

# Malign Mezotelyoma ve Akciğer Adenokarsinomlarında Claudin 3 ve 4 İmmünreaktivitesi

## Claudin 3 and 4 Immunoreactivity in Malign Mesothelioma and Lung Adenocarcinoma

Şule EKİZ<sup>1</sup>, Ediz TUTAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>S.B. Mardin Devlet Hastanesi, Patoloji Bölümü, MARDİN, TÜRKİYE, <sup>2</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, GAZİANTEP, TÜRKİYE

### ÖZ

**Amaç:** Malign plevral mezotelyomaların akciğer adenokarsinomlarından ayırıcı tanısı özellikle küçük biyopsi örneklerinde patoloğlar için tanısız problemlere neden olmaktadır. Bu çalışmada amacımız, immünohistokimyasal olarak saptanan Claudin 3 ve Claudin 4 immünreaktivitesinin, malign plevral mezotelyomalar ile akciğer adenokarsinomları arasındaki ayırıcı tanıda yararlı olup olmayacağını araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Epitop spesifik tavşan Claudin 3 ve Claudin 4 antikorları kullanılarak, 32 malign plevral mezotelyoma (25 epitelyal, 7 bifazik) ve 14 akciğer adenokarsinom olgusu immünohistokimya tekniği ile çalışılmıştır.

**Bulgular:** Malign plevral mezotelyomaların hiçbirinde Claudin 4 ekspresyonu izlenmezken, tüm akciğer adenokarsinomlarında immünopozitivite izlenmiştir. Malign plevral mezotelyoma olgularının 29'unda (%90,6) Claudin 3 ekspresyonu immünnegatif ve 3'ünde (%9,3) immünopozitifdir. On dört akciğer adenokarsinom olgusunun 11'i (%78,9) ve 32 malign plevral mezotelyoma olgusunun 3'ü (%9,4), Claudin 3 ile immünopozitifdir (p=0,000).

**Sonuç:** Sonuç olarak Claudin 4 antikorlu, malign plevral mezotelyoma ve akciğer adenokarsinomlarını ayırmada oldukça sensitif ve spesifik bir belirleyici olarak bulunmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** Mezotelyoma, Akciğer adenokarsinomu, Claudin 3, Claudin 4

### ABSTRACT

**Objective:** The differential diagnosis of malignant pleural mesotheliomas and lung adenocarcinomas is problematic for pathologists especially in small biopsy materials. In this study, we aimed to investigate whether the immunohistochemically determined Claudin 3 and Claudin 4 immunoreactivities are useful in the differential diagnosis between malignant pleural mesotheliomas and lung adenocarcinomas.

**Material and Method:** Using the epitope-specific rabbit antibody Claudin 3 and Claudin 4, 32 cases of malignant pleural mesothelioma (25 epithelioid, 7 biphasic) and 14 cases of lung adenocarcinoma were studied immunohistochemically.

**Results:** None of the cases of malignant pleural mesotheliomas expressed Claudin 4, whereas all lung carcinomas were immunopositive. Claudin 3 expression was immunonegative in 29 (90.6%) cases and immunopositive in 3 (9.3%) cases of malignant pleural mesothelioma. With Claudin 3, 11/14 (78.9%) lung adenocarcinomas and 3/32 (9.4%) malignant pleural mesotheliomas were immunopositive (p=0.000).

**Conclusion:** In conclusion, Claudin 4 antibody was found to be a highly sensitive and specific marker for distinguishing between malignant pleural mesothelioma and lung adenocarcinoma.

**Key Words:** Mesothelioma, Lung adenocarcinoma, Claudin 3, Claudin 4.

### GİRİŞ

Malign plevral mezotelyoma (MPM), ilk kez 1960 yılında asbestle ilişkili olarak Wagner ve ark. tarafından Güney Afrika'da tanımlanmıştır (1). Malign mezotelyoma nadir görülen bir tümör olup A.B.D. ve Kanada birlikte ele alındığında, görülme insidansı erkeklerde milyonda 2,8 ve kadınlarda milyonda 0,7'dir (3). MPM görülme sıklığı Türkiye'nin güneydoğusunda, asbest temasına bağlı 1

milyonda 43 olarak saptanmıştır (4). Kapadokya bölgesinde ise, erionit teması sonucu MPM gelişmektedir (5). Oldukça ölümcül bir tümör olup ortanca sağkalım süresi  $10 \pm 2$  aydır (2). Malign mezotelyomaların 3 tipi vardır: Epitelyal, fibröz (sarkomatoid) ve bifazik (mikst) tip. Mikst tipte, epitelyal ve sarkomatoid hücre özellikleri bir arada görülür (6).

Akciğer adenokarsinomları, bazen mezotelyomaya benzer büyüme paterni gösterebilirler ve tanı güçlüğüne neden

Geliş Tarihi : 25.11.2008

Kabul Tarihi : 26.01.2009

Yazışma Adresi: Ediz TUTAR

Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, GAZİANTEP, TÜRKİYE

E-posta: ediztutar@yahoo.com

olabilirler (7). MPM'ların akciğer adenokarsinomu ve metastatik karsinomlardan ayrımı, hematoksilen eozin boyası ile özellikle biyopsi spesmenlerinde zor, hatta olanaksız olabilir. Bu nedenle MPM ve metastatik karsinom ayırıcı tanısında immünohistokimya belirleyicileri kullanılmaktadır. Ancak günümüzde hiçbir belirleyici tek başına tanı koydurucu değildir ve çeşitli immünohistokimya belirleyicilerinden oluşan paneller uygulanmaktadır. Spesifik bir immünohistokimya belirleyicisi bulmak için çalışmalar devam etmektedir.

Hücrelerde bulunan "tight junction'lar", sıvı ve iyonların hücre içine ve dışına taşınmasında bariyer oluşturarak parasellüler geçirgenlik ve iyonik seçiciliği düzenlerler (8). "Tight junction'lar" occludin, Claudin proteinleri ve adezyon moleküllerinden oluşur. Bu proteinlerin fonksiyonları henüz tam anlaşılamamıştır; ancak Claudinlerin "tight junction" bağlantılarının belkemiğini oluşturdukları düşünülmektedir. Birçok dokuda, çok sayıda Claudin alt tipi ekspresye edilir (9). Örneğin: Fare beyinlerinde hipokampus ve kortekste çok sayıda Claudin alt tipinin bulunduğu; ancak Claudin 7'nin hipokampusda ekspresye olurken kortekste ekspresye olmadığı saptanmıştır (10). Fare ve tavşan mesane mukozalarında Claudin 4, 8, 12'nin ekspresye olduğu gösterilmiştir. Claudin 4'ün "tight junction" proteini olmak dışında hücre adezyonunda da rol oynadığı düşünülmektedir (11).

Gröne ve ark., kolorektal kanserlerde Claudin 1 ve 12'nin aşırı ekspresye olduğunu, Claudin 8'in ekspresyonunda ise azalma olduğunu bulmuşlardır (12). Johnson ve ark., yaptıkları bir çalışmada, Claudin 7'nin insan gastrik displazi ve adenokarsinomlarında overekspresye olduğunu saptamışlardır (13). Meme karsinomlarında Claudin 3 ve 4'ün, %62 ve %26 oranlarında overekspresye olduğu gösterilmiştir (14). Sobel ve ark., yaptıkları bir araştırmada, servikal invaziv karsinomlarda ve servikal intraepitelyal neoplazilerde Claudin 1, 2, 4, ve 7 ekspresyonunun artış gösterdiğini bulmuşlardır. Claudin 1'in ekspresyonunda ise özellikle premalign dönemde artış olduğunu bildirmektedirler; bu nedenle Claudin 1'in servikal intraepitelyal neoplazi lezyonlarının saptanmasında iyi bir immünohistokimya belirleyicisi olabileceğini belirtmektedirler (15).

Biyopsi örneklerinde MPM ve akciğer adenokarsinomlarının ayırıcı tanısını yapmak, ülkemizde patoloğların günlük çalışma hayatında sık karşılaştıkları sorunlardan biridir. Bizim bu çalışmada amacımız immünohistokimyasal olarak saptanan Claudin 3 ve Claudin 4 immünoaktivitesinin, malign plevral mezotelyomalar ile akciğer adenokarsinomları arasındaki ayırıcı tanıda yararlı olup olmayacağını araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemiz Patoloji Anabilim Dalında 1992 ile 2006 yılları arasında tanısı konulan, 32 malign mezotelyoma ve 14 akciğer adenokarsinomu incelemeye alınmıştır. Her olgu için uygun bir blok seçilerek 4µm kalınlığında kesitler elde edilmiştir.

Bu çalışmada, kullanıma hazır formda Claudin 3 (epitope specific rabbit antibody, Neomarkers, USA) ve Claudin 4 (epitope specific rabbit antibody, Neomarkers, USA) primer antikorları kullanılmıştır. Deparafinize edilen lamalar, "citrate buffer" solüsyonunda (10 mmol/L, pH6.0) mikrodalga fırında 9 dakikalık periyotlarla toplam 2 kez 360 °C' de kaynatılmıştır. Lamalar, boyama işleminin yapılacağı plastik kaplara dizilerek PBS ile yıkanmıştır. Süper blokda (Scytek, USA) 5 dakika bekletildikten sonra yeniden PBS ile yıkanmıştır. Ayrıca %0,3'lük hidrojen peroksidad 5 dakika uygulanarak endojen peroksidad aktivitesi bloklanmıştır. Yeniden PBS ile yıkanarak, primer antikor damlatılmış ve 1 saat beklenmiştir. 1 saat sonra PBS ile yıkanarak anti-polyvalent biotinylated antibody (UltraTek, USA) damlatılmıştır. 10 dakika bekletilerek PBS ile yıkanan kesitlere DAB (Lab Vision, USA) uygulanmış ve 5 dakika bekletilmiştir. Hematoksilen ile zıt boyama uygulandıktan sonra lamalar kapatılmıştır.

Pozitif kontrol olarak kolon adenokarsinomu kullanılmıştır. Negatif kontrollerde ise, primer antikor yerine PBS kullanılarak işlem tamamlanmıştır. İmmünohistokimyasal değerlendirme hastalara ait bilgilerden haberdar olmayan iki patolog tarafından, birlikte ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E600) gerçekleştirilmiştir. İmmünreaktivite daha önce Soini tarafından uygulandığı şekilde değerlendirilmiştir. Tümör hücrelerinin %25'ten az olarak boyanması (+), %25-49 arasında boyanması (++), %50 ve üzerinde boyanması (+++), hiçbir hücrede boyanma görülmemesi (-) olarak kabul edilmiştir. Yalnızca membranöz boyanma pozitif olarak değerlendirilmiştir (16).

Bulguların değerlendirilmesi, Windows işletim sistemi altında çalışan SPSS (V10.0) programı ile yapılmıştır. İstatistiksel yöntem olarak Ki-kare testi (gerektiğinde continuity correction ve Fisher's exact test) uygulanmıştır. Değerlendirmede p değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Bu çalışmada, 32'si MPM ve 14'ü akciğer adenokarsinomu olmak üzere toplam 46 olgu incelenmiştir. Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 1'de verilmiştir. Histopatolojik incelemede 32 MPM vakasının 25'inin (%78,1) epitelyal tipte, 7'sinin (%21,9) mikst tipte olduğu saptanmıştır.

Claudin 3 immünreaktivitesi MPM olgularında incelendiğinde, 32 olgunun 29'u (-) (%90,6), 1'i (+) (%3,1), 2'si (+++) (%6,3) olarak saptanmıştır (Şekil 1) (Tablo II). Pozitif olarak boyanan olguların tamamı epitelyal tipte olup, mikst tip MPM'ların hiçbirinde pozitif boyanma görülmemiştir. Ancak epitelyal ve mikst tip arasında, Claudin 3 immünpozitivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ( $p=1,000$ ).

Akciğer adenokarsinom olgularının Claudin 3 ile immünohistokimyasal değerlendirilmesinde: 14 olgunun 3'ü (-) (%21,4), 3'ü (+) (%21,4), 2'si (++) (%14,3), 6'sı (+++) (%42,9) olarak saptanmıştır (Şekil 2) (Tablo II).

MPM'lar ile akciğer adenokarsinomları arasında Claudin 3 immünreaktivitesi karşılaştırıldığında; MPM'larda %9,4, akciğer adenokarsinomlarında ise %78,6 oranında

pozitif reaksiyon saptanmıştır. İmmünreaktivitenin şiddeti bir, iki, üç pozitif olarak değerlendirilmiş ise de, istatistiksel değerlendirme olguların pozitif ya da negatif olmalarına göre yapılmıştır. Buna göre: MPM ile akciğer adenokarsinomları arasında, Claudin 3 immünreaktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p=0,000$ ) (Tablo III).

Claudin 4 immünreaktivitesi MPM olgularında incelendiğinde, 32 olgunun 32'si de negatif (%100) olup pozitif boyanma saptanmamıştır. Adenokarsinom olgularında ise tam tersi durum söz konusudur ve negatif boyanma görülmemiştir (Şekil 3). 14 olgunun 2'si (+) (%14,3), 7'si (++) (%50), 5'i (+++) (%35,7) olarak değerlendirilmiştir (Tablo II). Bu anlamlı sonuç için istatistiksel değerlendirme yapılmıştır.

**Tablo I:** Olguların klinikopatolojik bulguları

	Malign plevral mezotelyomalar (%)	Akciğer adenokarsinomları (%)
Olgu sayısı	32	14
Ortanca yaş (yıl) [aralık]	60 [38-80]	58 [28-75]
Erkek	16 (%50)	14 (%100)
Kadın	16 (%50)	0

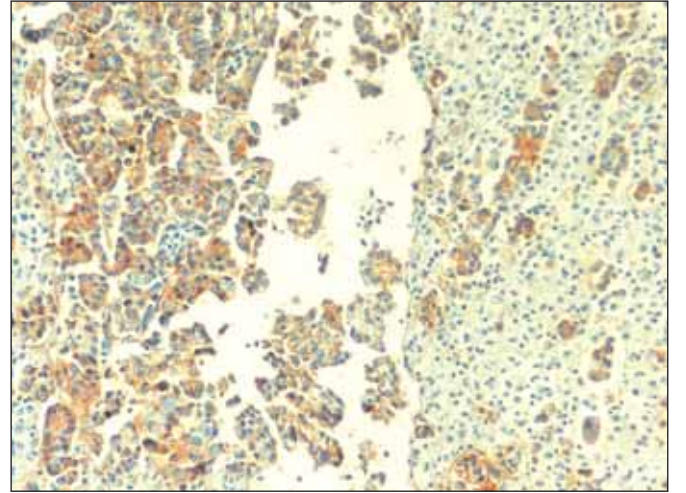
**Tablo II:** Akciğer adenokarsinomları ve malign plevral mezotelyomalarda Claudin 3 and 4 ekspresyonu.

İmmünreaksiyon derecesi	Malign plevral mezotelyomalar		Akciğer adenokarsinomları	
	Claudin 3 (%)	Claudin 4 (%)	Claudin 3 (%)	Claudin 4 (%)
0	29 (90,6)	32 (100)	3 (21,4)	0
1	1 (3,1)	0	3 (21,4)	2 (14,3)
2	0	0	2 (14,3)	7 (50,0)
3	2 (6,3)	0	6 (42,9)	5 (35,7)

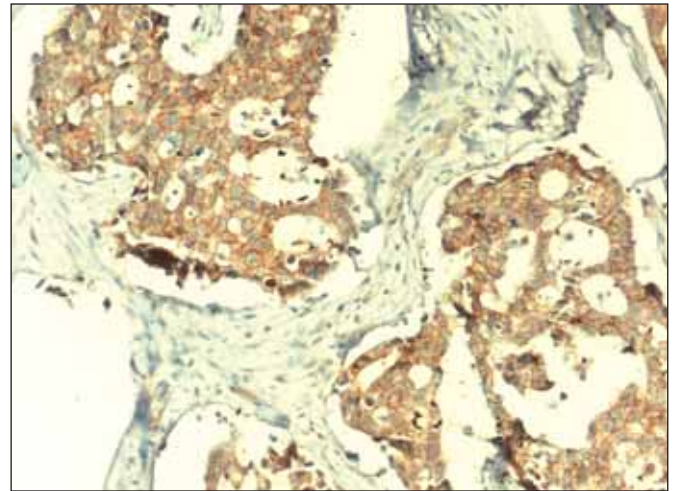
**Tablo III:** Akciğer adenokarsinomu ve malign plevral mezotelyoma olgularında Claudin 3 immünreaktivitesinin karşılaştırılması.

Claudin 3	Negatif	Pozitif	Toplam
Malign plevral mezotelyomalar	29 (%90,6)	3 (%9,4)	32 (%100)
Akciğer adenokarsinomları	3 (%21,4)	11 (%78,6)	14 (%100)

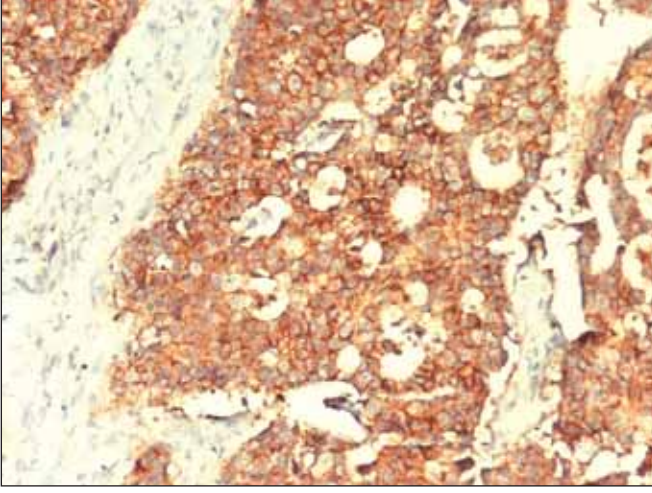
( $p=0,000$ ).



**Şekil 1:** Malign plevral mezotelyoma olgusunda Claudin 3 pozitivitesi (x200).



**Şekil 2:** Akciğer adenokarsinomunda Claudin 3 pozitivitesi (x200).



Şekil 3: Akciğer adenokarsinomu olgusunda Claudin 4 pozitivitesi (x200).

### TARTIŞMA

Akciğer adenokarsinomları plevraya invazyon gösterebilmektedir, zaman zaman MPM'lar ile histomorfolojik özellikleri birbirine çok benzemektedir ve ışık mikroskopunda tanı güçlüğüne neden olmaktadır. Bu zorluğu yenmede, immünohistokimyasal yöntemler patoloğlara yardımcı olmaktadır (17). Ayrım için histokimyasal boyama ve immünohistokimyasal panel yapılmalıdır. Gümürdülü ve ark., 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada PAS-D boyanmasının adenokarsinom lehine olduğunu vurgulamışlardır (18).

Gümürdülü ve ark., araştırmalarında, HBME-1 ile 55 malign mezotelyoma olgusundan 52'sinde, 20 adenokarsinom olgusundan ise 11'inde pozitif boyanma saptamışlardır. Ancak bu iki grup arasında boyanma paterni yönünden farklılıklar vardır. Malign mezotelyoma olgularında güçlü ve kalın membranöz boyanma görülürken, adenokarsinomlarda zayıf ve sitoplazmik boyanma elde edilmiştir (18).

Epitelyal mezotelyoma tanısında pozitif belirleyiciler (kalretinin, sitokeratin 5/6, D2-40, podoplanin, mezotelin ve "Wilms tumor" 1 protein) ve negatif belirleyiciler (CEA, MOC-31, B72.3 ve Ber-EP4) kullanılmaktadır (19). Ayrıca CD15 adenokarsinomlarda, mezotelyomalara göre daha yüksek oranda boyanma gösterir (17). Ordenez, mezotelyomaların adenokarsinomlardan ayırımında bir pozitif (kalretinin, sitokeratin 5/6 veya WT1) ve bir negatif (CEA, MOC31, B72.3 veya Ber-EP4) mezotelyoma belirleyicisinin kullanılmasını önermektedir (19).

Bu çalışmada, immünreaktivitesi araştırılan Claudin 3 ve 4, "tight junction" proteinleri olarak bilinirler (9).

Claudin 3 ve 4, birçok tümörde çalışılmış olmasına rağmen mezotelyomalarla ilgili olarak bugüne kadar az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Soini ve ark., tarafından Claudin alt tipleri, malign mezotelyoma, plevral metastatik adenokarsinom ve non-neoplastik mezotelyal dokularda karşılaştırılmıştır. Çalışmada kullanılan 65 olgunun 24'ü epitelioid, 4'ü sarkomatoid ve 7'si bifazik olmak üzere 35'i malign mezotelyoma, 24'ü metastatik adenokarsinom, 6'sı da neoplastik olmayan dokulardan oluşmaktadır. Soini ve ark., yaptıkları çalışmada, Claudin 1, 2, 3, 4, 5, 7 ve kalretininin oluşan panel kullanmışlardır. Claudin 3 ve 4 ile neoplastik olmayan mezotelyal hücrelerde boyanmaya rastlanmamıştır. Claudin 3 ile sarkomatoid tiplerin hiçbirinde boyanma görülmezken, Claudin 4 ile sarkomatoid tiplerin yalnızca birinde pozitif boyanma saptanmıştır. Bifazik tiplerin ise tamamı Claudin 3 ve 4 ile negatif olarak bulunmuştur. Genel olarak bakıldığında, Claudin 3 ile mezotelyomalarda %18, metastatik adenokarsinomlarda % 90 oranında pozitif boyanma görülürken Claudin 4 ile mezotelyomalarda % 23, metastatik adenokarsinomlarda % 100 oranında pozitif boyanma saptanmıştır. Claudin 3 ve 4'ün malign mezotelyomalarda metastatik karsinoma göre daha az boyanmasının istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir (16).

Çalışmamızda ise Claudin 3 ile 32 MPM olgusundan 3'ü (% 9,4), 14 adenokarsinomdan ise 11'i (%78,6) pozitif olarak bulunmuştur. Bu sonuç istatistiksel açıdan oldukça anlamlıdır (p=0,000) (Tablo 3). Claudin 3 ile 5 MPM olgusunda sitoplazmik reaksiyon elde edilmiştir. Claudin 3 ile pozitif immünreaksiyon elde edilen vakaların tamamının epitelyal tipte olması da ilgi çekicidir. Bifazik tipte hiç boyanma elde edilememiştir; bununla birlikte Claudin 3 ile MPM alt tipleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Claudin 4 ile MPM'larda 0 (%0), akciğer adenokarsinomlarında 14 (%100) pozitif boyanma tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar, Soini ve ark.'nın sonuçları ile paralellik göstermektedir (16). Çalışmamızda, mezotelyomalarda Claudin 4 ile hiçbir pozitivite izlenmemiştir. Oysa Soini ve ark., mezotelyomaların %23'ünde Claudin 4 pozitivitesi izlemişlerdir. Kullanılan antikoların farklı olması bu duruma neden olmuş olabilir. Soini ve ark., çalışmalarında Claudin 3 (poliklonal rabbit, Zymed, USA, Klon, Z23.JM) ve Claudin 4 (monoklonal mouse, Zymed, USA, Klon 3E2C1) belirleyicilerini kullanmışlardır. Bizim çalışmamızda ise Claudin-3 ("epitope specific rabbit antibody", Neomarkers, USA) ve Claudin-4 ("epitope specific rabbit antibody", Neomarkers, USA) belirleyicileri kullanılmıştır.

Facchetti ve ark., yaptıkları bir çalışmada, Claudin 4 ve 14 ile akciğer karsinomunun tamamında pozitiflik gösterirken (%100) 82 mezotelyomanın ise hiçbirinde (%) pozitiflik saptamamışlardır. Bu çalışmada kullandıkları Claudin 4 antikoru, Soini ve ark., kullandığı Claudin 4 antikoru ile aynı klondur. Ayrıca, benzer şekilde efüzyon sıvılarındaki reaktif mezotel ve malign mezotelyoma hücrelerinde Claudin 4 ile hiçbir pozitiflik izlemezerken, tüm akciğer karsinomu hücrelerinde pozitifite izlemişlerdir (20).

Bulgularımız Facchetti ve ark.'nın bulguları ile tam bir uyum göstermektedir. Ancak Soini ve ark.'nın saptadığı bulgular da dikkate alınarak immünohistokimyasal olarak Claudin 4 antikorunun daha geniş serilerde çalışılması gerektiği düşünülmüştür.

Malign mezotelyoma, ülkemizde halen önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir; bu nedenle tanı güçlüğü, ülkemiz için ayrı bir önem taşımaktadır. Çalışmamızda, immünohistokimyasal olarak Claudin 3 ile MPM'ların akciğer adenokarsinomlarına göre çok daha az boyandığı, Claudin 4 ile hiç boyanmadığı saptanmıştır. Bu immünohistokimya belirleyicilerinin, epitelyal tip MPM ve akciğer adenokarsinomu ayırıcı tanısında yardımcı olacağı ve özellikle Claudin 4'ün immünohistokimya paneline eklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. **Wagner JC, Sleggs CA, Marchand P:** Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province. *Br J Ind Med* 1960, 17:260-271
2. **Emri S, Akbulut H, Zorlu F, Dinçol D, Akay H, Güngen Y, İçli F:** Prognostic significance of Flow Cytometric DNA analysis in patients with malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* 2001, 33:109-114
3. **McDonald AD, McDonald J:** Malignant mesothelioma in North America. *Cancer* 1980, 46:1650-1656
4. **Senyigit A, Babayigit C, Gökırmak M, Topçu F, Asan E, Coskunel M, Işık R, Ertem M:** Incidence of malignant pleural mesothelioma due to environmental asbestos fiber exposure in the Southeast of Turkey. *Respiration* 2000, 67:610-614
5. **Baris I, Simonato I, Artvinli M, Pooley F, Saracci R, Skidmore J, Wagner C:** Epidemiological and environmental evidence of health effect of exposure to erionite fibers: A four-year study in the Cappadocian region of Turkey. *Int J Cancer* 1987, 39:10-17 (abstr)
6. **Battifora H.** The pleura. In Mills SE, Carter D, Greeson JK, Stoler MH, Oberman HA (Eds): *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 4th ed., Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2004, 1227-1248
7. **Kobashi Y, Matsushima T, Irei T:** Clinicopathological analysis of lung cancer resembling malignant pleural mesothelioma. *Respirology* 2005, 10:660-665
8. **Anderson JM, Van Itallie CM:** Tight junctions and the molecular basis for regulation of paracellular permeability. *Am J Physiol* 1995, 269:G467-G475
9. **Morin PJ:** Claudin proteins in human cancer: Promising new targets for diagnosis and therapy. *Cancer Res* 2005, 65:9603-9606
10. **Lamas M, Gonzalez-Mariscal L, Gutierrez R:** Presence of Claudins mRNA in the brain selective modulation of expression by kindling epilepsy. *Mol Brain Res* 2002, 104:250-254
11. **Acharya P, Beckel J, Ruiz WG, Wang E, Rojas R, Birder L, Apodaca G:** Distribution of the tight junction proteins ZO-1, Occludin and Claudin-4,-8 and -12 in bladder epithelium. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004, 287:305-318
12. **Gröne J, Weber B, Staub E, Heinze M, Klamann I, Pilarsky C, Hermann K, Castanos-Velez E, Röpcke S, Mann B, Rosenthal A, Buhr HJ:** Differential expression of genes encoding tight junction proteins in colorectal cancer: frequent dysregulation of Claudin-1, -8 and -12. *Int J Colorectal Dis*. 2007, 22:651-659
13. **Johnson AH, Frierson HE, Zaika A, Powell SM, Roche J, Crowe S, Moskaluk CA, El-Rifai W:** Expression of tight-junction protein Claudin-7 is an early event in gastric tumorigenesis. *Am J Pathol* 2005, 167:577-584
14. **Kominsky SL, Vali M, Korz D, Gabig TG, Weitzman SA, Argani P, Sukumar S:** Clostridium perfringens enterotoxin elicits rapid and specific cytolysis of breast carcinoma cells mediated through tight junction proteins Claudin 3 and 4. *Am J Pathol* 2004, 164:1627-1633
15. **Sobel G, Paska C, Szabo I, Kiss A, Kadar A, Schaff Z:** Increased expression of Claudins in cervical squamous intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. *Hum Pathol* 2005, 36:162-169
16. **Soini Y, Kinnula V, Kahlos K, Paakkö P.** Claudins in differential diagnosis between mesothelioma and metastatic adenocarcinoma of the pleura. *J Clin Pathol* 2006, 59:250-254
17. **Kushitani K, Takeshima Y, Amatya VJ, Furonaka O, Sakatani A, Inai K:** Immunohistochemical marker panels for distinguishing between epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Pathol Int* 2007, 57:190-199
18. **Gümmürdülü D, Zeren EH, Cagle PT, Kayaselçuk F, Alparslan N, Kocabas A, Tuncer I:** Specificity of MOC-31 and HBME-1 immunohistochemistry in the differential diagnosis of adenocarcinoma and malignant mesothelioma: a study on environmental malignant mesothelioma cases from Turkish villages. *Pathol Oncol Res* 2002, 8:188-193
19. **Ordóñez NG:** Immunohistochemical diagnosis of epithelioid mesothelioma. *Arch Pathol Lab Med* 2005, 129:1407-1414
20. **Facchetti F, Lonardi S, Gentili F, Bercich L, Falchetti M, Tardanico R, Baronchelli C, Lucini L, Santin A, Murer B:** Claudin 4 identifies a wide spectrum of epithelial neoplasms and represent a very useful marker for carcinoma versus mesothelioma diagnosis in pleural and peritoneal biopsies and effusions. *Virchows Arch* 2007, 451:669-680