+
Tinción en 30-60% de las células	++
Tinción en > 60% de las células	+++

Tabla 45: Concepto de sensibilidad y especificidad

Sensibilidad para mesotelioma pleural maligno (MPM) (%) =
 $(\text{n}^\circ \text{ de MPM positivos} / \text{total de MPM}) \times 100$

Especificidad para mesotelioma pleural maligno (MPM) (%) =
 $(1 - (\text{n}^\circ \text{ de carcinomas positivos} / \text{total de carcinomas})) \times 100$

Sensibilidad para carcinoma (C) (%) =
 $(\text{n}^\circ \text{ de carcinomas positivos} / \text{total de carcinomas}) \times 100$

Especificidad para carcinoma (C) (%) =
 $(1 - (\text{n}^\circ \text{ de MPM positivos} / \text{total de MPM})) \times 100$

Valor predictivo positivo para MPM (%) =
 $(\text{n}^\circ \text{ de MPM positivos} / \text{MPM positivos} + (\text{C positivos} \times \text{C:M})) \times 100$

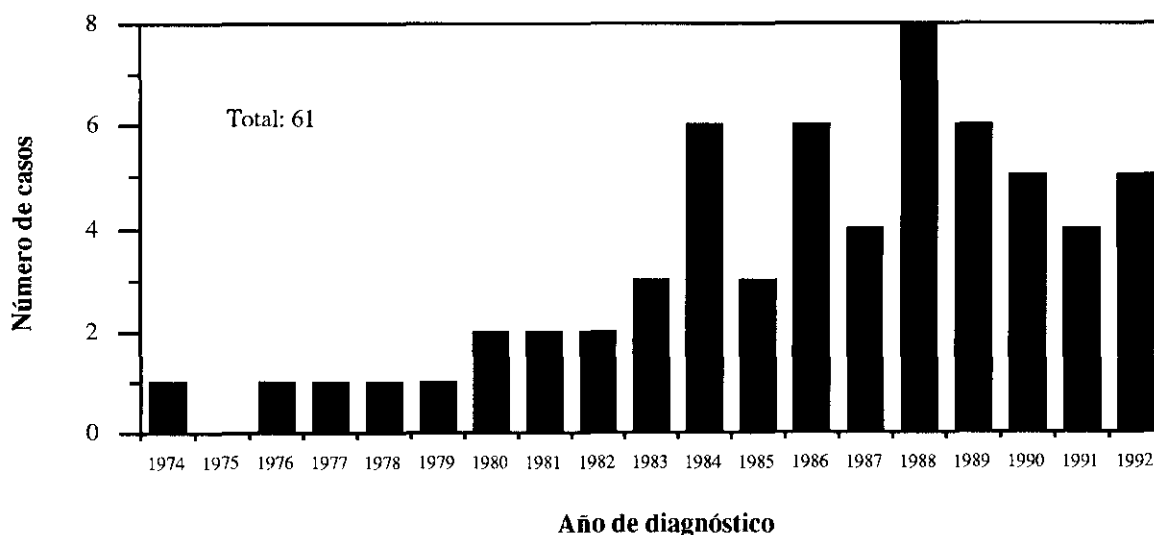
Valor predictivo positivo para C (%) =
 $(\text{n}^\circ \text{ de C positivos} / \text{C positivos} + (\text{C positivos} \times \text{M:C})) \times 100$

RESULTADOS

De los 61 casos diagnosticados de mesotelioma por biopsia pleural en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital 12 de Octubre de Madrid entre 1974 y 1992, se ha practicado estudio microscópico e inmunohistoquímico de aquellos 43 casos en que se disponía de suficiente material. Asimismo, se seleccionaron al azar 23 biopsias pleurales que fueron diagnosticadas de carcinoma metastásico en pleura.

El número de casos diagnosticados de mesotelioma durante ese periodo de tiempo ha aumentado progresivamente, tal como se describe en la tabla 12. No es objeto de este trabajo estudiar si ha existido un aumento real de la incidencia de mesotelioma pleural en el área de referencia de nuestro centro, en la que se ubican varias empresas que emplean asbesto, o bien únicamente ha aumentado la frecuencia con que se llega a un diagnóstico de certeza. Lo cierto, es que el mesotelioma pleural maligno no es una entidad rara, y los problemas que su diagnóstico plantea son de interés para todos los profesionales de la salud.

Figura 12: Número de casos de mesotelioma pleural maligno diagnosticados anualmente en el Hospital 12 de Octubre



A- Características de los mesoteliomas pleurales malignos

Se han estudiado 43 casos de mesotelioma pleural, a partir de especímenes de tejido pleural obtenidos por toracoscopia o toracotomía diagnósticas. Tres de los casos correspondían a mesotelioma fibroso solitario. El estudio inmunohistoquímico de estos tres casos mostró positividad para vimentina y negatividad para el resto de marcadores del panel propuesto. Estos hallazgos concuerdan con los descritos por otros autores, por lo que centraremos el estudio en los 40 casos de mesotelioma pleural maligno.

La frecuencia de los diferentes tipos histológicos se describe en la tabla 46. Los rasgos morfológicos de mesotelioma se muestran en la figura 13.

En la tabla 47 se describen los hallazgos inmunohistoquímicos, y en la tabla 3 el número de casos con tinción fuertemente positiva para los diferentes marcadores.

Treinta y nueve de los 40 mesoteliomas estudiados (97,5%) marcaron positivamente con el anticuerpo CAM 5.2 (antiqueratinas de bajo peso molecular) (figura 14A) y 25 de ellos (62,5%) marcaban asimismo con el anticuerpo K903 (antiqueratinas de alto peso molecular). El antígeno epitelial de membrana (EMA) fue positivo en 36 casos (90%), todos los cuales marcaban positivamente con CAM 5.2. De igual forma, el marcador Ber H2 fue positivo en 17 casos de mesotelioma (42,5%), todos ellos positivos para CAM 5.2. La queratina 20 fue positiva en 16 casos (40%). Todos ellos eran positivos para CAM 5.2, y todos menos uno para K903.

Un 87,5% de los casos de mesotelioma (35 casos) marcaron positivamente para vimentina (figura 14B). Se detectó expresión de desmina en 18 casos (45%), todos ellos salvo uno, positivos también para vimentina.

Fueron en general negativos el CEA (1 caso positivo) (2,5%) (figura 15A), el anticuerpo B72.3 (0 casos positivos) y el Leu M1 (figura 15B) (positivo sólo en 2 casos (5%). El marcador Ber EP4 fue positivo sólo en 1 caso (2,5%). El marcador celómico CA 125 fue negativo en los 40 casos estudiados.

La localización del marcaje fue generalmente citoplásmica, salvo en el caso del EMA, de distribución membranosa.

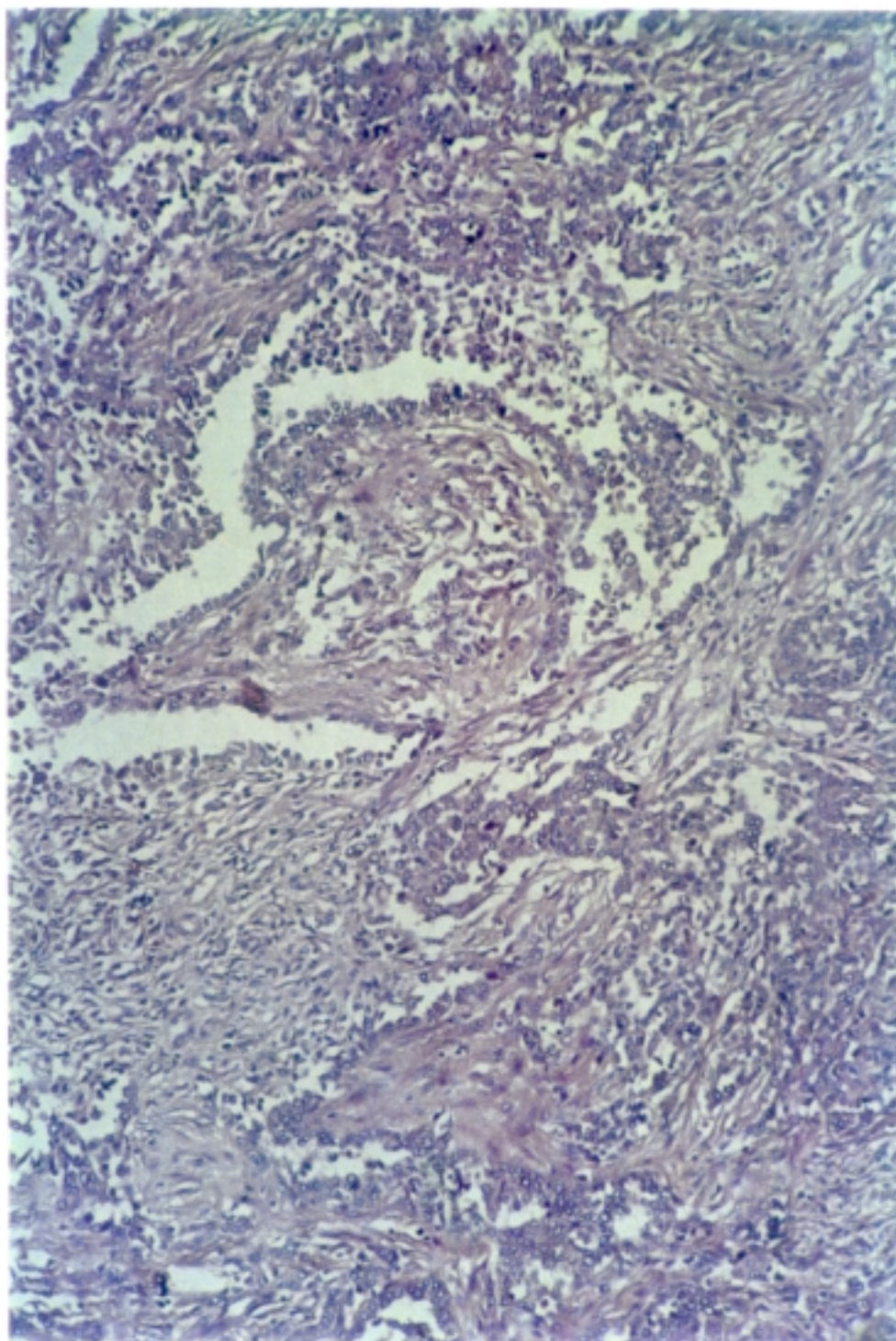


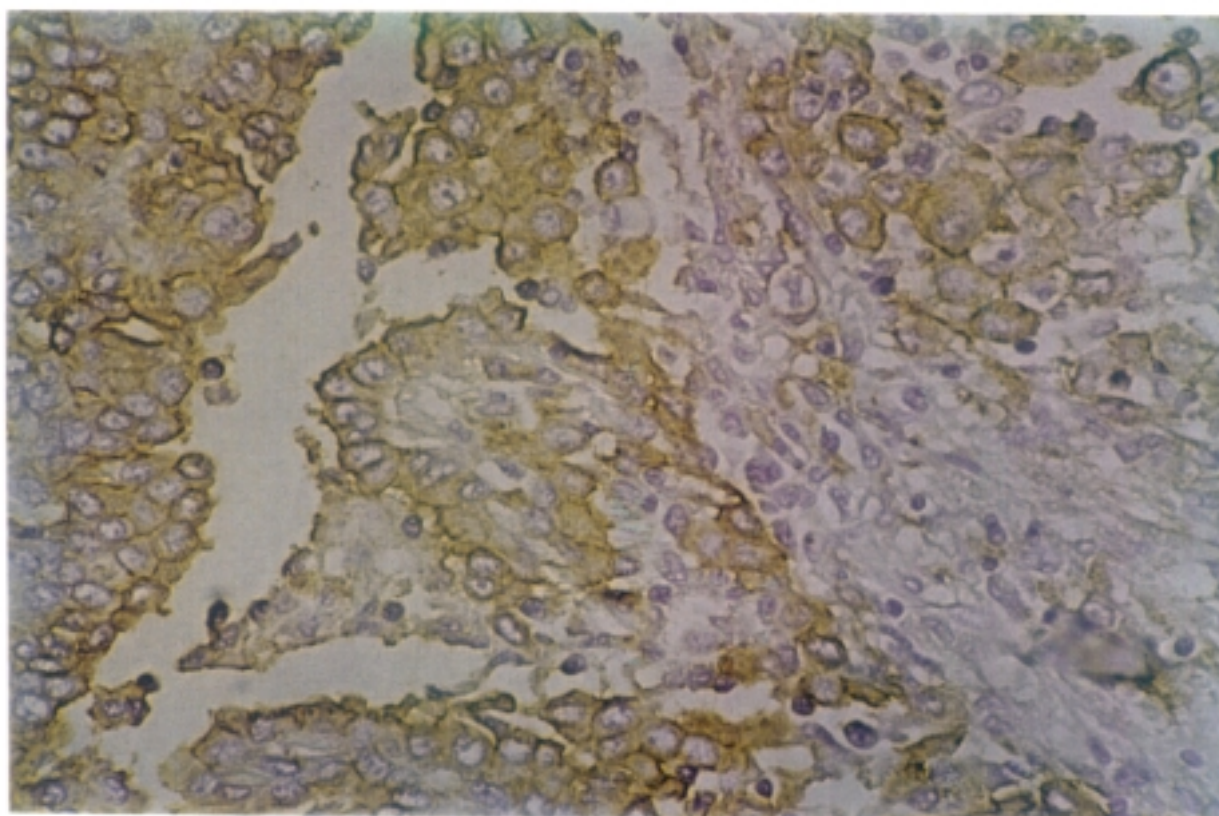
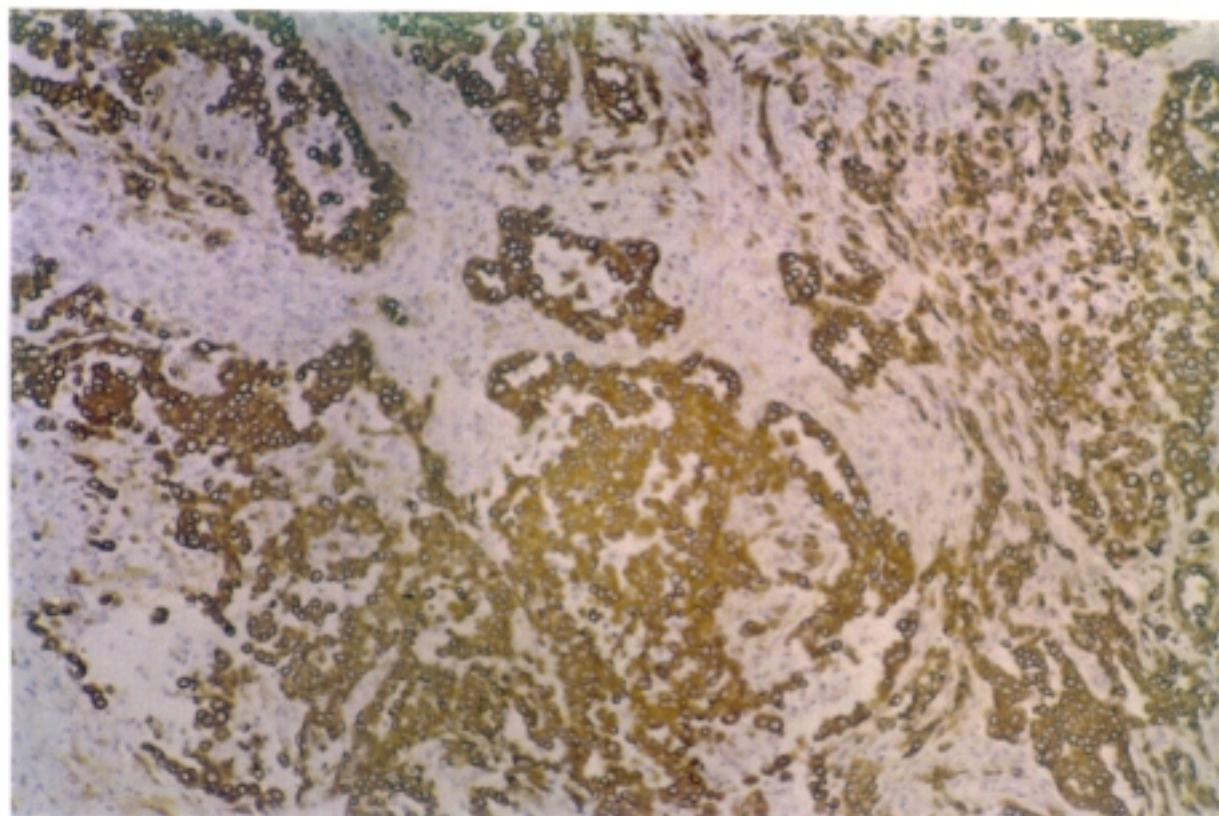
Figura 13. Característica imagen morfológica de mesotelioma epitelial (HE x 100).

Tabla 46: Características morfológicas de los mesoteliomas.

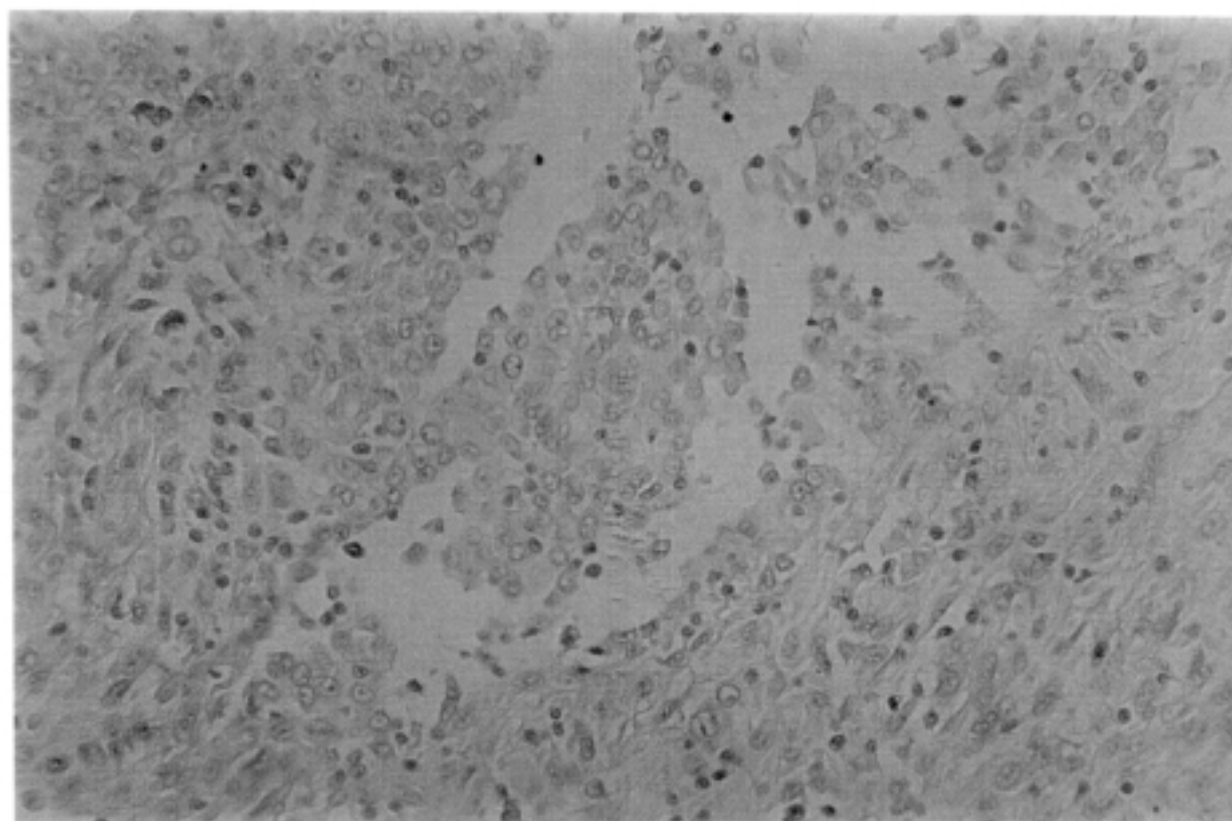
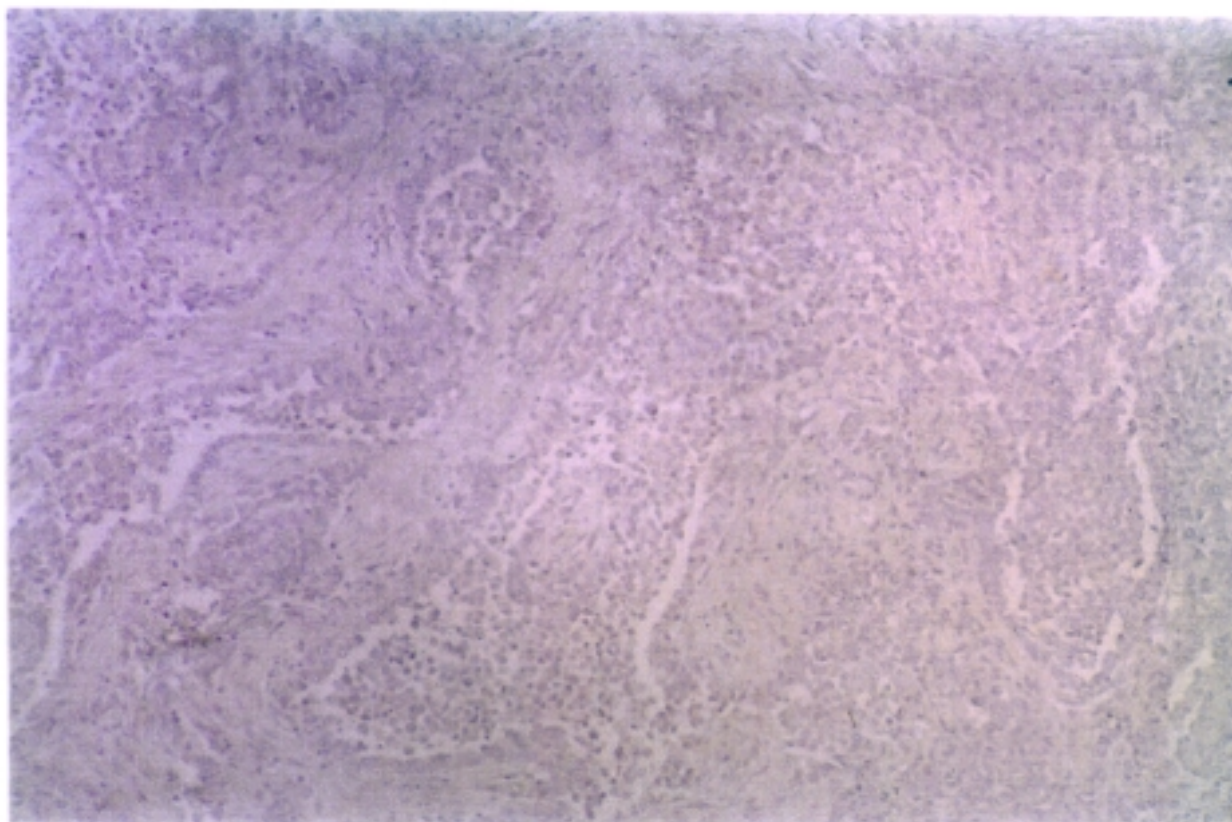
Tipo morfológico	nº de casos
Mesotelioma epitelial	26 (65%)
Mesotelioma sarcomatoso	10 (25%)
Mesotelioma bifásico (mixto)	4 (10%)

Tabla 47: Características inmunohistoquímicas de los mesoteliomas pleurales malignos.

Marcador	nº de casos positivos (%)
Cam 5.2	39 (97,5%)
K 903	25 (62,5%)
IT 20	16 (40%)
EMA	36 (90%)
CEA	1 (2,5%)
Leu M1	2(5%)
B 72.3	0 (0%)
Ber H2	17 (42,5%)
Ber EP4	1 (2,5%)
CA 125	0 (0%)
Vimentina	35 (87,5%)
Desmina	18 (45%)



**Figura 14. Características inmunohistoquímicas de los mesoteliomas pleurales malignos (método ABC). A-Positividad para Cam 5.2. (x 100)
B-Positividad para vimentina. (x 400)**



**Figura 15. Características inmunohistoquímicas de los mesoteliomas pleurales malignos (método ABC). A-Negatividad para CEA. (x 100)
B-Negatividad para Leu M1. (x 400)**

Hemos analizado el significado del marcaje positivo en más del 30% de las células para cada marcador (tabla 48), excluyendo aquellos casos con positividad en menos del 30% de las células, que se describen como positivos en la tabla 47. Destaca que el número de casos fuertemente positivos con K 903, IT 20, EMA, Ber H2, vimentina y desmina es mucho menor que el descrito en la tabla 47, pues en casi la mitad de los casos positivos, se tiñen menos del 30% de las células. En contraste, 38 de los 39 casos que marcaron positivamente con CAM 5.2 fueron fuertemente positivos.

Al elevar el umbral para considerar marcaje positivo, se eliminan los casos aislados que marcan para CEA, Leu M1 o Ber EP4, pues en todos ellos sólo se tiñen células aisladas.

La tabla 49 describe los resultados del estudio inmunohistoquímico según el tipo morfológico de mesotelioma. Son evidentes las diferencias entre mesoteliomas epiteliales y sarcomatosos. Los primeros son positivos para CAM 5.2, K903, queratina 20, EMA, Ber H2 y desmina con mayor frecuencia que los sarcomatosos. La diferencia es particularmente acusada en cuanto al porcentaje de tumores positivos para Ber H2 (53,8% vs 0%), queratina 20 (57,7% vs. 10%) y K903 (73,1% vs. 30%).

Tabla48: Porcentaje de casos de mesotelioma pleural maligno con tinción positiva en más del 30% de las células

Marcador	nº de casos positivos en más del 30% de las células (%)
Cam 5.2	38 (95%)
K903	16 (40%)
IT 20	9 (22,5%)
EMA	16 (40%)
CEA	0 (0%)
Leu M1	0 (0%)
B 72.3	0 (0%)
Ber H2	4 (10%)
Ber EP4	0 (0%)
CA 125	0 (0%)
Vimentina	22 (55%)
Desmina	4 (10%)

Tabla 49: Características inmunohistoquímicas de los mesoteliomas pleurales malignos según el tipo morfológico.

marcador	nº de casos positivos / total (%)		
	m. epitelial	m. sarcomatoso	m. mixto
CAM 5.2	26/26 (100%)	9/10 (90%)	4/4 (100%)
K 903	19/26 (73,1%)	3/10 (30%)	3/4 (75%)
IT 20	15/26 (57,7%)	1/10 (10%)	2/4 (50%)
EMA	25/26 (96,2%)	8/10 (80%)	3/4 (75%)
CEA	0/26 (0%)	0/10 (0%)	1/4 (25%)
Leu M1	1/26 (3,8%)	1/10 (10%)	0/4 (0%)
B 72.3	0/26 (0%)	0/10 (0%)	0/4 (0%)
Ber H2	14/26 (53,8%)	0/10 (0%)	2/4 (50%)
Ber EP 4	0/26 (0%)	0/10 (0%)	1/4 (25%)
CA 125	0/26 (0%)	0/10 (0%)	0/4 (0%)
Vimentina	23/26 (88,5%)	8/10(80%)	4/4 (100%)
Desmina	12/26 (46,2%)	4/10 (40%)	2/4 (50%)

B- Características de los carcinomas metastásicos

El origen primitivo y tipo histológico de los 23 casos estudiados de carcinoma metastásico en pleura se describen en la tabla 50. El aspecto microscópico con tinción hematoxilina-eosina se ilustra en la figura 16.

Las características inmunohistoquímicas de los carcinomas estudiados se resumen en la tabla 51, y la tabla 52 muestra el número de casos positivos en más del 30% de las células para cada uno de los marcadores empleados.

Los 23 casos de carcinoma (100%) marcaban positivamente con el anticuerpo CAM 5.2 (figura 17A) y 15 de ellos (65,2%) marcaban también con el anticuerpo K 903. Todos los carcinomas epidermoides fueron positivos para este marcador, tal como había sido descrito previamente (202), pero también lo fueron algo más de la mitad de los adenocarcinomas de nuestra serie. Siete de los casos positivos para K903 fueron además positivos para queratina 20. En 21 casos (91,3%), fue asimismo positivo el EMA.

El número de casos que marcaron positivamente para el resto de marcadores propuestos como "específicos" de carcinoma fue: Ber EP4, 20 casos (87,0%), CEA, 15 casos (65,2%) (figura 18A); B 72.3, 12 casos (52,2%), Leu M1, 10 casos (43,5%) (figura 18B). El marcador celómico CA 125 fue negativo en todos los casos. El marcador Ber H2 fue positivo en tres casos (13,9%).

Se detectó expresión de vimentina (figura 17B) en 1 caso (4,3%), mientras que ningún caso marcó positivamente para desmina.

En cuanto al número de casos con tinción positiva en más del 30% de las células para cada marcador, 21 de los 23 casos marcaron con CAM 5.2, mientras que para el resto de los marcadores, en aproximadamente la mitad de los casos considerados positivos sólo se teñían menos del 30% de las células.

Las características inmunohistoquímicas según el origen primario y tipo histológico se resumen en la tabla 53. Además de la mayor frecuencia de positividad para CAM 5.2 en adenocarcinomas que en carcinomas epidermoides (100% vs. 60%), y la menor frecuencia de expresión de positividad para K903 (46-66% vs 100%), destaca la menor frecuencia de positividad para queratina 20 en los adenocarcinomas pulmonares (13% vs. 60-66%), y la mayor frecuencia de positividad para EMA (100% vs. 66-80%) y B 72.3 (66% vs 0-40%). Señalaremos que en el momento de valorar el estudio inmunohistoquímico, no conocíamos el origen primario del tumor.

Tabla 50: Origen primario de los carcinomas.

Origen primario	nº de casos (%)
Pulmón (adenocarcinoma)	15 (65,2%)
Pulmón (c. epidermoide)	3 (13,0%)
Esófago (adenocarcinoma)	1 (4,3%)
Esófago (c. epidermoide)	1 (4,3%)
Testículo (c. embrionario)	1 (4,3%)
Origen desconocido (adenocarcinoma)	1 (4,3%)
Origen desconocido (c. epidermoide)	1 (4,3%)

Tabla 51: Características inmunohistoquímicas de los 23 carcinomas metastásicos en la pleura

Marcador	nº de casos positivos (%)
CAM 5.2	23 (100%)
K903	15 (65,2%)
IT 20	7 (30,4%)
EMA	21 (91,3%)
CEA	15 (65,2%)
Leu M1	10 (43,5%)
B 72.3	12 (52,2%)
Ber H2	3 (13,0%)
Ber EP4	20 (87,0%)
CA 125	0
Vimentina	1 (4,3%)
Desmina	0

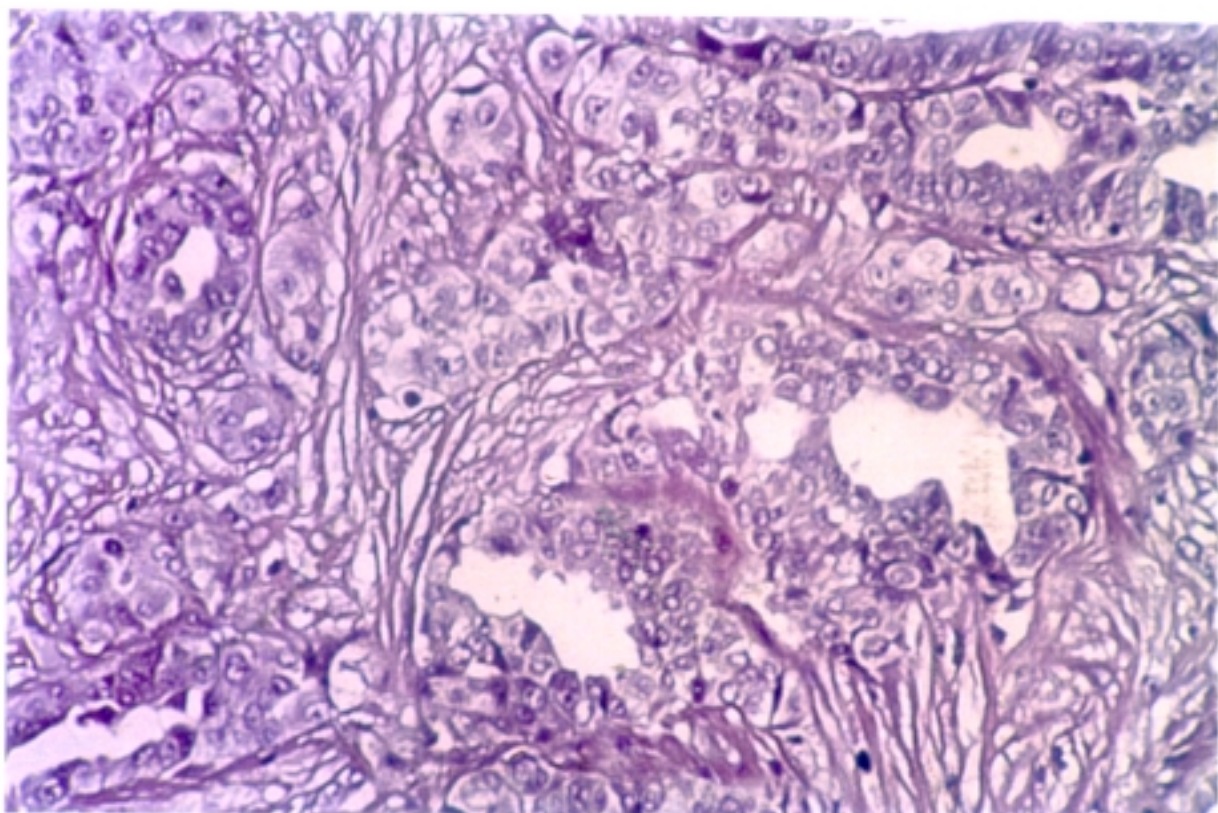
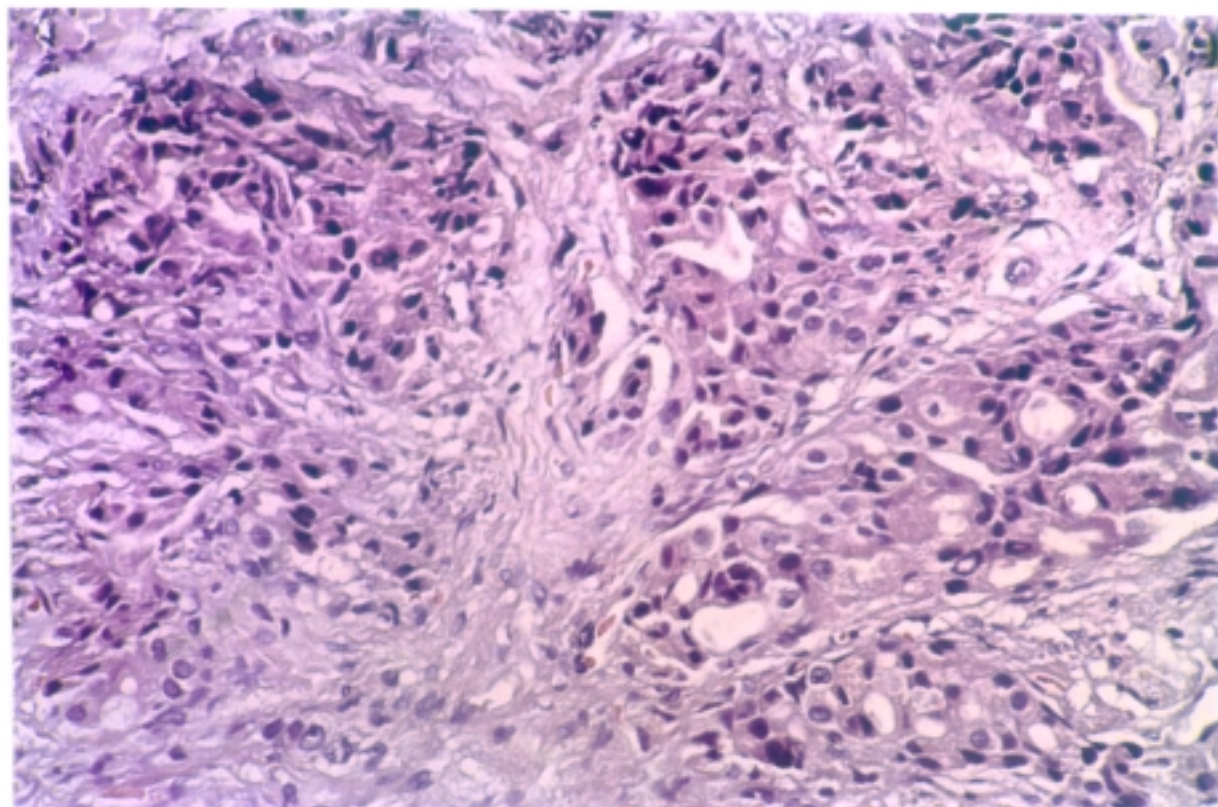


Figura 16. Dos ejemplos de carcinoma metastásico en pleura A-HE x 250, B-HE x 400.

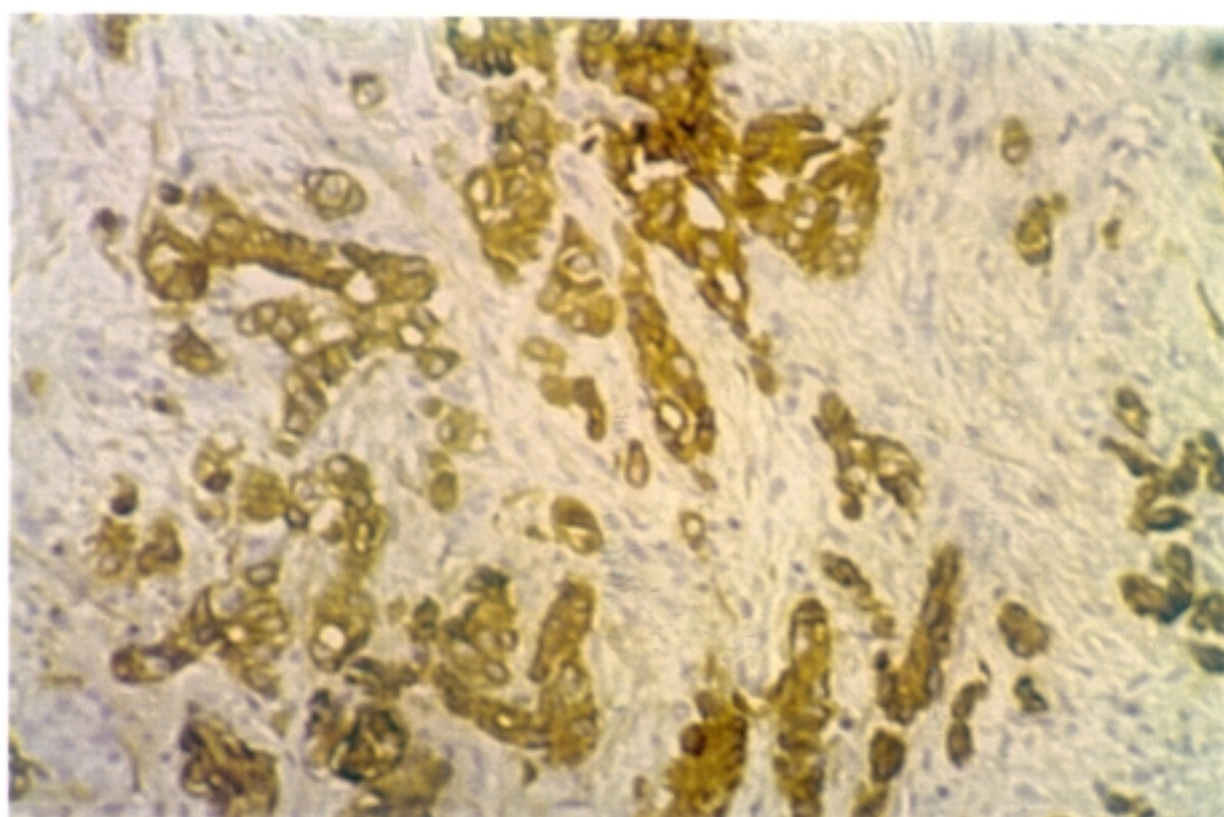
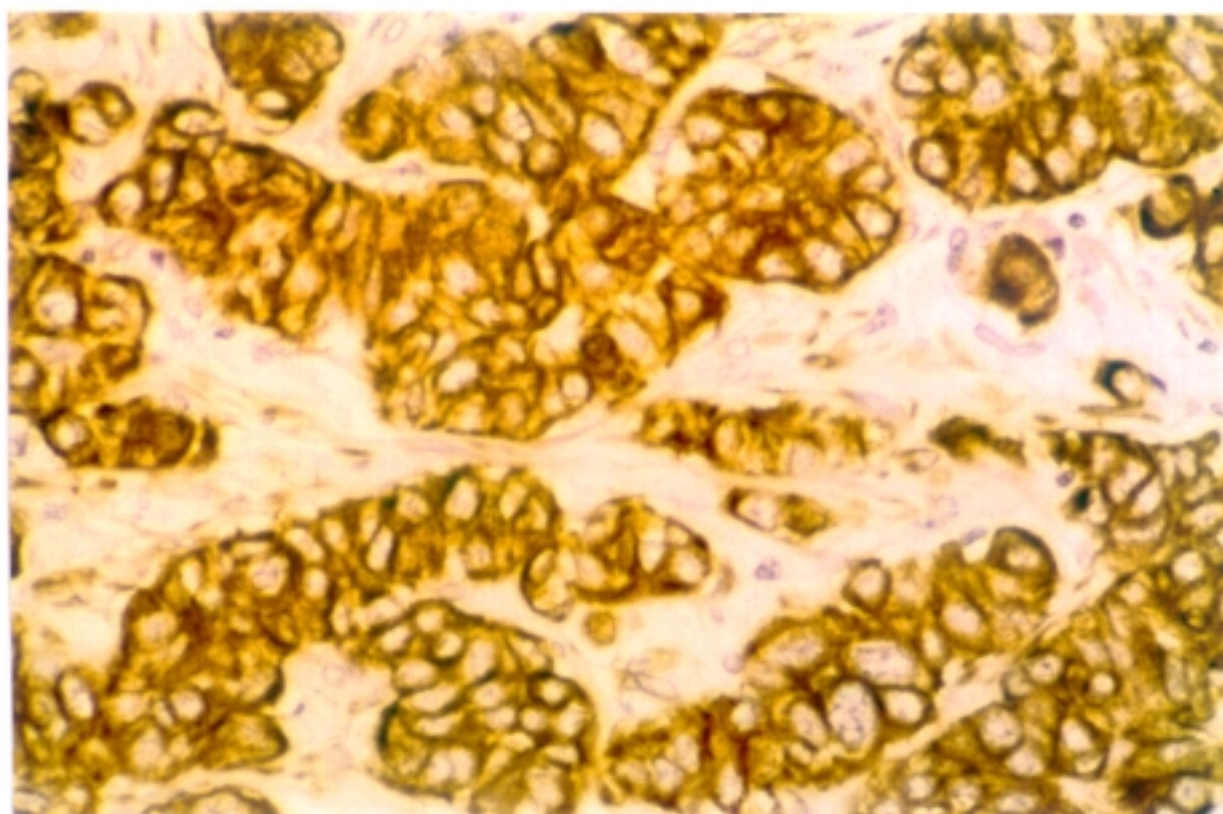


Figura 17. Características inmunohistoquímicas de los carcinomas metastásicos en pleura (método ABC). A-Positividad para Cam 5.2. (x 400). B-Positividad para B 72.3 (x 250).

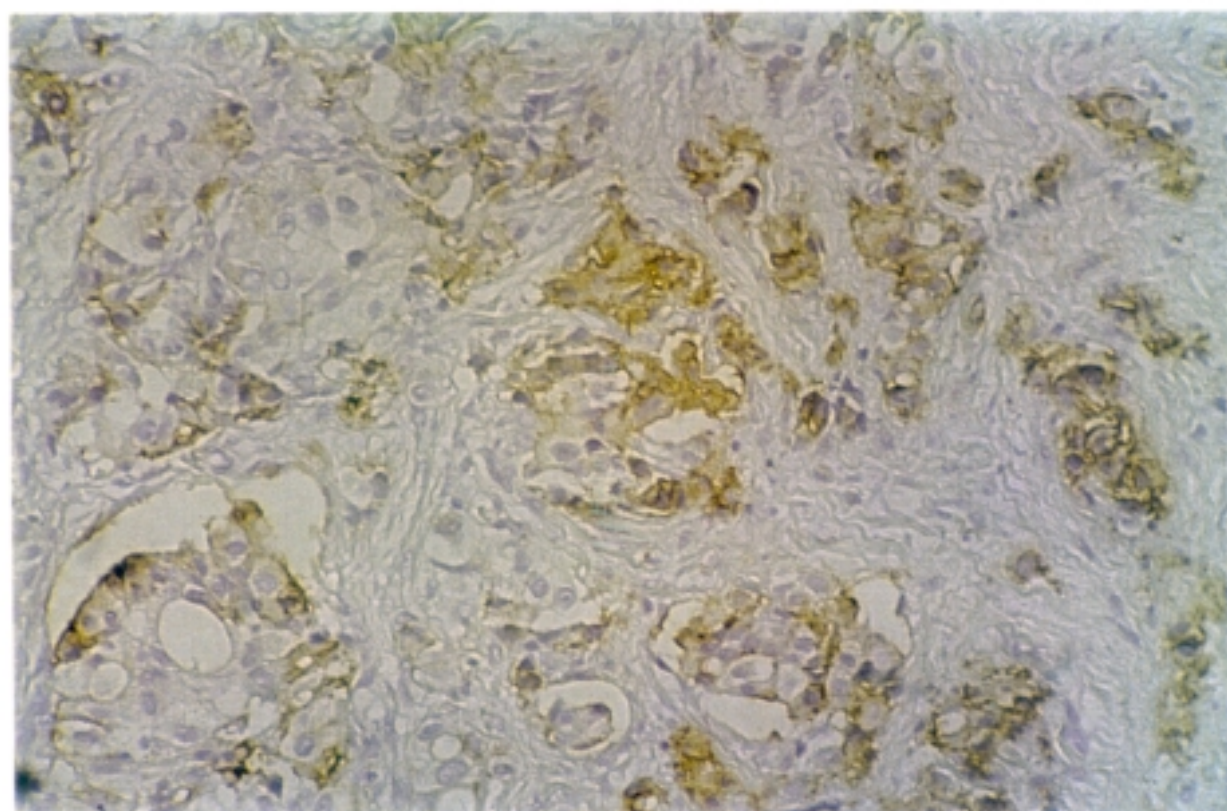
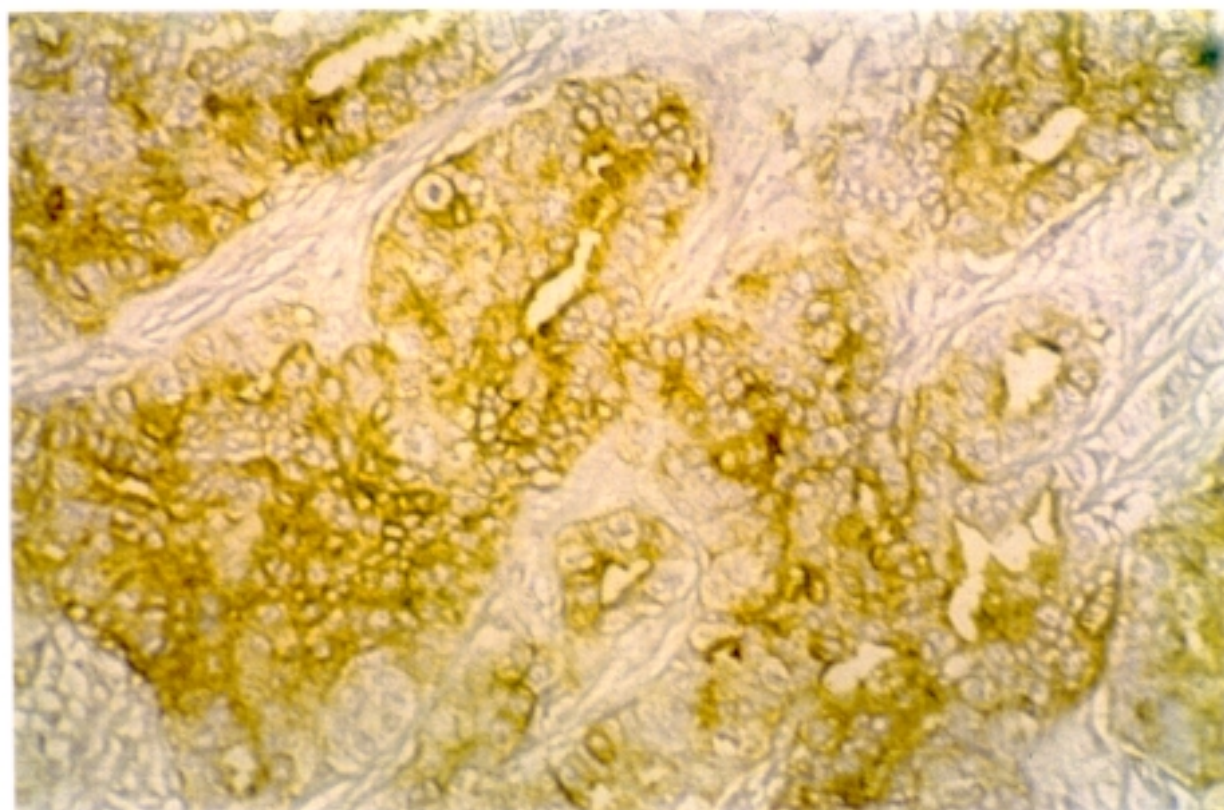


Figura 18. Características inmunohistoquímicas de los carcinomas metastásicos en pleura (método ABC). A-Positividad para CEA (x 250). B-Positividad para Leu M1 (x 250).

Tabla 52: Porcentaje de casos de carcinoma con tinción positiva en más del 30% de las células

Marcador	n° de casos positivos en más del 30 % de las células (%)
CAM 5.2	21 (91,3%)
K 903	6 (26,1%)
IT 20	6 (26,1%)
EMA	11 (47,8%)
CEA	5 (21,7%)
Leu M1	4 (17,4%)
B 72.3	6 (26,1%)
Ber H2	2 (8,7%)
Ber EP4	11 (47,8%)
CA 125	0
Vimentina	1 (4,3%)
Desmina	0

Tabla 53: Características inmunohistoquímicas de los carcinomas según el origen primario y tipo histológico

marcador	n° de casos positivos / total (%)		
	adenocarcinoma pulmonar	adenocarcinoma extrapulmonar	carcinoma epidermoide
CAM 5.2	15/15 (100%)	3/3 (100%)	3/5 (60%)
K 903	8/15 (53,3%)	2/3 (66,7%)	5/5 (100%)
IT 20	2/5 (13,3%)	2/3 (66,7)	3/5 (60%)
EMA	15/15 (100%)	2/3 (66,7)	4/5 (80%)
CEA	10/15 (66,7%)	1/3 (33,3%)	3/5 (60%)
Leu M1	7/15 (46,7%)	1/3 (33,3%)	2/5 (40%)
B 72.3	10/15 (66,7%)	0/3 (0%)	2/5 (40%)
Ber H2	2/15 (13,3%)	0/3 (0%)	1/5 (20%)
Ber EP 4	13/15 (86,7%)	3/3 (100%)	4/5 (80%)
CA 125	0/15 (0%)	0/3 (0%)	0/5 (0%)
Vimentina	1/15 (6,7%)	0/3 (0%)	0/5 (0%)
Desmina	0/15 (0%)	0/3 (0%)	0/5 (0%)

C- Valor del panel inmunohistoquímico empleado en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y carcinoma

El objetivo principal de esta Tesis es analizar el valor del panel inmunohistoquímico utilizado en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma pleural maligno y carcinoma. En las tablas 54 y 55 se expone la sensibilidad y especificidad de cada marcador. Destaca en la tabla 54 que los marcadores más útiles para el diagnóstico de mesotelioma pleural maligno fueron la positividad para vimentina y la negatividad para los marcadores CEA, Leu M1 y B 72.3 y Ber EP4. El Ber H2 y la desmina fueron muy específicos sobre todo el segundo, pero poco sensibles. Los marcadores más útiles para el diagnóstico de carcinoma metastásico fueron la positividad para CEA, Leu M1, B 72.3 y Ber EP 4, así como la negatividad para vimentina.

La sensibilidad para carcinomas de los marcadores propuestos como "específicos" de carcinoma (CEA, Leu M1 y B 72.3) fue del 62,5%, 43,5% y 52,2% respectivamente, con alta especificidad (97,5%, 95% y 100%). Tal sensibilidad es ligeramente menor que la encontrada por otros autores. Ello puede deberse a que, mientras los estudios previos incluían casi exclusivamente adenocarcinomas primarios pulmonares, nosotros, con el fin de aproximarnos a la realidad clínica, hemos incluido tanto carcinomas pulmonares como de otros orígenes, con metástasis en pleura. La sensibilidad del CEA, Leu M1 y B 72,3 en el subgrupo de adenocarcinomas de origen pulmonar fue respectivamente 66,7%, 46,7% y 66,7% (tabla 53), más cerca de los datos encontrados en la literatura.

El marcador Ber EP4, recientemente incorporado al diagnóstico inmunohistoquímico de los tumores pleurales como muy sensible y específico para carcinoma, ha demostrado tales cualidades en el presente estudio. Su sensibilidad para carcinoma fue del 87,0% (mayor que la del CEA, Leu M1 ó B 72.3), con alta especificidad (97,5%). Sólo un caso de mesotelioma pleural maligno marcó positivamente para Ber EP4.

Es muy alta la proporción de mesoteliomas que marcan positivamente para vimentina, (87,5%), tanto epiteliales como sarcomatosos, pero resultados similares, con más del 50% de los mesoteliomas epiteliales positivos para este marcador, han sido encontrados por otros autores (413).

Es también reseñable que hasta un 45% de los mesoteliomas marcaron positivamente para otro filamento intermedio, la desmina. Si bien todos los casos menos uno eran también positivos para vimentina, la especificidad para mesotelioma fue del 100% (ningún carcinoma marcó positividad para desmina).

La expresión de queratinas no fue útil para el diagnóstico diferencial. Prácticamente el 100% de los mesoteliomas y carcinomas fueron positivos para CAM 5,2, y aproximadamente dos tercios lo fueron para K 903. En cuanto a la queratina 20, positiva en un 40 % de los mesoteliomas y en un 30,4% de los carcinomas, es interesante reseñar que todos los casos menos uno eran simultáneamente positivos para K903, pero la utilidad práctica de

la queratina 20 en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y carcinoma parece nula.

Tabla 54: Sensibilidad y especificidad de los marcadores para mesotelioma pleural maligno.

Marcador	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
CAM 5.2 (+)	97,5 %	0%
K 903 (+)	62,5%	34,8%
IT 20 (-)	60 %	30,4%
EMA (+)	90%	8,7%
<u>CEA (-)</u>	97,5%	65,2%
<u>Leu M1 (-)</u>	95%	43,5%
<u>B 72.3 (-)</u>	100%	52,2%
<u>Ber H2 (+)</u>	42,5%	87,0%
<u>Ber EP4 (-)</u>	97,5%	87,0%
CA 125 (-)	100%	0%
<u>Vimentina (+)</u>	87,5%	95,7%
Desmina (+)	45%	100%

Tabla 55: Sensibilidad y especificidad de los marcadores para carcinoma

Marcador	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
CAM 5.2 (+)	100%	2,5%
K 903 (+)	65,2%	37,5%
IT 20 (+)	30,4%	60%
EMA (+)	91,3%	10%
CEA (+)	65,2%	97,5%
Leu M1 (+)	43,5%	95%
B 72.3 (+)	52,2%	100%
Ber H2 (-)	87,0%	42,5%
Ber EP4 (+)	87,0%	97,5%
CA 125 (-)	100%	0%
Vimentina (-)	95,7%	87,5%
Desmina (-)	100%	45%

De acuerdo con Cook (393), al considerar la utilidad práctica de cada marcador en el diagnóstico diferencial es necesario tener en cuenta la frecuencia relativa de los dos tumores en la población. Para explicar esto, pongamos el ejemplo siguiente: un determinado marcador es positivo en un 100% de los mesoteliomas y en un 10% de los carcinomas metastásicos en

pleura. Si la proporción entre los dos tumores en la población es 1:1, el valor predictivo positivo (VPP) para mesotelioma será 90,9% ($1/(1+0,1) = 1/1,1 = 90,9\%$). Pero si como sucede en la realidad aparecen aproximadamente 10 carcinomas metastásicos en pleura sin signos concluyentes de origen primario por cada mesotelioma (relación 10:1), el VPP para mesotelioma será sólo del 50% ($1/(1+1) = 1/2 = 50\%$).

En las tablas 56 y 57 se muestra el VPP de los marcadores utilizados en tres casos hipotéticos: si la relación carcinomas (C) / mesoteliomas (M) fuese 1:1, si fuese 5:1, y por último si fuese 10:1. A falta de datos concretos en la literatura, consideramos que la tercera situación es la más próxima a la realidad.

En este supuesto, podemos apreciar que el VPP para mesotelioma de los distintos marcadores es muy bajo. Únicamente la positividad para desmina (presente en un 45% de los mesoteliomas) tuvo un VPP del 100%, pues ningún carcinoma de los estudiados fue positivo. El mejor marcador para mesotelioma por su alta sensibilidad, la vimentina, tiene un VPP del 67,0%. El siguiente, la negatividad para Ber EP4 tiene un VPP de sólo 42,9%. En contraste, varios marcadores tienen un VPP para carcinoma superior al 98%, entre ellos la positividad para CEA, Leu M1, B 72.3, y Ber EP4, así como la negatividad para vimentina.

Tabla 56: Valor predictivo positivo (VPP) para mesotelioma de los marcadores según la proporción carcinoma / mesotelioma (C/M) en la población.

Marcador	VPP si C/M = 1	VPP si C/M = 5	VPP si C/M = 10
CAM 5.2 (+)	49,3%	16,3%	8,9%
K 903 (+)	48,9%	16,1%	8,7%
IT 20 (-)	46,3 %	14,7%	7,9%
EMA (+)	49,6%	16,5%	9,0%
CEA (-)	73,7%	35,9%	21,9%
Leu M1 (-)	62,7%	25,2%	14,4%
B 72.3 (-)	67,7%	29,5%	17,3%
Ber H2 (+)	76,6%	39,5%	26,4%
Ber EP4 (-)	88,2%	60%	42,9%
CA 125 (-)	50%	16,7%	9,1%
Vimentina (+)	95,3%	80,3%	67,0%
Desmina (+)	100%	100%	100%

Tabla 57: Valor predictivo positivo (VPP) para adenocarcinoma de los marcadores según la proporción carcinoma / mesotelioma (C/M) en la población.

Marcador	VPP si C/M = 1	VPP si C/M = 5	VPP si C/M = 10
CAM 5.2 (+)	50,6%	83,7%	91,1%
K 903 (+)	51,1%	83,9%	91,3%
IT 20 (+)	43,2%	79,2%	88,4%
EMA (+)	50,4%	83,5%	91,0%
CEA (+)	96,3%	99,2%	99,6%
Leu M1 (+)	89,7%	97,8%	98,9%
B 72.3 (+)	100%	100%	100%
Ber H2 (-)	60,2%	88,3%	93,8%
Ber EP4 (+)	97,2%	99,4%	99,7%
CA 125 (-)	50%	83,3%	90,9%
Vimentina (-)	88,4%	97,5%	98,7%
Desmina (-)	64,5%	90,1%	94,8%

Resulta evidente que ninguno de los marcadores utilizado por sí sólo basta para la confirmación del diagnóstico de mesotelioma. Hemos estudiado la utilidad de combinar varios marcadores, tal como se describe en las tablas 58 y 59.

Para el diagnóstico de mesotelioma (Tabla 58), hemos estudiado la utilidad de combinar un marcador muy sensible y específico, la vimentina (VPP=67,0%) con la negatividad simultánea de tres marcadores altamente específicos de carcinoma, CEA, Leu M1 y B72.3. La combinación tiene una sensibilidad del 80%, similar a la de la vimentina sola, y un VPP muy superior (100%). Las combinaciones de vimentina con positividad para desmina o con positividad para Ber H2 fueron menos sensibles (42,5% y 35% respectivamente), lo cual hace que su utilidad práctica sea mucho menor de la que cabría esperar por su alto VPP (100% en ambos casos). La combinación de vimentina positiva (al mejor marcador para mesotelioma) y negatividad para Ber EP4 (al mejor marcador para carcinoma en la presente serie) ha resultado la más sensible (85%) y específica (100%) para el diagnóstico de mesotelioma.

No hemos encontrado que combinar mayor número de marcadores sea de utilidad. A modo de ejemplo describimos la combinación de vimentina (+) y/o Ber EP4 (-) con CEA (-), Leu M1 (-), B72.3 (-) y/o positividad de desmina. La sensibilidad de esta combinación es alta (97,5%), pero su VPP para mesotelioma (69,4%) no supera a combinaciones más sencillas. La razón es que, puesto que los carcinomas metastásicos en pleura son mucho más

frecuentes que los mesoteliomas, mientras sólo dispongamos de marcadores no completamente específicos de mesotelioma, el número de carcinomas con patrón inmunohistoquímico “aberrante” es comparable al de mesoteliomas.

Tabla 58: Valor predictivo positivo (VPP) de diversas combinaciones de marcadores para mesotelioma.

Combinaciones de marcadores	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP C/M = 10
1.- <u>Vimentina (+)</u>	87,5%	95,7%	67,0%
2.- CAM 5.2 (+)	97,5%	0%	8,9%
3.- CEA (-) y Leu M1 (-) y B 72.3 (-)	92,5%	73,9%	26,1%
4.- <u>Desmina (+)</u>	45%	100%	100%
5.- Ber H2 (+)	42,5%	87,0%	26,4%
6.- <u>Ber EP4 (-)</u>	97,5%	87,0%	42,9%
7.- 1 + 2	85%	95,7%	66,4%
8.- <u>1+3</u>	80%	100%	100%
9.- <u>1+4</u>	42,5%	100%	100%
10.- 1 + 5	35%	100%	100%
11.- <u>1+6</u>	85%	100%	100%
12.- (1 y/6 6) + (3 y/ 6 4)	97,5%	95,7%	69,4%

Tabla 59: Valor predictivo positivo (VPP) de diversas combinaciones de marcadores para carcinoma.

Combinaciones de marcadores	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP C/M = 10
1.- <u>Vimentina (-)</u>	95,7%	87,5%	98,7%
2.- CAM 5.2 (+)	100%	2,5%	91,1%
3.- <u>CEA (+) y/6 Leu M1 (+) y/6 B 72.3 (+)</u>	73,9%	92,5%	99,0%
4.- Desmina (-)	100%	45%	94,8%
5.- Ber H2 (-)	87,0%	42,5%	93,8%
6.- <u>Ber EP4 (+)</u>	87,0%	97,5%	99,7%
7.- 1 + 2	95,7%	87,5%	98,7%
8.- <u>1+3</u>	73,9%	100%	100%
9.- <u>1+4</u>	95,7%	90%	99,0%
10.- 1 + 5	82,6%	92,5%	99,1%
11.- <u>1+6</u>	82,6%	100%	100%
12.- (1 y/6 6) + (3 y/ 6 4)	100%	90%	99,0%

Para el diagnóstico de adenocarcinoma (tabla 59), resultan muy útiles la negatividad para vimentina y la positividad de alguno de los siguientes marcadores; CEA, Leu M1 y B 72.3. Eso sí, hay que tener en cuenta que sólo un 73,9% de los carcinomas marcaron positividad para alguno de estos tres últimos marcadores, si bien el VPP fue del 99,0% (sólo un caso de mesotelioma fue positivo para CEA y 2 para Leu M1).

Diversas combinaciones de marcadores junto con negatividad de vimentina tienen un VPP superior al 99%. Destacan la combinación de vimentina (-) con Ber EP4 (+), con una sensibilidad de 82,6% y especificidad y VPP del 100%, y la combinación de vimentina (-) con positividad para al menos uno de los siguientes marcadores: CEA, Leu M1 y B 72.3, con una sensibilidad del 73,9% y una especificidad y VPP del 100%.

Ninguna combinación de más de dos marcadores resulta superior a las descritas. Como ejemplo, la combinación de vimentina (-) y/o Ber EP4 (+) con positividad para uno ó más de los marcadores CEA, Leu M1 y B 72.3 y/o negatividad para desmina tiene una sensibilidad del 100%, pero una especificidad del 90%. El resto de combinaciones no expuestas en la tabla son inferiores, bien porque al incorporar varios requerimientos de marcaje la sensibilidad para carcinoma disminuye o porque al intentar mantener una sensibilidad del 100%, algún caso de mesotelioma no es reconocido como tal (es decir, baja la especificidad).

DISCUSIÓN

¿Cuáles son actualmente las técnicas más útiles para el diagnóstico diferencial entre mesotelioma pleural maligno y carcinoma?. En los últimos 10 años han aparecido varias revisiones que analizan este problema.

Aún no está lejana la época en la que se consideraba que el diagnóstico de mesotelioma pleural maligno no podía hacerse en vida, sino sólo cuando la autopsia confirmase que el tumor afectaba difusamente a la superficie pleural y descartase por completo la existencia de un tumor primario oculto con metástasis pleurales (504). Todavía en 1984, Adams (505) señala que sigue existiendo en la mente de muchos patólogos la idea de que el mesotelioma pleural sólo puede ser diagnosticado en la autopsia. Pero ya entonces muchos grupos de trabajo decidieron asumir el diagnóstico de mesotelioma pleural maligno a partir únicamente de muestras biópsicas (507).

La revisión de Kwee et al. en 1982 (295), analiza los métodos de diagnóstico diferencial en 37 casos de mesotelioma maligno pleural y 25 carcinomas metastásicos en la pleura, empleando técnicas histoquímicas, morfométricas, y estudio inmunohistoquímico para CEA. Los resultados se resumen en la Tabla 60.

Tabla 60. Diagnóstico diferencial entre mesotelioma y carcinoma

Técnica	% de tinción positiva	
	<i>mesotelioma</i>	<i>carcinoma</i>
PAS - diastasa	0%	60%
Ácido hialurónico*	48%	0%
CEA	0%	64%

* Empleando la tinción con azul Alcían a pH= 2,5 y posterior digestión con hialuronidasa

Tomado de Kwee et al, 295

En aquel momento los autores concluyeron que para distinguir los mesoteliomas malignos de los carcinomas, la primera tinción a emplear era el PAS-diastrasa, cuya positividad era diagnóstica de carcinoma. Si era negativa, la tinción con azul alcían más hialuronidasa permitía el diagnóstico de mesotelioma. Además, la tinción positiva para el CEA era diagnóstica de carcinoma en muchos casos que no se habían teñido con PAS-diastrasa.

Combinando las tres técnicas, los autores pudieron identificar positivamente un 88% de los carcinomas (sólo tres casos no se tiñeron con PAS-diastrasa ni para CEA), pero sólo un 48% de los mesoteliomas.

Estos resultados muestran ya cual es el problema diagnóstico principal. Si bien existen técnicas bastante sensibles y específicas para diagnosticar carcinomas, las técnicas histoquímicas específicas de mesotelioma son muy poco sensibles, y con las técnicas empleadas en el estudio de Kwee, prácticamente la mitad de los mesoteliomas quedan sin un diagnóstico positivo de certeza, pues las técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas no permiten excluir que se trate de un carcinoma que no se tiña con PAS-diastrasa ni marque para CEA.

La determinación del área nuclear media por métodos morfométricos mostró valores casi idénticos en los mesoteliomas (media = 59,3 m² +/- 18,3) y en los carcinomas (57,1 +/- 18,5). Después de este estudio, sólo un reciente artículo que emplea métodos digitales para cuantificar las estructuras de cromatina ha descrito parámetros de textura que pueden tener valor en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y carcinoma. La forma y tamaño nuclear no parecen útiles para ese diagnóstico diferencial (509).

El estudio de Holden y Churg en 1984 (510), emplea examen inmunohistoquímico para CEA y citoqueratinas en 22 mesoteliomas y 18 adenocarcinomas de pulmón. La tinción para queratinas fue positiva en un 45% de los mesoteliomas y en un 66% de los adenocarcinomas por lo que no demostró ninguna utilidad para el diagnóstico diferencial. En contraste el estudio señaló el valor diagnóstico de la tinción para CEA, tal como había sido previamente descrito por otros autores (Tabla 61).

Tabla 61. Positividad de la tinción inmunohistoquímica para CEA en el diagnóstico diferencial entre mesoteliomas y carcinomas

<i>Referencia</i>	Casos positivos para CEA/ total de casos	
	<i>Mesotelioma</i>	<i>Carcinoma</i>
533	0/9	12/12
534	-	16/22
535	0/43	22/26
536	9/20	20/20
537	2/8	6/6
538	0/37	16/25
510	8/22	18/18

Tomado de Holden y Churg, 510.

En la serie de Holden, un tercio de los mesoteliomas marcaron positivamente para CEA, pero sólo dos marcaron fuertemente, mientras 13 de los 18 adenocarcinomas marcaron fuertemente. Estos autores utilizaron un anticuerpo policlonal anti-CEA. Tal como hemos comentado en la introducción, el antígeno carcinoembrionario es una glucoproteína de alto peso molecular que incluye por lo menos seis determinantes antigénicos diferentes. Algunos de ellos (por ejemplo el NCA, antígeno inespecífico de reacción cruzada) presentan antigenicidad cruzada con otras glucoproteínas. Por ello, el empleo de anticuerpos policlonales anti-CEA da lugar a gran número de reacciones inespecíficas. La aparición posterior de anticuerpos monoclonales anti-CEA sin actividad NCA ha supuesto un importante avance en el diagnóstico diferencial de los tumores pleurales.

El artículo de Adams y Unni, en 1984 (505), analiza 16 casos de mesotelioma pleural y 6 casos de metástasis pleurales de carcinoma, todos ellos

confirmados por autopsia. En esta serie, la positividad de los métodos histoquímicos con PAS-diestasa y/o mucicarmina permitió identificar correctamente 3 de los 6 carcinomas, mientras sólo 1 de los 16 mesoteliomas se tiñó con hierro coloidal, y la tinción se negativizó con hialuronidasa. La tinción para CEA fue útil, pero no tan específica como había sido descrito, pues marcó 4 de los 6 carcinomas y 3 de los 16 mesoteliomas. También la idea clásica de que la existencia de metástasis a distancia en la autopsia descarta el diagnóstico de mesotelioma fue desmentida en este estudio, pues se hallaron metástasis a distancia en 12 de los 16 mesoteliomas, si bien sólo en un caso habían sido clínicamente evidentes. Todos los carcinomas presentaban múltiples metástasis. En aquel momento los autores concluyeron que un estudio microscópico cuidadoso es esencial para el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y carcinoma, y las técnicas complementarias que ellos utilizaron sólo fueron una ayuda útil para el diagnóstico en algunos casos.

Esta sucesión de estudios piloto entusiastas y estudios confirmatorios decepcionantes es frecuente en la historia del diagnóstico diferencial entre mesotelioma y carcinoma. Es ilustrativa la sucesión de estudios con anticuerpos dirigidos frente a la proteína de los glóbulos grasos de la leche humana (HMFG: Human Milk fat globule). En el estudio de Battifora y Kopinski (512) publicado en 1985, el 100% de 64 adenocarcinomas de mama, pulmón y ovario (los que más problemas de diagnóstico diferencial plantean con el mesotelioma cuando dan metástasis pleurales), marcaron positivamente para HMFG (513) (anticuerpo HMFG-2), y ninguno de 12 mesoteliomas marcó. Otros adenocarcinomas (estómago, colon, páncreas, endometrio, riñón, tiroides) marcaron en la mayoría de los casos y sólo el adenocarcinoma de próstata no marcó nunca. Puesto que el CEA sólo fue positivo en un 80% de los adenocarcinomas de mama, pulmón y ovario, y en un 65% de todos los adenocarcinomas, y un 16% (2 de 12 casos) de los mesoteliomas marcaron débilmente, la conclusión del estudio fue que "por su mayor sensibilidad y especificidad, el HMFG-2 es superior al CEA en este diagnóstico diferencial.

El estudio biinstitucional publicado en 1987 por Otis et al. (424), en el que participaron los autores del estudio previo, no fue tan entusiasta. Aunque los 14 adenocarcinomas estudiados se tiñeron con el anticuerpo HMFG-2, 2 de los 8 mesoteliomas confirmados ultraestructuralmente también se tiñeron. El estudio también enfrió el entusiasmo de un artículo previo (515) sobre el antígeno Leu M1, que finalmente ha demostrado ser negativo en casi todos los mesoteliomas, pero positivo sólo en la mitad de los adenocarcinomas. En la actualidad se acepta (68, 424) que prácticamente todos los adenocarcinomas y un 50-70% de los mesoteliomas marcan positivamente para HMFG, y que el valor principal de esta técnica es que su negatividad asegura prácticamente el diagnóstico de mesotelioma, lo cual es especialmente útil en los escasos mesoteliomas que son CEA positivos.

La conclusión de Otis et al. (424) es que “la falta de un antígeno específico detectable para el mesotelioma continúa haciendo difícil la evaluación de algunos casos por inmunohistoquímica exclusivamente”.

Otro patrón inmunohistoquímico característico de mesotelioma fue la coexpresión de vimentina y queratinas simultáneamente. Posteriormente se describieron algunos carcinomas de riñón, endometrio y tiroides que coexpresaban los dos antígenos (372, 424, 518), que llegaron a representar un 35% de los carcinomas en la serie de Lai (518), en la que más de la mitad de los adenocarcinomas de tiroides y próstata coexpresaban queratinas y vimentina al igual que un 53% de los mesoteliomas. Incluso se han descrito raros carcinomas pulmonares que expresan vimentina y no queratina.

El estudio de Ordoñez (411) publicado en 1989, cuando “a pesar de numerosos estudios histoquímicos, ultraestructurales e inmunohistoquímicos, la diferenciación entre mesotelioma pleural y adenocarcinoma pulmonar sigue siendo extremadamente difícil” y “algunos estudios han obtenido resultados conflictivos con algunos de los marcadores inmunohistoquímicos propuestos para el mesotelioma”, emplea un panel de 14 anticuerpos en 19 casos de mesotelioma epitelial y 23 adenocarcinomas pulmonares confirmados histoquímicamente y ultraestructuralmente. Los resultados se resumen en la Tabla 62.

Tabla 62. Patrón inmunohistoquímico de 19 mesoteliomas y 23 adenocarcinomas

Anticuerpo	Nº de casos positivos / Total de casos	
	Mesotelioma	Adenocarcinoma
Queratinas de bajo peso molecular	19/19 (100%)	23/23 (100%)
Queratinas de alto peso molecular	15/19 (78,9%)	13/23 (56,5%)
Vimentina (DAKO)	5/19 (26,3%)	3/23 (13%)
Vimentina (LABSYSTEMS)	3/19 (15,7%)	0/23 (0%)
CEA	0/19 (0%)	21/23 (91,3%)
HMFG-2	9/19 (47,4%)	21/23 (91,3%)
EMA	17/19 (89,5%)	23/23 (100%)
B 72.3	1/19 (5,3%)*	19/23 (82,6%)
Leu M1	0/19 (0%)	14/23 (60,9%)
CA 19.9	0/19 (0%)	9/23 (39,1%)
Componente Secretor (SC)	0/19 (0%)	14/23 (60,9%)
Glucoproteína β -1 específica del embarazo (SP-1)	0/19 (0%)	8/23 (34,8%)
Lactógeno placentario humano (HPL)	1/19 (5,3%)	5/23 (21,7%)
Proteína S-100	0/19 (0%)	4/23 (17,4%)

* Tinción en menos del 5% de las células.

NOTA: Todos los estudios, salvo los 4 últimos, utilizaron anticuerpos monoclonales.

Tomado de Ordoñez, 411.

Estos resultados muestran que existen varios marcadores prácticamente diagnósticos de adenocarcinoma. Por orden decreciente de sensibilidad son el CEA (con alta sensibilidad: 91,3%), B 72.3, Leu M1, componente secretor (SC), CA 19.9 y glucoproteína b-1 específica del embarazo (SP-1). Ordoñez concluye que el CEA es el marcador más útil, y que utilizando anticuerpos monoclonales realmente específicos para CEA, la sensibilidad es altísima en adenocarcinomas, y ningún mesotelioma marca a diferencia de lo descrito por otros autores que emplearon anticuerpos policlonales (512, 520-524). El Leu M1, B 72.3, y SC (componente secretor), son tres marcadores que pueden aumentar la sensibilidad y especificidad del CEA, pues a pesar de su menor porcentaje de positividad en adenocarcinomas, uno de los dos casos de adenocarcinomas que no marcó con CEA si fue positivo para estos tres marcadores. El CA 19.9 y el SP-1, menos sensibles, pueden tener alguna utilidad añadida. "Aunque ninguno de los marcadores empleados en este estudio demostró ser específico de mesotelioma, la demostración inmunohistoquímica de algunos de estos marcadores es extremadamente útil para establecer el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma pulmonar periférico" y "la utilización combinada de varios de estos anticuerpos aumenta la fiabilidad del diagnóstico diferencial" (411).

En 1990 Wick et al han publicado una amplia revisión sobre diagnóstico diferencial entre mesotelioma pleural maligno epitelioide y adenocarcinoma pulmonar periférico con invasión pleural (299), analizando 51 y 52 casos respectivamente con todas las técnicas histoquímicas y ultraestructurales disponibles y un amplio panel inmunohistoquímico. Al igual que en estudios previos, resulta difícil comparar la fiabilidad diagnóstica del estudio ultraestructural con la de la inmunohistoquímica, pues tanto este artículo como el de Ordoñez exigían un diagnóstico ultraestructural definitivo de mesotelioma o adenocarcinoma para la inclusión en el estudio. Pero existe una convicción generalizada entre los patólogos de que algunos tumores pleurales no diagnosticables como mesoteliomas o adenocarcinomas por microscopia electrónica poseen características inmunohistoquímicas que permiten incluirlos inequívocamente en una de ambas entidades. Así sucede en algunos casos del estudio de Otis (424). Además, el estudio ultraestructural exige disponer de tejido en fresco, lo cual puede requerir una nueva biopsia, mientras que el estudio inmunohistoquímico puede practicarse en tejido ya incluido en parafina. Los resultados del estudio de Wick se resumen en la Tabla 63.

Tabla 63. Frecuencia de positividad de distintas técnicas diagnósticas en mesotelioma y adenocarcinoma pulmonar periférico

	Nº de casos positivos / Total de casos	
	Mesotelioma	Adenocarcinoma
A) Tinciones Histoquímicas		
PAS-diestasa.....	0/51	33/52
Mucicarmina de Best.....	0/51	33/52
Hierro coloidal.....	21/51	5/52
Hierro coloidal + Hialuronidasa.....	21/51	0/52
B) Estudio ultraestructural en fresco*		
Microvellosidades ramificadas.....	12/12	no realizado
Relación longitud / diámetro.....	12:1 (10-16:1)	no realizado
Tonofilamentos citoplásmicos.....	9/12	no realizado
Gotas de mucina citoplásmicas.....	0/12	no realizado
Luces intracitoplásmicas.....	0/12	no realizado
"Mallas" de filamentos intermedios subplasmalemales.....	0/12	no realizado
"Cuerpos surfactantes" citoplásmicos...	0/12	no realizado
C) Estudio ultraestructural en parafina**		
Microvellosidades ramificadas.....	30/39	0/52
Relación longitud / diámetro.....	11:1 (10-13:1)	6:1 (4-7,5:1)
Tonofilamentos citoplásmicos.....	18/39	11/52
Gotas de mucina citoplásmicas.....	0/39	27/52
Luces intracitoplásmicas.....	0/39	12/52
"Mallas" de filamentos intermedios subplasmalemales.....	0/39	2/52
"Cuerpos surfactantes" citoplásmicos...	0/39	20/52
D) Estudio inmunohistoquímico		
Citoqueratinas (panqueratina).....	51/51	52/52
EMA.....	43/51	52/52
Leu M1.....	0/51	52/52
CEA.....	0/51	50/52
Antígeno B 72.3.....	0/51	43/52
Antígenos sanguíneos ABH.....	0/51	35/52
Amilasa.....	0/51	22/52
Antígeno de células Clara.....	0/51	21/52
Fosfatasa alcalina placentaria.....	0/51	10/52
Proteína S-100.....	0/51	10/52
Vimentina.....	21/51	9/52

* Muestras en fresco incluidas en glutaraldehido

** Muestras fijadas en formol e incluidas en parafina, que fueron secundariamente reprocesadas para su estudio ultraestructural.

Tomado de Wick et al, 299.

Estos datos indican que el estudio ultraestructural en fresco es un excelente método diagnóstico de los tumores pleurales (si bien los casos con diagnóstico ultraestructural dudoso fueron excluidos de este estudio), pero si el examen ultraestructural ha de practicarse sobre tejido previamente incluido en parafina, casi en un 25% de los casos de mesotelioma no pueden identificarse las características microvellosidades ramificadas. La relación longitud/diámetro de las microvellosidades fue un rasgo diferencial claro. La media en mesoteliomas fue de 11:1 (rango 10: 1 a 16: 1), frente a 6:1 (rango 4:1 a 7,5 :1) en los adenocarcinomas.

Histoquímicamente, la reactividad al PAS- diastasa y a la mucicarmina fue exclusiva de los adenocarcinomas, pero sólo un 63% de ellos presentaron este rasgo. La positividad al hierro coloidal sensible a la hialuronidasa fue exclusiva de los mesoteliomas, pero sólo apareció en un 41% de los casos.

Los resultados de la inmunohistología se correlacionaron bien con los de la microscopía electrónica, pues empleando anticuerpos monoclonales, todos los mesoteliomas y adenocarcinomas marcaron positivamente para pánqueratina, y ningún mesotelioma marcó para CEA, Leu M1, B 72.3 ni isoantígenos ABH, mientras que los porcentajes de positividad en adenocarcinomas pulmonares fueron 100% para Leu M1, 96% para CEA, 84% para B 72.3 y 67% para isoantígenos ABH. Otros marcadores ausentes en mesoteliomas, pero presentes sólo en una minoría de adenocarcinomas fueron la amilasa, antígeno de células Clara, fosfatasa alcalina placentaria y proteína S-100, todas las cuales se determinaron empleando anticuerpos policlonales. Los anticuerpos monoclonales para vimentina y EMA marcaron positividad en un porcentaje similar de adenocarcinomas y de mesoteliomas.

Los autores concluyen que la inmunohistología empleando los marcadores Leu M1, CEA y B 72.3 tiene una eficacia similar a la microscopía electrónica en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma pulmonar periférico, cuando se considera que la positividad de dos ó más de estos marcadores excluyen el diagnóstico de mesotelioma. El resto de antígenos glucoproteínicos, oncoplacentofetales y citoplásmicos pueden ser empleados para reasegurar el diagnóstico, puesto que su distribución está restringida a los adenocarcinomas.

Otras revisiones en grupos más reducidos de pacientes concuerdan en que el CEA y el Leu M1 son los antígenos más importantes para el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma (526), si bien sigue siendo importante la exclusión por la clínica de otros tumores primarios (413). Un reciente artículo de Mezger et al (527) analiza la experiencia con el CEA en 40 publicaciones previas. Empleando distintos anticuerpos mono y policlonales, un 89% de los adenocarcinomas marcan para CEA, frente a sólo un 11% de los mesoteliomas. A partir de estos datos, se han ensayado determinaciones de CEA en citología de líquido pleural, que resulta positiva en un 58% de los carcinomas y sólo en un 4% de los mesoteliomas (527).

Asímismo, la determinación de la concentración de antígeno carcinoembrionario en sangre y en líquido pleural resulta ser un parámetro muy útil. Valores séricos mayores de 5,2 ngr/ml. fueron encontrados en un 68% de los casos de carcinoma pulmonar, con una especificidad del 98%, y valores mayores de 4,5 ngr/ml. en el líquido pleural en un porcentaje similar de casos, en una serie que incluía 94 pacientes con mesotelioma pleural maligno y 79 con metástasis pleurales de carcinoma pulmonar (528). Empleando diferentes anticuerpos, algunos grupos han descrito impresionantes resultados con el CEA (100% de positividad en adenocarcinomas) (529), y otros han encontrado una menor sensibilidad y especificidad (530).

En el año 1991, Wirth et al. (531) publicaron un artículo sobre el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma pulmonar por inmunohistoquímica. Sus resultados se resumen en la Tabla 64.

Tabla 64. Diagnóstico diferencial inmunohistoquímico entre mesotelioma y adenocarcinoma pulmonar

Anticuerpo	Casos positivos / total de casos (%)	
	Mesotelioma	Adenocarcinoma
Anti-vimentina	43/50 (86%)	0/20 (0%)
Anti-queratina AE1/AE3	45/50 (90%)	20/20 (100%)
Anti-queratina EAB 902	44/50 (88%)	14/16 (88%)
B 72.3	24/50 (48%)	15/20 (75%)
Anti HMFG-2	7/50 (14%) **	24/25 (92%) **
Anti Leu M1	4/50 (8%)	16/20 (80%)
Anti CEA	0/50 (0%)	19/20 (95%)

** Estos tumores mostraron tinción en el citoplasma y la membrana. Un 26% adicional de los mesoteliomas presentaron únicamente tinción de membrana.

Tomado de Wirth et al., 531.

Los autores de este estudio concluyen que el anti CEA y el anti Leu M1 fueron los más eficaces de los 7 anticuerpos evaluados, y que el 100% de los mesoteliomas pudieron ser correctamente diferenciados de los adenocarcinomas de pulmón utilizando 4 anticuerpos: anti-vimentina, HMFG-2, anti CEA y anti Leu M1. Los mejores resultados obtenidos por estos autores se explican, al menos en parte, porque todos los anticuerpos que emplearon fueron monoclonales. Así, ningún mesotelioma en su serie marcó para CEA, como sucedió en la serie de Ordóñez (411) y en la de Wick (299)

Los resultados de un estudio más reducido de Tuttle et al (532), también excelentes empleando un panel similar de anticuerpos monoclonales son las siguientes (Tabla 65).

Tabla 65. Características inmunohistoquímicas de 28 mesoteliomas y 22 adenocarcinomas de pulmón

Anticuerpo	Casos positivos / total de casos (%)	
	Mesotelioma	Adenocarcinoma
Anti-CEA (NP-2)	0%	91%
Anti- Leu M1	0%	91%
B 72.3	7%	91%
Anti-HMFG-2	39%	95%

Tomado de Tuttle et al., 532.

Estos autores concluyen, al igual que Wick et al (299), Ordóñez (411) y Wirth (531) que los anticuerpos más útiles para el diagnóstico diferencial son el CEA y el Leu M1 (Ordóñez y Wick añaden el B 72.3, y Wirth el anti-vimentina y HMFG-2). Tuttle considera que empleando únicamente el anti-CEA y el anti Leu M1, se puede reconocer a un 95% de los adenocarcinomas, mientras ningún mesotelioma marca positivamente.

Agrupando los datos de las cinco grandes revisiones sobre el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma pulmonar, el resultado es el siguiente (Tabla 66)

Tabla 66. Resumen de los resultados obtenidos con anticuerpos monoclonales en el diagnóstico diferencial entre mesotelioma maligno pleural y adenocarcinoma pulmonar periférico

Anticuerpo	CASOS POSITIVOS / TOTAL DE CASOS (%)		Observaciones
	Mesotelioma	Adenocarcinoma	
Anti-CEA	0/98 (0%)	91/97 (93,8%)	Máximo valor diagnóstico
Anti-Leu M1	1/107 (0,9%)	93/111 (83,7%)	
B 72.3	4/107 (3,7%)	89/111 (80,1%)	
Anti-HMFG-2	25/66 (37,8%)	56/59 (94,9%)	
Anti-vimentina	26/70 (37,1%)	12/75 (16%)	
Anti-CA 19.9	0/19 (0%)	9/23 (39,1%)	

(Tomado de Otis et al (424), Ordóñez (411), Wick (299) Wirth et al (531) y Tuttle et al (532))

Es importante señalar los anticuerpos empleados en cada estudio. Los utilizados en estos cinco estudios eran en casi todos los casos los mismos (Tabla 67).

Tabla 67. Anticuerpos monoclonales utilizados en los estudios de la tabla 66

Anticuerpo	Marca comercial
Anti-CEA	Hybritech
Anti- Leu M1	Becton-Dickinson
B 72.3	Signet Laboratories*
Anti-HMFG-2	Seward Laboratories
Anti-Vimentina	Dako Corp **
Anti-CA 19.9	Winstar Institute

* Previamente denominado Cambridge Research Laboratories. Ordóñez lo obtuvo de Biomedical Technologies Inc.

** Wick et al. emplearon anti-vimentina (V9) de Biogenex Company.

NOTA: No hemos incluido los resultados de Otis et al. (424) con respecto al CEA, pues no emplearon el anticuerpo monoclonal descrito en la tabla.

Los resultados de nuestro estudio se resumen en las tablas 68 y 69. Destaca en ellos la utilidad del anticuerpo Ber EP4. El BerEP4 es un anticuerpo monoclonal recientemente caracterizado, dirigido contra una glucoproteína de superficie presente en células epiteliales humanas pero no en mesotelio normal. Gaffey et al (534) estudiaron la positividad de Ber EP4 en 49 mesoteliomas y 120 adenocarcinomas pulmonares y extrapulmonares. Observaron positividad en un 86% de los adenocarcinomas y en un 20% de los mesoteliomas, si bien en los mesoteliomas la tinción era generalmente focal, y restringida a áreas epitelioides. Sólo en un caso observaron tinción de la mayoría de las células. Si bien la positividad para Ber EP4 no excluye por completo el diagnóstico de mesotelioma, a diferencia de lo descrito previamente, Gaffey et al concluyeron que el Ber EP4 tiene utilidad diagnóstica en la distinción entre mesotelioma y carcinoma, pero debe utilizarse dentro de un panel de anticuerpos que incluya otros marcadores de diferenciación carcinomatosa.

En nuestra serie, observamos positividad para Ber EP4 en un 87,0% de los carcinomas, y sólo en 1 caso (2,5%) de mesotelioma pleural maligno. El Ber EP4 fue el marcador más útil para el diagnóstico de carcinoma.

En cuanto a otros marcadores epiteliales, nuestros resultados corroboran la alta especificidad de los anticuerpos monoclonales anti-CEA, anti-Leu M1 y B 72.3 en el diagnóstico de carcinoma, pero con sensibilidad menor que en estudios previos (43-65%). Sólo un 73,9% de los casos de carcinoma marcó positivamente para al menos uno de estos marcadores. Las razones que explican tal discrepancia pueden ser entre otras las siguientes. Por una parte, la utilización de anticuerpos monoclonales anti-CEA ha eliminado prácticamente los positivos en mesotelioma, pero ha disminuido su sensibilidad en carcinomas.

La segunda razón es de mayor importancia. Los estudios previos incluyen casi exclusivamente adenocarcinomas pulmonares. La realidad clínica es que muchos carcinomas de otros orígenes debutan clínicamente como metástasis pleurales, sin existir sintomatología que permita localizar el origen primario. Es por ello por lo que decidimos incluir en nuestro estudio todo tipo de carcinomas metastásicos en pleura, tanto los de origen pulmonar como los extratorácicos. Así se puede explicar parcialmente que muchos carcinomas en esta serie sean negativos para CEA, Leu M1 y B 72.3.

Otra discrepancia entre nuestro estudio y los previos es el alto porcentaje de mesoteliomas que marcan positivamente para vimentina. Pero otros autores han obtenido resultados similares a los nuestros (413). Con una sensibilidad para mesotelioma del 87,5% y una especificidad del 95,7% (sólo un caso de carcinoma fue positivo para este marcador), la vimentina es el marcador positivo más útil para el diagnóstico de mesotelioma en la presente serie.

La expresión de queratinas en tumores pleurales ha sido objeto de estudios en las dos últimas décadas. El grupo de Moll, que elaboró el catálogo de las citoqueratinas, ha estudiado la expresión de cada una de ellas en tejidos normales y neoplásicos (202). Nuestros resultados empleando anticuerpos dirigidos frente a distintas queratinas concuerdan con la literatura tanto en la positividad para CAM 5.2 en la práctica totalidad de los mesoteliomas y carcinomas como en la positividad para K 903, dirigido frente a las queratinas 1, 10, 5 y 14 propias de epitelio escamoso queratinizado, en un 100% de los carcinomas epidermoides y en un 53% de los adenocarcinomas pulmonares, así como en un 62,5% de los mesoteliomas pleurales malignos.

En 1990, el grupo de Moll identificó una nueva citoqueratina del tipo de epitelio simple, de peso molecular 46000 Daltons, a la que denominaron citoqueratina 20 (535). Dicha citoqueratina es de particular interés por su restringido ámbito de expresión (se expresa principalmente en epitelio intestinal, epitelio foveolar gástrico, urotelio y células de Merckel) y por su falta de reactividad cruzada con el resto de las queratinas. Recientemente, Moll et al han estudiado la expresión de citoqueratina 20 en 711 casos de tumores malignos humanos empleando diversos anticuerpos monoclonales referidos colectivamente como IT-K 20. encontraron que el patrón de expresión de citoqueratina 20 en carcinomas era semejante al del epitelio normal de origen (536). Así, encontraron positividad para citoqueratina 20 en la gran mayoría de carcinomas de colon, carcinomas mucinosos de ovario, carcinomas uroteliales y carcinomas de células de Merckel, y frecuentemente en adenocarcinomas de estómago, vías biliares y páncreas. En contraste, la mayoría de los adenocarcinomas de otros órganos, incluido el pulmón, y de los carcinomas escamosos fueron negativos para citoqueratina 20. Los autores proponen utilizar la citoqueratina 20 como un marcador útil para diferenciar distintos tipos de carcinoma, especialmente cuando debutan como metástasis.

En la serie de Moll, fueron negativos para IT 20 los 10 mesoteliomas pleurales estudiados, así como el mesotelio normal. Por ello, en el presente estudio incluimos un anticuerpo monoclonal anti-queratina 20, buscando averiguar si la positividad para este marcador, excluía efectivamente el diagnóstico de mesotelioma. De forma inesperada, observamos positividad para queratina 20 en 16 de 43 mesoteliomas pleurales malignos. Por ello consideramos que la expresión de queratina 20, detectada en un 40% de los mesoteliomas y en un 30,4% de los carcinomas estudiados, no resulta útil en el diagnóstico diferencial.

El CA 125 es un anticuerpo monoclonal dirigido frente a una glucoproteína propia de células del epitelio celómico derivado de los conductos de Müller. La gran mayoría de los tumores no mucinosos ováricos son positivos para este marcador así como otros tumores del tracto genital femenino. La ausencia de expresión de este marcador tanto en mesoteliomas como en carcinoma metastásico en pleura de origen no ginecológico corrobora su especificidad para células de origen mülleriano.

Tabla 68. Marcadores más útiles para el diagnóstico diferencial entre mesotelioma pleural maligno y adenocarcinoma metastásico en pleura en el presente estudio

<i>Anticuerpos</i>	<i>Casos positivos / total de casos (%)</i>	
	<i>Mesotelioma</i>	<i>Adenocarcinoma</i>
Ber EP4	1/40 (2,5%)	20/23 (87,0%)
Anti-CEA	1/40(2,5%)	15/23 (65,2%)
Anti-Leu M1	2/40 (5%)	10/23 (43,5%)
B 72.3	0/40 (0%)	12/23 (52,2%)
Anti - vimentina	35/40 (87,5%)	1/23 (4,3%)

Tabla 69. Anticuerpos monoclonales utilizados en el presente estudio

Anticuerpo	Marca comercial
Ber EP4	DAKO
Anti-CEA	DAKO
Anti- Leu M1	Becton-Dickinson
B 72.3	BioGenex
Anti-vimentina	DAKO

En cuanto a los futuros avances en el diagnóstico diferencial de los tumores pleurales, la reciente revisión de Sheibani (506) señala varias técnicas prometedoras. Se están desarrollando nuevos anticuerpos monoclonales dirigidos frente a carcinomas. Los más destacables son el Ber-EP4 y el 44-3A6. Ambos tiñen preferentemente carcinomas y raramente mesoteliomas. La experiencia con Ber EP4 en el presente estudio confirma su alta sensibilidad para carcinoma (87%) superior a la del CEA, Leu M1 y B 72.3, y sobre todo su especificidad (97,5%) (sólo un caso de mesotelioma fue positivo para Ber EP4).

Un área de mayor interés es el desarrollo de anticuerpos monoclonales antimesotelioma. A pesar de los avances en inmunohistoquímica, el inmunodiagnóstico del mesotelioma pleural maligno sigue siendo de exclusión. Recientemente, se han caracterizado anticuerpos dirigidos contra antígenos mesoteliales, pero los resultados no han sido concluyentes (276, 285, 287). Anderson et al. han seleccionado un anticuerpo monoclonal denominado MAB-45 que reaccionó contra 4/7 mesoteliomas, pero también frente a algunos carcinomas, sarcomas y melanomas (276). Hsu et al. han caracterizado el anticuerpo monoclonal anti-MS, que reacciona contra células de mesotelioma en congelación, pero no con células mesoteliales, normales o reactivas. Más recientemente O'Hara et al. han desarrollado el anticuerpo monoclonal ME1, que reaccionó frente a 40 mesoteliomas, pero sólo frente a 6 de 88 tumores no mesoteliomatosos (444). La valoración real de los anticuerpos dirigidos frente a antígenos mesoteliales es difícil por tres motivos principales: sólo se han publicado resultados de estudios auspiciados por la casa comercial propietaria de la patente; ninguno de ellos está disponible comercialmente; y por último ninguno de ellos es aplicable a tejido incluido en parafina, si bien se están efectuando avances en este sentido (506).

Recientemente se han publicado dos estudios sobre el valor de nuevos anticuerpos monoclonales anti mesotelioma en el diagnóstico diferencial con el adenocarcinoma. Azumi et al (514) aplicaron un nuevo anticuerpo monoclonal anti-ácido hialurónico a material incluido en parafina. Treinta y tres de 33 mesoteliomas marcaron positivamente, frente a sólo 12 de 37 adenocarcinomas. Chang et al (511) aplicaron el anticuerpo monoclonal K1 a 23 mesoteliomas y 23 adenocarcinomas pulmonares. Todos los mesoteliomas no sarcomatosos se tiñeron, frente a ningún adenocarcinoma. La utilidad de este anticuerpo es limitada por no poderse aplicar a tejido incluido en parafina.

Diversos grupos de investigadores han intentado utilizar el análisis del contenido de DNA de las células tumorales mediante citometría de flujo para diferenciar mesoteliomas y adenocarcinomas (410, 414, 420, 454). Si bien casi todos los autores han encontrado un mayor porcentaje de tumores aneuploides entre los adenocarcinomas que entre los mesoteliomas (75% vs 16% en la serie de Sheibani) (506), existieron grandes diferencias según los autores. Tales discrepancias parecen difíciles de resolver mientras no se estandarice la técnica, controles, e interpretación de los histogramas.

CONCLUSIONES

- 1.- El estudio inmunohistoquímico incluyendo anticuerpos monoclonales anti-queratinas, anti-CEA, anti Leu M1, B72.3, BerEP4 y vimentina permite en casi todos los casos diferenciar mesotelioma pleural maligno de carcinoma metastásico.
- 2.- El anticuerpo monoclonal Ber EP4 es un marcador sensible y específico para el diagnóstico de carcinoma. El Ber EP4 se expresa en un 87,0% de los carcinomas estudiados, y es altamente específico (sólo un caso (2,5%) de mesotelioma fue positivo).
- 3.- Los marcadores CEA, Leu M1 y B 72.3 son muy específicos de carcinoma, pero su sensibilidad es baja.
- 4.- La expresión de vimentina es un marcador sensible y específico para el diagnóstico de mesotelioma pleural maligno.
- 5.- La combinación de vimentina (+) y Ber EP4 (-) es la más sensible y específica para el diagnóstico de mesotelioma pleural maligno.
- 6.- La combinación de vimentina (+), Leu M1 (-), CEA (-) y B72.3 (-) es muy sensible y específica para el diagnóstico de mesotelioma.
- 7.- La observación de que en un 45% de los mesoteliomas pleurales malignos son positivos para desmina mientras todos los carcinomas son negativos sugiere que la expresión de desmina en un tumor pleural es un marcador muy específico, aunque poco sensible, de mesotelioma.
- 8.- La positividad para queratina 20 está presente en un 40% de los mesoteliomas y en un 30,4% de los carcinomas, por lo que no resulta útil para el diagnóstico diferencial.
- 9.- El inmunodiagnóstico de los tumores pleurales sigue siendo problemático. En el diagnóstico diferencial entre mesotelioma pleural maligno y carcinomas metastásicos en pleura, sería de gran utilidad disponer de anticuerpos específicos frente a antígenos mesoteliales.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Adami JG: Principles of Pathology. Philadelphia, Lea & Febiger, 1908.
- 2.- Clarkson FA: Primary endothelioma of the pleura. *Can Med Assoc* 1914; 4: 192-199.
- 3.- Yoshida T: Gleichzeitige Papillomatose der Pleura und des Peritoneums, zugleich ein Beitrag zur Frage des primaeren Carcinoms der serösen Häute, *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1937; 299: 363-371.
- 4.- Boehme M: Primaeres Sarcocarcinom der Pleura. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1880; 81: 181-190.
- 5.- Klemperer P y Rabin CB: Primary neoplasms of the pleura. A report of five cases. *Arch Pathol* 1931; 11: 385-392.
- 6.- Enzinger FM. Mesothelioma. En: *Soft tissue tumors. Second edition.* Enzinger FM y Weiss SW (eds). The CV Mosby Company. St Louis, 1988: 689-718.
- 7.- Legha SS y Muggia FM: Pleural mesothelioma: Clinical features and therapeutic implications. *Ann Int Med* 1977; 87: 613-621.
- 8.- Antman K.H, Pass HI, Recht A. Benign and malignant mesothelioma. En: De Vita VT, Hellman S y Rosenberg SA (eds). *Cancer: principles and practice of oncology. 3ª edición* SB Lippincott. Filadelfia, 1989; pp: 1399-1417.
- 9.- Wagner JC. Mesothelioma and mineral fibers. *Cancer*, 1986; 57: 1905-1911.
- 10.- Kane MJ, Chahinian AP y Holland JF. Malignant mesothelioma in young adults. *Cancer*, 1990; 65: 1449-1455.
- 11.- Selikoff IJ. Cancer risk of asbestos exposure. En: Hiatt HH, Watson JD. Winston JA, eds. *Origins of Human Cancer: Book C. Human Risk Assessment*, New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1977; 1765-1784.
- 12.- Elmes PC y Simpson MJC. The clinical aspects of mesothelioma *Q J Med* 1976; 179: 427-449.
- 13.- Chahinian AP, Pajak TF, Holland JF et al. Diffuse malignant mesothelioma: Prospective evaluation of 69 patients. *Ann Intern Med* 1982; 96: 746-755.
- 14.- Brenner J, Sordillo PP y Magill GB. Malignant mesothelioma in children: Report of seven cases and review of the literature. *Med Pediatr Oncol* 1981; 9: 367-373.
- 15.- Grundy GW y Miller RW: Malignant mesothelioma in childhood. Report of 13 cases. *Cancer* 1972; 30: 1216-1220.
- 16.- Berry PJ, Favara BE y Odom LF. Malignant peritoneal mesothelioma in a child. *Pediatr Pathol* 1986; 5: 397-409.
- 17.- Churg A, Sakoda N y Warnock ML: A simple method for preparing ferruginous bodies for electron microscopic examination. *Am J Clin Pathol* 1977; 68: 513-527.
- 18.- Pooley FD. The identification of asbestos dust with an electron microscope Microprobe Analyser. *Ann Occup Hyg* 1975; 18: 181-186.
- 19.- Albin M, Johansson L, Pooley FD et al. Mineral fibres, fibrosis and asbestos bodies in lung tissue from deceased asbestos-cement workers. *Arh Hig Rada Toksikol*, 1988; 39: 447-453.
- 20.- Acheson ED y Gardner MJ. Asbestos, vol. 2. Papers prepared for the Advisory Committee. London: Health & Safety Commission, 1979; Her Majesty's Stationery Office.
- 21.- Anónimo. Amosite asbestos and mesothelioma. *Lancet*, 1981; i: 1397-1398.
- 22.- Jones RD, Smith DM y Thomas PG. Mesothelioma in Great Britain in 1968-1983. *Scand J Work Environ Health*, 1988; 14: 145-152.
- 23.- Knudsen N, Block K y Schulman S. Malignant pleural mesothelioma. *Oncol Nurs Forum*, 1989; 16: 845-851.
- 24.- Hartmann CA y Reyher S. Pleuramesotheliom mit Koinzidentem Zweitmalignom. Dokumentation von 7 Fallen und Literaturubersicht. *Prax klin Pneumol.* 1988; 42: 165-171.
- 25.- Chahinian AP, Holland JF. Treatment of diffuse malignant mesothelioma: A review. *Mt Sinai J Med* 1978; 45: 54-67.

- 26.- Byerly CS, Wilson RB y Holscher MA. Pleural mesothelioma in a European spotted fallow deer. *J Wildl Dis*, 1989; 25: 597-598.
- 27.- Timbrell V y Skidmore JW. Internationale Konferenz der Biologische Wirkungen des Asbestos Dresden. Holstein E, ed. Dtsch Zentralinst Abeitsmed (Berlin) 1968; 52-56.
- 28.- Stanton MF y Layard M. Definitions and Measurements Methods. En: National Bureau of Standards Special Publication 506: Proceedings of the Workshop on Asbestos, July 18-20, 1977. Gaithersburg, MD: NBS, 1978.
- 29.- Fasske E. Experimental lung tumors following specific intrabronchial application of chrysotile asbestos. *Respiration*, 1988; 53: 111-127.
- 30.- Tiainen M, Tammilehto L, Mattson K y Knuutila S. Nonrandom chromosomal abnormalities in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Genet Cytogenet*, 1988; 33: 251-274.
- 31.- Tiainen M, Tammilehto L, Rautonen L et al. Chromosomal abnormalities and their correlations with asbestos exposure and survival in patients with mesothelioma. *Br J Cancer*, 1989; 60: 618-626.
- 32.- Hagemeyer A, Versnel MA, Van Drunen E et al. Cytogenetic analysis of malignant mesothelioma. *Cancer Genet Cytogenet*, 1990; 47:1-28.
- 33.- Nordmann M. y Sorge A.: Lungenkrebs und asbeststaub im Tierversuch. *Z. Krebsforsch*, 1941; 51: 168-182.
- 34.- Lynch K.M., McIver F.A y Cain J.R. Pulmonary tumors in mice exposed to asbestos dust. *Archs ind. Hlth*, 1957; 15: 207-214.
- 35.- Wagner J.C., Berry G., Skidmore, J.W y Timbrell V. The effect of the inhalation of asbestos in rats. *Br J Cancer*, 1974; 29: 252-269.
- 36.- Lee K.P. Lung response to particulates with emphasis on asbestos and other fibrous dusts. *Crit. Rev. Toxicol*, 1985; 14: 33-86.
- 37.- Hughes JM y Weill H. Asbestos exposure-quantitative assessment of risk. *Am Rev. Respir Dis*, 1986; 133: 5-13.
- 38.- Wagner JC. Biological effects of mineral fibres, 2: International Agency for Research on Cancer, Lyon 1980; pp: 637-653.
- 39.- Talcott JA Thurber WA, Kantor AF et al. Asbestos-associated diseases in a cohort of cigarette-filter workers. *N Engl J Med* 1989; 321: 1220-1226.
- 40.- McDonald JC y McDonald AD. Asbestos and carcinogenicity. *Science*, 1990; 249: 844.
- 41.- Nicholson WJ. Selikoff IJ, Seidman H et al. Long-term mortality experience of chrysotile miners and millers in Thetford Mines, Quebec. *Ann N Y Acad Sci* 1979; 330: 11-21.
- 42.- Marsh GM, Enterline PE, Stone RA y Henderson VL. Mortality among a cohort of US man-made mineral fiber workers: 1985 follow-up. *J Occup med*, 1990; 32: 594-604.
- 43.- Nance KV y Silverman JF. Immunocytochemical panel for the identification of malignant cells in serous effusions. *Am J Clin Pathol*, 1991; 867-874.
- 44.- Ozesmi M, Hillerdal G, Svane B y Widstrom O. Prospective clinical and radiologic study of zeolite-exposed Turkish immigrants in Sweden. *Respiration*, 1990; 57: 325-328.
- 45.- Horie A, Hirakoa K, Yamamoto O et al. An autopsy case of peritoneal malignant mesothelioma in a radiation technologist. *Acta Pathol Jpn*, 1990; 40: 57-62.
- 46.- Kawashima A, Libshitz HI y Lukeman JM. Radiation-induced malignant pleural mesothelioma. *Can Assoc Radiol J*, 1990; 41: 384-386.
- 47.- Antman KH, Corson JM, Li FP et al. Malignant mesothelioma following radiation exposure. *J Clin Oncol*, 1983; 1695-1699.

- 48.- Baris YI. Pleural mesotheliomas and asbestos pleuritis due to environmental asbestos exposure in Turkey: An analysis of 120 cases. *Hacettepe Bulletin of Medicine/Surgery*. 1975; 8: 165-185.
- 49.- Hammar S.P, Bockus D, Remington F et al. Familial mesothelioma. A report of two families. *Human Pathology*, 1989; 20: 107-112.
- 50.- Li FP, Lokich J, Lapey J, et al. Familial mesothelioma after intense asbestos exposure at home. *JAMA* 1978; 240: 467-470.
- 51.- Risberg B, Nickels J y Wagermark J. Familial clustering of malignant mesothelioma. *Cancer* 1980; 45: 2422-2427.
- 52.- Lynch HT, Katz D y Markvicka SE. Familial mesothelioma: Review and family study. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 15: 25-35.
- 53.- Smith PG, Higgins MCR y Park WD. Peritoneal mesothelioma presenting surgically. *Br J Surg* 1968; 55: 681-684.
- 54.- Martensson G, Larsson S y Zettergren L. Malignant mesothelioma in two pairs of siblings; Is there an hereditary predisposing factor? *Eur J Respir Dis* 1984; 65: 179-184.
- 55.- Wagner MMF, Darke C, Coles RM, et al. HLA-A and B antigen frequencies and mesothelioma in relation to asbestos exposure. *Br J Cancer* 1983; 48: 727-730.
- 56.- Epler GR, Gerald MXF, Gaensler EA, et al. Asbestos-related disease from household exposure. *Respiration* 1980; 39: 229-2240.
- 57.- Precerutti JA, Mayorga M, Dalurzo L et al. Is there a "Genetic model" in the genesis of malignant pleural mesothelioma? *Hum Pathol*, 1989; 20: 983.
- 58.- Muñoz I, Guzman J, Ponce de León S et al. Mesotelioma maligno familiar. Informe de tres casos. *Rev Invest Clin*, 1988; 40: 413-417.
- 59.- Flejter WL, Li FP, Antman KH y Testa JR. Recurring loss involving chromosomes 1,3 and 22 in malignant mesothelioma: possible sites of tumor suppressor genes. *Genes Chrom Cancer*, 1989; 1: 148-154.
- 60.- Sussman J y Rosai J. Lymph node metastasis as the initial manifestation of malignant mesothelioma. *Am J Surg Pathology*, 1990; 94: 819-828.
- 61.- Lie JT. Sudden death as the initial manifestation of diffuse pleural mesothelioma. *Chest*, 1989; 95: 682-684.
- 62.- Chailleux E, Dabouis G, Pioche D et al. Prognostic factors in diffuse malignant pleural mesothelioma. A study of 167 patients. *Chest* 1988; 93: 160-162.
- 63.- Mannes GP, Gouw AS y Postmus PE. Bilateral pleural effusion due to malignant mesothelioma, diagnosed by means of immunostainig. *Eur Respir J*, 1990; 3; 833-836.
- 64.- Arai H, Endo M, Sasai Y, et al: Histochemical demonstration of hyaluronic acid in a case of pleural mesothelioma. *Am Rev Resp Dis* 1975; 111: 699-706.
- 65.- Urschel HC y Paulson DL. Mesothelioma of the pleura. *Ann Thoracic Surg* 1965; 1: 559-574.
- 66.- Oels MC, Harrison EG, Carr DT y Bernatz PE. Diffuse malignant mesothelioma of the pleura. *Chest* 1971; 60: 564-70.
- 67.- Roberts GH. Distant visceral metastases in pleural mesothelioma. *Br J Dis Chest* 1976; 70: 246-50.
- 68.- Hammar SP y Bolen JW. Pleural neoplasms. En: *Pulmonary pathology*. Dail DH y Hammar SP (eds). Springer-Verlag. New York, 1988; pp 973-1028.
- 69.- Kannerstein M, Churg J: Peritoneal mesothelioma. *Hum Pathol* 1977; 8: 83-92.
- 70.- Walters KL, Martinez AJ. Malignant fibrous mesothelioma. *Acta Neuropathol Berlin* 1975; 33: 173-177.
- 71.- Schwachheimer K, Butzengeiger M. Brain metastases in malignant fibrous mesothelioma. *Acta Neuropathol Berlin* 1983; 60: 301-304.
- 72.- Kaye JA, Wang AM, Joachim CL, et al. Malignant mesothelioma with brain metastases. *Am J Med* 1986; 80: 95-7.

- 73.- Huncharek M, Muscat J. Cerebral metastases in pleural mesothelioma. *Am J. Clin Oncol*, 1990; 13: 180-181.
- 74.- Shidhar KS, Hussein AM, Ganjei P et al. Brain metastases in malignant pleural mesothelioma. Case report and review of the literature. *Am J Clin Oncol*. 1989; 12: 222-228.
- 75.- Murray JB, Neilly JB, Hadley D et al. Diffuse meningeal thickening associated with pleural mesothelioma. *Thorax*, 1990; 45: 70-71.
- 76.- Edwards RE, Hill RJ, Brown DG y Carthew P. Phenotypic stability and metastatic behaviour of serially xenografted rat mesotheliomas. *Br. J Cancer*. 1990; 62: 201-204.
- 77.- Antman KH, Pomfret E, Aisner J et al. Peritoneal mesothelioma: natural history and response to chemotherapy. *J Clin Oncol*, 1983; 1: 386-397.
- 78.- Nakano T, Fujii J y Tamura S: Thrombocytosis in patients with malignant pleural mesothelioma. *Cancer* 1986; 58: 1699-1703.
- 79.- Antman K, Shemin R, Ryan L et al. Malignant mesothelioma: prognostic variables in a registry of 180 patients, the Dana-Faber Cancer Institute and Brigham and Women's Hospital experience over two decades, 1965-1985. *J. Clin Oncol*. 1988; 6: 147-153.
- 80.- Butchart EG, Ascroft T, Barnsley WC y Holden MP. Pleuropneumonectomy in the management of diffuse malignant mesothelioma of the pleura. *Thorax* 1976; 31: 15-24.
- 81.- Sorensen P, Bach F, Bork E, et al: Randomized trial of doxorubicin versus cyclophosphamide in diffuse malignant pleural mesothelioma. *Cancer Treat Rep*, 1985; 69: 1431-1432.
- 82.- Antman K, Blum R, Greenberger J et al: Multimodality therapy for malignant mesothelioma based on a study of natural history. *Am J Med* 1980; 68: 356-362.
- 83.- Umeki S, Kawai S, Hino J et al. Prognostic factors in cases of diffuse malignant pleural mesothelioma. *Nippon Kyobu Shikkan, Gakkai Zasshi*. 1989; 27: 768-776.
- 84.- Shildge J, Kaiser D, Henss H et al. Prognostische faktoren beim diffusen malignen mesotheliom der pleura. *Pneumologie*, 1989; 43: 660-664.
- 85.- Calavrezos A, Koschel G, Husselmann H et al. Malignant mesothelioma of the pleura. Prospective therapeutic study of 132 patients from 1981-1985. *Klin Wochenschr*. 1988; 66: 607-613.
- 86.- Eimoto T y Inoue I: Malignant fibrous mesothelioma of the tunica vaginalis. *Cancer* 1977; 39: 2059-2064.
- 87.- Kjellevoid K, Nesland J, Holm R et al. Multicystic peritoneal mesothelioma. *Path Res Pract* 1986; 181: 767-774.
- 88.- Chahinian AP, Pajak TF, Holland JF et al: Diffuse malignant mesothelioma. Prospective evaluation of 69 patients. *Ann Intern Med* 1982; 96: 746-755.
- 89.- López-Encuentra A, Varela-Simó G y Sotelo-Rodríguez T. Mesoteliomas pleurales malignos. Descripción de 23 casos con análisis de supervivencia. *Rev Clin Esp*. 1987; 181: 32-42.
- 90.- Burmer GC, Rabinovitch PS, Kulancer BG et al. Flow cytometry analysis of malignant pleural mesotheliomas. *Hum Pathol*, 1989; 20: 777-783.
- 91.- Dazzi H, Hasleton PS, Thatcher N et al. Malignant pleural mesothelioma and epidermal growth factor receptor (EGF-R). Relationship of EGF-R with histology and survival using fixed paraffin embedded tissue and the FH monoclonal antibody. *Br J Cancer*, 1990; 61: 924-926.
- 92.- Wanebo HJ, Martini N, Melamed MR et al. Pleural mesothelioma. *Cancer*, 1976; 38: 2481.
- 93.- Griffiths MH, Riddell RJ y Xipell JM. Malignant mesothelioma: a review of 35 cases with diagnosis and prognosis. *Pathology*, 1980; 12: 591-594.

- 94.- Antman KH. Clinical presentation and natural history of benign and malignant mesothelioma. *Semin. Oncol.* 1981; 8: 313-324.
- 95.- Law MR, Hodson ME y Heard, BE. Malignant mesothelioma of the pleura: relation between histological type and clinical behaviour. *Thorax*, 1982; 37: 810-817.
- 96.- Hillerdal G. Malignant mesothelioma 1982: a review of 4710 published cases. *Br. J Dis Chest.*, 77, 321-329.
- 97.- Martensson G, Hagmar B y Zettergren L. Diagnosis and prognosis in malignant pleural mesothelioma: a prospective study. *Eur. J. Respir. Dis.*, 1984; 65, 169-177.
- 98.- Mennemeyer R y Smith M. Multicystic peritoneal mesothelioma. A report with electron microscopy of a case mimicking intraabdominal cystic hygroma (lymphangioma). *Cancer* 1979; 44: 692-699.
- 99.- Rhind JA y Wright CJE. Mesothelioma of the peritoneum. Report of a case and review of the literature. *Br J Surg* 1949; 36: 359-364.
- 100.- Sandberg AA. Chromosome changes in bladder cancer: clinical and other correlations. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1986; 19: 163-169.
- 101.- Balaban GB, Herlyn M, Clark JR, WH, Nowell PC. Karyotypic evolution in human malignant melanoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1986; 19: 113-117.
- 102.- Krieger JS, Fisher ER y Richards MR. Multiple mesothelial cysts of the peritoneum. *Am J Surg* 1952; 84: 328-334.
- 103.- Versnel MA, Hoogsteden HC, Hagemeyer A et al. Characterization of three human malignant mesothelioma cell lines. *Cancer Genet Cytogenet.* 1989; 42: 115-128.
- 104.- De Juan Barquin A y De Juan Martin M. Mesoteliomas peritoneales. *Rev Clin Esp.* 1983; 170: 7-12.
- 105.- Roberts G.H y Irvine RW. Peritoneal mesothelioma. A report of 4 cases. *-Brit. J. Surg.*, 1970; 57: 645.
- 106.- Rodrigo Saez L, Raviña Rubira T. y Herrero Zapatero A. Mesotelioma peritoneal con metastasis ganglionares a distancia. *Rev. Clin. Esp.* 1974; 133: 263-271.
- 107.- Antman K, Cohn S y Green M. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis. *J Clin Oncol*, 1984; 2: 447-454.
- 108.- Dalton WT, Zolliker AS, McCaughey WTE et al. Localized primary tumors of the pleura. An analysis of 40 cases. *Cancer*, 1977; 44: 1465-1471.
- 109.- Briselli M, Mark E J y Dickersin GR. Solitary fibrous tumor of the pleura: Eight new cases and review of 360 cases in the literature. *Cancer*, 1981; 47: 2678-2685.
- 110.- Hamanoue M, Minamigari H, Baba K et al. A case of localized pleural mesothelioma. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*, 1989; 37: 2005-2008.
- 111.- Verniers P, De Man R, De Mynck P et al. Fibrous mesothelioma. Case report. *J Belge Radiol*, 1989; 72: 481-484.
- 112.- Geroulanos S, Lampe P, Hafner F et al. Das maligne pleuramesothelioma: diagnostik, therapie und prognose. *Schweiz Rundsch Med Prax.* 1990; 79: 361-367.
- 113.- Nelson R, Burman SO, Kiani R et al. Hypoglycemic coma associated with benign pleural mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 69: 306-311.
- 114.- Watts DM, Jones GP, Bowman GA y Olsen JD. Giant benign mesothelioma. *Ann Thorac Surg*, 1989; 48: 590-591.
- 115.- Briselli M, Mark EJ y Dickersin GR. Solitary fibrous tumors of the pleura: eight new cases and review of 360 cases in the literature. *Cancer* 1981; 47: 2678-89.
- 116.- Stout AP. Solitary fibrous mesothelioma of the peritoneum. *Cancer* 1950; 3: 820-824.
- 117.- Stout APL. Tumors of the pleura. *Harlem Hospital Bulletin* 1952; 5: 54-57.
- 118.- Young RH, Clement PB y Mc Caughey WT. Solitary fibrous tumors ("fibrous mesotheliomas") of the peritoneum. A report of three cases and a review of the literature. *Arch Pathol Lab Med*, 1990; 114: 493-495.
- 119.- Scharifker D y Kanedo M. Localized fibrous "mesothelioma" of pleura (sub-mesothelial fibroma). A clinicopathological study of 18 cases. *Cancer*, 1979; 43: 627-633.

- 120.- Balassiano M, Reschert N, Rosenman Y et al. Localized fibrous mesothelioma of the mediastinum devoid of pleural connections. *Postgrad Med J*, 1989; 65: 788-790.
- 121.- Daya D y McCaughey WT. Well differentiated papillary mesothelioma of the peritoneum. A clinicopathologic study of 22 cases. *Cancer* 1990; 65: 292-296.
- 122.- Rosai J. Peritoneum, retroperitoneum and related structures. En: *Surgical Pathology*. Rosai J (ed). C.V. Mosby Company, St. Louis, 1989; pp 1635-1664.
- 123.- Plaut A. Multiple peritoneal cysts and their histogenesis. *Arch Pathol* 1928; 5: 754-762.
- 124.- Lord JW. Multiple peritoneal cysts simulating carcinoma of the cecum. *NY State J Med* 1947; 47: 1607-1612.
- 125.- Mc Fadden DE y Clement PB. Peritoneal inclusion cysts with mural mesothelial proliferation. A clinicopathological analysis of six cases. *Am J Surg Pathol*, 1986; 10: 844-854.
- 126.- Chiu B, Churg A, Tengblad A et al. Analysis of hyaluronic acid in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Cancer*, 1984; 54: 2195-2199.
- 127.- Meyer K y Chaffee E. Hyaluronic acid in pleural fluid associated with malignant tumor involving pleura and peritoneum. *Proc Soc Exp Biol* 1939; 42: 797-800.
- 128.- Rasmussen KN y Faber V. Hyaluronic acid in 247 pleural fluids. *Scand J Respir Dis* 1967; 48: 366-371.
- 129.- Fenoglio JJ, Jacobs DW y McAllister HA. Ultrastructure of the mesothelioma of the atrioventricular node. *Cancer*, 1977; 40: 721-726.
- 130.- Roboz J, Greaves J, Silides D et al. Hyaluronic acid content of effusions as a diagnostic aid for malignant mesothelioma. *Cancer Res.*, 1985; 45: 1850-1854.
- 131.- Frebourg T, Lerebours G, Delpech B. et al.: Serum hyaluronate in malignant pleural mesothelioma. *Cancer*, 1987; 59: 2104-2107.
- 132.- Levesque H, Chassagne Ph, Frebourg T y Delpech B. Acide hyaluronique. Interets et perspectives de son dosage serique. *La Presse Med*, 1990; 19: 1001-1005.
- 133.- Lakhotia M, Mehta SR, Mathur D et al. Diagnostic significance of pleural fluid eosinophilia during initial thoracocentesis. *Indian J Chest Dis Allied Sci*, 1989; 31: 259-264.
- 134.- Wanebo HJ, Martini N, Melamed MR et al. Pleural mesothelioma. *Cancer* 1976; 38: 2481-2488.
- 135.- Edmundstone WM. Investigation of pleural effusion: comparison between fiberoptic thoracoscopy, needle biopsy and cytology. *Respir Med*, 1990; 84: 23-26.
- 136.- Salyer WR, Eggleston JC y Erozan YS. Efficacy of pleural needle biopsy and pleural fluid cytopathology in the diagnosis of malignant neoplasm involving the pleura. *Chest*, 1975; 67: 536-539.
- 137.- Kasdon EJ: Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis. *Cancer* 1969; 23: 1144-1151.
- 138.- Sherman ME y Mark EJ. Effusion cytology in the diagnosis of malignant epithelioid and bifasic pleural mesothelioma. *Arch Pathol Lab Med*, 1990; 114: 845-851.
- 139.- Guzman J, Bross KJ, Würtemberger G y Costabel U. Immunocytology in malignant pleural mesothelioma. *Chest*, 1989; 95: 590-595.
- 140.- Linari A y Bussolati G. Evaluation of impact of immunocytochemical techniques in cytological diagnosis of neoplastic effusions. *J Clin Pathol*, 1989; 42: 1184-1189.
- 141.- Dominguez MP, Ballestín C. De Agustín P et al. Immunocytochemical evaluation of mesothelioma, mesothelial hyperplasia and carcinoma in serous effusions using five monoclonal antibodies: EMA, CEA, CD 15, Vimentin and B 72.3. *Acta Cytol*, 1993 (en prensa).
- 142.- Flens MJ, van der Valk P, Tadema TM et al. The contribution of immunocytochemistry in diagnostic cytology. *Cancer*, 1990; 65: 2704-2711.

- 143.- Bronzini E y Carli C: Confronto fra risultati dell' esame citologico del versamento e dell' esame isotologico dell' agobiopsia nella patologia pleurica. *Arch de Vecchi Anat Pat* 1967; 50: 389-403.
- 144.- Macquet V, Leduc M y Lafitte P; Valeur de la biopsie pleurale à l'aiguille dans le diagnostic des épanchements pleuraux. *Lille Méd* 1968; 13: 151-157.
- 145.- Hanson G y Philips T: Pleural biopsy in diagnosis of thoracic disease. *Br. Med J* 1962; 2: 300-303.
- 146.- Mestitz P y Polland AC: The diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Br J Dis Chest* 1959; 53: 86-94.
- 147.- Sisson BS y Weiss W: Needle biopsy of the parietal pleura in patients with pleural effusion. *Br Med J* 1962; 2: 298-300.
- 148.- Hampson F y Karlsh AJ: Needle biopsy of the pleura in the diagnosis of pleural effusion. A report of 118 cases. *Q J Med* 1961; 30: 249-255.
- 149.- Samuels ML, Old JW y Howe CD: Needle biopsy of pleura. An evaluation in patients with pleural effusion of neoplastic origin. *Cancer* 1958; 11: 980-983.
- 150.- Donohue RF, Katz S y Matthews MJ: Pleural biopsy as an aid in the etiologic diagnosis of pleural effusion: Review of literature and report of 132 biopsies. *Ann Int Med* 1958; 48: 344-362.
- 151.- Scerbo J, Keltz H y Stone DJ: A prospective study of closed pleural biopsies. *JAMA* 1971; 218: 377-380.
- 152.- Chahinian AP, Pajak TF, Holland JF et al. Diffuse malignant mesothelioma. Prospective evaluation of 69 Patients. *Ann Intern Med* 1982; 96: 746-755.
- 153.- Antmann KH y Corson JM. Benign and malignant pleural mesothelioma. *Clin Chest Med* 1985; 6: 127-140.
- 154.- Law MR, Hodson ME y Turner-Warwick M. Malignant mesothelioma of the pleura: Clinical aspects and symptomatic treatment. *Eur J Respir Dis* 1984; 65: 162-168.
- 155.- Herbert A. The diagnosis of malignant mesothelioma. *J. Pathol* 1984; 143: 145-146.
- 156.- Martensson G, Hagmar B y Zetterbren L. Diagnosis and prognosis in malignant pleural mesothelioma. A prospective study. *Eur J Respir Dis* 1984; 65: 169-178.
- 157.- Chretien J y Letournaux JM. Pleural mesothelioma. En: Chretien J, Hirsch A, (eds). *Diseases of the Pleura*. New York, Masson Pub 1983; 213-223.
- 158.- Law MR, Gregor A, Hodson ME et al. Malignant mesothelioma of the pleura: A study of 52 treated and 64 untreated patients. *Thorax* 1984; 39: 255-259.
- 159.- Shamin RJ y Antmann KH. Pleural mesothelioma. En: Hood RM. Ed. *Surgical diseases of the pleural and chest wall*. Philadelphia, WB Saunders 1986: 229-239.
- 160.- Moore JH, Crum CP, Chandler JG et al. Benign cystic mesothelioma. *Cancer* 1980; 45: 2395-2399.
- 161.- De Iaria GA, Jensik R, Faber LP y Kittle CF. Surgical management of malignant mesothelioma. *Ann Thorac Surg* 1978; 26: 375-382.
- 162.- Vilaseca J, Bartolome J, Roca Montanari A et al. Mesotelioma pleural y asbestosis. *Med. Clin.* 1977; 68: 184.
- 163.- Rosai J. Lung and pleura En: Ackerman's surgical pathology. Séptima edición. Rosai J. (ed). CV Mosby Company. St Louis 1989; p: 264-344.
- 164.- Sienkowski ID, Russell AJ, Dilly SA, et al. Peritoneal cystic mesothelioma: An electron microscopic and immunohistochemical study of two male patients. *J Clin Pathol* 1986; 39: 440-446.
- 165.- Bolen JW, Hammar SP y McNutt MA. Reactive and neoplastic serosal tissue. A light-microscopic, ultrastructural and immunocytochemical study. *Am J Surg Pathol*, 1986; 10: 32-47.

- 166.- Whitacker D, Papadimitriou JM y Walters MNI. The mesothelium. Techniques for investigating the origin, nature and behaviour of malignant cells. *J Pathol*, 1980; 132: 263-271.
- 167.- Whitacker D, Papadimitriou JM y Walters MNI. The mesothelium. A histochemical study of resting mesothelial cells. *J Pathol*, 1980; 132: 273-284.
- 168.- Bolen JW, Hammar SP y McNutt MA. Reactive and neoplastic serosal tissue: a light-microscopic, ultrastructural and immunocytochemical study. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 34-47.
- 169.- Raftery AT. Regeneration of parietal and visceral peritoneum. An electron microscopical study. *J Anat* 1973; 115: 375-392.
- 170.- Schurch W, Seemayer TA, Legace R y Gabbiani G. Intermediate filament cytoskeleton of myofibroblasts: an immunofluorescence and ultrastructural study. *Lab Invest* 1984; 50: 52 A.
- 171.- Majno G. The story of the myofibroblast. *Am J Surg Pathol* 1979; 3: 535-542.
- 172.- Vogalzag NJ, Schuitz SM, Lannucci AM y Kennedy BJ. Malignant mesothelioma. The University of Minnesota experience. *Cancer* 1984; 53: 377-383.
- 173.- Frison JC, Richardt C, Maestre JA et al. Mesotelioma pleural: revisión de 13 casos. *Med Clin (Barc)* 1976; 66: 115-119.
- 174.- Edge JR y Chovdhury SL. Malignant mesothelioma of the pleura in Barrow-in-Furness. *Thorax* 1978; 33: 26-30.
- 175.- Nauta RJ, Ostaen RT, Antmann KH y Koster JK. Clinical staging and the tendency of malignant pleural mesothelioma to remain localized. *Ann Thorac Surg* 1982; 34: 66-70.
- 176.- Mc Cormack PM, Nagasaki F, Hilaris BS y Martini N. Surgical treatment of pleural mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 84: 834-842.
- 177.- Ikuta N, Tano M, Iwata M et al. A case of adenomatoid mesothelioma of the pleura. *Nippon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*. 1989; 27: 1540-1544.
- 178.- Banner MP y Gohel VK: Peritoneal mesothelioma. *Radiology* 1978; 129: 637-644.
- 179.- Cantin R, Al-Jabi M y McCaughey WTE: Desmoplastic diffuse mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 1982; 6: 215-224.
- 180.- Nakano T, Fujii J, Tamura S et al. Glycosaminoglycan in malignant pleural mesothelioma. *Cancer*, 1986; 57: 106-110.
- 181.- Echevarria RA y Arean VM: Ultrastructural evidence of secretory differentiation in a malignant pleural mesothelioma. *Cancer* 1968; 22: 323-330.
- 182.- Coleman M, Henderson DW y Mukherjee TM. The ultrastructural pathology of malignant pleural mesothelioma. *Pathol Annu* 1989; 24: 303-353.
- 183.- Suzuki Y, Churg J y Kannerstein M: Ultrastructure of human malignant diffuse mesothelioma. *Am J Pathol* 1976; 85: 241-250.
- 184.- Rosai J. Special techniques in surgical pathology. En: Ackerman's surgical pathology. Séptima edición. Rosai J (ed). CV Mosby Company. St Louis, 1989; p 35.
- 185.- True LD. Principles of immunohistochemistry. En: Atlas of diagnostic immunopathology. True LD (ed). JB Lippincott Company. Philadelphia, 1990: pp 1.1-1.34.
- 186.- Welinder KG: Amino acid sequence studies of horseradish peroxidase. *Eur J Biochem* 1979; 96: 483-502.
- 187.- Graham RC y Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J Histochem Cytochem* 1966; 14: 291-302.
- 188.- Scopsi L y Larsson LI: Increased sensitivity in peroxidase immunocytochemistry. A comparative study of a number of peroxidase visualization methods employing a model system. *Histochemistry* 1986; 84: 221-30.

- 189.- Vacca LL. Application of immunoperoxidase techniques to localize horseradish peroxidase tracer in the central nervous system. *J Histochem Cytochem* 1975; 23: 208-15.
- 190.- Avrameas S: Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies. *Immunochemistry* 1969; 6: 43-52.
- 191.- Clark CA. An unlabeled antibody method using glucose oxidase antiglucose oxidase complexes (GAG). *J Histochem Cytochem* 1982; 30: 27-34.
- 192.- Rygaard J, Olsen W: Determination of characteristics of interference filters. *Ann NY Acad Sci* 1971; 177: 430-433.
- 193.- Wicker R: Comparison of immunofluorescent and immunoenzymatic techniques applied to the study of viral antigens. *Ann NY Acad Sci* 1971; 177: 490-500.
- 194.- Fox CH. Formaldehyde fixation. *J Histochem Cytochem* 1985; 33: 845-53.
- 195.- Ploem JS: A study of filters and light sources in immunofluorescence microscopy. *Ann NY Acad Sci* 1971; 177: 414-29.
- 196.- Coons AH: Histochemistry with labeled antibody. *Int Rev Cytol* 1956; 5: 1-23.
- 197.- Hsu SM. The use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. A comparison between ABC and unlabeled antibody PAP procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-580.
- 198.- Guesdon JL. The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. *J Histochem Cytochem* 1979; 27: 1131-1139.
- 199.- Jasiewicz ML. Selective retrieval of biotin-labeled cells using immobilized avidin. *Exp Cell Res* 1976; 100: 213-217.
- 200.- Sternberger LA y Sternberger NH: The unlabeled antibody method: Comparison of peroxidase-antiperoxidase with avidin-biotin complex by a new method of quantification. *J Histochem Cytochem* 1986; 34: 599-605.
- 201.- Goding JW: Use of staphylococcal protein A as an immunological reagent. *J Immunol Meth* 1978; 20: 241-253.
- 202.- Moll R. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors, and cultured cells. *Cell* 1982; 31: 11-24.
- 203.- Cooper D. Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: Strategies, applications, and limitations. *Lab Invest* 1985; 52: 243-249.
- 204.- Banks-Schlegel SP. Keratin proteins in human lung carcinomas Combined use of morphology, keratin immunocytochemistry, and keratin immunoprecipitation. *Am J Pathol* 1984; 114: 273-86.
- 205.- Nagle RB, McDaniel KM, Clard VA et al: The use of antikeratin antibodies in the diagnosis of human neoplasms. *Am J Clin Pathol* 1983; 79: 458-66.
- 206.- Grace MP. Keratin expression in normal esophageal epithelium and squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer Res* 1985; 45: 841-6
- 207.- Lauriola L. Detection of S-100 labelled cells in nasopharyngeal carcinoma. *J Clin Pathol* 1984; 37: 1235-1238.
- 208.- Hand PH. Monoclonal antibodies of predefined specificity detect activated ras gene expression in human mammary and colon carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 5227-31.
- 209.- Rode J. Neuron specific enolase and S-100 protein as possible prognostic indicators in melanoma. *Histopathology* 1984; 8: 1041-1052.
- 210.- McCarty KS. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab* 1985; 109: 716-721.
- 211.- Chen P, Mei Z, Yao X y Meng X. Selection of hormone-responsive advanced breast cancer with a cytoplasmic estrogen receptor assay. *Cancer*, 1989; 63: 139-142.

- 212.- Lippman SM. The prognostic and biological significant of celular heterogeneity in medullary thyroid carcinoma: A study of calcitonin, L-dopa decarboxylase, and histaminase. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 233-240.
- 213.- Bosman FT y Kruseman ACN: Clinical applications of the enzymelabeled antibody method. *J Histochem Cytochem* 1979; 27: 1140-1147.
- 214.- King WJ y Greene GL: Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature* 1984; 307: 745-747.
- 215.- Isaacson P: Immunochemical demonstration of J chain. A marker of B-cell malignancy. *J Clin Pathol* 1979; 32: 802-807.
- 216.- Mukai K, Yoshimura S y Anzai M: Effects of decalcification on immunoperoxidase staining. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 413-419.
- 217.- Ordóñez NG, Brooks T, Thompson S y Batsakis JG: Use of *Ulex europaeus* agglutinin I in the identification of lymphatic and blood vessel invasion in previously stained microscopic slides. *Am J Surg Pathol* 1987; 11: 543-550.
- 218.- Ches Q y Hajdu SI: The role of immunoperoxidase staining in diagnostic cytology. *Acta Cytol (Baltimore)* 1985; 30: 1-7.
- 219.- Domagala W, Lubinski J, Weber K y Osborn M: Intermediate filament typing of tumor cells in fine needle aspirates by means of monoclonal antibodies. *Acta Cytol (Baltimore)* 1986; 30: 214-224.
- 220.- Li C-Y, Lazcano-Villareal O, Pierre RV y Yam LT: Immunocytochemical identification of cells in serous effusions. Technical considerations. *Am J Clin Pathol* 1987; 88: 696-706.
- 221.- Walts AE y Said JW: Specific tumor markers in diagnostic cytology. Immunoperoxidase studies of carcinoembryonic antigen, lysozyme and other tissue antigens in effusions, washes and aspirates. *Acta Cytol (Baltimore)* 1983; 27: 408-416.
- 222.- Rooney N, Day C, Gray T y Underwood JCE: Electron microscopic localization of cell-surface markers in tissue sections using monoclonal and gold-conjugated antibodies. *Am J Pathol* 1986; 148: 29-34.
- 223.- McKeon FD. Homologies in both primary and secondary structure between nuclear envelope and intermediate filament proteins. *Nature* 1986; 319: 463-468.
- 224.- Lafer EM. Polyspecific monoclonal lupus autoantibodies reactive with both polynucleotides and phospholipids. *J Exp Med* 1981; 153: 897-909.
- 225.- Stefansson K. Circulating autoantibodies to the 200,000-dalton protein of neurofilaments in the serum of healthy individuals. *Science* 1985; 228: 1117-1119.
- 226.- Wilson AJ. Factor VIII-related antigen staining by immunoperoxidase technic in smaller laboratories: A potential problem. *Am J Clin Pathol* 1984; 81: 117-120.
- 227.- Dighiero G. High frequency of natural autoantibodies in normal newborn mice. *J Immunol* 1985; 134: 765-771.
- 228.- Buffa R, Crivelli O, Fiocca R, Fontana P y Solcia E: Complement-mediated unspecific binding of immunoglobulins to some endocrine cells. *Histochemistry* 1979; 63: 15-21.
- 229.- True LK y Nakane PK: Immunoelectronmicroscopy. En: *Current trends in morphological techniques* 1981; Vol III. Uniscience series: methods in aging research: Boca Raton, FL, CRC Press.
- 230.- Buffa R. Complement-mediated binding of immunoglobulins to some endocrine cells of the pancreas and gut. *J Histochem Cytochem* 1979; 27: 1279-80.
- 231.- Grube D: Immunoreactivities of gastrin (G) cells. II. Non-specific binding of immunoglobulins to G-cells by ionic interactions. *Histochemistry* 1980; 66: 149-167.
- 232.- Farr AG y Nakame PK. Immunohistochemistry with enzyme labeled antibodies: a brief review. *J Immunol Meth* 1981; 47: 129-144.
- 233.- Scopsi L. Nonspecific immunocytochemical reactions with certain neurohormonal peptides and basic peptide sequences. *J Histochem Cytochem* 1986; 34: 1469-1475.

- 258.- Delsol G, Stein H, Pulford KAF et al. Human lymphoid cells express epithelial membrane antigen. Implications for diagnosis of human neoplasms. *Lancet* 1984; 2: 1124-1129.
- 259.- Jothy S, Brazinsky SA, Chin-A-Loy M et al. Characterization of monoclonal antibodies to carcinoembryonic antigen with increased tumor specificity. *Lab Invest* 1986; 54: 108-117.
- 260.- Samowitz WS. Reported binding of monoclonal antibody RAP-5 to formalin-fixed tissue sections is not indicative of ras p21 expression. *Hum Pathol* 1988; 19: 127-132.
- 261.- Eusebi V. Immunohistochemical localization of myoglobin in non-muscular cells. *Am J Surg Pathol* 1984; 8: 51-55.
- 262.- Novikoff A. Diffusion artifacts in 3, 3'-diaminobenzidine cytochemistry. *J Histochem Cytochem* 1972; 20: 745-749.
- 263.- Franke WW. Change of cytokeratin filament organization during the cell cycle: Selective masking of an immunologic determinant in interphase PtK2 cells. *Cell* 1983; 97: 1255-1260.
- 264.- Connell ND y Rheinwald JG: Regulation of the cytoskeleton in mesothelial cells: Reversible loss of keratin and increase in vimentin during rapid growth in culture. *Cell* 1983; 34: 245-253.
- 265.- LaRocca PJ y Rheinwald JG: Coexpression of simple epithelial keratins and vimentin by human mesothelium and mesothelioma in vivo and in culture. *Cancer Res* 1984; 44: 2991-2999.
- 266.- Ramaekers F, Feitz W, Moesker O et al: Antibodies to cytokeratin and vimentin in testicular tumor diagnosis. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1985; 408: 127-142.
- 267.- Foyle A, Al-Jabi M y McCaughey WTE: Papillary peritoneal tumors in women. *Am J Surg Pathol* 1981; 5: 241-252.
- 268.- Hainsworth JD, Wright EP, Johnson DG et al. Poorly differentiated carcinoma of unknown primary site. Clinical usefulness of immunoperoxidase staining. *J. Clin Oncol*, 1991; 9: 1931-1938.
- 269.- Lazarides E: Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature* 1980; 282: 249-256.
- 270.- Goldman R, Goldman A, Green K et al: Intermediate filaments: Possible functions as cytoskeletal connecting links between the nucleus and the cell surface. *Ann NY Acad Sci* 1985; 455: 1-17.
- 271.- Cooper D, Schermer A y Sun T-T: Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: Strategies, applications and limitations. *Lab Invest* 1985; 52: 243-256.
- 272.- Steinert PM, Steven AC y Roop DR: The molecular biology of intermediate filaments. *Cell* 1985; 42: 411-419.
- 273.- Osborn M y Weber K: Biology of the disease: Tumor diagnosis by intermediate filament typing: A novel tool for surgical pathology. *Lab Invest* 1983; 48: 372-394.
- 274.- Goepel JR. Benign papillary mesothelioma of peritoneum: A histological, histochemical and ultrastructural study of six cases. *Histopathology* 1981; 5: 21-26.
- 275.- Ramaekers F, Puts JO, Moesker O et al. Demonstration of keratin in human adenocarcinomas. *Am J Pathol* 1983b; 11: 213-223.
- 276.- Anderson TM, Holmes EC, Kosaka CJ et al. Monoclonal antibodies to human malignant mesothelioma. *J Clin Immunol* 1987; 7: 254-261.
- 277.- Gerace L, Blum A y Blobel G: Immunocytochemical localization of the major polypeptides of the nuclear pore complex-lamina fraction: Interphase and mitotic distribution. *J Cell Biol* 1978; 79: 546-566.
- 278.- Miettinen M, Lehto VP y Virtanen I: Antibodies to intermediate filament proteins: The differential diagnosis of cutaneous tumors. *Arch Dermatol* 1985; 121: 736-741.
- 279.- Gabbiani G, Kapanci Y, Barazzone P et al: Immunochemical identification of intermediate-sized filaments in human neoplastic cells: A diagnostic aid for the surgical pathologist. *Am J Pathol* 1981; 104: 206-216.

- 280.- Said JW: Immunohistochemical localization of keratin proteins in tumor diagnosis. *Hum Pathol* 1983; 14: 1017-1019.
- 281.- Gown AM y Vogel AM: Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. *Am J Clin Pathol* 1985; 84: 413-424.
- 282.- Virtanen M, Miettinen M y Lehto VP: Diagnostic application of monoclonal antibodies to intermediate filaments. *Ann NY Acad Sci* 1985; 455: 635-648.
- 283.- Kawabe TT y Kalra K: Intermediate filaments: A diagnostic tool for tumor classification. *Lab Med* 1986; 17: 143-146.
- 284.- Darbyshire PJ, Bourne SP, Allan PM et al: The use of a panel of monoclonal antibodies in pediatric oncology. *Cancer* 1987; 59: 726-730.
- 285.- Hsu SM, Hsu PL, Zhao X, et al. Establishment of human mesothelioma cell lines (MS-1, -2) and production of a monoclonal antibody (anti-MS) with diagnostic and therapeutic potential. *Cancer Res*, 1988; 48: 5228-5236.
- 286.- Moll R, Cowin P, Kapprell H-P y Franke WW: Desmosomal proteins. New markers for identification and classification of tumors. *Lab Invest* 1986; 54: 4-25.
- 287.- Donna A, Betta PG y Jones JSP: Verification of the histologic diagnosis of malignant mesothelioma in relation to the binding of an antimesothelial cell antibody. *Cancer* 1989; 63: 1331-1336.
- 288.- Ballestín C. Perfil inmunohistoquímico del carcinoma de mama mediante técnicas de inmunocitoquímica. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza, 1991.
- 289.- Hammar SP. Common neoplasms. En: *Pulmonary pathology*. Dail DH y Hammar SP (eds). Springer-Verlag. New York, 1988; pp 727-846.
- 290.- Kawai T, Suzuki M y Kageyama K. Reactive mesothelial cell and mesothelioma of the pleura. *Virchows Arch A*, 1981; 393: 251-263.
- 291.- McCaughey WTE, Kannerstein M y Churg J: Tumors and pseudotumors of the serous membranes. *Atlas of tumor pathology, second series, Fascicle 20*. Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology, 1984.
- 292.- M. Brockmann, I. Brockmann, M. Fisher y KM Muller. Reactive lesions of the pleura. Immunohistochemical characterization. *Pathol Res Pract*, 1990; 186: 238-246.
- 293.- Herbert A y Gallagher PJ: Interpretation of pleural biopsy specimens and aspirates with the immunoperoxidase technique. *Thorax* 1982; 37: 822-827.
- 294.- Marshall RJ, Herbert A, Braye SF y Jones DB: Use of antibodies to carcinoembryonic antigen and human milk fat globule to distinguish carcinoma, mesothelioma and reactive mesothelium. *J Clin Pathol* 1984; 37: 1215-1221.
- 295.- Kwee WS, Veldhuizen RW, Golding RP et al. Histologic distinction between malignant mesothelioma, benign pleural lesion and carcinoma metastasis. *Virchows Arch A*, 1982; 397: 287-299.
- 296.- Oberholzer M, Ettl R, Christen H et al. The significance of morphometric methods in cytologic diagnostics: differentiation between mesothelial cells, mesothelioma cells and metastatic adenocarcinoma cells in pleural effusions, with special emphasis on chromatin texture. *Anal Cell Pathol*, 1991; 3: 25-42.
- 297.- Christen H, Oberholzer M, Buser M et al. Digital image analysis in cytological diagnosis: a morphometric analysis on pleural mesotheliomas. *Anal Cell Pathol*, 1989; 1: 105-122.
- 298.- Robutti F, Betta PG, Donna A y Pavesi M. A morphometrically-based classification rule for the diagnosis of primary mesothelial lesions. *J Pathol*, 1990; 162: 51-55.
- 299.- Wick MR, Loy T, Mills SE et al. Malignant epithelioid pleural mesothelioma versus peripheral pulmonary adenocarcinoma. *Hum Pathol*, 1990; 21: 759-766.
- 300.- Riddell RH, Goodman MJ y Moossa AR: Peritoneal malignant mesothelioma in a patient with recurrent peritonitis. *Cancer* 1981; 48: 134.

- 301.- Churg J: Peritoneal mesothelioma. *Environ Hlth Perspect* 1974; 9: 317-318.
- 302.- Klima M y Gyorkey F: Benign pleural lesion and malignant mesothelioma. *Virch Arch (Pathol Anat)* 1977; 376: 181-193.
- 303.- Young RH, Clement PB y EMcCaughey WT . Solitary fibrous tumors. ("fibrous mesotheliomas") of the peritoneum. A report of three cases and a review of the literature. *Arch Pathol Lab Med*, 1990; 114: 493-495.
- 304.- El-Naggar AK, Ro JY, Ayala AG et al. Localized fibrous tumor of the serosal cavities. Immunohistochemical, electron-microscopia and flow-cytometric DNA study. *Am J Clin Pathol*, 1989; 92: 561-565.
- 305.- Ball NJ, Urbanski SJ, Green FH y Kieser T. Pleural multicystic mesothelial proliferation. The so-called multicystic mesothelioma. *Am J Surg Pathol*, 1990; 14: 375-378.
- 306.- Watts DM, Jones GP, Bowman GA y Olsen JD. Giant benign mesothelioma. *Ann Thorac Surg*, 1989; 48: 590-591.
- 307.- Yousem SA y Flynn SD. Intrapulmonar localized fibrous tumor. Intraparenchymal so-called fibrous mesothelioma. *Am J Clin Pathol*, 1988; 89: 365-369.
- 308.- Balassiano M, Reichert N, Rosenman Y et al. Localized fibrous mesothelioma of the mediastinum devoid of pleural connections. *Postgrad Med J*, 1989; 65: 788-790.
- 309.- Bürrig KF y Dastendieck H. Ultrastructural observations on the histogenesis of localized fibrous tumours of the pleura (benign mesothelioma). *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1984; 403: 413-424.
- 310.- Dalton WT, Zolliker AS, McCaughey WTE et al. Localized primary tumors of the pleura. *Cancer* 1979; 44: 1465-1475.
- 311.- Doucet J, Dardick I, Srigley JR et al. Localized fibrous tumors of serosal surfaces. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1986; 409: 349-363.
- 312.- Dalton WT, Zolliker AS, McCaughey WTE: Localized primary tumors of the pleura. An analysis of 40 cases. *Cancer* 1979; 44: 1465-1475.
- 313.- Dervan PA, Tobin B y O'Connor M: Solitary (localized) fibrous mesothelioma. Evidence against mesothelial cell origin. *Histopathology* 1986; 10: 867-875.
- 314.- Hernández FJ y Hernández BB. Localized fibrous tumors of the pleura. A light and electron microscopy study. *Cancer*, 1974: 1667-1674.
- 315.- Kawai T, Zakumaru K, Mikata A et al. Solitary (localized) pleural mesothelioma. A light- and electron- microscopic study. *Am J Surg Pathol* 1978; 2: 365-375.
- 316.- Rayburn JL y Godwin TA: Fibrous tumor of the pleura. An immunohistochemical study (abstract). *Lab Invest* 1988; 58: 76A.
- 317.- Said JW, Nash G, Banks-Schlegel S et al. Localized fibrous mesothelioma. An immunohistochemical and electron microscopic study. *Hum Pathol* 1984; 15: 440-443.
- 318.- Scharifker D y Kaneko M: Localized fibrous "mesothelioma" of pleura (submesothelial fibroma). A clinicopathologic study of 18 cases. *Cancer* 1979; 43: 627-635.
- 319.- Young RH, Clement PD y Mc Caughey WT. Solitary fibrous tumors ("fibrous mesotheliomas") of the peritoneum. A report of three cases and a review of the literature. *Arch Path Lab Med*, 1990; 114: 493-495.
- 320.- Stout AP y Murray MR. Localized pleural mesothelioma. Investigation of its characteristics and histogenesis by the method of tissue culture. *Arch Pathol*, 1951; 34: 50-64.
- 321.- Ikuta N, Naitou Y, Takeuchi Y y Nakayama A. A case of adenomatoid mesothelioma of the pleura. *Nippon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*, 1989; 27: 1540-1544.
- 322.- Chu B, Churg A., Tengblad A, Pearce R. y Mc Caughey WT. Analysis of hyaluronic acid in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Cancer*, 1984; 54: 2195-2199.
- 323.- Carter D. y Eggleston JC. Tumors of the lower respiratory tract. *Armed Forces institute of Pathology*, 1979.

- 324.- Hammond EC y Horn D. Smoking and death rates: report on forty-four months of follow-up of 187783 men. *JAMA* 1958; 166: 1294-1308.
- 325.- Anderson AE, Buechner HA, Yoger I y Ziskind MM. Bronchogenic carcinoma in young men. *Am J Med* 1954; 16: 404-415.
- 326.- Rivkin LM y Salyer JM. Bronchogenic carcinoma in men under 40 years of age. *Chest* 1958; 34: 521-524.
- 327.- Kennedy AL. Lung cancer in young adults. *Br J Dis Chest* 1972; 66: 147-154.
- 328.- Kyniakos M y Webber B. Cancer of the lung in young men. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1974; 67: 634-648.
- 329.- Putnam JS. Lung carcinoma in young adults. *JAMA* 1977; 238: 35-36.
- 330.- Ganz PA, Vernon SE, Preston D y Coulson WF. Lung cancer in younger patients. *West J Med* 1980; 133: 373-378.
- 331.- DeCaro L y Benfield JR. Lung cancer in young persons. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 83: 372-376.
- 332.- Roviario GC, Varoli F, Zannini P et al. Lung cancer in the young. *Ches* 1985; 87: 456-459.
- 333.- Peto R, y Doll R. Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on male British doctors. *Br Med J* 1976; 1525-1536.
- 334.- Weiss ST. Passive smoking and lung cancer: what is the risk? *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 1-3.
- 335.- Trichopoulos D, Delandidi A, Spanos L y MacMahon B. Lung cancer and passive smoking. *Int J Cancer* 1981; 27: 1-4.
- 336.- Trichopoulos D, Kelandidi A y Spanos L. Lung cancer and passive smoking, conclusion of Greek study. *Lancet* 1983; 2: 677-678.
- 337.- Garfinkle L, Auerbach O y Joubert L. Involuntary smoking and lung cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 1985; 75: 463-469.
- 338.- Hirayama T. Passive smoking and lung cancer. *Br Med J* 1981; 282: 1393-1394.
- 339.- Hirayama T. Passive smoking and lung cancer: consistency of association. *Lancet* 1983; 2: 145-146.
- 340.- Garfinkle L. Time trends in lung cancer mortality among nonsmokers and a note on passive smoking. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 1061-1066.
- 341.- Gillis CR, Hale DJ, Hawthorne VM y Boyle P. The effect of environmental tobacco smoke in two urban communities in the West of Scotland. *Eur J Respir Dis* 1984; 65 (suppl 133): 121-126.
- 342.- Correa P, Pickle LW, Forham E et al. Passive smoking and lung cancer. *Lancet* 1983; 2: 595-597.
- 343.- Kabat GC y Wynder EL. Lung cancer in nonsmokers. *Cancer* 1984; 53: 1214-1221.
- 344.- Sandler DP y Everson RB y Wilcox AJ. Passive smoking in adulthood and cancer risk. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 37-48.
- 345.- Sandler DP, Wilcox AJ y Everson RB. Cumulative effects of lifetime passive smoking on cancer risk. *Lancet* 1985; 1: 312-314.
- 346.- Chan WC, Colbourne MJ, Fung SC y Ho HC. Bronchial cancer in Hong Kong 1976-1977. *Br J Cancer* 1979; 39: 182-192.
- 347.- Knoth A, Bohn W y Schmidt F. Passive smoking as a causal factor for bronchial carcinoma in female nonsmokers. *Med klin* 1983; 78: 66-69.
- 348.- Koo LC, Ho HC y Saw D. Active and passive smoking among female lung cancer patients and contacts in Hong Kong. *J Exp Clin Cancer Res* 1983; 4: 367-375.
- 349.- Radford EP y St Clair Renard KG. Lung cancer in Swedish iron miners exposed to low doses of radon daughters. *N Engl J Med* 1984; 310: 1485-1494.
- 350.- Radford EP. Radon daughters in the induction of lung cancer in underground miners. En: Peto R, Schneiderman M, eds. *Quantification of occupational cancer*. Cold Spring harbor, New York; Cold Spring laboratory 1981; 151-163.

- 351.- Thomas DC y McNeill KG. Risk estimates for the health effects of alpha radiation. Ottawa: Report to the Canadian Atomic Energy Control Board, 1982.
- 352.- Organización Mundial de la Salud. Tipos histológicos de tumores pulmonares. Segunda edición. Organización Mundial de la Salud Ginebra, 1981.
- 353.- Valaitis J, Warren S y Gamble D. Increasing incidence of adenocarcinoma of the lung. *Cancer* 1981; 47: 1042-1046.
- 354.- Taylor AB, Shinton NH y Waterhouse JAH. Histology of bronchial carcinoma in relation to prognosis. *Thorax* 1963; 18: 178-181.
- 355.- Weiss W, Boucot KR y Cooper DA. The histopathology of bronchogenic carcinoma and its relation to growth rate, metastasis, and prognosis. *Cancer* 1970; 26: 965-970.
- 356.- Walter JB y Pryce DM. The site of origin of lung cancer and its relation to histological type. *Thorax* 1955; 10: 117-126.
- 357.- Ashley DJB y Davies HD. Cancer of the lung: histology and biological behaviour. *Cancer* 1967; 20: 165-174.
- 358.- Bennett DE, Sasser WR y Ferguson TB. Adenocarcinoma of the lung in men: a clinicopathologic study of 100 cases. *Cancer* 1969; 23: 431-439.
- 359.- Carroll R. Influence of lung scars on primary lung cancer. *J Pathol Bacteriol* 1962; 83: 293-297.
- 360.- Auerbach O, Garfinkel L y Parks VR. Scar cancer of the lung: increase over a 21-year period. *Cancer* 1979; 43: 636-642.
- 361.- Scannell JG. "Bleb" carcinoma of the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980; 80: 904-908.
- 362.- Konwaler BE y Reingold IM. Carcinoma arising in bronchiectatic cavities. *Cancer* 1952; 5: 525-529.
- 363.- Shimosato Y, Hashimoto T, Kodama T, et al. Prognostic implications of fibrotic focus (scar) in small peripheral lung cancers. *Am J Surg Pathol* 1980; 4: 365-373.
- 364.- Roberts GH. Diffuse pleural mesothelioma. A clinical and pathological study. *Br J Dis Chest* 1970; 64: 201-211.
- 365.- O'Donnell WM, Mann RH y Grosh JL. Asbestos, an extrinsic factor in the pathogenesis of bronchogenic carcinoma and mesothelioma. *Cancer* 1966; 19: 1143-1148.
- 366.- Chernow B y Sahn SA. Carcinomatous involvement of the pleura: an analysis of 96 patients. *Am J Med* 1977; 63: 695-702.
- 367.- Harwood TR, Gracey DR y Yokoo H. Pseudomesotheliomatous carcinoma of the lung: a variant of peripheral lung cancer. *Am J Clin Pathol* 1976; 65: 159-167.
- 368.- Esquius J, Alejo M, Paditla I et al. Tumores pleuropulmonares. Aportación de dos casos con rasgos clinicopatológicos peculiares. *Rev Clin Esp*, 1989; 185: 303-305.
- 369.- Dessy E y Pietra GG. Pseudomesotheliomatous carcinoma of the lung. An immunohistochemical and ultrastructural study of three cases. *Cancer*, 1991; 68: 1747-1753.
- 370.- Hammar SP, Bolen JW, Bockus D et al. Ultrastructural and immunohistochemical features of common lung tumors: an overview. *Ultrastruct Pathol* 1985; 9: 283-318.
- 371.- Hammar S. Adenocarcinoma and large cell undifferentiated carcinoma of the lung. *Ultrastruct Pathol* 1987; 11: 251-274.
- 372.- Upton MP, Hirohashi S, Tome Y et al. Expression of vimentin in surgically resected adenocarcinomas and large cell carcinomas of lung. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 560-567.
- 373.- Jasani B, Edwards RE, Thomas ND y Gibbs AR. The use of vimentin antibodies in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1985; 406: 441-448.
- 374.- Cherwitz D, Swanson P, Drier J y Wick M. S100-protein reactivity in poorly differentiated carcinomas: an immunohistochemical comparison with malignant melanoma. *Lab Invest* 1987; 56: 13A.

- 375.- Braganza JM, Blanche B, Butler E, et al. Ectopic production of salivary type amylase by a pseudomesotheliomatous carcinoma of the lung. *Cancer* 1978; 41: 1522-1525.
- 376.- Broghamer WL Jr, Collins WM y Mojsejenko IK. The cytohistopathology of a pseudomesotheliomatous carcinoma of the lung. *Acta Cytol* 1978; 22: 239-242.
- 377.- Lin JI, Tseng CH y Tsung SH. Pseudomesotheliomatous carcinoma of the lung. *South Med J* 1980; 73: 655-657.
- 378.- Nishimoto Y, Ohno T y Saito K. Pseudomesotheliomatous carcinoma of the lung with histochemical and immunohistochemical study *Acta Pathol Jpn* 1983; 33: 415-423.
- 379.- Simonsen J. Pseudomesotheliomatous carcinoma of the lung with asbestos exposure. *Am J Forensic Med Pathol* 1986; 7: 49-51.
- 380.- Tabbarah HJ, Lowitz BB y Casciato DA. Intrathoracic complications. En: Casciato DA y Lowitz BB (eds). *Manual of clinical oncology*. Second edition. Little, Brown and Company. Boston, 1988.
- 381.- Rodríguez-Panadero F, Borderas F y López J. Derrames pleurales benignos en enfermos neoplásicos. Frecuencia y mecanismos etiopatogénicos en una serie necróptica. *Rev Clin Esp* 1988; 183: 311-312.
- 382.- Kanaoka M. A histopathological study of 102 autopsy cases of primary lung cancer with respect to pleural carcinomatosis. *Nippon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*, 1989; 27: 1146-1156.
- 383.- Greco FA y Hainsworth JD. The management of patients with adenocarcinoma and poorly differentiated carcinoma of unknown primary site. *Sem Oncol*, 1989; 16: 116-122.
- 384.- Ellis IA y Hitchcock A. tumor marker immunoreactivity in adenocarcinoma. *J Clin Pathol*, 1988; 41: 1064-1067.
- 385.- Ultman JE y Phillips TL. Cancer of unknown primary site. En: *Cancer. Principles and practice of oncology*. 3rd edition. De Vita VT, Hellman S and Rosenberg SA (eds). JB Lippincott Company. Philadelphia, 1989, pp: 1941-1952.
- 386.- Nystrom JS, Weiner JM, Wolf RM et al. Identifying the primary site in metastatic cancer of unknown primary site at presentation. Inadequacy of roentgenographic procedures. *JAMA*, 1979; 241: 381-383.
- 387.- Burt A y Goudie RB. Diagnosis of primary thyroid carcinoma by immunohistological demonstration of thyroglobulin. *Histopathology* 1979; 3: 279-286.
- 388.- Broker W, Dralle H. Husselmann H et al. Immunohistochemical analysis of thyroglobulin synthesis in thyroid carcinomas. *Virchows Arch A* 1980; 385: 187-200.
- 389.- Reid WA, Branch T, Gorman C. y Kay J. Identification of primary tumour site by immunolocalization of progastricsin in metastatic adenocarcinoma. *Am J Pathol*, 1990; 160: 203-207.
- 390.- Loy TS, Chapman RK, Díaz-Arias AA et al. Distribution of BCA-225 in adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol*, 1991; 96: 326-329.
- 391.- Wick MR, Lillemoe TJ, Copland GT et al. Gross cystic disease fluid protein-15 as a marker for breast cancer: immunohistochemical analysis of 690 human neoplasms and comparison with alpha-lactalbumin. *Hum Pathol*, 1989; 20: 281-287.
- 392.- Shintaku IP y Said JW: Detection of estrogen receptors with monoclonal antibodies in routinely processed formalin-fixed paraffin sections of breast carcinoma. Use of DNase pretreatment to enhance sensitivity of the reaction. *Am J Clin Pathol* 1987; 87: 161-167.
- 393.- Cook HT. Decision analysis in immunohistochemistry (letter). *Lancet*, 1991; 338: 257.
- 394.- Ikuta N, Fano M, Iwata M et al. A case of adenomatoid mesothelioma of the pleura. *Nippon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*, 1989; 27: 1540-1544.
- 395.- Daya D y Mc Caughey WT. Well-differentiated papillary mesothelioma of the peritoneum. A clinicopathological study of 22 cases. *Cancer*, 1990; 65: 292-296.

- 396.- Hillerdal G y Berg J. Malignant mesothelioma secondary to chronic inflammation and old scars. Two new cases and review of the literature. *Cancer*, 1985; 55: 1968-1972.
- 397.- Bürrig KF, Pfitzer P. y Hort W. Well-differentiated papillary mesothelioma of the peritoneum: a borderline mesothelioma. *Virchows Arch A*, 1990; 417: 443-447.
- 398.- McCaughey WTE, Kannerstein M y Churg J. (1985) Tumors and pseudotumors of the serous membranes. *Atlas of tumor pathology*, 2nd series, fasc 20. AFIP, Washington, DC.
- 399.- Villaschi S, Autelitano F, Santeusanio G y Balistreri P. Cystic mesothelioma of the peritoneum. A report of three cases. *Am J Clin Pathol*, 1990; 94: 758-761.
- 400.- Ball NJ, Urbanski SJ, Green FH y Kveser T. Pleural multicystic mesothelial proliferation. The so-called multicystic mesothelioma. *Am J Surg Pathol*, 1990; 14: 375-378.
- 401.- Boon ME, Posthuma HS, Ruiter DJ y V Andel JG. Secreting peritoneal mesothelioma. Report of a case with cytological, ultrastructural, morphometric and histological studies. *Virchows Arch A*, 1981; 392: 33-44.
- 402.- Nadji M, Tabei SZ, Castra A et al. Prostate-specific antigen; an immunohistologic marker for prostatic neoplasms. *Cancer* 1981; 48: 1229-1232.
- 403.- Khoury N., Raju U., Crissman JD et al. A comparative immunohistochemical study of peritoneal and ovarian serous tumors, and mesotheliomas. *Hum Pathol*, 1990; 21: 811-819.
- 404.- Truong LD, Maccato ML, Awalt H et al. Serous surface carcinoma of the peritoneum: a clinicopathological study of 22 cases. *Hum Pathol*, 1990; 21: 99-110.
- 405.- Kasdon EJ. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis propria testis. Report of two cases. *Cancer*, 1969; 23: 1144-1150.
- 406.- Vyas KC, Khamesara HL, Gupta AS y Sarupariya A. Adenomatoid tumour of the spermatic cord. *J Indian Med Assoc*, 1990; 88: 15-16.
- 407.- Barwick KW y Madri JA. An immunohistochemical study of adenomatoid tumors utilizing keratin and factor VIII antibodies. Evidence for a mesothelial origin. *Lab Invest*, 1982; 47: 276-280.
- 408.- Said JW, Nash G y Lee M. Immunoperoxidase localization of keratin proteins, carcinoembryonic antigen and factor VIII in adenomatoid tumors. Evidence for a mesothelial derivation. *Hum Pathol*, 1982; 13: 1106-1108.
- 409.- Warhol MJ y Corson JM. An ultrastructural comparison of mesotheliomas with adenocarcinomas of the lung and breast. *Hum Pathol*, 1985; 16: 50-55.
- 410.- Burmer GC, Rabinovitch PS, Kulander BG et al. Flow cytometric analysis of malignant pleural mesotheliomas. *Hum Pathol*, 1989; 20: 777-783.
- 411.- Ordóñez NG. The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma. Differentiation of mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*, 1989; 13: 276-291.
- 412.- El-Naggar A, Ordonez N, McLemore D et al. Epithelioid pleural mesotheliomas and pulmonary adenocarcinomas: A comparative DNA flow cytometric (FCM) study. *Mod Pathol* 1991; 4: 114-121.
- 413.- Chenard-Neu MP, Bellocq JP et al. Mesotheliomas malins de la plevre. Analyse de leurs aspects immunohistochimiques. *Ann Pathol*, 1990; 10: 20-27.
- 414.- Radosevich JA, Robinson PG, Carney WP et al. Immunohistochemical analysis of pulmonary and pleural neoplasms using a monoclonal antibody (47D10) which reacts with nonspecific cross-reacting antigen. *Tumor Biol*, 1989; 10: 281-288.
- 415.- Miguères J, Serre G, Levenes H y Carles P. Tumoral markers and monoclonal antibodies. *Rev Prat*, 1990; 40: 1837-1841.
- 416.- De Coninck P, Tartar MD, Blehaut T et al. Considerable rise in CA 125 antigen level during mesothelioma (letter) *Presse Med*, 1990; 19: 1503.

- 417.- Moll R, Dhouailly D y Sun TT. Expression of keratin 5 as a distinctive feature of epithelial and biphasic mesotheliomas. An immunohistochemical study using monoclonal antibody AE 14. *Virchows Arch B*, 1989; 58: 129-145.
- 418.- Said JW, Nash G, Banks-Schlegel S, et al. Keratin in human lung tumors: patterns of localization of different molecular-weight keratin proteins. *Am J Pathol* 1983; 113: 27-32.
- 419.- Leong AS, Parkinson R y Milios J. "Thick" cell membranes revealed by immunocytochemical staining: a clue to the diagnosis of mesothelioma. *Diagn Cytopathol*, 1990; 6: 9-13.
- 420.- Frierson F, Mills SE y Legier JF: Flow cytometric analysis of ploidy in immunohistochemically confirmed examples of malignant epithelial mesothelioma. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 240-243.
- 421.- Colcher D, Hand PH, Nuti M y Schlom J. A spectrum of monoclonal antibodies reactive with mammary tumor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 3199-203.
- 422.- Johnson VG, Schlom J, Paterson AJ et al. Analysis of a human tumor-associated glycoprotein (TAG-72) identified by monoclonal antibody B72.3. *Cancer Res* 1986; 46: 850-857.
- 423.- Lefebvre MP, Rodríguez F, Schlom J et al. The application of a monoclonal antibody to the differentiation of benign and malignant mesothelial proliferations from adenocarcinomas (Abstract). *Lab Invest* 1985; 52: 38A.
- 424.- Otis CN, Carter D, Cole S y Battifora H. Immunohistochemical evaluation of pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. A bi-institutional study of 47 cases. *Am J Surg Pathol*, 1987; 11: 445-456.
- 425.- Sheibani K, Battifora H y Burke JS. Antigenic phenotype of malignant mesotheliomas and pulmonary adenocarcinomas. An immunohistologic analysis demonstrating the value of Leu M1 antigen *Am J Pathol*, 1986; 123: 212-219.
- 426.- Tuttle SE, Lucas JG, Bucci DM et al. Distinguishing malignant mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma: an immunohistochemical approach using a panel of monoclonal antibodies. *J Surg Oncol*, 1990; 45: 72-78.
- 427.- Gibbs AR, Harach R, Wagner JC y Jasani B. Comparison of tumour markers in malignant mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. *Thorax* 1985; 40: 91-95.
- 428.- Pfaltz M, Odermatt B, Christen B y Rüttner JR. Immunohistochemistry in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Virchows Arch (A)* 1987; 411: 387-393.
- 429.- Ghosh AK, Gatter KC, Dunnill MS y Mason DY. Immunohistological staining of reactive mesothelium, mesothelioma, and lung carcinoma with a panel of monoclonal antibodies. *J Clin Pathol* 1987; 40: 19-25.
- 430.- Ernst CS y Brooks JJ. Immunoperoxidase localization of secretory component in reactive mesothelium and mesotheliomas. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 1102-1104.
- 431.- Kondi-Paphitis A y Addis BJ. Secretory component in pulmonary adenocarcinoma and mesothelioma. *Histopathology* 1986; 10: 1279-1287.
- 432.- Spagnolo DV, Whitaker D, Carrello S et al. The use of monoclonal antibody 44-3A6 in cell blocles in the diagnosis of lung carcinoma, carcinomas metastatic to lung and pleura, and pleural malignant mesothelioma *Am J Clin Pathol*, 1991; 95: 322-329.
- 433.- Koukoulis GK, Radosevich JA, Warren WH et al. Immunohistochemical analysis of pulmonary and pleural neoplasms with monoclonal antibodies B72.3 and CSLEX-1. *Virchows Arch B*, 1990; 58: 427-433.
- 434.- Wick MR, Mills SE y Swanson PE. Expression of "myelomonocytic" antigens in mesotheliomas and adenocarcinomas involving the serosal surfaces. *Am J Clin Pathol*, 1990; 94: 18-26.
- 435.- Kawai T, Suzuki M, Torikata C y Suzuki Y. Expression of blood group-related antigens and Helix pomatia agglutinin in malignant pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. *Hum Pathol*, 1991; 22: 118-124.

- 436.- Ernst CS, Atkinson B y Chianese D: Differential diagnosis between mesotheliomas and metastatic adenocarcinomas using monoclonal antibodies directed against gastrointestinal carcinoma antigen and stage specific embryonic antigen. *Appl Pathol* 1986; 4: 115-124.
- 437.- Jordon D.A, Jagirdar J y Kaneko M. Blood group antigens, Lewisx and Lewis y in the diagnostic discrimination of malignant mesothelioma versus adenocarcinoma. *Am J Pathol*, 1989; 135: 931-937.
- 438.- Kallianpur AR, Carstens PH, Liotta LA et al. Immunoreactivity in malignant mesotheliomas with antibodies to basement membrane components and their receptors. *Mod Pathol* 1990; 3: 11-18.
- 439.- Churg A. Immunohistochemical staining for vimentin and keratin in malignant mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 1985; 9: 360-365.
- 440.- Jasani B, Edwards RE, Thomas ND y Gibbs AR. The use of vimentin antibodies in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Virchows Arch (A)* 1985; 406: 441-448.
- 441.- Upton MP, Hirohashi S, Tome Y et al. Expression of vimentin in surgically resected adenocarcinomas and large cell carcinomas of lung. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 560-567.
- 442.- Delmonte VC, Alberti O y Saldiva PHN. Large cell carcinoma of the lung: ultrastructural and immunohistochemical features. *Chest* 1986; 90: 524-527.
- 443.- Piehl MR, Lee I, Ma Y et al. Subsets of pulmonary large cell undifferentiated carcinomas defined immunohistochemically. *Lab Invest* 1987; 56: 60 A.
- 444.- O'Hara C., Corson JM, Pinkus GS y Stahel RA. ME1. A monoclonal antibody that distinguishes epithelial type malignant mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma and extrapulmonary malignancies. *Am J Pathol*, 1990; 136: 421-428.
- 445.- Legha SS y Muggia FM. Pleural mesothelioma: clinical features and therapeutic implications. *Ann Intern Med* 1977; 87: 613-621.
- 446.- Montag AG, Pinkus GS y Corson JM. Keratin protein immunoreactivity of sarcomatoid and mixed types of diffuse malignant mesothelioma: an immunoperoxidase study of 30 cases. *Hum Pathol* 1988; 19: 336-342.
- 447.- Cagle PT, Truong LD, Roggli VL y Greenberg SD. Immunohistochemical differentiation of sarcomatoid mesotheliomas from other spindle cell neoplasms. *Am J Clin Pathol*, 1989; 92: 566-571.
- 448.- Oels HC, Harrison EG Jr y Carr DT: Diffuse malignant mesothelioma of the pleura. *Chest* 1971; 60: 564-570.
- 449.- Harrisson RN, Hibberd SC y Dadds JH. Malignant pleural mesothelioma at St. Mary's Hospital, Portsmouth. A review of 29 fatal cases. *Postgrad Med J* 1983; 59: 712-716.
- 450.- Taryle DA, Lakshminareyen S y Sahn SA. Pleural mesothelioma. An analysis of 18 cases and review of the literature. *Medicine* 1976; 55: 153-162.
- 451.- Boutin C, Farisse P, Viallat JR et al. La thoracoscopie dans le mésothéliome pleural: intérêt diagnostique, pronostique et thérapeutique. *Rev Franç Mal Resp* 1979; 7: 680-686.
- 452.- Brancatisano RP, Joseph MG y McCaughan BC. Pleurectomy for mesothelioma. *Med J Aust* 1991; 154: 455-457.
- 453.- Kaiser D y Bartz C. Indications for surgical treatment of pleural carcinosis. *Zentralbl Chir* 1990; 115: 1301-1306.
- 454.- Dazzi H, Thatcher N, Hasleton PS et al. DNA analysis by flow cytometry in malignant pleural mesothelioma: Relationship to histology and survival. *J Pathol* 1990; 162: 51-55.
- 455.- Hasse J. New challenges in thoracic surgery as exemplified in asbestos exposure and mesothelioma treatment. *Off Gesun Dheitswes*, 1990; 52: 512-518.

- 456.- Gerwin BI, Lechner JF, Reddel R et al. Growth factor production by normal human mesothelial cells and mesothelioma cell lines. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987; 23: 1752-1757.
- 457.- DeLaria GA, Jensik R, Faber LP et al: Surgical management of malignant mesothelioma. *Ann Thorac Surg* 1978; 26: 375-382.
- 458.- McCormack P, Nagasaki F, Hilaris BS et al: Surgical treatment of pleural mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 84: 834-842.
- 459.- Geroulanos S, Lampe P, Hafner F et al. Das maligne pleuramesothelioma: diagnostik, therapie und prognose. *Schweiz Rundsch Med Prax*, 1990; 79: 361-367.
- 460.- Rusch VW. Diagnosis and treatment of pleural mesothelioma. *Semin Surg Oncol*, 1990; 6: 279-285.
- 461.- Weissman LB y Antman KH. Incidence, presentation and promising new treatments for malignant mesothelioma. *Oncology Willington Park*, 1989; 3: 69-77.
- 462.- Achatzy R, Beba W, Ritschler R et al. The diagnosis, therapy and prognosis of diffuse malignant mesothelioma. *Eur J Cardiovasc Surg*, 1989; 3: 445-448.
- 463.- Landa L, Fianchini A, Gesuelli GC et al. Il ruolo della chirurgia nel trattamento del mesotelioma pleurico. *Chir Ital*, 1989; 41: 192-206.
- 464.- Lewis R, Sisler G y Mackenzie J: Diffuse mixed malignant pleural mesothelioma. *Ann Thorac Surg* 1981; 31: 53-60.
- 465.- Harvey JC, Fleischman EH, Kagan AR y Streeter OE. Malignant pleural mesothelioma: a survival study. *J Surg Oncol*, 1990; 45: 40-42.
- 466.- Calavrezos A, Koschel G, Husselman H et al. Malignant mesothelioma of the pleura. A prospective therapeutic study of 132 patients from 1981-1985. *Klin Wochenschr*. 1988; 66: 607-613.
- 467.- Ball DL y Cruichshank DG. The treatment of malignant mesothelioma of the pleura: review of a 5-year experience, with special reference to radiotherapy. *Am J Clin Oncol*, 1990; 13: 4-9.
- 468.- Soubra M, Dunscombe PB, Hodson DI y Wong G. Physical aspects of external beam radiotherapy for the treatment of malignant pleural mesothelioma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1990; 18: 1521-1527.
- 469.- Maasilta P. Deterioration in lung function following hemithorax irradiation for pleural mesothelioma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1991; 20: 433-438.
- 470.- Maasilta P, Kivisaari L y Mattson K. Different imaging methods in the assessment of radiation-induced lung injury following hemithorax irradiation for pleural mesothelioma. *Radiother Oncol*, 1990, 19: 159-167.
- 471.- Aisner J y Wiernik PH. Malignant mesothelioma. Current status and future prospects. *Chest* 1978; 74: 438.
- 472.- Rose RG, Palmer JD y Loughheed MN. Treatment of peritoneal mesothelioma with radioactive colloidal gold. *Cancer* 1955; 8: 478-489.
- 473.- Reichart R y Sherman CD. Prolonged survival in diffuse pleural mesothelioma treated with Au 198. *Cancer* 1959; 17: 799-805.
- 474.- Lerner HJ, Schoenfeld DA, Martin A et al. Malignant mesothelioma. The Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) experience. *Cancer*, 1983; 52: 1981-1985.
- 475.- Feins RH, Hilf R, Ross H y Gibson SL. Photodynamic therapy for human malignant mesothelioma in the nude mouse. *J Surg Res*, 1990; 49: 311-314.
- 476.- Lofgren L, Larsson M, Thaning L y Hallgren S. Transthoracic endoscopic photodynamic treatment of malignant mesothelioma (letter). *Lancet*, 1991; 337: 359.
- 477.- Pass HI, Tochner Z, Delaney T et al. Intraoperative photodynamic therapy for malignant mesothelioma (letter). *Ann Thorac Surg*, 1990; 50: 687-688.
- 478.- Falkson G y Jacobs EL. Malignant mesothelioma treated with alphamethyl hydrazine (natulan) and irradiation. *Med Proc mediese Bydraes* 1964; 10(21): 452-455.

- 479.- Vogelzang NJ, Goutson M, Corson JM et al. Carboplatin in malignant mesothelioma: a phase II study of the Cancer and Leukemia Group B. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1990; 27: 239-242.
- 480.- Sridhar KS, Samy TS, Agarwal RP et al. A phase I study of 4'-O-tetrahydropyranyladriamycin. *Clinical pharmacology and pharmacokinetics. Cancer*, 1990; 66: 2082-2091.
- 481.- Carmichael J, Cantwell BMJ y Harris AL. A phase II trial of ifosfamide / mesna with doxorubicin for malignant mesothelioma. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1989; 25: 911-912.
- 482.- Benjamin RS, Wiernik PH y Bachur NR. Adriamycin: a new effective agent in the therapy of disseminated sarcomas. *Med Pediatr Oncol*, 1975; 1: 63-76.
- 483.- Gottlieb JA, Baker LH y O'Bryan RM. Adriamycin used alone and in combination for soft tissue and bony sarcomas. *Cancer Chemother Rep*, 1975; 6: 271-282.
- 484.- Gerner RE y Moore GE. Multiple drug therapy for malignant solid tumors in adults. *Cancer Chemother Rep*, 1973; 57: 237-239.
- 485.- Chahinian AP, Antman K, Aisner J et al. Cisplatin with adriamycin or mitomycin for malignant mesothelioma: a randomized phase II trial (abstract) *Proc Am Soc Clin Oncol*, 1987; 6: 183.
- 486.- Chahinian AP, Norton L, Szrajter R et al. Mitomycin C and cisplatin in human malignant mesothelioma xenografts in nude mice: clinical correlation. (abstract). *Proc AACR*, 1983; 24: 151.
- 487.- Aitini E, Cavazzini G, Cantore M et al. Cisplatin and cytosine arabinoside (Ara-C) for the therapy of primary and secondary pleural neoplasms. *G Ital Oncol*, 1990; 10: 85-88.
- 488.- Russch VW, Figlin R, Godwin D y Piantadosi S. Intrapleural cisplatin and cytarabine in the management of malignant pleural effusions: a Lung Cancer Study Group trial *J Clin Oncol*, 1991; 9: 313-319.
- 489.- Alberts AS, Falkson G y van Zyl L. Ifosfamide and mesna with doxorubicin have activity in malignant mesothelioma (letter). *Eur J Cancer*, 1990; 26: 1002.
- 490.- Niki Y, Soga T, Nishimura A et al. A diffuse pleural malignant mesothelioma kept in long remission by chemotherapy combining pirarubicin and cisplatin. *Gan NO Rinsho*, 1990; 36: 2463-2467.
- 491.- Albain KS, Swinnen LS, Erickson LC et al. Cisplatin preceded by concurrent cytarabine and hydroxiurea: a pilot study based on an in vitro model. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1990; 27: 33-40.
- 492.- Manning LS, Davis MR y Robinson BW. Asbestos fibers inhibit the in vitro activity of lymphokine-activated killer (LAK) cells from healthy individuals and patients with malignant mesothelioma. *Clin Exp Immunol*, 1991; 83: 85-91.
- 493.- Stober G, Goey SH, Eggermont AM et al. Interleukin-2. The experience of the Rotterdam Cancer Institute; Daniel den Hoed Kliniek. *Biotherapy*, 1990; 2: 261-265.
- 494.- Nakamura Y, Ozaki T, Kamei T et al. Eosinophil colony stimulating activity induced by administration of interleukin-2 into the pleural cavity of patients with malignant pleurisy. *Nippon Kyobu Skikkan Gakkai Zasshi*, 1990; 28: 1314-1320.
- 495.- Nakamura Y, Ozaki T, Yanagawa H et al. Eosinophil colony-stimulating factor induced by administration of interleukin-2 into the pleural cavity of patients with malignant pleurisy. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1990; 3: 291-300.
- 496.- Boutin C, Viallat JR, Van Zandwijk N et al. Activity of intrapleural recombinant gamma-interferon in malignant mesothelioma *Cancer*, 1991; 67: 2033-2037.
- 497.- Boutin C, Viallat JR y Astoul P. Traitement du mesotheliome avec interferon gamma et interleukin-2. *Rev Pneumol Clin*, 1990; 46: 211-215.
- 498.- Rosenberg SA. Approaches to the immunotherapy and gene therapy of cancer. *Congress of the American-Society of Clinical Oncology*, 1991.

- 518.- Lai RQ. Immunohistochemical coexpression of keratin and vimentin in the epithelial neoplastic cells. *Chung hua Ping Li Hsueh Tsa Chih*, 1990; 19: 119-121.
- 519.- Samowitz WS, Paull G y Hamilton SR: Reported binding of monoclonal antibody RAP-5 to formalin-fixed tissue sections is not indicative of ras P21 expression. *Hum Pathol* 1988; 19: 127-132.
- 520.- Corson JM y Pinkus GS. Mesothelioma: profile of keratin proteins and carcinoembryonic antigen: an immunoperoxidase study of 20 cases and comparison with pulmonary adenocarcinomas. *Am J Pathol* 1982; 108: 80-7.
- 521.- Holden J y Churg A. Immunohistochemical staining for keratin and carcinoembryonic antigen in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 1984; 8: 277-279.
- 522.- Lee I, Kadosevich JA, Chejfec G et al. Malignant mesotheliomas: improved differential diagnosis from lung adenocarcinomas using monoclonal antibodies 44-3A6 and 624A12. *Am J Pathol* 1986; 123: 497-507.
- 523.- Said JW, Nash G, Tepper G y Banks-Schlegel S. Keratin proteins and carcinoembryonic antigen in lung carcinoma: an immunoperoxidase study of fifty-four cases, with ultrastructural correlations. *Hum Pathol* 1983; 14: 70-76.
- 524.- Wang N-S, Huang S-N y Gold P. Absence of carcinoembryonic antigen-like material in mesothelioma: an immunohistochemical differentiation from other lung cancers. *Cancer* 1979; 44: 937-943.
- 525.- Sheibani K, Wu A, Ben-Ezra J et al. Analysis of Ha-ras sequence in DNAs of malignant mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma by a sensitive polymerase chain reaction (PCR) method. *Lab Invest* 1989; 87: 60.
- 526.- Heckmayr M, Gatzmeier U, Schrader S et al. Leu M1, CEA und intermediarfilamentproteine in der histochemical differentialdiagnose maligner pleuramesothelioma. *Pneumologie*, 1990; 44: 618-619.
- 527.- Mezger J, Lamertz R y Permanetter W. Diagnostic significance of carcinoembryonic antigen in the differential diagnosis of malignant mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1990; 100: 860-866.
- 528.- Mezger J, Lamertz R, Bresgen M et al. Carcinoembryonic antigen of serum and pleural fluid to distinguish between bronchial carcinoma and pleural mesothelioma. *Dtsch Med Wochenschr*, 1991; 116: 207-221.
- 529.- Al Saffar N y Hasleton PS. Vimentin, carcinoembryonic antigen and keratin in the diagnosis of mesothelioma, adenocarcinoma and reactive pleural lesions. *Eur Respir J*, 1990; 3: 997-1001.
- 530.- Joglekar VM, Oliver D y Harris M. The value of anticarcinoembryonic antigen, human milk factor globulin and antikeratin antibodies in differentiating mesothelioma from lung adenocarcinoma. *Br J Ind Med*, 1991; 48: 34-37.
- 531.- Wirth PR, Legier J y Wright GL. Immunohistochemical evaluation of seven monoclonal antibodies for differentiation of pleural mesothelioma from lung adenocarcinoma. *Cancer* 1991; 67: 655-662.
- 532.- Tuttle SE, Lucas JG, Bucci DM et al. Distinguishing malignant mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma: an immunohistochemical approach using a panel of monoclonal antibodies. *J Surg Oncol*, 1990; 45: 72-78.
- 533.- Okamoto H, Matsuno Y, Noguchi M et al. Malignant pleural mesothelioma producing human chorionic gonadotropin. Report of two cases. *Am J Surg Pathol*, 1992; 16: 969-974.
- 534.- Gaffey MJ, Mills SE, Swanson PE et al. Immunoreactivity for BER-EP4 in adenocarcinomas, adenomatoid tumors and malignant mesotheliomas. *Am J Surg Pathol*, 1992; 16: 593-599.
- 535.- Moll R, Schiller DL y Franke WW. Identification of protein IT of the intestinal cytoskeleton as a novel type I cytokeratin with unusual properties and expression patterns. *J Cell Biol*, 1990; 111: 567-580.

- 536.- Moll R, Lowe A, Laufer J y Franke WW. Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1992; 140: 427-447.