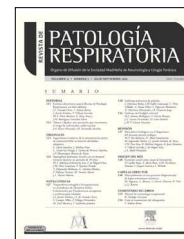




REVISTA DE
PATOLOGÍA RESPIRATORIA

www.elsevier.es/pr



REVISIÓN

Marcadores biológicos en el diagnóstico del derrame pleural maligno

M.T. Río Ramírez^{a*}, N. Abad Santamaría^b, M. Izquierdo Patrón^c, J.J. Jareño Esteban^d, B. Steen^c, Y.W. Pun Tam^e, R. Melchor Íñiguez^f, B. Jara Chinarro^a, V. Villena Garrido^g, J. de Miguel Díez^h y A. Abad Fernándezⁱ

Grupo de Trabajo de Pleura de Neumomadrid.

^aSección de Neumología. Hospital del Sur Infanta Cristina. Parla. Madrid. España.

^bSección de Neumología. Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés. Madrid. España.

^cServicio de Neumología. Fundación Hospital Alcorcón. Alcorcón. Madrid. España.

^dServicio de Neumología. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Madrid. España.

^eServicio de Cirugía Torácica. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. España.

^fServicio de Neumología. Fundación Jiménez Díaz-Capio. Madrid. España.

^gServicio de Neumología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. España.

^hServicio de Neumología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

ⁱServicio de Neumología. Hospital Universitario de Getafe. Getafe. Madrid. España.

Recibido el 26 de noviembre de 2009; aceptado el 31 de mayo de 2010

PALABRAS CLAVE

Marcadores biológicos tumorales;
Derrames pleurales malignos;
Inmunohistoquímica

Resumen

En el proceso diagnóstico de los pacientes con derrame pleural y alta sospecha de malignidad, nos preguntamos con cierta frecuencia sobre la utilidad de algunos marcadores tumorales séricos o del líquido pleural. Hasta la fecha, los marcadores tumorales analizados de forma aislada no han mostrado una precisión diagnóstica lo suficientemente elevada como para prescindir del estudio mediante citología e histología de la pleura. Esta cuestión ha estimulado el desarrollo de múltiples paneles de marcadores bioquímicos e inmunohistoquímicos cuya combinación ha permitido mejorar la sensibilidad y la especificidad, discriminar entre lesiones benignas y malignas, y entre diferentes estirpes tumorales. Asimismo, ha permitido que dichos paneles de marcadores sirvan como factores pronósticos y de supervivencia. Hoy por hoy, no es posible recomendar unos paneles de marcadores específicos para cada estirpe. Nuestro objetivo es acercar al clínico la evidencia existente sobre esta materia para que tenga un conocimiento del significado de estos marcadores y de la conveniencia de saber interpretar los resultados obtenidos.

© 2010 Elsevier España, S.L. y Sociedad Madrilená de Neumología y Cirugía Torácica. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: nurabad@terra.es (M.T. Río Ramírez).

KEYWORDS

Biological tumor markers;
Malignant pleural effusions;
Immunohistochemistry

Biological markers for malignant pleural effusions**Summary**

The diagnostic process of patients with pleural effusion and high suspicion of malignancy often leads us to question the utility of some serum or pleural fluid tumor markers. Up to date, the tumor markers analyzed separately have not demonstrated sufficiently high diagnostic accuracy to obviate the study by cytology and histology of the pleura. This question has encouraged the development of multiple biochemical and immunohistochemical marker panels whose combination has made it possible to improve sensitivity and specificity, discriminate between benign and malignant lesions and between different tumor strains and it behaves as prognostic and survival factors. Currently, it is not possible to recommend specific marker panels for each strain, our objective being to make the existing evidence on this material more available to the clinician in order to have knowledge of the meanings of these markers and the convenience of knowing how to interpret the results obtained.

© 2010 Elsevier España, S.L. and Sociedad Madrileña de Neumología y Cirugía Torácica. All rights reserved.

Introducción

El diagnóstico etiológico del derrame pleural continúa siendo un problema en la práctica clínica ya que existen más de 100 causas.

Dentro de los exudados el derrame pleural maligno (DPM) es el más frecuente principalmente en los pacientes con edad superior a 50 años. Las técnicas más utilizadas como patrón de referencia diagnóstica son la citología y la biopsia pleural con una especificidad (E) elevada y una sensibilidad (S) intermedia^{1,2}.

La determinación sérica y en líquido pleural (LP) de marcadores tumorales (MT) para el diagnóstico del DPM presenta una elevada E pero una S baja. Su aplicación en la clínica se debe considerar en aquellos casos en los que sus niveles alterados puedan ser capaces de modificar la probabilidad prepueba, para permitir la toma de decisiones en función de la misma y la aplicación de otras técnicas invasivas atendiendo a las características clínicas de los pacientes.

Las variaciones observadas en los resultados de varias series entre S y E de un mismo MT depende de varios factores: a) tamaño de la muestra; b) los puntos de corte para cada marcador; c) la técnica de laboratorio utilizada y d) la histología o tipo de tumor maligno. Aunque ninguno de los MT ha demostrado ser órgano específico, hay cierta tendencia en algunos de ellos a encontrarse elevados en función de la estirpe y origen tumoral primitivo.

En los últimos años han aparecido numerosos estudios con diversas moléculas antigénicas expresadas en pacientes con DPM. Hemos querido reflejar en esta revisión la utilidad de algunos de estos marcadores (tabla 1). Los MT en bioquímica se miden mediante métodos cuantitativos (quimioluminiscencia/radioinmunoanálisis [RIA]/enzimoinmunoanálisis [ELISA]). El punto de corte y eficacia de los más utilizados se resume en la tabla 2 según el estudio de Shitrit et al³, en el que se analizan 116 casos y se realiza una revisión de la literatura. Los MT en inmunohistoquímica se miden funda-

mentalmente de forma cualitativa, clasificándose en epiteliales y mesoteliales en función de su expresividad en las muestras pleurales obtenidas.

Marcadores tumorales en bioquímica**Antígenos asociados a tumor****Antígeno carcinoembrionario (CEA)**

Es una glucoproteína que forma parte del glucocálix del epitelio derivado del endodermo, descubierta por Gold y Freedman en 1965 en pacientes con cáncer de colon. Sin embargo, el CEA no es un marcador específico de tumor sino más bien un marcador plasmático asociado a tumor. Aparece sobreexpresado particularmente en adenocarcinomas de colon y recto, especialmente en tumores bien diferenciados, pero pueden observarse incrementos de la cifra de CEA en otros tumores como el cáncer de mama, pulmón, páncreas, estómago, vejiga y tiroides. Incluso pueden observarse niveles discretamente elevados en ausencia de enfermedades malignas, por ejemplo, en fumadores, pacientes con tuberculosis pulmonar, enfermedad inflamatoria intestinal y en hepatopatías, ya que el CEA plasmático se aclara normalmente a través del hígado.

La presencia de CEA elevado en LP resulta controvertida a pesar de haber pasado más de 30 años desde su descripción. Constituye uno de los marcadores más utilizados, en general, en los procesos tumorales y, en particular, en el diagnóstico del DPM. Su medición se efectúa por quimioluminiscencia o RIA y los niveles pueden variar según la técnica empleada.

Antígeno de carcinoma de células escamosas (SCC)

Ha sido descrito como un marcador con alta S para SCC y baja en linfoma, aunque diferentes estudios en los que la determinación se realizó mayoritariamente por RIA han demostrado que no añade valor diagnóstico en la diferenciación del DPM respecto del benigno⁴.

Antígenos carbohidratados

Antígeno carbohidratado 125 (CA 125)

Es una glucoproteína de alto peso molecular que se sintetiza en los epitelios derivados de la cavidad celómica. Se encuentra en estructuras variadas como pleura, peritoneo, pericardio, miocardio, trompa de Falopio, endometrio, endocervix y fondo vaginal. Por tanto, puede ser sintetizada tanto por células normales como malignas. Se emplea como marcador en la evolución del cáncer de ovario tanto en su tratamiento como en su seguimiento. Este marcador puede estar elevado en otras neoplasias como adenocarcinomas (mama, pulmón, de origen digestivo), linfomas, leiomiomas o melanomas, patología ginecológica benigna (tumores benignos, salpingitis agudas o crónicas, abscesos tubo-ováricos, endometriosis), hepatopatías (granulomatosis hepática, hepatitis crónica alcohólica o vírica), pancreatitis, insuficiencia renal, derrame pericárdico o pleural, sarcoidosis, tuberculosis peritoneal, colagenosis y procedimientos quirúrgicos o que causan una rotura traumática del peritoneo, como la diálisis peritoneal.

Antígeno carbohidratado 15.3 (CA 15.3)

El CA 15.3 es una glucoproteína de alto peso molecular usada principalmente en el diagnóstico, seguimiento y evaluación de la respuesta en el cáncer de mama. Este marcador también puede aparecer elevado en otros carcinomas (ovario, pulmón, páncreas, hígado), y en patologías no oncológicas como tumores benignos de ovario, enfermedades benignas de la mama, hepatopatía crónica o cirrosis hepática, sarcoidosis, tuberculosis, lupus eritematoso sistémico o disfunción tiroidea.

Antígeno carbohidratado 19.9 (CA 19.9)

Es una glucoproteína de peso molecular superior a los 400 kDa con características estructurales comunes a los grupos sanguíneos de Lewis, y un antígeno tumoral cuyos niveles séricos se elevan fundamentalmente en los tumores gastrointestinales, sobre todo los de origen pancreático, aunque también en procesos no malignos como la pancreatitis y algunas enfermedades tiroideas. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el valor diagnóstico de la determinación del CA 19.9 en LP y la ratio LP/suero⁵.

Antígeno carbohidratado 72.4 (CA 72.4)

El CA 72.4 ha sido determinado en LP en pocos estudios⁶⁻⁸ y aunque los resultados confirman una alta S en todo tipo de

Tabla 1 Clasificación de los marcadores tumorales

Marcadores tumorales en bioquímica	
Antígenos asociados a tumor	Antígeno carcinoembrionario (CEA) Antígeno de carcinoma de células escamosas (SCC)
Antígenos carbohidratados	CA 125 CA 15.3 CA 19.9 CA 72.4 CA 549
Enzimas	Enolasa neuroespecífica (NSE)
Citoqueratinas (CK)	Cyfra 21.1 Antígeno polipeptídico tisular (TPA) Antígeno polipeptídico tisular específico (TPS)
Péptidos de membrana	Mesotelina
Marcadores tumorales en inmunohistoquímica	
Epiteliales	mCEA/pCEA Ber-EP4 B72.3 Leu-M1 (CD 15) MOC 31 Factor 1 de transcripción tiroidea (TTF-1) Lewis BG-8
Mesoteliales	CK 5/6 Calretinina Podoplanina Mesotelina Trombomodulina HBME-1 D2-40 WT-1

adenocarcinoma, también se encontraron altos niveles en carcinoma de célula escamosa y en casos aislados de pacientes con linfoma. En un estudio posterior de Villena et al⁹

Tabla 2 Valores diagnósticos de algunos de los marcadores tumorales más utilizados en los derrames pleurales malignos*

Marcadores	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
CEA	5 ng/ml	63,6%	98,6%	81,6%	96,5%
Cyfra 21.1	3,3 ng/ml	59,1%	80,5%	76,3%	65%
CA 15.3	30 UI/ml	41,5%	96,9%	72%	89,5%
CA 19.9	37 UI/ml	25%	100%	68,6%	100%
CA 125	35 UI/ml	97,7%	5,5%	80%	38,7%

*Según el estudio realizado por David Shitrit D, et al³.

se encuentra una S inferior en probable relación con diferencias en el origen de los tumores incluidos en su serie (mayor número de mesoteliomas y tumores hematológicos que usualmente tienen bajos niveles del marcador y menor número de tumores gastrointestinales que comúnmente, junto con el adenocarcinoma ovárico, lo incrementan). Demuestran además que el CA 72.4 en el LP aumenta la S diagnóstica de la citología aislada (57% frente a 46%), y que los niveles de CA 72.4 (determinados por RIA) fueron significativamente más elevados en DPM respecto a los benignos. Para un punto de corte de CA 72.4 > 10 UI/ml, la S fue del 35% y la E del 98%. Para conseguir la E del 100% el punto de corte se elevó a 16 UI/ml, obteniendo una S del 30%.

Antígeno carbohidratado 549 (CA 549)

El CA 549 es un marcador mucinoso descrito en 1987. Se mide con técnica de RIA que incluye dos anticuerpos monoclonales (BC4E 549 y BC4N). No se trata de un marcador órgano específico. Se utiliza en el cáncer de mama pero también puede estar elevado en la patología benigna de mama y de hígado, así como en tumores metastáticos de ovario, pulmón, próstata, colon y endometrio¹⁰. El mejor campo de aplicación para CA 549 es la monitorización y detección precoz de las recurrencias de cáncer de mama, no siendo suficientemente sensible ni específico para el diagnóstico de esta enfermedad^{11,12}.

Enzimas

Enolasa neuroespecífica (NSE)

La NSE es una isoenzima de la enolasa encontrada en neuronas del sistema nervioso central y periférico y en células precursoras de descarboxilación. La dosificación de NSE depende no sólo de las características neuroendocrinas de las células sino también del *turnover* celular y de la actividad glucolítica anaeróbica.

Los estudios han detectado niveles significativamente aumentados de NSE especialmente en tumores neuroendocrinos y en el carcinoma broncogénico de células pequeñas (SCLC), comparado con otros grupos de carcinoma no célula pequeña y mesoteliomas, y respecto de procesos benignos^{3,13,14}. El 50-70% de SCLC exhiben altos niveles pleurales de NSE, especialmente en la enfermedad extendida.

La serie de Romero et al¹⁵ es una de las primeras que estudia la NSE en LP. Para un punto de corte de NSE > 12 ng/ml la S fue de 51% y la E de 74%. Para conseguir una E de 100% se elevó el valor de corte a 40 ng/ml pero se redujo la S al 18,6%. Posteriormente Kuralay et al¹³ encontraron más alta S y E de la NSE en el LP con un punto de corte de 8,7 ng/ml, y la NSE pleural fue significativamente más elevada en SCLC comparado a otros DPM (en el 100% de los SCLC con DPM y en el 41,1% de los no SCLC con DPM) y sólo en el 4,7% de los derrames pleurales benignos (falsos positivos en derrames tuberculosos). El aumento de NSE en enfermedades benignas puede ser debido a la destrucción de eritrocitos, plaquetas y linfocitos que contienen NSE en su citoplasma. En el estudio de Alatas et al¹⁶ no se observan diferencias entre niveles de NSE en LP para DPM o benigno. Sin embargo, en un estudio más reciente¹⁷, la determinación mediante ELISA de NSE en LP sí muestra diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre DPM y benigno para un punto de corte en LP de 12,21 ng/ml con una S del 68,4% y una E del 75%.

Citoqueratinas (CK)

Las CK son péptidos fibrosos componentes del citoesqueleto de casi todas las células epiteliales y de algunas no epiteliales. Se clasifican numéricamente según peso molecular y punto isoelectrico y se han identificado 19 subtipos.

El Cyfra 21.1, el antígeno polipeptídico tisular (TPA) y el antígeno polipeptídico específico tisular (TPS) son tres componentes de CK que actualmente se utilizan como MT¹⁸.

Fragmento de la citoqueratina 19 (Cyfra 21.1)

Los niveles séricos de este marcador se encuentran elevados en los carcinomas broncogénicos no célula pequeña, sobre todo en los escamosos. Si tenemos en cuenta que más de la mitad de los DPM son secundarios a un carcinoma broncogénico, muchos autores consideran la determinación de este marcador en LP muy prometedora¹⁹ y algunos estudios apuntan a su valor en el diagnóstico del derrame pleural secundario a mesotelioma pleural maligno¹⁶.

Antígeno polipeptídico tisular (TPA)

Es un antígeno proteico, componente de las CK 8, 18 y 19, típicas del epitelio sano y presentes en algunos carcinomas. Se puede identificar en suero, en fluidos corporales y en tejidos mediante técnicas de RIA²⁰. Se expresa y se detecta en el citoplasma de las células de tumores de estirpe epitelial, incluido el carcinoma broncogénico. Cuando se emplea en el seguimiento de estos tumores su determinación sérica es útil para valorar la respuesta al tratamiento^{21,22}. También se detecta TPA en las células mesoteliales normales. Los escasos estudios que intentan validar el empleo de este marcador en el LP muestran una escasa S y E por lo que su valor es limitado²³. Para obtener suficiente E el valor de corte debe ser más alto que el empleado en suero (80-100 UI/ml). A pesar de utilizar valores de hasta 2.000 UI/ml en LP se obtiene baja S, por lo que se ha desestimado su uso²⁴.

Antígeno polipeptídico específico tisular (TPS)

Esta proteína se ha identificado usando anticuerpos monoclonales que reconocen el epítipo específico M3 del TPA liberado por células tumorales en proliferación. Su liberación y concentración extracelulares están relacionadas con la síntesis de ADN.

El TPS se ha aislado también en el suero de pacientes con patologías pulmonares inflamatorias benignas. Presenta, por tanto, una baja E en la distinción de patologías benignas y malignas (para un punto de corte de > 80 UI/ml la S es de 64% y la E de 69%)²⁵.

El trabajo de un grupo español ha demostrado que ni el análisis del TPS en LP (con un valor de corte > 20.000 UI/ml obtuvieron una S de 21% y una E del 98%), ni la relación de este valor frente a la determinación en suero son útiles tampoco en el diagnóstico de los derrames pleurales²⁶.

Péptidos de membrana

Mesotelina

La mesotelina es un péptido de membrana que se expresa normalmente en la superficie de las células mesoteliales, así como en varios tumores como el mesotelioma, los carcinomas de ovario, páncreas, gastrointestinales, pulmonares o sarcomas. Existe una forma soluble que se libera de la

membrana y se puede detectar en el suero de los pacientes con mesotelioma. Se eleva principalmente en los pacientes con mesotelioma epitelial, y en menor concentración en los pacientes con exposición a asbesto, con o sin patología pleural²⁷. Se ha planteado que pudiera tener un papel en la detección precoz del mesotelioma epitelial, utilizándose en el cribaje de los sujetos expuestos a asbesto²⁸, si bien su S y E distan en el momento actual de alcanzar los valores idóneos para su recomendación como método diagnóstico²⁹, monitorización de la enfermedad, valoración de la respuesta al tratamiento o la detección de recidivas³⁰.

Estudios de combinación de marcadores tumorales en líquido pleural

Aunque la lista de publicaciones y de marcadores estudiados es amplia^{6,31,32}, en un estudio reciente con 416 pacientes (166 con DPM, 77 con derrame probablemente maligno y 173 con derrames benignos), Porcel et al³³ observaron que un panel de 4 marcadores en el LP (CEA, CA 125, CA 15.3, y Cyfra 21.1) alcanzaban una S del 54%. La combinación de estos marcadores conjuntamente con la utilización de la citología aumentó la S a un 69%. Más de un tercio (37%) de los DPM con citología negativa presentaron al menos un marcador positivo.

En un reciente metaanálisis³⁴, Liang et al seleccionaron 29 artículos y analizaron los datos disponibles de cinco marcadores en LP (CEA, CA 125, CA 15.3, CA 19.9, y Cyfra 21.1). La S y E resultante del CA 125 fue de 48 y 85% y del CA 15.3 de 51 y 96%, respectivamente. También describieron una E elevada en el caso del CA 19.9 y del Cyfra 21.1 que según las series osciló entre un 73-100% y un 80-100% y una S baja de entre el 13-89% y 20-91%, respectivamente. En éste y en otros trabajos^{4,6,9,13,16,32,35-37} (tabla 3) se concluye que todos estos marcadores son muy específicos pero insuficientemente sensibles para diagnosticar el DPM y que la combinación de dos o más (CEA y Cyfra 21.1, CA 15.3 y Cyfra 21.1, CEA y CA 19.9) aumenta la S y la rentabilidad diagnóstica frente a su uso individual (tabla 4)³⁴.

En cuanto a los estudios de supervivencia en base a niveles de marcadores en LP en pacientes con DPM tipo adenocarcinoma y carcinomas escamosos, Bielsa et al³⁸ han publicado recientemente un estudio en 224 pacientes con DPM a los que se les midió el CEA, CA 15.3, CA 125 y Cyfra 21.1. La combinación de CA 125 con niveles superiores a 1.000 U/ml y Cyfra > 41 UI/ml durante el primer mes desde el diagnóstico predijo una baja supervivencia (4 frente a 11,7 meses con una p = 0,03 para el CA 125 y 0,3 frente a 8,4 meses con una p = 0,003 para el Cyfra). Ni el CA 15.3 ni el CEA predijeron cambios en la supervivencia.

Varios estudios encuentran que la determinación de NSE en LP mejora su sensibilidad con la combinación de otros MT. Sánchez de Cos et al³⁹ encuentran en la combinación CEA y NSE una S del 80,9% y E del 91,4% y en el estudio de Lee et al¹⁷ la combinación de C15.3 y NSE alcanza una mayor E con menor S que sus determinaciones aisladas (S: 57,5% y E: 91,9%). En el estudio de Miedougé et al⁸, la asociación Cyfra, NSE y SCC puede discriminar adenocarcinoma de carcinoma de célula pequeña pulmonar con una predicción del 89,4%. Por tanto, la S para el diagnóstico de DPM del NSE en LP, incluyendo tumores de célula pequeña, es baja. La determinación de NSE en LP de forma aislada posee un escaso

Tabla 3 Valores diagnósticos de los marcadores tumorales más utilizados en el derrame pleural maligno publicados en la literatura

Estudio	Nº de pacientes	Marcadores	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Villena ⁶	207	CA 15.3	55	97
		CEA	53	100
		CA 19.9	20	100
Villena et al ⁹	252	CA 15.3	49	90
		CEA	35	100
Alatas et al ¹⁶	74	CEA	52	77
		CA 19.9	36	83
		Cyfra 21.1	91	90
Paganuzzi et al ³⁵	106	CEA	30,6	91
		Cyfra 21.1	78	80
Romero et al ³²	115	CEA	57	89
		CA 15.3	48	97
		Cifra 21.1	38	82
Ferrer et al ⁴	146	CEA	40	100
		CA 125	37,2	100
		Cyfra 21.1	23,8	100
		SCC	4,6	100
		NSE	0	100
Kuralay et al ¹³	61	CA 19.9	90	97
		CA 125	95	95
		NSE	100	95
Salama et al ³⁶	196	CEA	55,6	95
		Cifra 21.1	50,5	95
Ustun et al ³⁷	102	CEA	58,5	90
		CA 15.3	51,2	75
		CA 19.9	39	72,5

valor para el diagnóstico de DPM, pero la combinación de dos o más MT sí puede ser más sensible.

Dos grupos españoles han estudiado el marcador CA 549 en LP^{9,40}. En el primero se combinó CA 549 con la medición de CEA y en el segundo, además, con CA 15.3 y CA 72.4. En ambos estudios la S de CA 549 para malignidad fue baja pero su E fue del 99%. La rentabilidad diagnóstica aumentó cuando se combinó con otro marcador. En el estudio de Villena et al, cuando se descartaron los mesoteliomas y las neoplasias hematológicas, la combinación de tres marcadores (CA 49, CEA y CA 15.3) mostró una S del 77% y una E del 100%. La suma de cualquier marcador mejoró el valor diagnóstico de la citología.

Marcadores tumorales en inmunohistoquímica

El panel de marcadores que generalmente se propone para la distinción entre mesotelioma maligno y otras neoplasias gene-

Tabla 4 Valores diagnósticos de la combinación de varios marcadores tumorales en líquido pleural*

Combinaciones de marcadores	Nº de estudios	Nº de pacientes con DPM/sin DPM	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
CEA + CA 125	3	107/167	65	98
CEA + CA 15.3	3	208/366	66	98
CEA + CA 19.9	1	65/142	46	100
CEA + Cyfra 21.1	3	97/115	72	95
CA 125 + CA 19.9	1	19/42	95	98
CA 125 + Cyfra 21.1	2	115/133	66	96
CA 15.3 + CA 19.9	1	65/142	62	97
CA 15.3 + Cyfra 21.1	2	87/109	83	95
CEA + CA 125 + Cyfra 21.1	1	43/79	65	100
CEA + CA 15.3 + CA 19.9	1	65/142	71	97

DPM: derrame pleural maligno.

*Según el metaanálisis de Liang QL et al³⁴.

ralmente incluye dos o más marcadores epiteliales que permitan excluir el diagnóstico de carcinoma y dos o más marcadores mesoteliales que dejen confirmar el diagnóstico de mesotelioma. La mayor parte de estos marcadores tiene una excelente sensibilidad y especificidad para el diagnóstico diferencial entre la variante epitelial del mesotelioma y el adenocarcinoma, particularmente de origen pulmonar. Sin embargo, su eficacia es menor en el diagnóstico de la variante sarcomatosa del mesotelioma y en el diagnóstico diferencial entre el mesotelioma y el carcinoma de células escamosas, el carcinoma renal, ovárico o de otro origen (tablas 5 y 6)⁴¹.

Epiteliales

Antígeno carcinoembrionario: policlonal (p) y monoclonal (m)

El CEA fue el primer marcador de inmunohistoquímica que se utilizó para la diferenciación entre los mesoteliomas epiteloides o sarcomatosos y el adenocarcinoma pulmonar⁴². El CEA se expresa en el 50-90% de los adenocarcinomas pulmonares, y en más de dos tercios de los carcinomas epidermoides pulmonares. Sin embargo, es frecuente que el CEA sea negativo en otros carcinomas, como los renales⁴³, por lo que no es útil para la diferenciación con estos tumores. El marcador es negativo en casi la totalidad de los mesoteliomas⁴⁴. En un principio se utilizaba el CEA policlonal, con el que se obtenían algunos falsos positivos por reacciones cruzadas, pero posteriormente mejoró la especificidad (97%) con la utilización del CEA monoclonal, con una ligera pérdida en la sensibilidad (81%)^{41,45}.

Anticuerpo monoclonal Ber-Ep4

Reacciona con un epítipo, presentado por 2 polipéptidos de 34 y de 39 kDa, que se localiza en las células epiteliales humanas y no lo hace con las células no epiteliales o neoplásicas. Esta propiedad lo hace especialmente útil en las enfermedades del aparato respiratorio para diferenciar tumores no epiteliales de los carcinomas indiferenciados, mesoteliomas de adenocarcinomas y células mesoteliales reactivas de las células de carcinoma en LP⁴⁶. Tiene poca expresividad en

el mesotelioma epiteloide y en las células mesoteliales reactivas y detecta una alta proporción de adenocarcinoma pulmonar, con un 80% de S y un 90% de E. La tasa de positividad es más baja para los carcinomas no pulmonares, especialmente en el caso de los tumores renales.

Anticuerpo monoclonal B72.3

El B72.3 reacciona con una glucoproteína de gran peso molecular, TAG72 (*tumor associated glycoprotein-72*). Se expresa en una gran variedad de adenocarcinomas (pulmón, mama, tracto gastrointestinal, ovario, páncreas y endometrio) y se muestra mayoritariamente negativo en los mesoteliomas malignos y en las células mesoteliales reactivas. También tiene poca o nula reactividad para el carcinoma renal, melanoma, sarcoma, linfoma y leucemia⁴⁵.

Anticuerpo monoclonal Leu-M1 (CD-15)

Reacciona con el epítipo X-hapten o Lewis-X en la membrana de los mielomonocitos. Tiene especial afinidad por las células de Reed-Stenberg pero también reacciona con los linfocitos T activados. Presenta una alta E y baja S para diferenciar mesotelioma y adenocarcinoma. Sin embargo, como la mayoría de los tumores renales expresa este marcador, es útil para distinguir estos tumores de los mesoteliomas epiteliales⁴⁷.

Marcador epitelial MOC-31

El biomarcador MOC-31 es una glucoproteína transmembrana de función desconocida que está presente en la membrana de las células epiteliales, pero no en las mesoteliales^{48,49}. La reactividad frente a este marcador en el LP es un indicador de la etiología maligna del derrame⁵⁰. Se ha demostrado su utilidad en la diferenciación de adenocarcinoma, mesotelioma y células mesoteliales reactivas en muestras de LP⁵¹, mostrando mayor expresividad en el primero y escasa o nula en los dos últimos.

Factor 1 de transcripción tiroidea (TTF-1)

El TTF-1 es una proteína de regulación nuclear de 38 kDa que contiene un homodominio del gen de la familia Nkx2. Participa en el crecimiento celular y en su proceso de dife-

Tabla 5 Aplicación de la inmunohistoquímica en la diferenciación entre adenocarcinoma, mesotelioma epitelial y mesotelioma sarcomatoso

Anticuerpos	Adenocarcinoma % positivos	Mesotelioma epitelial % positivos	Mesotelioma sarcomatoso % positivos
Marcadores epiteliales			
pCEA	83	5	0
mCEA	81	3	
Ber-Ep4	80	10	0
B72.3	80	7	0
CD15 (Leu-M1)	72	7	0
MOC-31	93	7	0
TTF-1	Pulmón: 72 Otros: 0*	0	0
Lewis-BG8	93	7	0
Marcadores mesoteliales			
Citoqueratina 5/6	14,9	83	13
Calretinina	15	82	88
HBME-1	57	85	
Trombomodulina	20	61	13
Mesotelina		100	0
Podoplanina		86-93	0
D2-40	36	86-100	0
WT-1	4	77	13

Se excluyen los carcinomas de origen tiroideo.

Modificada de Marchevsky AM⁴¹.**Tabla 6** Aplicación de la inmunohistoquímica en la diferenciación entre adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas y carcinoma renal

Anticuerpos	Adenocarcinoma % positivos	Carcinoma de células escamosas % positivos	Carcinoma renal % positivos
Marcadores epiteliales			
pCEA	83	7	0
mCEA	81		
Ber-Ep4	80	40	0-58
B72.3	80	87	
CD15 (Leu-M1)	72	30	25-100
MOC-31	93	97	0-75
TTF-1	Pulmón: 72 Otros: 0*	0	
Lewis-BG8	93	80	0-33
Marcadores mesoteliales			
Citoqueratina 5/6	14,9	100	5
Calretinina	15	40	10
HBME-1	57		
Trombomodulina	20		0-32
Mesotelina		27	
Podoplanina		15	
D2-40	36		
WT-1	4	0	0-4

Se excluyen los carcinomas de origen tiroideo.

Modificada de Marchevsky AM⁴¹.

renciación. Se expresa de forma selectiva en las células epiteliales de origen tiroideo y pulmonar, así como en ciertas áreas del cerebro fetal (diencefalo)⁵²⁻⁵⁴. En el pulmón se expresa en los neumocitos tipo II y en las células del epitelio bronquiolar no ciliado⁵⁵. Se ha comprobado que es un marcador útil en el cáncer de pulmón, tanto en muestras citológicas como histológicas⁵⁶. En concreto, presenta una alta frecuencia de expresión en el carcinoma de células pequeñas y en el adenocarcinoma, mientras que en el carcinoma epidermoide y en el de células grandes no muestra expresión o lo hace en muy baja frecuencia⁵⁷. Por otra parte, los adenocarcinomas de origen distinto al pulmonar y al tiroideo no muestran reactividad frente al TTF-1, por lo que este factor constituye un marcador sensible y altamente específico en la diferenciación entre adenocarcinoma primario y metastásico de pulmón^{58,59}. También se ha demostrado su utilidad para distinguir entre adenocarcinoma metastático pulmonar y extrapulmonar en muestras de LP⁶⁰.

Marcador epitelial Lewis BG-8

Al igual que sucede con el MOC-31, los adenocarcinomas metastásicos tienden a teñirse positivamente y las células mesoteliales reactivas o las células mesoteliales malignas no muestran reactividad con estos anticuerpos^{61,62}.

Mesoteliales

Citoqueratinas

En los epitelios normales la expresión de CK 5 se encuentra restringida a las células basales de los epitelios glandular, escamoso, mioepitelio y mesotelio; debido a esto y a la particularidad de que las células epiteliales mantienen su patrón de CK durante la malignización y la metástasis, es útil en la tipificación inmunohistoquímica de mesoteliomas y en el diagnóstico diferencial con adenocarcinomas de pulmón. La CK 6 se expresa en epitelios escamosos proliferativos, frecuentemente junto con CK 16. La aplicación conjunta de anticuerpos contra CK 5 y 6 (CK 5/6) permite distinguir entre carcinomas de células escamosas poco diferenciadas y algunos adenocarcinomas. Algunos adenocarcinomas extrapulmonares también pueden expresar CK 5/6 (páncreas, ovario, endometrio).

En LP se ha observado alta E y S de CK 5/6 para mesotelioma, siendo uno de los marcadores aconsejados en el diagnóstico diferencial entre esta patología y las metástasis de adenocarcinoma⁶³. No obstante, se recomienda incluirlo en paneles con otros marcadores como p63, D2-40 y WT-1 para ayudar en esta diferenciación⁶⁴.

Calretinina

Es una proteína ligadora del calcio con función tampón al prevenir un aumento excesivo de calcio intracelular. Se estudia mediante tinción inmunohistoquímica con antisuero anticálretinina, considerando positivas las muestras con > 5% de tinción moderada-fuerte. Se ha demostrado una altísima S y E para las células del mesotelio, tanto normal como maligno, en líquidos serosos^{62,65}. Para el diagnóstico de líquidos benignos y malignos la E sube hasta el 100% y la S al 97,1% al combinar calretinina con E-cadherina⁶⁶. La combinación de tinción negativa para calretinina y positiva para marcadores epiteliales ha demostrado elevada S y E para adenocarcinoma⁶⁷⁻⁷⁰.

Aunque la calretinina es un marcador inmunohistoquímico sensible para mesotelioma, no es específico y tiñe en oca-

siones adenocarcinomas. Se consigue aumentar su S y E de forma muy importante para el diagnóstico de mesoteliomas al asociarlo a otros marcadores como CK 5/6, D2-40, HBME-1 y WT-1^{62,64}.

Podoplanina

Se trata de una mucoproteína que fue inicialmente identificada en las células epiteliales glomerulares de los ratones (podocitos). Los capilares linfáticos también son capaces de expresar esta proteína. Muestra unas altas E y S en el diagnóstico del mesotelioma de estirpe epitelial, por lo que algunos autores han propuesto su inclusión en el panel de *screening* de diferenciación del mesotelioma⁷¹. Resulta, por tanto, un marcador útil para diferenciar esta patología de otras entidades tales como el adenocarcinoma pulmonar metastático y otro tipo de tumores de estirpe sarcomatosa (sarcoma de Kaposi, linfangioma y subgrupos de angiosarcomas).

Mesotelina

Como marcador inmunohistoquímico ha mostrado su positividad sobre las células mesoteliales, en particular de estirpe epitelial, pero también se ha mostrado expresivo en el carcinoma de células escamosas, sin que por el momento exista consenso para su inclusión en los paneles de marcadores para el diagnóstico diferencial de los DPM⁴¹.

Trombomodulina

Se trata de una glucoproteína que se distribuye entre las células mesoteliales, endoteliales, osteoblastos, fagocitos mononucleares y algunos epitelios. Se han realizado estudios determinando la trombomodulina junto a otros marcadores para conocer su utilidad en el diagnóstico del mesotelioma pleural y su diferenciación con el DPM (adenocarcinoma, metastático, etc.) como el de Yaziji et al⁷². La trombomodulina presentó una S del 68% y una E del 92%. Comparativamente su E para el diagnóstico de mesotelioma fue superior a CK 5, calretinina, vimentina y HBME-1. Sin embargo, la S fue inferior al resto de las moléculas estudiadas (calretinina, HBME-1, CK y mesotelina).

Anticuerpo monoclonal HBME-1

El HBME-1 se ha empleado en el diagnóstico diferencial del mesotelioma de estirpe epitelial, ya que no muestra expresividad en la variante desmoplásica/sarcomatosa. Sin embargo, es menos eficiente que otros marcadores en la distinción entre mesotelioma y adenocarcinoma metastático, ya que se puede mostrar positivo en ambos. Por ello, su uso es bastante limitado en la práctica diaria⁷³.

Anticuerpo monoclonal D2-40

El D2-40 reconoce un antígeno oncofetal presente en las células germinales fetales. Tiene unas altas S y E por el endotelio linfático pero este anticuerpo también se expresa en las células mesoteliales normales y reactivas, por lo que se ha sugerido su utilidad en el diagnóstico del mesotelioma. Su S para la tinción en la membrana celular se sitúa por encima del 85% para los mesoteliomas epiteliales⁴¹. La tinción en el mesotelioma es difusa, mientras que el 15% de otros tumores que son positivos a este marcador presentan una tinción focal⁷¹. Algunos autores también han estudiado su valor para diferenciar el mesotelioma sarcomatoide del adenocarcinoma sarcomatoide pulmonar⁷⁴.

Proteína WT-1

El WT-1 es un gen supresor tumoral localizado en el cromosoma 11p13 que se expresa en tejidos derivados del mesodermo y urogenitales. La proteína del gen WT-1 es una proteína nuclear de 52-52 kDa que es útil como marcador de células mesoteliales tanto en muestras de tejido como citología, mostrando una mayor positividad en los mesoteliomas epiteliales que en los sarcomatosos. No obstante, también muestra expresividad en los carcinomas peritoneales primarios, en los carcinomas papilares serosos y de alto grado de ovario y endometrio y en una pequeña proporción de adenocarcinomas mamarios. Todo ello puede representar un problema cuando se evalúan DPM en mujeres⁷⁵.

Conclusiones

El valor diagnóstico de los MT en la diferenciación entre DPM y benignos, tanto en sangre periférica como en LP, ha sido evaluado en los últimos años, pero su papel clínico no ha sido definitivamente establecido. La combinación de varios MT puede aumentar la capacidad diagnóstica y añadir S a la citología pleural, evitando otros procedimientos diagnósticos más invasivos o insuficientes. Aunque el único método diagnóstico con S y E cercanas al 100% en DPM es la toracoscopia y ninguna combinación de MT ha alcanzado su nivel de exactitud, los resultados de los estudios realizados en este campo son cada vez más prometedores. No obstante, la evidencia no recomienda usar un solo MT para el diagnóstico de DPM, y aunque la combinación de dos o más parece ser más sensible, los resultados deben ser interpretados en paralelo con los datos clínicos y resultados de pruebas convencionales.

Bibliografía

- Light RW. Tumor markers in undiagnosed pleural effusions. *Chest*. 2004;126:1721-2.
- Antony VB, Loddenkemper R, Astoul P. Management of malignant pleural effusions. *Eur Respir J*. 2001;18:402-19.
- Shitrit D, Zingerman B, Shitrit AB, Shlomi D, Kramer MR. Diagnostic value of Cyfra 21.1, CEA, CA 19.9, CA 15.3 and CA 125 assays in pleural effusions: analysis of 116 cases and review of the literature. *Oncologist*. 2005;10:501-7.
- Ferrer J, Villarino MA, Encabo G, Felip E, Bermejo B, Vilá S, et al. Diagnostic utility of Cyfra 21.1, carcinoembryonic antigen, CA 125, neuron specific enolase, and squamous cell antigen level determinations in the serum and pleural fluid of patients with pleural effusions. *Cancer*. 1999;86:1488-95.
- Gaspar MJ, De Miguel J, García Díaz JD, Díez M. Clinical utility of a combination of tumor markers in the diagnosis of malignant pleural effusions. *Anticancer Res*. 2008;28:2947-52.
- Villena V, López Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martín Escribano P, Ortuño de Solo B, Estenoz Alfaro J. Diagnostic value of CA 72.4, carcinoembryonic antigen, CA 15.3 and CA 19.9 assay in pleural fluid: a study of 207 patients. *Cancer*. 1996;78:736-40.
- Ferroni P, Szpak C, Greiner JW, Simpson JF, Guadagni F, Johnston WW. CA 72.4 radioimmunoassay in the diagnosis of malignant effusions. Comparison of various tumor markers. *Int J Cancer*. 1990;46:445-51.
- Miéoudougé M, Rouzaud P, Salama G, Pujazon MC, Vincent C, Mauduyt MA, et al. Evaluation of seven tumour markers in pleural fluid for the diagnosis of malignant effusions. *Br J Cancer*. 1999;81:1059-65.
- Villena V, López-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martín-Escribano P, Ortuño de Solo B, Estenoz-Alfaro J. Diagnostic value of CA 549 in pleural fluid. Comparison with CEA, CA 15.3 and CA 72.4. *Lung Cancer*. 2003;40:289-94.
- Chan DW, Beveridge RA, Bruzek DJ, Damron DJ, Bray KR, Gaur PK, et al. Monitoring breast cancer with CA 549. *Clin Chem*. 1988;34:2000-4.
- Cazin JL, Gosselin P, Boniface B, Demaille MC, Demaille A. An evaluation of CA 549, a circulating marker of breast cancer using a procedure for comparison with CA 15.3. *Anticancer Res*. 1992;12:719-24.
- Pavesi F, Lotzniker M, Scarabelli M, Mauro E, Visconti G, Nicolato E, et al. Circulating CA 549 and other associated antigens in breast cancer patients. *Oncology*. 1994;51:18-21.
- Kuralay F, Tokgöz Z, Cömlekci A. Diagnostic usefulness of tumour marker levels in pleural effusions of malignant and benign origin. *Clin Chim Acta*. 2000;300:43-5.
- Lyubimova NV. Diagnostic value of tumor markers Cyfra 21.1 and neuron-specific enolase in analysis of pleural fluid. *Bull Exp Biol Med*. 2002;133:478-80.
- Romero S, Izquierdo M, Mauri M, Martín C, Almenar MV, García R, et al. Diagnostic usefulness of neurospecific enolase determination in pleural fluid. *Med Clin (Barc)*. 1989;93:568-71.
- Alatas F, Alatas Ö, Metintas M, Colak Ö, Harmanlı E, Demir S. Diagnostic value of CEA, CA 15.3, CA 19.9, Cyfra 21.1, NSE and TSA assay in pleural effusions. *Lung Cancer*. 2001;31:9-16.
- Lee JH, Chang JH. Diagnostic utility of serum and pleural fluid carcinoembryonic antigen, neuron-specific enolase, and cytokeratin 19 fragments in patients with effusions from primary lung cancer. *Chest*. 2005;128:2298-303.
- Moll R, Franke WW, Schiller DL. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*. 1982;31:11-24.
- Gu P, Huang G, Chen Y, Zhu C, Yuan J, Sheng S. Diagnostic value of pleural fluid carcinoembryonic antigen and Cyfra 21.1 in patients with pleural effusion: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Lab Anal*. 2007;21:398-405.
- Weber K, Osborn M, Moil R, Wiklund B, Luning B. Tissue polypeptide antigen (TPA) is related to the non-epidermal keratins 8, 18 and 19 typical of simple and non-squamous epithelia: re-evaluation of a human tumor marker. *The EMBO Journal*. 1984;3:2707-14.
- Buccheri G, Ferrigno D. Lung tumour markers in oncology practice: a study of TPA and CA125. *British J Cancer*. 2002;87:1112-8.
- Buccheri G, Torchio PF, Ferrigno D. Clinical equivalence of two cytokeratin markers in non-small cell lung cancer: a study of tissue polypeptide antigen and cytokeratin 19 fragments. *Chest*. 2003;124:622-32.
- Riedel U, Schönfeld N, Savaser A, Serk M, Loddenkemper R. Diagnostic value of the tumor markers TPA-M, Cyfra 21.1 and CEA in pleural effusion. Prospective comparison of thoracoscopic investigation in patients with pleural effusion. *Pneumologie*. 1999;53:471-6.
- Mezger J, Permanetter W, Gerbes AL, Wilmanns W, Lamerz R. Tumour associated antigens in diagnosis of serous effusions. *J Clin Pathol*. 1988;41:633-43.
- Bates J, Rutherford R, Divilly M, Finn J, Grimes H, O'Muircheartaigh I, et al. Clinical value of Cyfra 21.1, carcinoembryonic antigen, neurone-specific enolase, tissue polypeptide specific antigen and tissue polypeptide antigen in the diagnosis of lung cancer. *Eur Respir J*. 1997;10:2535-8.
- Villena V, Echave-Sustaeta J, López Encuentra A, Martín Escribano P, Estenoz Alfaro J, Ortuño de Solo B. Determination of tissue polypeptide antigen in pleural fluid and serum from patients with pleural effusion. *Int J Biol Markers*. 1995;10:161-5.
- Rodríguez Portal JA, Rodríguez Becerra E, Rodríguez Rodríguez D, Alfageme Michavilla I, Quero Martínez A, Diego Roza C, et al. Serum levels of soluble mesothelin-related peptides in malign-

- nant and non-malignant asbestos-related pleural disease: relation with past asbestos exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18:646-50.
28. Park EK, Sandrini A, Yates DH, Creaney J, Robinson BW, Thomas S, et al. Soluble mesothelin-related protein in an asbestos-exposed population. The dust diseases board cohort study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;178:832-7.
 29. Grigoriu BD, Grigoriu C, Chahine B, Gey T, Scherpereel A. Clinical utility of diagnostic markers for malignant pleural mesothelioma. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2009;71:31-8.
 30. Grigoriu BD, Chachine B, Vachani A, Gey T, Conti M, Sterman DH, et al. Kinetics of soluble mesothelin in patients with malignant pleural mesothelioma during treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:950-4.
 31. Villena V, López Encuentra A, Rodríguez FP. False-positive results of carcinoembryonic antigen in pleural effusions. *Chest.* 1998;113:1143-4.
 32. Romero R, Fernández C, Arriero JM, Espasa A, Candela A, Martín C, et al. CEA, CA 15.3 and Cyfra 21.1 in serum and pleural fluid of patients with pleural effusions. *Eur Respir J.* 1996;9:17-23.
 33. Porcel JM. Use of a panel of tumor markers (carcinoembryonic antigen, cancer antigen 125, carbohydrate antigen 15.3, and cytokeratin 19 fragments) in pleural fluid for the differential diagnosis of benign and malignant effusions. *Chest.* 2004;126:1757-63.
 34. Liang QL, Shi HZ, Qin XJ, Liang XD, Jiang J, Yang HB. Diagnostic accuracy of tumour markers for malignant pleural effusion: a meta-analysis. *Thorax.* 2008;63:35-41.
 35. Paganuzzi M, Onetto M, Marroni, Filiberti R, Tassara E, Parodi S, et al. Diagnostic value of Cyfra 21.1 tumor marker and CEA in pleural effusion due to mesothelioma. *Chest.* 2001;119:1138-42.
 36. Salama G, Miedouge M, Rouzaud P, Mauduyt MA, Pujazon MC, Vincent C, et al. Evaluation of pleural Cyfra 21.1 and carcinoembryonic antigen in the diagnosis of malignant pleural effusions. *Br J Cancer.* 1998;77:472-6.
 37. Ustun H, Borazan A, Bilgili N, Yilmaz A. Diagnostic value of tumoral markers in pleural effusions. *Int J Clin Pract.* 2004;58:22-5.
 38. Bielsa S, Esquerda A, Salud A, Montes A, Arellano E, Rodríguez-Panadero F, et al. High levels of tumor markers in pleural fluid correlate with poor survival in patients with adenocarcinomatous or squamous malignant effusions. *Eur J Intern Med.* 2009;20:383-6.
 39. Sánchez de Cos Escuin J, López Parra S, Disdier Vicente C, Martín Vicente MJ, Masa Jiménez JF, Domínguez Retortillo C. Diagnostic utility of carcinoembryonic antigen, neuron-specific enolase and squamous cell carcinoma antigen in malignant pleural effusion. *An Med Interna.* 1996;13:369-73.
 40. Hernández L, Espasa A, Fernández C, Candela A, Martín C, Romero S. CEA and CA 549 in serum and pleural fluid of patients with pleural efusión. *Lung Cancer.* 2002;36:83-9.
 41. Marchevsky AM. Application of immunohistochemistry to the diagnosis of malignant mesothelioma. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132:397-401.
 42. Beasley MB. Immunohistochemistry of pulmonary and pleural neoplasia. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132:1062-72.
 43. Ordóñez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between mesothelioma and renal cell carcinoma: a comparative study. *Hum Pathol.* 2004;35:697-710.
 44. Ordóñez NG. What are the current best immunohistochemical markers for the diagnosis of epithelioid mesothelioma? A review and update. *Human Pathol.* 2007;38:1-16.
 45. King JE, Thatcher N, Pickering CAC, Hasleton PS. Sensitivity and specificity of immunohistochemical markers used in the diagnosis of epithelioid mesothelioma: a detailed systematic analysis using published data. *Histopathology.* 2006;48:223-32.
 46. Bailey ME, Brown RW, Mody DR, Cagle P, Ramzy I. Ber-EP4 for differentiating adenocarcinoma from reactive and neoplastic mesothelial cells in serous effusions. Comparison with carcinoembryonic antigen, B72.3 and Leu-M1. *Acta Cytol.* 1996;40:1212-6.
 47. Sheibani K, Battifora H, Burke JS. Antigenic phenotype of malignant mesotheliomas and pulmonary adenocarcinomas. An immunohistologic analysis demonstrating the value of Leu M1 antigen. *Am J Pathol.* 1986;123:212-9.
 48. Ruitenbeek T, Gouw A, Poppema S. Immunocytology of body cavity fluids. MOC-31, a monoclonal antibody discriminating between mesothelial and epithelial cells. *Arch Pathol Lab Med.* 1994;118:265-9.
 49. Souhami RL, Beverley PCL, Bobrow LG. Antigens of lung cancer results of the Second International Workshop on Lung Cancer Antigens. *J Natl Cancer Inst.* 1991;3:609-12.
 50. Athanassiadou P, Gonidi M, Liossi A, Petrakakou E, Nakopoulou L, Zerva C, et al. MOC-31, fibronectin and CEA in the differential diagnosis of malignant effusions: an immunocytochemical study. *Pathol Oncol Res.* 2000;6:100-3.
 51. Morgan RL, De Young BR, McGaughy VR, Niemman TH. MOC-31 aids in the differentiation between adenocarcinoma and reactive mesothelial cells. *Cancer.* 1999;87:390-4.
 52. Lazzaro D, Price M, de Felice M. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain. *Development.* 1991;113:1093-104.
 53. Sturm N, Lantuejoul S, Laverriere MH, Papotti M, Brichon PY, Brambilla C, et al. Thyroid transcription factor 1 and cytokeratins 1, 5, 10, 14 (34betaE12) expression in basaloid and large-cell neuroendocrine carcinomas of the lung. *Hum Pathol.* 2001;32:918-25.
 54. Hecht JL, Pinkus JL, Weinstein LJ, Pinkus GS. The value of thyroid transcription factor-1 in cytologic preparations as a marker for metastatic adenocarcinoma of lung origin. *Am J Clin Pathol.* 2001;116:483-8.
 55. Kelly SE, Bachurski CJ, Burnhans MS. Transcription of the lung-specific surfactant protein C gene is mediated by thyroid transcription factor-1. *J Biol Chem.* 1996;271:6881-8.
 56. Chang YL, Lee YC, Liao WY. The utility and limitation of thyroid transcription factor-1 protein in primary and metastatic pulmonary neoplasms. *Lung Cancer.* 2004;44:149-57.
 57. Moldvay J, Jackel M, Bogos S, Soltesz I, Agocs L, Kovacs G, et al. The role of TTF-1 in differentiating primary and metastatic lung adenocarcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2004;10:85-8.
 58. Ordoñez NG. Value of thyroid transcription factor-1, E-cadherin, BG8, WT1, and CD44S immunostaining in distinguishing epithelial pleural mesothelioma from pulmonary and non pulmonary adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2000;24:598-606.
 59. Cammarata-Scalisi F, Arenas de Sotolongo A, Petrosino T, Milano M. Adenocarcinoma primario de pulmón metastásico a Schwannoma. Un caso de metástasis de tumor a tumor. *Rev Chil Enf Respir.* 2007;23:49-52.
 60. Ng WK, Chow JC, Ng PK. Thyroid transcription factor-1 is highly sensitive and especific in differentiating metastatic pulmonary from extrapulmonary adenocarcinoma in effusion fluid cytology specimens. *Cancer.* 2002;96:43-8.
 61. Tickman RJ, Cohen C, Varma VA, Fekete PS, DeRose PB. Distinction between carcinoma cells and mesothelial cells in serous effusions. Usefulness of immunohistochemistry. *Acta Cytologica.* 1990;3:491-6.
 62. Politi E, Kandaraki C, Apostolopoulou C, Kyritsi T, Koutselini H. Immunocytochemical panel for distinguishing between carcinoma and reactive mesothelial cells in body cavity fluids. *Diagn Cytopathol.* 2005;32:151-5.
 63. Saad RS, Lindner JL, Lin X, Liu YL, Silverman JF. The diagnostic utility of D2-40 for malignant mesothelioma versus pulmonary carcinoma with pleural involvement. *Diagn Cytopathol.* 2006;34:801-6.
 64. Shield PW, Koivurinne K. The value of calretinin and cytokeratin 5/6 as markers for mesothelioma in cell block preparations of serous effusions. *Cytopathology.* 2008;19:218-23.

65. Barberis MC, Faleri M, Veronese S, Casadio C, Viale G. Calretinin. A selective marker of normal and neoplastic mesothelial cells in serous effusions. *Acta Cytol.* 1997;41:1757-61.
66. He DN, Zhu HS, Zhang KH, Jin WJ, Zhu WM, Li N, et al. E-cadherin and calretinin as immunocytochemical markers to differentiate malignant from benign serous effusions. *World J Gastroenterol.* 2004;10:2406-8.
67. Ko EC, Jhala NC, Shultz JJ, Chieng DC. Use of a panel of markers in the differential diagnosis of adenocarcinoma and reactive mesothelial cells in fluid cytology. *Am J Clin Pathol.* 2001;116:709-15.
68. Grefte JM, de Wilde PC, Salet-van de Pol MR, Tomassen M, Raaymakers-van Geloof WL, Bulten J. Improved identification of malignant cells in serous effusions using a small, robust panel of antibodies on paraffin-embedded cell suspensions. *Acta Cytol.* 2008;52:35-44.
69. Kim JH, Kim GE, Choi YD, Lee JS, Lee JH, Nam JH. Immunocytochemical panel for distinguishing between adenocarcinomas and reactive mesothelial cells in effusion cell blocks. *Diagn Cytopathol.* 2009;37:258-61.
70. Murugan P, Siddaraju N, Habeebullah S, Basu D. Immunohistochemical distinction between mesothelial and adenocarcinoma cells in serous effusions: a combination panel-based approach with a brief review for the literature. *Indian J Pathol Microbiol.* 2009;52:175-81.
71. Ordóñez NG. D2-40 and podoplanin are highly specific and sensitive immunohistochemical markers of epithelioid malignant mesothelioma. *Human Pathol.* 2005;36:372-80.
72. Yaziji H, Battifora H, Barry TS, Hwang HC, Bacchi CE, McIntosh MW, et al. Evaluation of 12 antibodies for distinguishing epithelioid mesothelioma from adenocarcinoma: identification of a three-antibody immunohistochemical panel with maximal sensitivity and specificity. *Mod Pathol.* 2006;19:514-23.
73. Dongfeng Tan, Zander DS-O. Immunohistochemistry for assessment of pulmonary and pleural neoplasms: a review and update. *Int J Clin Exp Pathol.* 2008;1:19-31.
74. Takeshima Y, Amsatya VJ, Kushitani K, Kaneko M, Inai K. Value of immunohistochemistry in the differential diagnosis of pleural sarcomatoid mesothelioma from lung sarcomatoid carcinoma. *Histopathology.* 2009;54:667-76.
75. Lyons-Boudreaux V, Mody DR, Zhai J, Coffey D. Cytologic malignancy versus benignancy. How useful are the newer markers in body fluid cytology? *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132:24-8.