

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

ESTUDIO PROSPECTIVO DE 156 DERRAMES PLEURALES

NUEVOS PARÁMETROS BIOLÓGICOS

TESIS DOCTORAL

D. ANTONIO VENTURA ALVAREZ

DIRECTOR

PROF. D. J. M^ª MONTURIOL RODRIGUEZ

MADRID, SEPTIEMBRE DE 1994

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

JOSE MARIA MONTURIOL RODRIGUEZ, Profesor Titular de Patología Médica I de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense, considera que el trabajo que lleva pro título ESTUDIO PROSPECTIVO DE CIENTO CINCUENTA Y SEIS DERRAMES PLEURALES. NUEVOS PARÁMETROS BIOLÓGICOS", presentada por D. Antonio Ventura Alvarez para obtención del Título académico de Doctor en Medicina y realizada bajo su dirección, cumple los requisitos del método científico y sus contenidos son adecuados al objetivo previsto.

V.º B.º
EL TUTOR (2)

El Director de la Tesis

Dr. MONTURIOL RODRIGUEZ

NIF 281.957-T

Fdo.: _____
(fecha y firma)

Fdo.: _____
(fecha y firma)

D.N.I.:

D.N.I.:

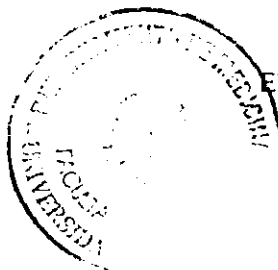
INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

. Prof. Dr. Carlos Perezagua Clamagirand, Director del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la UCM

Informa: Que una vez examinado el Trabajo presentado por D. Antonio Ventura Alvarez, titulado: "ESTUDIO PROSPECTIVO DE CIENTO CINCUENTA Y SEIS DERRAMES PLEURALES. NUEVOS PARAMETROS BIOLOGICOS", dirigido por el Prof. Dr. Angel José María Monturiol Rodriguez, este Departamento da su conformidad para que dicho trabajo sea leído y defendido en público con vistas a su aprobación como Tesis Doctoral.

Fecha reunión
Consejo Departamento

21-6-1994



El Director del Departamento

Fdo.: Prof. Carlos Perezagua
(fecha y firma)

14-9-1994

Expreso mi especial agradecimiento a la Dra Carmen Medina Ibarro del Servicio de Inmunología, a mis compañeros del Servicio de Neumología que me proporcionaron los pacientes y participaron en el estudio clínico y al Profesor Monturiol Rodríguez por su dirección y acertados consejos.

ÍNDICE

PRIMERA PARTE

	<u>página</u>
1.- <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2.- <u>GENERALIDADES</u>	4
2.1.- <u>LA PLEURA Y EL LÍQUIDO PLEURAL</u>	5
2.1.1.- CONSIDERACIONES ANATÓMICAS.....	5
2.1.2.- FORMACIÓN Y CIRCULACIÓN DEL LÍQUIDO PLEURAL.....	8
2.1.3.- COMPOSICIÓN DEL LÍQUIDO PLEURAL.....	13
2.2.- <u>MECANISMOS GENERALES DE LA INMUNIDAD</u>	15
2.2.1.- RECIRCULACIÓN Y COMPARTIMENTALIZACIÓN DE LOS LINFOCITOS.....	19
2.3.- <u>INMUNIDAD Y PULMÓN</u>	24
2.3.1.- LINFOCITOS Y PULMÓN.....	25
2.3.2.- LINFOQUINAS Y PULMÓN.....	27
2.4.- <u>INMUNIDAD Y PLEURA</u>	27
2.4.1.- INMUNIDAD HUMORAL EN EL LÍQUIDO PLEURAL.....	28
2.4.2.- INMUNIDAD CELULAR EN EL LÍQUIDO PLEURAL.....	29

	<u>página</u>
2.4.2.1.- CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS Y SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS.....	30
2.4.2.2.- ESTUDIOS FUNCIONALES LINFOCITARIOS.....	40
2.4.2.2.1.- Proliferación o transformación blástica.....	41
2.4.2.2.2.- Citotoxicidad.....	50
2.4.2.2.3.- Producción de citoquinas.....	52
2.4.3.- CITOQUINAS Y PLEURA.....	57
2.4.3.1.- IL2R SOLUBLES.....	57
2.4.3.1.1.- Generalidades.....	57
2.4.3.1.2.- IL2R en diferentes medios biológicos.....	62
2.4.3.1.3.- IL2R en líquido pleural.....	75
2.4.3.2.- CD8 SOLUBLES.....	77
2.4.3.2.1.- Generalidades.....	77
2.4.3.2.2.- CD8s en diferentes medios biológicos.....	79
2.4.3.2.3.- CD8s en líquido pleural.....	85
2.4.3.3.- INTERFERÓN GAMMA.....	85
2.4.3.3.1.- Generalidades.....	85
2.4.3.3.2.- IFN γ en diferentes medios biológicos.....	91
2.4.3.3.3.- IFN γ en líquido pleural.....	92
2.4.3.4.- TNF.....	100
2.4.3.4.1.- Generalidades.....	100

2.4.3.4.2.-TNF en diferentes medios biológicos.....	112
2.4.3.4.3.- TNF en líquido pleural.....	114

SEGUNDA PARTE

3.- <u>HIPÓTESIS</u>	116
4.- <u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	118
4.1.- <u>POBLACIÓN ESTUDIADA</u>	118
4.2.- <u>PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO</u>	120
4.3.- <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u>	123
5.- <u>RESULTADOS</u>	124
5.1.- <u>PLEURESÍAS TUBERCULOSAS</u>	126
5.1.1.- DATOS CLÍNICOS.....	126
5.1.2.- DATOS ANALÍTICOS.....	127
5.2.- <u>DERRAMES NEOFORMATIVOS</u>	133
5.2.1.- DATOS CLÍNICOS.....	133
5.2.2.- DATOS ANALÍTICOS.....	135

	<u>página</u>
5.3.- <u>TRASUDADOS</u>	139
5.3.1.- DATOS CLÍNICOS	139
5.3.2.- DATOS ANALÍTICOS.....	139
5.4.- <u>PLEURESÍAS INESPECÍFICAS</u>	143
5.4.1.- DATOS CLÍNICOS.....	143
5.4.2.-DATOS ANALÍTICOS.....	144
5.5.- <u>EMPIEMAS</u>	146
5.5.1.- DATOS CLÍNICOS.....	146
5.5.2.- DATOS ANALÍTICOS.....	147
5.6.- <u>TROMBOEMBOLISMOS</u>	149
5.7.- <u>PROCESOS HEMATOLÓGICOS MALIGNOS</u>	150
5.8.- <u>NO DIAGNOSTICADOS</u>	152
5.9.- <u>ANÁLISIS COMPARATIVO</u>	152
5.10.- <u>CORRELACIONES</u>	163
6.- <u>DISCUSIÓN</u>	170
6.1.- <u>PROBLEMAS GENERALES</u>	170
6.2.- <u>CUESTIONES PLANTEADAS</u>	177
6.2.1.-1ª CUESTIÓN: PAPEL DE LOS LINFOCITOS CD8 EN LA TUBERCULOSIS.....	177
6.2.2.- 2ª CUESTIÓN: EL TNF EN LA TUBERCULOSIS.....	181

6.2.3.- 3ª CUESTION: ACTIVACIÓN LINFOCITARIA EN LA DEFENSA ANTITUMORAL.....	184
6.3.- <u>DESCRIPCIÓN DE CASOS</u>	185
6.4.- <u>PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS</u>	193
6.4.1.- ADENOSINDESAMINASA.....	193
6.4.2.-IL2R SOLUBLES.....	201
6.4.3.-CD8 SOLUBLES.....	210
6.4.4.-INTERFERÓN GAMMA.....	218
6.4.5.-TNF.....	225
7.- <u>RESUMEN</u>	234
8.- <u>CONCLUSIONES</u>	247

PRIMERA PARTE

1.- INTRODUCCIÓN

Los primeros estudios químicos y citológicos del líquido pleural se remontan al siglo pasado, con nombres como Dieulafoy, Méhu, Eichhorst, etc. Con la introducción de los análisis químicos automatizados las clásicas determinaciones de la albúmina, la glucosa, etc. se ampliaron hasta abarcar prácticamente todas las posibilidades que ofrecen los modernos laboratorios de bioquímica clínica hasta el punto de que ese terreno parece casi agotado. (Quizá no del todo y prueba de ello es el reciente interés sobre un parámetro clásico como es el colesterol). En todo caso nuevas perspectivas se abrieron con la puesta a punto de las modernas técnicas inmunológicas y, sobre todo, con la creación en muchos hospitales de laboratorios de inmunología que han permitido que ciertos procedimientos analíticos hayan pasado de la investigación fundamental a la utilización práctica en la clínica.

En lo que se refiere al líquido pleural si bien la dosificación de algunos parámetros biológicos, fundamentalmente los relacionados con la inmunidad humoral

como las inmunoglobulinas, el complemento, etc. se remontan ya a bastantes años, las investigaciones sobre los aspectos mas recientes en este campo y mas concretamente sobre la inmunidad celular no han proliferado excesivamente. De hecho han sido mas precoces o mas abundantes los estudios realizados sobre otros fluidos como el lavado broncoalveolar o sobre el líquido sinovial, obviamente de obtención mas difícil.

Es éste, por lo tanto, un campo en el que pueden encontrar amplia aplicación las mas modernas técnicas analíticas, por ejemplo las que sirven para identificar y cuantificar los diferentes tipos de células y de citoquinas implicados en la patogenia de distintas enfermedades pleuropulmonares. De lo rentable que pueden resultar estos estudios puede ser una muestra la utilidad que ha encontrado en la clínica la determinación de la adenosindesaminasa para el diagnóstico de la pleuritis tuberculosa y, posiblemente también, la del interferón gamma.

En suma, tenemos conocimientos puntuales como los citados, pero nos falta una caracterización inmunológica amplia de los diferentes tipos de líquidos pleurales con los que nos encontramos en la clínica. Intentando aportar datos que contribuyan a esa caracterización, en este trabajo se ha abordado el estudio de cuatro parámetros, los receptores solubles de la interleuquina 2, las moléculas CD8 solubles,

el interferón gamma y el factor de necrosis tumoral, relacionándolos con los correspondientes valores en sangre así como con una serie de variables clínicas, analíticas, etc.

2.- GENERALIDADES

Considero conveniente hacer un resumen de aquellos datos sobre la fisiología y la anatomía de la pleura que establezcan el escenario, los condicionantes y las coordenadas en las que se va a desarrollar la patología. Una comprensión de los mecanismos de producción, del sentido y de la cuantía del flujo de líquido en la cavidad pleural, de la procedencia de las células que lo pueblan, etc. es necesaria para poder valorar los posibles hallazgos en el estudio emprendido. Como también es pertinente un recuerdo del entramado inmunitario pulmonar, de la ubicación y circulación de las poblaciones linfocitarias y del significado fisiológico o patológico de las citoquinas.

Tras estos conceptos generales se expone el estado actual de los conocimientos sobre los aspectos inmunológicos del líquido pleural según el siguiente orden: Primeramente se hace un resumen de los trabajos mas importantes que establecieron la cuantía y las proporciones relativas de las poblaciones linfocitarias, trabajos que distinguían sólo las células T y las B en un primer momento para separar posteriormente las diferentes subpoblaciones cuando se dispuso de los correspondientes anticuerpos monoclonales.

En un segundo apartado se hace referencia a aquellos trabajos que consideran a los elementos celulares del fluido

pleural bajo sus aspectos mas funcionales, siempre desde el punto de vista inmunológico, considerando su capacidad de transformación blástica, la citotoxicidad, producción de citoquinas, etc.

Finalmente dentro de esta primera parte, y tras unas generalidades sobre los parámetros inmunológicos considerados en esta tesis, se hace una puesta al día de los conocimientos sobre la presencia de cada uno de ellos en suero y otros medios biológicos en diferentes entidades patológicas y, cuando existen datos en la literatura, en pleura.

2 1.-LA PLEURA Y EL LÍQUIDO PLEURAL

2.1.1.-CONSIDERACIONES ANATÓMICAS

El espacio pleural no es un espacio virtual sino real, si bien de muy pequeño volumen. Una distancia de unas diez a veinte micras separa el mesotelio de las pleuras visceral y parietal lo que, unido a un área de las dos hojas pleurales de unos dos mil centímetros cuadrados en un hombre de 70 kgs de peso, podría permitir por simples operaciones matemáticas calcular la cantidad de líquido pleural normal. En realidad ésta no sería una aproximación exacta ya que en muchos

lugares las hojas pleurales están en aposición directa, por lo que se ha intentado obtener una idea sobre el volumen de fluido pleural por otros procedimientos. Son conocidas las determinaciones de Yamada (citado por Agostoni¹) en un número amplio de soldados en los que, mediante punción en noveno o décimo espacio intercostal, en la línea axilar posterior, obtuvo en algunos casos 10 a 20 mls de líquido pleural. Röhrer, (cit. Agostoni¹), menciona la cifra de un volumen de líquido en el ser humano de dos mililitros, aunque sin proporcionar los datos en los que se basaba. Otras cifras han sido obtenidas en animales de laboratorio pero posiblemente los datos se puedan extrapolar al ser humano calculándolo en relación al peso y de esta manera la mayoría de los autores aceptan un volumen de líquido pleural de 0.1 a 0.2 mls por kilogramo de peso corporal.

Como sabemos la pleura consta de varias capas, el mesotelio, de 5 a 8 micras de espesor, la capa submesotelial casi desprovista de células y de vasos, una capa subpleural laxa, rica en vasos sanguíneos y linfáticos, en nervios y en células y un estrato fibroelástico profundo. En la pleura parietal, a nivel de la submesotelial hay una lámina cribiforme con lagunas linfáticas y poros que comunican los linfáticos submesoteliales y el espacio pleural. Los poros, primeramente descritos en la pleura parietal del conejo, de forma redondeada u ovalada y de 2 a 6 micras de diámetro han sido observados también en la pleura mediastínica y parietal

del ser humano². Las células mesoteliales tienen un espesor entre una y cuatro micras y su superficie está cubierta de microvellosidades de 0,1 micras de diámetro y 3 micras de longitud. Existen aberturas entre las células mesoteliales (estomas) de dos a doce milimicras, visibles en la pleura parietal con el microscopio electrónico, que comunican directamente con las lagunas linfáticas mencionadas antes y que son el lugar de salida del líquido pleural, de las proteínas y de las células.

Es conveniente, para entender el flujo del líquido, recordar el esquema de la circulación sanguínea y linfática de la pleura. Mientras que en los animales con pleura fina la pleura visceral está irrigada por los vasos pulmonares en los de pleura mas gruesa y concretamente en el hombre hoy día existe un acuerdo general en que esta capa serosa está regada por ramas de las arterias bronquiales (el concepto clásico era que lo hacían ramas de la arteria pulmonar). Las arterias terminales y las arteriolas confluyen en una red capilar mas amplia que la de los capilares alveolares y drenan en las venas pulmonares. La pleura parietal está irrigada por ramas arteriales sistémicas (intercostales, mamarias, bronquiales, etc) y las venas desaguan en las venas bronquiales, en el tronco venoso braquiocefálico y en la cava inferior.

En cuanto a los linfáticos, consistentes en un plexo superficial en el tejido conjuntivo subpleural y un plexo profundo alrededor de los bronquiolos y de los vasos sanguíneos, drenan en los ganglios hiliares y mediastínicos fundamentalmente. El drenaje del líquido pleural tiene lugar en parte por los estomas, observados primeramente por v. Recklinghausen en 1860 y que, como hemos visto, han sido confirmados recientemente. Estos estomas, que en el hombre existen en proporción de uno por milímetro cuadrado, conectan con las mencionadas lagunas linfáticas por debajo de la capa mesotelial y parecen estar cerrados en su parte final por el endotelio de los linfáticos para formar válvulas. Además de dirigirse a los ganglios la linfa, a la que se ha añadido parte del fluido pleural, puede ganar directamente el sistema vascular a través del gran tronco linfático a la derecha o del canal torácico a la izquierda. Desde los ganglios la linfa, que ha llegado de la pleura, va a la sangre venosa por las grandes vías linfáticas.

2.1.2.-FORMACIÓN Y CIRCULACIÓN DEL LÍQUIDO PLEURAL

La expansión de la pared torácica y la retracción pulmonar tienden a separar las hojas de la pleura. Como éstas son permeables a los líquidos y a los gases el pulmón se mantiene junto a la pared torácica sólo porque existen mecanismos que evitan que el líquido y el gas se acumulen en

la cavidad. Existe así un mecanismo que absorbe el líquido pero también otro que impide que la reabsorción sea completa. Desde Neergard³ se conoce que el flujo de líquido pleural depende de las resultantes entre presiones hidrostáticas y coloidosmóticas de pleura visceral, líquido y pleura parietal. La presión hidrostática es mayor en pleura parietal que en pleura visceral y esto a pesar de que, en contra de lo que se creía, en el hombre como hemos dicho la irrigación de pleura visceral es a través de arterias sistémicas. Lo que ocurre es que la mayor parte del desagüe de éstas se hace en el sistema de venas pulmonares con lo que, en definitiva, la presión es menor. El resultado neto es un gradiente de presiones, de mayor a menor, pleura parietal-líquido-pleura visceral y un paso de líquido fundamentalmente en ese sentido.

Cuando el volumen de líquido pleural se reduce suficientemente su presión cae por debajo de la determinada por el retroceso elástico de pared y de pulmón, llegándose a un equilibrio que impide una reabsorción ulterior. La absorción del líquido de la cavidad pleural tiene lugar a través de la sangre y de los linfáticos. Las grandes moléculas y las partículas sólo a través de los linfáticos. En estado normal el líquido se filtra en la terminación arterial de los capilares y se reabsorbe en un 80-90% en la terminación venosa de éstos. El resto vuelve al sistema vascular por las vías linfáticas.

La formación del líquido pleural ha sido medida en animales con la pleura visceral regada por la circulación sistémica como el cordero o por la circulación pulmonar como el conejo (recordemos que el primero es el caso del hombre). En ambos la proporción de formación de líquido pleural es la misma. De todas formas la pleura visceral, al menos en condiciones experimentales y patológicas, puede contribuir en mayor o menor medida. Una vez formado, el líquido pleural fluye a lo largo de un gradiente de presión hacia las cisuras interlobares, hacia el hilio y hacia las regiones dependientes, en el espacio pleural. Finalmente drena en parte por los estomas que conectan el espacio pleural a los linfáticos parietales pleurales.

El movimiento de los fluidos se opera principalmente a nivel de los vasos sanguíneos mientras que el *transfert* de las grandes moléculas y de las células tiene lugar a nivel de los linfáticos. Este hecho puede condicionar el paso de los linfocitos y de las citoquinas a la cavidad pleural. Las microvellosidades de la célula mesotelial aumentan la superficie de absorción, que se completa con el sistema de microvesículas de las células. La *zónula adherens* es permeable a los cuerpos de débil peso molecular y así los espacios intercelulares no representan un obstáculo para el paso de moléculas pequeñas. La absorción de sustancias de mayor peso molecular puede tener lugar a través de la célula por el sistema microvesicular.

La íntima proximidad del espacio pleural y del espacio intersticial pulmonar hace que nos planteemos si el líquido puede fluir de un compartimento al otro, cuestión que tiene gran trascendencia en la interpretación del tráfico linfocitario y por lo tanto en el significado de los cambios de poblaciones celulares y de mediadores inmunológicos en la cavidad pleural.

En condiciones normales en el pulmón, como en todos los órganos, existe un paso neto de líquido y proteínas de los vasos al espacio extravascular y este filtrado intersticial normal es drenado por los linfáticos. De esta manera parece que el líquido pleural normal tiene poca o ninguna relación con el líquido intersticial pulmonar. La situación puede ser distinta en el caso de que existan fenómenos inflamatorios o desequilibrios en el juego de presiones.

Al aumentar la filtración vascular parte del líquido se drena por los linfáticos y parte va al espacio peribronquial e intersticial. La ruta de aclaramiento de este edema no está muy clara pero en todo caso parte puede ir al espacio pleural. El flujo del intersticio al espacio pleural está en función del gradiente de presión a través de la pleura visceral y de la permeabilidad de esta membrana serosa. La presión subpleural es mas positiva que la de la cavidad pleural y este gradiente aumenta con el edema. Las membranas pleurales son permeables a los líquidos y a las proteínas

ofreciendo poca resistencia al movimiento de ambos aunque parece que *in vivo* es mayor que experimentalmente. La mayor barrera la constituye la membrana endotelial de los microvasos subpleurales.

En la producción del derrame de estasis se ha estudiado, tanto experimentalmente como en la clínica la influencia del aumento de presión sistémica y de la circulación pulmonar sin que haya conclusiones claras al respecto. En todo caso, en el edema hidrostático el líquido abandona el pulmón a través de la pleura así como por los linfáticos y otras vías y una vez en el espacio pleural sale por los linfáticos de la pleura parietal.

En cuanto al edema de permeabilidad se han realizado estudios con alfanafiltiurea¹, con etclorvinol⁵, con ácido oleico⁶, etc. concluyéndose que las vías y el flujo de líquido a la pleura son similares a los del edema hidrostático. Las observaciones clínicas muestran que el derrame pleural es tan frecuente en el edema hidrostático como en el de permeabilidad.

Es interesante considerar también las relaciones entre el líquido alveolar y el pleural. Si el epitelio alveolar está indemne el fluido alveolar forma un *pool* separado y su contenido proteico no es igual al del edema intersticial y al del líquido pleural. Cuando el epitelio alveolar está

severamente dañado el líquido pleural es representativo del líquido alveolar. Este concepto es importante cuando nos planteemos, bien bajo un aspecto puramente conceptual o en el curso de algún estudio experimental, las relaciones que puedan existir entre los niveles de citoquinas o de cualquier otro marcador del fluido del lavado alveolar y del líquido pleural.

Se ha medido en algunos animales la proporción de flujo del líquido pleural dándose las cifras de 0.01/kg/hora en la oveja⁷, de 0.017 ml/Kg/h en el conejo⁸ y de 0.020 ml/Kg/h en el perro^{9,10}. En el hombre se ha deducido que serían 0.6 a 0.12 ml en un sujeto de 60 kgs de peso.

2.1.3.-COMPOSICIÓN DEL LÍQUIDO PLEURAL

Una vez visto como se forma en circunstancias normales y patológicas el fluido pleural consideraremos cual es su composición celular. Es problemático hablar de cifras normales de células, aunque el conocimiento de esas cifras nos sería muy útil para valorar las alteraciones que encontremos en la patología. Se puede decir que desconocemos cual es la composición celular real del líquido normal y ese es el motivo por el que, como veremos, para intentar una aproximación tendremos que considerar como control los trasudados.

Son muy escasos los trabajos que se han dedicado a este tema. Stauffer¹¹ estudió el líquido pleural de conejos normales proporcionando las siguientes cifras: células totales 1.503 por milímetro cúbico con un 70% de células monocíticas, un 11% de linfocitos, un 7.5% de macrófagos, un 1.9% de polimorfonucleares y un 9% de células mesoteliales. Este autor cita como único estudio previo sobre el fluido pleural de conejos el de Miserocchi¹² quien comunicó un conteo celular de 2.422 por mm³, con 60.8% de monocitos, 31.8% de células mesoteliales y 7.4% de linfocitos. Hay que señalar que en este trabajo no se intenta distinguir a los macrófagos de las otras células mononucleares lo que representa una gran dificultad para interpretar estos datos. Por otra parte Stauffer, que se refiere a las células monocíticas como similares a los monocitos sanguíneos, sí cree diferenciar claramente con su método de estudio (tinción de Papanicolaou) a los monocitos de los macrófagos. En el perro Miserocchi¹² encuentra 2.208 células por milímetro cúbico de las que 69% eran mesoteliales, 28% monocitos y sólo 2.2% linfocitos.

El único estudio conocido sobre el contenido celular del espacio pleural normal en el hombre es el de Yamada (1933) quien, en los estudios antes citados¹ en soldados japoneses, comunica unas cifras de células totales de 4.500/mm³, con 53.7% de células similares a los monocitos,

10.2% de linfocitos, 3.6% de granulocitos y 29.5% de células mesoteliales.

Hay que mencionar que tanto las series celulares en sangre periférica como la bioquímica del líquido pleural son muy similares en el conejo y en el hombre por lo que la extrapolación de los datos biológicos de este medio que en el hombre no conocemos puede ser razonable.

2.2- MECANISMOS GENERALES DE LA INMUNIDAD

Antes de introducirnos en el tema de las subpoblaciones linfocitarias y de las citoquinas en el líquido pleural es oportuno exponer, aunque sea sucintamente, el esquema de la inmunidad celular para aclarar donde se sitúan en este esquema estos importantes mediadores y precisar más concretamente de donde proceden y que funciones cumplen la interleuquina 2, el interferón gamma, el factor de necrosis tumoral y los antígenos de superficie CD8.

Los protagonistas principales en la inmunidad celular son las APC o células presentadoras del antígeno, los linfocitos T y los linfocitos B. Dentro de los linfocitos T se distinguen la subpoblación T4 y la T8. La primera se ha identificado con una función inductora-colaboradora mientras que a la T8 se le ha adscrito un papel citotóxico-supresor.

Hoy no se considera que haya un estrecho paralelismo entre fenotipo y función pero el esquema general sigue siendo válido. En cuanto a la nomenclatura actual los T4 se conocen como CD4+ y los T8 como CD8+ o simplemente como linfocitos CD4 y CD8. El primer paso es el procesamiento del antígeno y su presentación a los linfocitos T colaboradores. Estos sólo son capaces de reconocer a los antígenos si les son presentados unidos a una molécula del MHC, el complejo mayor de histocompatibilidad, de tipo II, moléculas que no existen en todas las células sino precisamente en las APC y similares. Los macrófagos, tras realizar la fagocitosis o pinocitosis del inmunógeno, lo modifican en sus vacuolas citoplasmáticas, lo despliegan o lo lisan y finalmente unos fragmentos del inmunógeno, los epitopos inmunogénicos, se unen a moléculas de las proteínas de clase II del MHC, son transportados a la superficie celular y son reconocidos por el linfocito CD4. En ese momento esos linfocitos se activan siendo necesario para ello que concurren dos señales. Una es proporcionada por la presentación del complejo antígeno-MHC II. La otra está representada por la interleuquina 1 (IL-1), una proteína soluble producida por la APC. Esas dos señales dan lugar a que en la superficie de los linfocitos aparezcan receptores para una segunda linfoquina, la interleuquina 2 (IL-2), así como una batería de factores de crecimiento y de diferenciación celular importantes para la activación de las células B y de los macrófagos. La IL-2 induce el crecimiento

de células que tienen receptores IL-2, como las propias células colaboradoras o las células T citotóxicas.

Las linfocitos CD4 estimulan o disparan a los CD8, células citotóxicas cuya función es destruir a aquellas células que expresan antígenos extraños o no propios. Estas células CD8 reconocen al antígeno asociado a los MHC de clase I que se encuentran en todas las células nucleadas del organismo. Están capacitadas para destruir el antígeno (un virus por ejemplo) introducido en cualquier célula. Las células T citotóxicas asimismo requieren dos señales: una es la unión antígeno-MHC I y la otra la IL-2.

Por otra parte se ponen en marcha también las células B. Algunas de ellas son capaces de unirse al antígeno a través de sus receptores del antígeno que son verdaderamente moléculas de anticuerpo unidas a la membrana. Esta unión del antígeno es una señal para la activación de la célula B pero no es suficiente. Hacen falta otras linfoquinas segregadas por las células T colaboradoras todavía no completamente caracterizadas y que de forma descriptiva se nombraron como factores de crecimiento de las células B y factores de diferenciación de las células B (BCGF y BCDF). Unas células B proliferan y se convierten en células plasmáticas. Otras que quizá han recibido insuficiente BCDF forman un depósito de células de memoria.

En la fase efectora de la inmunidad, tanto natural como específica intervienen las moléculas proteicas circulantes conocidas como citoquinas o interleuquinas. En la natural sobre todo las de origen macrofágico, las monoquinas y en la específica las procedentes de los linfocitos, las linfoquinas (hoy día nos referimos a ellas globalmente como citoquinas).

En la historia de estos mediadores se pueden considerar tres etapas. Una primera, de 1950 a 1970, en la que se describieron una serie de factores proteicos que mediaban funciones particulares en los bioensayos. Otra fase, en los años setenta, en la que muchas de estas sustancias se caracterizaron y se purificaron y se vió que algunos efectos descritos por diferentes autores eran mediados por las mismas moléculas, que en aquella época recibieron el nombre de interleuquinas. A partir de los años ochenta tuvo lugar una identificación mas precisa gracias a los modernos métodos genéticos y de ingeniería molecular describiéndose nuevas citoquinas y nuevas funciones.

La secreción de las citoquinas es breve y autolimitada, generalmente no se encuentran almacenadas dentro de las células y su síntesis es transitoria. Una misma citoquina puede ser producida por diferentes células y asimismo puede actuar sobre células de distinto tipo. Sus acciones son a menudo redundantes, influyendo en la acción y en la síntesis

de otras citoquinas lo que justifica el extendido término de "cascadas de citoquinas". De forma similar a las hormonas actúan a través de receptores específicos de membrana cuya expresión es regulada muchas veces por diferentes señales.

La descripción mas detallada de las citoquinas mas directamente implicadas en esta tesis se hace en el apartado 2.4.3 de "citoquinas y pleura"

2.2.1.-RECIRCULACION DE LOS LINFOCITOS. COMPARTIMENTALIZACIÓN.

Para entender el significado de las variaciones en las cifras de linfocitos y sus productos las linfoquinas en la cavidad pleural es necesario aclarar los conceptos de recirculación y de compartimentalización.

Puesto que la población total de linfocitos en un caso individual puede responder a muchos antígenos diferentes, sólo un pequeño número de ellos puede reconocer a un antígeno dado. Por otro lado hay que tener en cuenta que los antígenos pueden entrar por diferentes puertas y encontrarse en cualquier lugar del organismo. Por ello y para aumentar las posibilidades de que las células inmunocompetentes "vean" al antígeno los linfocitos continuamente recirculan recorriendo practicamente todos los lugares de la anatomía.

siendo capaces de salir de la circulación y de dirigirse de forma selectiva a un órgano o tejido determinado, volver a abandonarlo o permanecer en él, etc., según las necesidades defensivas en cada momento. Además este tráfico no se hace de una forma aleatoria y ciega sino, por decirlo de alguna manera, con un sentido, con un plan determinado dependiendo del órgano de que se trate, del antígeno implicado, etc.

Una vez en los tejidos pueden permanecer allí o seguir su camino a través del endotelio linfático a la circulación linfática. Los linfocitos de la corriente linfática o bien se dirigen a un ganglio por los linfáticos aferentes a éste o van a la circulación sanguínea a través del conducto torácico. Esto significa que se establecen comunicaciones muy eficaces entre la sangre, la linfa, los lugares de entrada de los antígenos y los tejidos en donde tienen lugar las respuestas inmunes.

Cuando se inyectan linfocitos marcados en el ratón y se estudia secuencialmente su destino se ve que en la primera hora se encuentran en el lecho capilar del pulmón y después disminuyen en este órgano y empiezan a acumularse en el bazo, en las placas de Peyer y en los ganglios. Las distintas clases de linfocitos emplean diferente tiempo pero la mayoría sobrepasan la red capilar pulmonar, la hepática y la portal en su camino hacia los órganos linfoides periféricos.

Varios tipos de linfocitos entran y salen de los órganos y tejidos en respuesta a diferentes estímulos inflamatorios o antigénicos. El tiempo de tránsito puede variar según el antígeno esté presente o no. Así en la piel no estimulada el paso es relativamente rápido pero durante la sensibilización por ejemplo con un alérgeno de contacto o en relación a una reacción de hipersensibilidad de tipo tardío los linfocitos son retenidos *in situ* durante más tiempo. La primera respuesta en la piel es la aparición de polimorfonucleares o macrófagos aunque ya desde el principio los pequeños linfocitos o los linfoblastos pueden extravasarse de 20 a 30 veces más de lo normal. Es interesante comparar los acontecimientos en estas reacciones locales con la secuencia de cambios celulares en los derrames pleurales.

En ausencia de estímulo antigénico o inflamatorio la mayoría de los tejidos tiene pocos linfocitos y además tienen un tiempo de tránsito rápido. Hay una concentración entre 200 y 800 linfocitos por milímetro cúbico en la linfa aferente (linfa periférica) de todos los tejidos excepto el hígado y la mucosa intestinal. Existen mecanismos de selección en la red capilar porque en los territorios no mucosos la proporción de células B que se extravasan es menor que la de células T. En la linfa periférica y en todos los fluidos extravasculares predominan claramente los

linfocitos T. con una relación T:B de 7,6:1 en la linfa mientras que es sólo de 2:1 en sangre periférica.

Tras el estímulo antigénico se producen alteraciones evidentes en el tráfico linfocitario. Tiene lugar un aumento de linfocitos así como la aparición de algunas células blásticas en el linfático aferente que drena el lugar de inyección del antígeno pero, en general, lo primero que aparece es un aumento de polimorfonucleares y después de macrófagos.

Al existir un aumento de la permeabilidad vascular con la consiguiente pérdida de proteínas tras la deposición del antígeno, se han hecho consideraciones sobre el papel de éstas en la extravasación de las células mononucleares en las reacciones de hipersensibilidad retardada pues la albúmina se comporta como quimioattractora para los linfocitos *in vitro* y ésto podría ocurrir también *in vivo*. Todo ésto puede tener relevancia para entender lo que ocurre en la pleura. Sin embargo las cosas no son tan simples. Así en tejidos como el ovario en los que hay gran permeabilidad con pérdida de proteínas, la concentración celular en la linfa es muy baja y en experiencias en las que se aumenta la permeabilidad y la trasudación de proteínas por ejemplo con serotonina o con oxalazona no se promueve la extravasación de linfocitos o de linfoblastos.

Se pueden apreciar diferencias en la recirculación de los distintos tipos de linfocitos. Así los T no activados tienden a alojarse preferentemente en los ganglios periféricos mientras que los B no activados lo hacen en lugares de las mucosas como el tejido linfoide asociado al bronquio (BALT) o el tejido linfoide asociado al intestino (GALT). Los linfoblastos activados se distribuyen según su origen de tal manera que los procedentes de ganglios mesentéricos se dirigen al intestino, los de ganglios periféricos a los tejidos periféricos y los del BALT al pulmón.

Las células vírgenes para el antígeno o células *naives* y las células de memoria también siguen vías diferentes. Las *naives* entran directamente en los ganglios desde la sangre y en ellos pueden muestrear la presencia de antígenos traídos por las vías linfáticas. En cambio las células de memoria se dirigen más directamente a los lugares de exposición antigénica y a los sitios de inflamación en los tejidos periféricos como las placas de Peyer.

Se puede resumir este capítulo diciendo que de forma continua tiene lugar un complicado tráfico linfocitario entre la sangre, la linfa y los distintos órganos linfoides y no linfoides, existiendo un componente fisiológico en la organización de este tráfico, inherente al tipo y origen de los elementos celulares y previo e independiente de

cualquier aprendizaje inmunológico y sobre esta base constitucional otras directrices que dependen del contacto antigénico. Finalmente, y dependiendo de una serie de circunstancias, aquellos linfocitos que han sido sensibilizados específicamente se dirigen y se acumulan de forma preferente en el órgano o en el tejido en el que están teniendo lugar los acontecimientos que les atañen directamente. Y además, al lado de esta compartimentalización profesional o especializada de los linfocitos puede existir un atrapamiento inespecífico de éstos en el escenario de la inflamación lo que complica en gran manera la interpretación de cualquier cambio en los elementos celulares inmunológicos o en sus productos de secreción.

2.3.- INMUNIDAD Y PULMON

Si bien en la historia de la Inmunología la atención especial al pulmón data de hace muchos años, al menos en el aspecto de sensibilización alérgica (Cooke, 1916), la verdad es que posteriormente otros órganos como el intestino parecieron atraer más el interés de los inmunólogos hasta el punto de hacer decir a Bienenstock¹³ que "el pulmón es un intestino que respira" queriendo hacer hincapié en la idea de que el pulmón juega un papel al menos tan importante como el tubo digestivo en los mecanismos de la inmunidad.

Realmente hoy, y a pesar de que el GALT se describió antes que el BALT, consideramos que los órganos respiratorios ocupan un lugar preeminente en el complicado mundo de la inmunología y de la inmunopatología.

2.3.1.-LINFOCITOS Y PULMON

En el parénquima pulmonar en condiciones normales existen pocos linfocitos y los que hay se encuentran en localizaciones definidas. En el lavado broncoalveolar también son relativamente escasos, de menos de un diez por ciento. La población linfocitaria del pulmón se agrupa principalmente en el BALT, en agregados linforeticulares poco definidos y, naturalmente, en los ganglios linfáticos, siendo escasos en el intersticio.

El BALT está constituido por folículos linfoides adosados al epitelio bronquial, entre éste y una rama dependiente de la circulación bronquial. Consta de un linfoepitelio especial con células aplanadas desprovistas de cilios a través de las cuales puede pasar el material antigénico de la luz bronquial a los folículos linfoides. En éstos hay macrófagos y linfocitos T y B, existiendo un tráfico en cierto modo selectivo de estas células en el sentido de que células T y B extraídas del pulmón o de los ganglios regionales y reinyectadas intravenosamente se

localizan preferentemente en el pulmón y en los ganglios intratorácicos y asimismo clones linfocitarios pulmonares expandidos y activados por un antígeno inhalado recirculan de forma preferente a otras mucosas.

Además de en el BALT los linfocitos se agrupan en colecciones con estructura menos definida, los agregados linforeticulares existentes junto a la mucosa bronquial, en los septos e intersticio pulmonar y en la pleura.

Como se ha indicado antes los linfocitos del lavado alveolar son escasos, normalmente del cinco al diez por ciento pero por otra parte son los mejor estudiados. El 60% de ellos son células T y el 10% células B, existiendo un 30% de células nulas. Los linfocitos alveolares pueden mostrar actividades diversas como citotoxicidad, producción de linfoquinas, etc, aunque en el pulmón normal generalmente están hiporeactivos en comparación con los de la sangre. En general el fenotipo de los linfocitos del intersticio pulmonar es similar al de los linfocitos del lavado alveolar.

En cuanto a los linfocitos de los ganglios hiliares y paratraqueales se sabe que, al menos en lo que respecta a los B, las células antígeno-reactivas aparecen primero en los ganglios y posteriormente en el pulmón. Con los linfocitos T no está tan claro pero parece que el ganglio no

es tan importante como primer lugar de formación. Los linfoblastos que salen de estos ganglios, cuando son marcados y reinyectados, se dirigen preferentemente al pulmón, quizá orientados por diferentes adreínas.

2.3.2.-LINFOQUINAS Y PULMON

Este último apartado introductorio al tema de pleura e inmunidad es pertinente dadas las obvias relaciones anatómicas, fisiológicas y patológicas entre pleura y pulmón. Sin embargo sólo me detendré en recordar que la mayor parte de las citoquinas conocidas se han relacionado de una u otra forma con el pulmón y que gran parte de los conocimientos que tenemos en este terreno han sido logrados a través de la gran cantera de elementos celulares inmunológicos que representa el lavado broncoalveolar, y sobre todo de los macrofagos.

2.4.-INMUNIDAD Y PLEURA

No se considera la pleura, obviamente, como un órgano especialmente "inmunológico". Ni parece ocupar un lugar importante en la jerarquía de órganos o tejidos relacionados con el sistema inmunitario ni, fuera de las clásicas pleuritis lúpica o reumatoidea, la vemos como una diana

principal para las enfermedades de patogenia inmune, como son por ejemplo el riñón, el sistema nervioso central o el propio parénquima pulmonar. Hay algo, sin embargo, que hace que debamos empezar a asociar mas estrechamente pleura e inmunidad y es el hecho, tan simple, del predominio de los linfocitos, célula inmunitaria por excelencia, en la fórmula leucocitaria de los líquidos pleurales de casi cualquier proceso patológico que afecte a esta serosa. Parece que no debe extrañar este predominio linfocitario en enfermedades como la tuberculosis, basada patogenicamente en una inmunidad celular de tipo retardado, pero en otros procesos no se ve tan claro el motivo de la presencia de los linfocitos en el fluido pleural.

2.4.1.-INMUNIDAD HUMORAL EN EL LÍQUIDO PLEURAL

Diferentes aspectos de la inmunidad humoral en líquido pleural han despertado el interés de los investigadores desde hace tiempo, pues las técnicas de laboratorio necesarias han precedido y han estado mas disponibles que los muy sofisticados procedimientos que generalmente requiere el estudio de la inmunidad celular. No me extenderé en este capítulo. Sólo recordar que pocos marcadores inmunológicos se han revelado de interés práctico para el clínico.

Se han dosificado las inmunoglobulinas sin que de ello se desprenda ninguna aportación fundamental. El complemento y sus fracciones han sido el objeto de estudios paralelos en líquido pleural y en suero habiéndose encontrado un descenso marcado de complemento total y de C3 en el exudado pleural reumatoideo. Se ha considerado de valor diagnóstico la dosificación del factor reumatoide, la de los anticuerpos antinuclerares, etc.

En cuanto a marcadores inmunológicos de malignidad se han estudiado la alfa fetoproteína y el antígeno carcinoembrionario y este último se considera un parámetro potencialmente útil en el diagnóstico.

Otros campos, sobre todo el de las técnicas inmunológicas diagnósticas en infecciones pleurales, quedan ampliamente abiertos todavía al interés de los investigadores.

2.4.2.-INMUNIDAD CELULAR EN EL LÍQUIDO PLEURAL

Estando esta tesis fundamentalmente centrada en una serie de marcadores biológicos de los mecanismos de la inmunidad celular producidos por los linfocitos interesa exponer con cierto detalle lo que se conoce hoy día sobre

los linfocitos de la pleura, su papel, sus actividades y sus productos de secreción.

2.4.2.1.-CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS T Y B Y SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS.

Yam¹⁴ en 1967 fué de los primeros autores que prestó una atención especial a las células linfomonocitarias de los derrames pleurales. Aunque el examen citológico de estos exudados se remonta a 1875 hasta el trabajo de Yam las referencias a otros patrones citológicos que no fueran las células neoplásicas son escasas. Este autor especuló sobre el significado de los linfocitos pleurales en exudados tuberculosos, neoplásicos, cardiacos, etc, relacionando el porcentaje de linfocitos con la etiología. Etiquetó de "linfocíticos" a los derrames con mas de 50% y ya menciona el hecho de la falta de relación entre el cuadro citológico del exudado pleural y la fórmula leucocitaria de sangre periférica. Se refiere también a la relación de la linfocitosis con la cronicidad del proceso y, aunque no extrae de ello ninguna conclusión patogénica, hace la observación de que los linfocitos pleurales cultivados de un caso de tuberculosis reaccionaron normalmente, con transformación blástica, a la fitohemaglutinina, mientras que los de un caso de linfosarcoma y otro de reticulosarcoma no lo hicieron.

El primero que considera a los linfocitos pleurales en su aspecto inmunológico es López Cardozo en 1972¹⁵. En esas fechas la manera de distinguir a los linfocitos T de los B era por su capacidad para responder con transformación blástica al ser estimulados con fitohemaglutinina. Estudió líquido pleural y ascitis de procesos neoformativos comparando el comportamiento de los linfocitos de estos exudados y los de la sangre. Encontró una reactividad intacta de los linfocitos pleurales de los derrames neoplásicos al mitógeno, lo que indicaba que estas células estarían en condiciones de ejercer su función defensiva antitumoral. El porcentaje de células que respondían a la PHA era algo mayor en el exudado que en la sangre, pero la diferencia parece pequeña.

Djeu¹⁶ es posiblemente el primero que da cifras porcentuales de poblaciones linfocitarias en el líquido pleural. Empleando para identificar a los linfocitos T su capacidad para formar rosetas con hematíes de carnero, método que se había puesto a punto recientemente, hizo el recuento de los linfocitos timodependientes en derrames metastáticos de cánceres de mama encontrando un 71% de linfocitos T en el exudado pleural y un 28% en sangre. Da cifras también de trasudados pleurales (sólo dos casos) siendo de alrededor de 60%, prácticamente igual que en la sangre. No hace referencia a otras poblaciones linfocitarias ni a su comportamiento funcional pero ya menciona como

hipótesis, el concepto que posteriormente se ha hecho corriente con el término de "compartimentalización" de que muchas células T, incluyendo las dotadas con capacidad de reactividad inmune contra los antígenos asociados al tumor se dirigirían de forma selectiva a la cavidad pleural.

Pettersson¹⁷ estudió 30 enfermos con pleuresías tuberculosas, neoplásicas, colagenóticas, inespecíficas y de estasis. En la sangre encontró cifras de T y de B similares en los controles y en los enfermos. En los exudados el número absoluto y el porcentaje de células T no fué significativamente diferente que en la sangre de los correspondientes sujetos salvo en los tuberculosos que fué mayor, concretamente un 78% en líquido pleural y un 59% en sangre periférica. El porcentaje de linfocitos B fué menor en líquido pleural que en sangre en todos los casos salvo en los trasudados: en tuberculosos 5% para un 27% en sangre y en neoplásicos 7,5% para un 29% en sangre. En cuanto a la interpretación patogénica de los hallazgos el autor hace la afirmación genérica de que los resultados, en el caso de la tuberculosis, deben guardar alguna relación con los mecanismos de inmunidad celular y sugiere una quimioatracción para los linfocitos si bien hace la reserva de que quizá su presencia en la pleura pueda explicarse por la habilidad de dichas células para acumularse inespecíficamente en los sitios de inflamación, una vez ésta se ha iniciado.

Catanzaro¹⁸ encuentra un 52% de linfocitos T en el líquido y un 67% en la sangre. Los B fueron de 27 y de 29% respectivamente. Halla células nulas en porcentajes inferiores al 10%. El índice de estimulación con fitohemaglutinina fué muy variable, del 3 al 69%. Señala alguna "tendencia", por ejemplo que "en dos de tres" enfermos con neumonía hubo un menor número de células T, en dos tuberculosos un gran aumento de la estimulación con PPD y en un adenocarcinoma con metástasis pleurales una mayor reactividad de los linfocitos pleurales a la PHA y al PPD.

Tiene interés, aunque se trata de tan solo un caso, la comunicación de Michalevicz¹⁹ sobre el hallazgo de un alto porcentaje de células T, concretamente un 70%, en un derrame pleural de un lupus eritematoso. En sangre los linfocitos T eran el 28% y los B el 60%.

Moisan²⁰ estudió el porcentaje y la cantidad absoluta de linfocitos T y B en líquido pleural y en sangre distinguiendo los "específicos" (malignos, tuberculosos y colagenosis) de los "inespecíficos" (paraneumónicos, embolias e idiopáticos). No incluye trasudados. La relación entre el procentaje de linfocitos T en exudado y en sangre fué similar en todos los casos. El número absoluto de células T en pleura fué mayor en los derrames específicos que en los inespecíficos mientras que en sangre fué mayor en los inespecíficos. La relación T pleurales absolutos a T

sanguíneos absolutos fué mayor de uno en todos los derrames específicos salvo en dos malignos. No encuentra diferencias entre las distintas etiologías dentro de los considerados específicos y tampoco encuentra diferencias significativas en lo que respecta a los linfocitos B.

Bousquet²¹ confirma el aumento de los linfocitos T y la disminución de los B en pleuresías serofibrinosas respecto a la sangre. Las cifras las da en conjunto, sin distinguir las distintas etiologías y fueron para los linfocitos T de 66% en la sangre de los enfermos, de 71% en la sangre de los testigos y de 77% en los exudados pleurales.

Domagala²² también estudia la distribución relativa de linfocitos T y linfocitos B entre líquido pleural y sangre diferenciando entre malignos y no malignos. Es éste uno de los artículos mas completos en lo que se refiere a detalles de los enfermos, de las técnicas empleadas y del tratamiento estadístico. Aprecia diferencias significativas entre exudado pleural y sangre en los procesos malignos en lo que se refiere a los porcentajes de linfocitos T (82% en líquido y 75% en sangre) y de linfocitos B (7% en líquido y 15% en sangre). No encontró diferencias significativas para ninguna de las poblaciones celulares entre exudado y sangre periférica de los procesos no malignos. Para explicar el aumento de linfocitos T en los derrames malignos invoca cinco posibles mecanismos: Emigración selectiva a la cavidad

pleural, multiplicación preferencial dentro del derrame, mayor supervivencia, presencia de factores en el derrame que favorecen la formación de rosetas y acumulación selectiva de los linfocitos debida al bloqueo linfático por células tumorales.

En la tabla I se exponen, en porcentajes, las cifras dadas por otros autores para linfocitos T y B en líquido pleural y sangre periférica en diferentes etiologías.

		Linf T en LP	Linf B en LP	Linf T en SP	Linf B en SP
NEOPL.	Jakubusek ²³	74	21	59	56
	Potrykus ²⁴	70	21	65	24
	Falçao ²⁵	77	3	67	13
TUBERC.	Jakubusek	49	47	56	39
	Falçao	79	4	62	5
	Fujivara ²⁶	88	5	69	14
INESPEC.	Jakubusek	55	39	57	38
TRASUD.	Potrykus	76	24	73	21

Tabla I

Hasta aquí lo que hace referencia a las poblaciones de linfocitos T y B totales. Una serie de datos experimentales había llevado a la conclusión de que dentro de la población T había subgrupos de células con propiedades funcionales diferentes pero hasta el desarrollo de los hibridomas no se dispuso de una herramienta de laboratorio que pudiera discriminar fácil y económicamente esas subpoblaciones. En 1979 Kung prepara los primeros anticuerpos monoclonales de

la serie OKT que posteriormente se han mostrado tan útiles. Los designados como OKT1 y OKT3 reaccionaban con el 95% de las células T periféricas y el OKT4 con el 55% de estas células y desde el principio se sugirió que esta población OKT4+ (T4) contenía a los linfocitos con función cooperadora. El anticuerpo OKT8²⁷ identificaría a las células T8 con función citotóxica y a sus precursoras, así como a las células supresoras. En los años siguientes numerosos estudios intentaron establecer el reparto de esas poblaciones linfocitarias en diferentes medios biológicos, sangre, líquido sinovial, mucosa bronquial, amígdalas, etc, así como en diferentes enfermedades y situaciones, edad, tabaquismo, ritmos circadianos, etc.

En líquido pleural Bergroth²⁸ cita, en ocho casos de naturaleza tuberculosa, 81% de células OKT11+ (el anticuerpo monoclonal que detecta a los receptores para hematies de carnero), 61% de OKT4+, 23% de OKT8+ y 4% de OKM1+ (el marcador de monocitos, células nulas y granulocitos).

Lucivero²⁹ estudia 22 enfermos, (mesoteliomas, cánceres de pulmón y tuberculosis) cuantificando subpoblaciones T4 y T8, además de T totales, B y NK. En mesoteliomas había un 52% de T4 y un 18% de T8 (25% y 17% en sangre), en cánceres de pulmón 61% de T4 y 20% de T8 (39% y 26% en sangre) y en tuberculosis 60% de T4 y 23% de T8 (36% y 22% en sangre). Las diferencias entre exudado pleural y sangre para T4 eran

significativas en las tres etiologías, fundamentalmente en la tuberculosis, mientras que no se observaron diferencias valorables para los linfocitos T8.

Ribera³⁰ da las siguientes cifras: En tuberculosis 65% de T4 y 23% de T8 en líquido pleural y 41% y 27% respectivamente en sangre. En neoplasias malignas 59% de T4 y 24% de T8 en líquido y 45% y 25% en sangre. En pleuresías inespecíficas 57% de T4 y 29% de T8 en exudado pleural y 48% y 25% en sangre periférica. El número absoluto de T4 era significativamente mas alto en derrames tuberculosos que en los de las otras etiologías aunque expresado en tanto por ciento las diferencias no eran significativas. Al mismo tiempo las cifras de T4 en sangre periférica en tuberculosis eran mas bajas que en los otros grupos.

En 1989 Berthier³¹ estudia pleuresías tuberculosas y derrames malignos con los siguientes resultados: En tuberculosis encuentra para los linfocitos T totales 75% en líquido pleural y 67% en sangre periférica, para los T4 50% en exudado pleural y 40% en sangre y para los T8 25% en pleura y 27% en sangre. En el caso de los derrames neoplásicos las cifras en exudado pleural y sangre periférica respectivamente fueron: 75% y 70% para los T totales, 46% y 38% para los T4 y 23% y 29% para los T8.

En derrames pleurales malignos, asociados en este caso a cáncer microcítico pulmonar, Guzman³² encuentra un 72% de T4 y un 20% de T8, con unas cifras totales de T de 87% y una relación T4/T8 de 3,82. En mesoteliomas pleurales el mismo autor³⁴ en 14 casos encuentra un 67% de T4 y un 20% de T8, con un porcentaje de T totales (OKT3+) del 83%. La relación T4/T8 era (3,7) significativamente mas alta que la normal en sangre.

Barnes³⁶ en un trabajo en el que ulteriormente separa a los linfocitos T4 en las subpoblaciones de células *naïves* y células-memoria en pleuresías tuberculosas encuentra un 64% de T4 y un 29% de T8 en el líquido pleural y un 35% y un 23% respectivamente en sangre periférica.

Albera³⁷ encuentra los siguientes porcentajes de células T4 y de células T8 en líquido pleural: 61 y 20 en los tuberculosos, 44 y 27 en los cánceres y 48 y 24 en los trasudados. En sangre periférica 45 y 25 en tuberculosis, 39 y 27 en neoplasias y 46 y 29 en cardiacos.

En lo que respecta a procesos patológicos mas concretos o menos frecuentes, Akoun³³ en dos casos de derrame pleural asociado a neumonitis por amiodarona encuentra un 64 y un 47% de T4 y un 47 y un 21% de T8, con una relación T4/T8 de 2,06 en el primer caso y de 2,20 en el segundo y Flammang³⁵ en dos casos de sarcoidosis con afectación pleural unas

cifras de 61% y de 62% de T4 y 12% y 18% de T8. Las respectivas relaciones T4/T8 eran de 5 y de 3,4.

Nosotros en un estudio preliminar a esta tesis destinado a comprobar los datos de la literatura en cuanto a los porcentajes de las distintas subpoblaciones de linfocitos en líquido pleural y en sangre periférica hemos estudiado mediante los anticuerpos monoclonales OKT4 y OKT8 32 derrames pleurales malignos, 20 tuberculosos y 14 derrames de estasis. En los neoplásicos los porcentajes de T4 y de T8 en exudado pleural fueron 55 y 19 y en sangre periférica 40 y 24. En tuberculosis los T4 y T8 en exudado pleural fueron 64 y 23 respectivamente y en sangre 38 y 24. En trasudados los porcentajes fueron 60 y 17 en líquido pleural y 43 y 20 en sangre venosa periférica. Estas cifras son superponibles a las encontradas en las diferentes publicaciones que se han ocupado del tema.

En el momento actual queda mucho que precisar en relación al reparto de las subpoblaciones linfocitarias en los líquidos pleurales de diferentes etiologías pues no son demasiado abundantes los trabajos de investigación en este tema pero las líneas básicas se han dado. Para poder sacar conclusiones lo mas precisas posible del estudio de los productos linfocitarios es lógico que haya que establecer alguna relación con las medidas cuantitativas de los linfocitos y aunque lo ideal sería poder hacerlo en los

mismos grupos de enfermos nosotros hemos asumido para el trabajo actual que los datos proporcionados por la literatura están establecidos con la aproximación necesaria.

2.4.2.2.- ESTUDIOS FUNCIONALES LINFOCITARIOS

Hasta ahora se han expuesto los trabajos de una serie de investigadores que se han ocupado de los linfocitos pleurales desde el punto de vista de su enumeración y, aunque el contaje de los diferentes tipos se ha hecho en muchos casos aprovechando sus propiedades funcionales como su capacidad de transformación blástica, realmente el cuadro que se ha ofrecido es fundamentalmente estático y cuantitativo. Nos interesan ahora algunos aspectos funcionales de las poblaciones celulares pleurales para entender el significado de los posibles cambios en sus productos de secreción.

En los párrafos siguientes se reseñan algunos de los trabajos que nos han proporcionado esta visión mas dinámica y funcional. Las técnicas actuales nos permiten utilizar directamente en el laboratorio las citoquinas que nos interesan pero antes de individualizar estas citoquinas y de tener la posibilidad de su manejo los trabajos de investigación se centraban en los efectos finales como transformación blastica, citotoxicidad, etc.

2.4.2.2.1.-PROLIFERACIÓN O TRANSFORMACIÓN BLÁSTICA

Desde que se vió que la fórmula leucocitaria en los exudados serosos no era un simple reflejo pasivo de la de la sangre surgió el interés por conocer los mecanismos del acúmulo diferencial de los distintos tipos celulares, cuales eran los estímulos que ordenaban este tráfico leucocitario y cuales eran las capacidades funcionales de las poblaciones celulares de los exudados.

Los trabajos de Koster³⁸ y otros pusieron de relieve la capacidad de los linfocitos sensibilizados para emigrar selectivamente a los exudados inflamatorios. Se conocía que una población de células linfocitarias producida durante la infección experimental por *Listeria monocitógenes* era capaz de conferir protección contra este microorganismo al ser inyectada a otros animales de laboratorio. Produciendo de forma inespecífica mediante la inyección de caseinato de sodio o de bacterias muertas un exudado inflamatorio en los animales infectados por listeria la transferencia de las células de este exudado a otros animales proporcionaba a éstos una protección claramente mayor que si lo que se les inyectaba eran células del conducto torácico o del bazo. Experiencias adicionales mostraron que las células responsables de esta protección eran linfocitos y no macrófagos residentes en el líquido peritoneal. Siendo por lo tanto los linfocitos no unos residentes pasivos de los

exudados de las serosas sino unos elementos con plena capacidad funcional multitud de autores se dedicaron a intentar poner de manifiesto las diferentes facetas de este funcionalismo, sea su respuesta a antígenos o mitógenos, su capacidad para producir factores mediadores, sus interrelaciones con otras células, etc.

Una de las formas mas eficaces para mostrar que los linfocitos pleurales son elementos potencialmente activos como vectores inmunológicos es poner de manifiesto su capacidad de transformarse en formas blásticas ante el estímulo con mitógenos inespecíficos o antígenos específicos.

En 1975 Poujoulet³⁹, en un artículo muy sucinto en el que no se dan cifras concretas ni detalles técnicos, comunica el estudio de la reactividad a la tuberculina y a la PHA de los linfocitos pleurales de 50 enfermos, comparándola sistemáticamente con la de los linfocitos sanguíneos. Encuentra que las tasas medias de transformación blástica en derrames tuberculosos y neoplásicos son bastante similares a las de la sangre periférica aunque ligeramente mas elevada en los exudados, sobre todo en el caso de las tuberculosis. En general la respuesta era algo menor en la sangre de los cancerosos que en la de los tuberculosos aunque con diferencias individuales marcadas. Esto no ocurría con los linfocitos pleurales.

Pettersson⁴⁰ comparó la respuesta a la PHA y el PPD de los linfocitos de la sangre y del líquido pleural de enfermos con tuberculosis, cáncer, conectivopatías y derrames inespecíficos no encontrando diferencias en la transformación blástica espontánea entre sangre periférica y líquido pleural en ningún grupo etiológico ni entre la sangre de enfermos y controles. En la mayoría de los pacientes con derrames pleurales la reactividad de los linfocitos del exudado ante la PHA y el PPD era normal y comparable a la de los linfocitos sanguíneos y no hubo diferencias valorables entre los distintos grupos siendo los valores individuales muy variables aunque sí se encontró que en las pleuritis tuberculosas de tiempo de evolución mas corto las respuestas de los linfocitos pleurales al PPD eran menos intensas que en los casos de evolución mas prolongada. Al comparar la respuesta al PPD de los linfocitos sanguíneos y pleurales con la intensidad de la respuesta cutánea a la tuberculina encontró una correlación positiva aunque no estadísticamente significativa.

Okubo⁴¹ estudia la capacidad proliferativa de los linfocitos pleurales al PPD relacionándola con la respuesta tuberculínica en cuatro enfermos con pleuresía tuberculosa, dos tuberculin positivos y dos tuberculin negativos, comparando el comportamiento de los linfocitos del líquido con los de la sangre del mismo sujeto y con los de la sangre de controles sanos tuberculin positivos. La respuesta de los

linfocitos sanguíneos al PPD fué mas alta en los positivos que en los negativos, correlacionándose aproximadamente con la respuesta cutánea. Los linfocitos pleurales de todos los sujetos, tanto los tuberculin negativos como los positivos reaccionaron con transformación blástica ante el PPD de forma normal, en cuantía semejante a los linfocitos sanguíneos de los sujetos tuberculin positivos. Empleando como marcadores de subpoblaciones los anticuerpos monoclonales anti-Leu 1, anti-Leu 2a y anti-Leu 3a de Becton-Dickinson Co. que identifican a los T totales, los T8 y los T4 respectivamente encuentra que en el exudado pleural tuberculoso la cuantía de T y de T4 era mayor que en la sangre, sin diferencias en la población T8. La respuesta proliferativa al PPD estaría a cargo de la subpoblación que porta el antígeno Leu-3a.

Widstrom⁴² en un modelo de pleuresía experimental en cobaya mediante toracocentesis repetidas pudo estudiar la evolución de la respuesta de los linfocitos a la PHA y al PPD, comparándola con la respuesta de los ganglios linfáticos regionales. Los linfocitos pleurales recogidos al tercer dia de la inducción de la pleuresía no respondieron ni al PPD ni a la PHA. En estadíos posteriores los linfocitos pleurales fueron estimulados por el PPD aproximadamente en el mismo grado que los ganglionares mientras que la respuesta a la PHA fué débil en todos los estadíos de la pleuresía. En estas experiencias Widstrom no

estableció cuales eran las subpoblaciones linfocitarias que respondían. El autor ofrece varias explicaciones a la baja reactividad de los linfocitos en los primeros días de la pleuresía. Una sería la de que los linfocitos pleurales fueran solo pasivamente reclutados desde la sangre sin jugar ningún papel activo en la reacción inflamatoria pero juzga mas probable que, aunque los linfocitos son activos, su función no puede ser puesta de manifiesto *in vitro* porque para la activación se requieren factores humorales que no estarían presentes en las condiciones experimentales o bien porque existan factores bloqueantes unidos a la superficie de los linfocitos.

Ellner⁴³ se refiere al interesante problema de la compartimentalización de los linfocitos, a propósito de tres casos de pleuritis tuberculosa. Se había planteado la hipótesis de que la anergia que a veces se podía encontrar en las pleuresías tuberculosas era debida al secuestro de los linfocitos reactivos al antígeno en el espacio pleural pero esto era una especulación puramente teórica que no se había probado. El autor encuentra que en un caso con Mantoux positivo la capacidad de los linfocitos T para ser estimulados con PHA y con PPD era semejante en la sangre y en el exudado. En cambio en otros dos enfermos que se comportaron como anérgicos a la tuberculina los linfocitos de sangre periférica no respondieron con transformación blástica ante el PPD mientras que sí lo hicieron los del

líquido pleural. El autor plantea la posibilidad de que estos hallazgos se expliquen por la referida compartimentalización de las células T sensibilizadas al antígeno bacilar pero le parece mas verosímil la idea de que se deba a la existencia de células supresoras en la sangre y no en el líquido. En los enfermos anérgicos de este estudio la retirada de las células adherentes mononucleares dió lugar a que las poblaciones celulares resultantes, enriquecidas en células T, respondieran de forma significativa al PPD como lo habían hecho las del líquido pleural. De esta manera el concepto de compartimentalización habría que referirlo mas bien a la exclusión de las células adherentes supresoras del espacio pleural.

Fujiwara²⁶ compara el comportamiento de los linfocitos de enfermos tuberculosos con derrame y enfermos con tuberculosis activa pulmonar sin afectación pleural. La respuesta proliferativa ante el estímulo con PPD de los linfocitos obtenidos de los exudados pleurales fué mayor que la de los de la sangre periférica tanto de los tuberculosos sin derrame como de los controles sanos tuberculín positivos. Los linfocitos sanguíneos de los enfermos con pleuritis tuberculosa fueron los que mostraron un índice menor de transformación blástica ante el PPD. La capacidad de respuesta de estos linfocitos fué restaurada por la eliminación de las células adherentes, presumiblemente macrófagos activados, de la sangre. Esto parecería demostrar

que la pobre respuesta de los linfocitos periféricos sería debida no solo al efecto de compartimentalización y a una disminución de su función propiamente dicha sino, como había sugerido Ellner, a la influencia de las células supresoras acompañantes.

El mismo autor⁴⁴ posteriormente da otras precisiones sobre este fenómeno. En cuatro pacientes con derrames tuberculosos y en dos con derrames neoplásicos cuantifica los linfocitos respondedores a la tuberculina dentro de la población total de células T demostrando que esta proporción era claramente mas elevada (1/2) en los exudados tuberculosos que en los exudados malignos (1/12), en la sangre de los tuberculosos (1/15) o en la sangre de los controles tuberculin positivos (1/13). Admitida esta mayor frecuencia de linfocitos respondedores (que no contradice la teoría de la presencia de células supresoras en sangre de tuberculosos anérgicos) el autor se pregunta si esta mayor proporción está determinada por atracción selectiva de los linfocitos tuberculin reactivos al lugar de la infección o por proliferación *in situ* de éstos, activados por los productos micobacterianos.

En 1988 Ribera⁴⁵ estudia la respuesta blastogénica de los linfocitos de líquido pleural y de sangre periférica ante la PHA, la concavalina A, el PWM y el PPD en pleuresías tuberculosas, neoplásicas e inespecíficas. La transformación

linfoblástica fué en general mayor para los tres mitógenos inespecíficos y para los tres grupos etiológicos en la sangre que en el exudado pero sin que las diferencias llegaran a ser estadísticamente significativas. En cambio ante la estimulación con PPD la respuesta de los linfocitos pleurales fué significativamente superior a la de los periféricos en los tuberculosos mientras que en los neoplásicos e inespecíficos tuberculín positivos la respuesta de los linfocitos sanguíneos fué mayor que la de los pleurales. Por otra parte, en sujetos sanos reactivos a la tuberculina la respuesta de los linfocitos sanguíneos al PPD fué mayor que la de las correspondientes células en enfermos con pleuritis tuberculosa.

Uchida⁴⁶ enfoca un aspecto particular del funcionalismo de los linfocitos pleurales. Los linfocitos T son capaces de proliferar en respuesta a algún estímulo proporcionado por células no T en cultivos mixtos de linfocitos autólogos y se había visto que esta respuesta estaba disminuida en la sangre periférica de pacientes con cáncer de pulmón avanzado planteándose el interrogante de si los responsables eran los linfocitos T o las células estimuladoras. Para responder a esta cuestión Uchida estudió 20 derrames malignos observando que en estos exudados la respuesta de los linfocitos en los cultivos mixtos estaba conservada, con valores similares a los de sangre periférica de sujetos normales. Cultivó separadamente los linfocitos T de la sangre con células no T

de sangre y líquido pleural y los T del líquido pleural con células no T de sangre y de líquido. Las células T de sangre periférica fueron incapaces de responder, independientemente de cual fuera la célula estimuladora mientras que los linfocitos T pleurales sí lo hicieron en ambos casos indicando que el responsable de este defecto en la inmunidad celular sería el linfocito T periférico.

La interpretación del comportamiento funcional de los linfocitos en todas estas experiencias no es fácil pues en los resultados puede influir la presencia en el medio de factores con capacidad inmunosupresora los cuales, en ciertas circunstancias, pueden existir en los fluidos serosos. Estos factores, en el suero, serían los responsables de la depresión de la inmunidad celular que se encuentra en los cánceres avanzados, depresión manifiesta por la anergia o hipoergia cutánea a antígenos como el PPD, por la baja respuesta *in vitro* de los linfocitos a la PHA o por la disminución de la formación espontánea de rosetas con hematíes de carnero. Este aspecto ha sido investigado en exudados serosos, concretamente en ascitis de enfermos con cáncer invasivo de peritoneo⁴⁷. El líquido ascítico, libre de células, de estos enfermos dió lugar a inhibición, *in vitro*, de la transformación blástica de los linfocitos de sangre periférica ante PHA, PWM, ConA, KLH o aloantígenos, efecto que no se obtenía con suero o líquido pleural o ascítico no maligno.

2.4.2.2.2.-CITOTOXICIDAD

Otro aspecto funcional de los linfocitos de los fluidos serosos se manifiesta por la capacidad de citotoxicidad. Existe evidencia de que las células asesinas naturales (NK) pueden jugar un importante papel en la resistencia del organismo contra los tumores y, al menos en parte, estas células NK se presentan bajo la morfología de los llamados linfocitos granulares grandes (LGL). Estos LGL representan alrededor del 15% de los linfocitos de sangre periférica y un 70% de ellos funcionan como células NK en experiencias *in vitro*. Uchida⁴⁸ evaluó la citotoxicidad de las células linfoides de líquido pleural y de sangre periférica contra tumores autólogos y contra líneas celulares tumorales cultivadas. Mediante procedimientos de enriquecimiento y depleción del exudado pleural y de la sangre en LGL pudo demostrar que la actividad citotóxica contra células tumorales radicaba principalmente en los LGL y no en los pequeños linfocitos. Otras observaciones^{49,50,51} que parecían indicar que esta actividad estaba a cargo de los linfocitos T pueden estar justificadas porque en estas experiencias el procedimiento de fraccionamiento podía permitir que algunas células NK contaminaran las poblaciones de células efectoras. Los linfocitos de sangre periférica estimulados con células tumorales procedentes de líquidos pleurales muestran citotoxicidad que está a cargo de células cuyo fenotipo aunque puede ser CD4+ es sobre todo CD8+ y siempre

son células B73.1 negativas (un marcador de las células NK)⁵².

Según otras experiencias parecería que el papel de los linfocitos en el fenómeno de citotoxicidad de los exudados pleurales contra las células tumorales sería mas bien el de estimular a los macrófagos que serían los que directamente efectuaran esta función. Desde hace mas de veinte años se sabe que los macrófagos activados juegan un importante papel en la defensa del huesped contra el crecimiento de los tumores y que esta actividad está regulada por linfoquinas pero la mayoría de los estudios sobre este aspecto estaban realizados en sangre periférica y en animales. Nagashima⁵³ estudió en 66 pacientes con cancer de pulmón la actividad citotóxica de los macrófagos y de los linfocitos pleurales contra el tumor autólogo, contra células pulmonares normales autólogas y contra dos lineas de células tumorales alogénicas. Las células se recogieron por lavado de la cavidad pleural con ocasión de toracotomías y de esta manera se estudiaron también casos sin afectación macroscópica pleural. Los macrófagos mostraron citotoxicidad mayor o menor según el grado de extensión a la pleura pero los linfocitos pleurales no mostraron citotoxicidad. Cuando se cultivaron juntos linfocitos pleurales y células tumorales autólogas se detectó en el cultivo un factor estimulante de la capacidad citostática de los macrófagos de cobaya. Este

efecto era menor si los linfocitos pleurales se habían cultivado con células tumorales alogénicas o con células normales pulmonares autólogas.

El capítulo de la citotoxicidad antitumoral de los fluidos locales, los elementos celulares y los factores solubles implicados permanece hoy abierto y creemos que con grandes posibilidades para la investigación.

2.4.2.2.3.-PRODUCCIÓN DE CITOQUINAS.

Una importante propiedad de los linfocitos en cuanto a su papel como agentes inmunológicos es su capacidad para segregar citoquinas aspecto que nos interesa ya de forma mas directa en cuanto al contenido de esta tesis. Hasta años recientes no se ha estado en condiciones de identificar y de dosificar de forma individual estas sustancias pero ya hace tiempo que se puede detectar la presencia de ellas en los medios biológicos a través de la comprobación de sus efectos como la inhibición de la migración de los macrófagos, por ejemplo.

En 1976 Yamamoto⁵⁴⁻⁵⁵ emplea un modelo experimental de hipersensibilidad retardada en pleura de cobayas para demostrar la presencia de sustancias con actividad de inhibición macrofágica en el exudado pleural. En esos años

se sabía que existían algunos factores que inhibían la migración de los macrófagos y que estaban relacionados con las linfoquinas liberadas por los linfocitos sensibilizados al encontrarse ante el antígeno específico pero, al faltar la caracterización química y la individualización de estas sustancias, los investigadores se limitan a comprobar la existencia de "actividad de inhibición" en los medios estudiados.

En las experiencias a que se hace referencia se detecta actividad de inhibición macrofágica de diferentes tipos según el momento evolutivo de la inflamación. A las seis horas, tanto en el exudado pleural libre de células como en el suero del animal de experimentación existe actividad antígeno dependiente cuyo soporte son sustancias de alto y bajo peso molecular, presumiblemente las primeras de naturaleza inmunoglobulínica siendo las de bajo peso molecular las presuntas linfoquinas, en este caso un MIF. En momentos más tardíos de la inflamación, a las 18 horas, se detectan en el líquido pleural pero no en el suero, dos tipos de actividad inhibitoria. Una de ellas, dependiente del antígeno, se encontraba tanto en las fracciones de alto como en las de bajo peso molecular mientras que la otra, independiente del antígeno, era soportada sólo por las fracciones de bajo peso molecular. Esta última es la que estaría asociada al presunto MIF. La similitud del patrón entre suero y exudado en los primeros momentos y su

diferencia después sugiere que la actividad inhibitoria inicial estaría determinada por el paso de sustancias derivadas del suero a consecuencia del aumento de permeabilidad y sólo, tras un periodo de latencia, se produciría localmente el MIF en el sitio de la inflamación.

Otros trabajos demuestran la producción por los linfocitos pleurales de linfoquinas capaces de aumentar la capacidad citostática de los monocitos humanos. Hammerström⁵⁶, basándose en el conocimiento de que los linfocitos humanos de sangre periférica responden a la sensibilización *in vitro* con *Corynebacterium parvum* con proliferación y liberación de linfoquinas que pueden activar a los monocitos de la sangre y de los exudados estudia el comportamiento de los linfocitos pleurales bajo las mismas condiciones. Se aislaron los linfocitos de derrames pleurales malignos y benignos encontrándose que la respuesta proliferativa ante el *Corynebacterium* fué algo menor que la de los linfocitos normales sanguíneos. Esto fué atribuido por el autor a la influencia de los macrófagos presentes en el exudado. La posible producción de linfoquinas se dedujo determinando la habilidad de los exudados para aumentar la actividad citostática de los monocitos humanos normales. Aunque este efecto fué claro con los linfocitos pleurales estimulados con *Corynebacterium*, nuevamente la comparación con los linfocitos sanguíneos mostró una menor actividad.

En los derrames pleurales de enfermos con cánceres, tuberculosis, trasudados, y con pleuritis inespecíficas Jakubusek²³ estudia un efecto de inhibición de la migración leucocitaria con tuberculina encontrando solamente este efecto en los exudados tuberculosos o neoplásicos. En los tuberculosos la reacción fué positiva en sangre en todos los casos y en líquido pleural en el 66%. Los linfocitos sanguíneos de los enfermos cancerosos dieron una respuesta positiva en el 69% mientras que los pleurales sólo en el 25% dieron lugar a inhibición. El autor no da mas precisiones ni sugerencias del o de los factores responsables de este efecto.

Pettersson⁵⁷ se refiere de forma mas explícita a una linfoquina, un factor de inhibición leucocitaria (LIF) que sería producido por los linfocitos T bajo la exposición *in vitro* a antígenos o mitógenos. Estudia la producción de LIF por los linfocitos pleurales y de sangre periférica cultivados con y sin leucoaglutinina (LA) y PPD. El efecto inhibidor de la migración leucocitaria se midió sobre polimorfonucleares de donantes sanos. La producción de LIF varió ampliamente pero en general los linfocitos pleurales de los procesos benignos produjeron significativamente mas LIF que los de los derrames malignos. Estas diferencias no se apreciaron con los linfocitos sanguíneos. En algunos de los cánceres se detectó efecto LIF con los linfocitos pleurales sin estímulo de LA ni de PPD sugiriendo que estos

linfocitos estarían en estado de activación espontánea. La producción de LIF inducida por PPD fué mayor tanto en sangre como en líquido pleural entre los pacientes que se comportaron como tuberculin positivos que entre los tuberculin negativos. En los tuberculosos no hubo diferencias significativas entre los linfocitos pleurales y los sanguíneos.

En años posteriores se van definiendo mejor los factores producidos por los linfocitos. En 1981, fecha en la que todavía no se hablaba de la interleuquina-2 como tal, Hirano⁵⁹ caracteriza y purifica parcialmente un factor soluble segregado por los linfocitos pleurales estimulados con PPD que cooperaba en la diferenciación de las células B en células plasmáticas en presencia de antígeno. Los linfocitos T de una pleuresia tuberculosa tras ser estimulados con tuberculina, incrementaban la producción de IgG inducida por PWM por parte de células B de sangre periférica. Este efecto se apreciaba también con el sobrenadante de los cultivos de linfocitos T indicando la existencia de una sustancia soluble con capacidad *helper*. Los ensayos de laboratorio indicaron que ese factor tenía un peso molecular entre 17.000 y 22.000 y un punto isoeléctrico entre 6.5 y 8.0 características que lo relacionan con el TCGF, que desde el 2º International Lymphokine Workshop, llamamos Interleuquina-2.

2.4.3.-CITOQUINAS Y PLEURA

Hasta aquí se han expuesto los datos sobre los elementos celulares pleurales mas relevantes en relación al tema del trabajo. A continuación se hará referencia de una forma mas directa a las sustancias derivadas de esas células que constituyen mas propiamente el centro de interés en la investigación. Tras recordar algunas generalidades de cada citoquina, se expondrán los principales argumentos que, a través del estudio de los distintos medios biológicos, pueden poner de manifiesto el significado e importancia de estos mediadores y marcadores inmunológicos en diferentes situaciones clínicas. Finalmente, cuando existen, se mostrarán los datos que poseemos actualmente sobre este tema en patología pleural.

2.4.3.1.-RECEPTORES DE INTERLEUQUINA-2

2.4.3.1.1.-GENERALIDADES.

La interleuquina 2 es la principal citoquina responsable del paso de los linfocitos T de la fase G1 a la fase S del ciclo celular y juega un importante papel en la expansión clonal de estos linfocitos T cuando son activados. Su acción se efectúa interactuando con su receptor de

membrana específico, el IL-2R. La proliferación clonal antígeno específica de las células T se inicia tras la interacción del antígeno con las moléculas MHC y el complejo TCR o receptor de la célula T, desencadenándose entonces la expresión tanto de la interleuquina 2 como de su receptor. La interacción de éstos induce una serie de mecanismos de transducción de señal muy complejos y aun no conocidos del todo que terminan en la proliferación celular.

Tras el contacto célula T-antígeno y en presencia de la interleuquina 1 producida por los macrófagos, se activa un gen del cromosoma 4 que es el responsable de la producción de IL-2 y al mismo tiempo, como ésta necesita para actuar a su receptor particular que no existe en reposo, se activa también un gen localizado en el cromosoma 10 que codifica al IL-2R. Se establece así una autoestimulación si bien esto no conduce a un crecimiento incontrolado de células T porque la presencia del IL-2R sobre la superficie celular y la actividad del gen que le codifica son acontecimientos de vida corta. El número máximo de receptores se puede demostrar aproximadamente seis días después del contacto con el antígeno específico y tres semanas mas tarde permanecen unicamente del 10 al 20% de los receptores. Unicamente la reexposición al antígeno específico puede mantener el estímulo para la aparición de receptores.

La IL-2 es producida principalmente por los linfocitos CD4 activados pero también, aunque en menor cantidad, por los linfocitos CD8. Su principal célula diana es el propio linfocito T por lo que, en este sentido, se puede considerar como un factor de crecimiento autocrino pero también actúa sobre células vecinas, de manera paracrina. Estimula el crecimiento de las células asesinas naturales (NK) y aumenta su función citolítica. Asimismo actúa sobre las células B humanas estimulando su crecimiento y la secreción de anticuerpos. Aumenta la citotoxicidad de los monocitos humanos y estimula la generación de las llamadas células LAK o células asesinas estimuladas por citoquinas. Además puede actuar negativamente regulando el crecimiento celular y preparando a algunas células para la apoptosis o muerte celular programada. Durante las respuestas inmunes fisiológicas al parecer no circula en la sangre en cantidades que la permitan actuar a distancia.

Gran parte de lo que se conoce sobre los IL-2R es a través de un anticuerpo murino monoclonal el llamado *anti-Tac*, anticuerpo que interactúa con el receptor antagonizando la acción de la IL-2. Mediante estudios que combinaban este anticuerpo y una IL-2 marcada radiactivamente se descubrieron en un primer momento dos clases de receptores de IL-2. Uno de ellos, la cadena alfa, es un péptido de 55 kD y baja afinidad y es el que recibió el nombre de Tac. El otro, también una cadena peptídica, la

beta, tiene un peso molecular mayor, de 75 kD y afinidad intermedia. En seguida se comprobó que para que hubiera alta afinidad con la IL-2 era necesario que coexistieran los dos péptidos. Las células en reposo y los linfocitos maduros activados pueden expresar constitutivamente, es decir de forma espontánea, la cadena beta. La alfa o Tac es inducida y expresada sólo después de que las células T, las células B o los monocitos experimenten la activación. Así la identificación en las células de este receptor proporciona a los investigadores un marcador útil de la activación inmune antes de la aparición de otros determinantes de superficie y antes de la proliferación de los linfocitos.

La cadena alfa o IL-2R alfa tiene 251 aminoácidos y su estructura primaria no tiene homología con otras moléculas receptoras conocidas. La parte aminoterminal de 219 aminoácidos es la extracelular, la siguiente de 19 aminoácidos es la que atraviesa la membrana y la carboxiterminal de 13 aminoácidos es la citoplásmica. La cadena alfa no es funcional con respecto a la internalización de la señal de la IL-2 pero contribuye a la formación del receptor de alta afinidad. Esta cadena es la que nos interesa porque es la que se detecta como IL-2R soluble con el método utilizado en este trabajo.

El mecanismo de liberación de la forma soluble de IL-2R no está claro. Se consideró la posibilidad de que un empalme

alternativo de RNA mensajero de cadena alfa pudiera dar lugar a una proteína "anchor minus", menos apta para anclarse, para quedar fijada a la membrana, pero hoy se piensa que el mecanismo es mas por rotura proteolítica en la superficie celular a cargo de alguna proteasa celular.

La proporción de liberación de esa molécula está en relación con su expresión en la membrana celular y cualquier célula que pueda expresar cadena alfa en su superficie puede liberarla. La cadena alfa liberada tiene un peso molecular menor debido a la falta del dominio transmembrana e intracitoplasmático pero retiene su habilidad para unirse con la IL-2.

El hallazgo de esta forma soluble de receptores de interleuquina 2 planteó una serie de interrogantes. La liberación de IL-2R podría tener un papel inmunoregulatorio compitiendo con el IL-2R celular por la IL-2. Así la unión de receptor y citoquina en el medio, fuera por lo tanto del destino teórico de ésta podría alterar la respuesta inmune IL-2 dependiente. Por ejemplo se especuló si las enfermedades autoinmunes se asociarían con una menor producción de IL-2R y las de inmunodeficiencia por el contrario con una mayor producción. Teóricamente niveles elevados de IL-2R se encontrarían por otra parte cuando existiera una activación inmune *in vivo* por ejemplo en el rechazo de injertos. Como veremos algunas de estas

especulaciones se comprobaron en trabajos posteriores. Otra posibilidad teórica que se planteó es si algunos tumores podrían constitutivamente liberar IL-2R bloqueando las respuestas inmunes del huésped.

2.4.3.1.2.-IL-2R EN LOS DIFERENTES MEDIOS BIOLÓGICOS

La estimulación crónica de las células T conduce al desprendimiento de los receptores de IL-2 por lo que el aumento de la concentración de éstos en el medio respecto a las cifras normales puede considerarse como un marcador de la activación de los linfocitos T. Esta elevación en sangre periférica indica ante todo activación de los T en el compartimento sanguíneo pero también puede reflejar activación inmune en otros territorios ya que el IL-2R generado en esos sitios puede entrar al *pool* circulatorio. Las cifras normales de IL-2R guardan una cierta relación con la edad, encontrándose los valores más altos en la infancia y bajando gradualmente a los valores típicos del adulto a los diez años de edad para aumentar otra vez en los ancianos.

Rubin en 1985⁵⁹ consiguió un anticuerpo monoclonal, identificado como 7G7/B6, que se unía al IL-2R en un epítipo distinto del reconocido por el anticuerpo anti-Tac. Usando esos dos anticuerpos monoclonales contra el IL-2R humano

construyó un inmunoensayo ELISA tipo "sandwich" para cuantificar los IL-2R solubles. Tras la activación celular *in vitro* detectó no sólo el esperado IL-2R asociado a las células sino también una forma soluble en el sobrenadante libre de células de esos cultivos. Vió que ciertas células de leucemia de células T humanas virus I positivas (HTLV I) y algunas líneas de células B también producían de forma espontánea IL-2R *in vitro*.

Dado que los trabajos de Rubin fueron los pioneros en el estudio de los receptores solubles de IL-2 voy a exponerlos con algún detalle. Rubin probó el método en cultivos de células T humanas IL-2 dependientes estimuladas por IL-2 así como en cultivos de células mononucleares de sangre periférica estimuladas por PHA. Hizo varias diluciones del sobrenadante libre de células y del extracto celular en detergente y, tras análisis por el método ELISA, comparó los resultados con el número de células de los que se derivaban el sobrenadante y el extracto. Con cantidades de células de 60.000 y 30.000 por ml respectivamente ya se podía detectar el receptor de IL-2. Por procedimientos de ultracentrifugación y de filtración demostró que el IL-2R estaba en forma soluble. Tanto el IL-2R sobrenadante como el asociado a células aparecían precozmente, acumulándose con rapidez en los cultivos estimulados con activadores policlonales como el OKT3 y la PHA, mientras que en los estimulados por antígenos solubles exógenos como el toxoide

tetánico o por aloantígenos asociados a células la producción fué mas gradual quizá debido a la mayor frecuencia de células activadas en el primer caso. En cultivos sin estímulo no se detectó IL-2R. El IL-2R celular de cultivos estimulados con PHA o con OKT3 declinó desde niveles pico alcanzados al séptimo día, mientras que los niveles de IL-2R sobrenadantes continuaron creciendo. Por experiencias adicionales Rubin demostró que el IL-2R sobrenadante no aparecía como resultado de la muerte celular.

Estudió el peso molecular del IL-2R soluble detectado por filtración en gel de Sephadex G-200, resultando ser bastante uniforme y algo mas pequeño que el de la albúmina. Concretamente el peso molecular del IL-2R liberado por células mononucleares de sangre periférica era de 55.000.

Tras el trabajo de Rubin muchos investigadores se dedicaron a buscar indicios de activación celular de los linfocitos en diferentes procesos y en distintas situaciones experimentales. En este ultimo aspecto Balderas⁶⁰ utilizando un modelo de lupus eritematoso sistémico en ratón en el que se conoce que existe una profunda activación de las poblaciones T y B comprobó que los niveles de IL-2R se encontraban elevados en el momento en el que aparecía la enfermedad activa, tanto en aquellos animales en los que existía una hiperplasia de los tejidos linfoides causada por

expansión de las células B. como en los que se acompañaban de proliferación de células T. En estas experiencias además de observarse IL-2R sobre algunas células B un activador policlonal de éstas (LPS) indujo un aumento de los niveles de IL-2R libre en el suero. No es éste el único hallazgo de IL-2R liberado por células B porque también se ha visto⁶¹ que las células B humanas purificadas estimuladas con *Staphilococcus aureus* producen cantidades pequeñas pero significativas. No es necesario resaltar la importancia de este dato en la interpretación del significado de las variaciones de IL-2R en la clínica.

Las situaciones clínicas en las que se han medido IL-2R han sido variadas y figuran en la siguiente lista con las correspondientes referencias bibliográficas:

NEOPLASIAS:

- Leucemia de células T del adulto⁶²
- Leucemia de células vellosas⁶³
- Leucemia linfocítica⁶⁴
- Enfermedad de Hodgkin⁶⁵
- Linfomas no Hodgkin⁶⁶
- Cáncer de hígado, de mama y de pulmón^{67,68}

ENFERMEDADES AUTOINMUNES E INFLAMATORIAS

- Artritis reumatoide^{69,70}
- Lupus eritematoso⁷¹
- Esclerosis sistémica progresiva⁷²

Polimiositis⁷³

Enfermedad de Kawasaki⁷⁴

Esclerosis múltiple⁷⁵

Nefropatías⁹⁷

Diabetes⁷⁶

INFECCIONES

Hepatitis⁷⁷

Infección por HIV-I⁷⁸

Mononucleosis infecciosa⁷⁹

Sarampión⁸⁰

Lepra⁸¹

Tuberculosis⁸²

Malaria⁸³

TRANSPLANTES

Riñón⁸⁴

Pulmón⁸⁵

Hígado⁸⁶

MISCELANEA

Quemaduras⁸⁷

Insuficiencia renal crónica y diálisis⁸¹

Sarcoidosis^{89, 103}

Esquizofrenia⁹⁰

Evaluación de la respuesta a la infusión de IL-2⁹¹

A continuación se exponen con mas detalle algunos trabajos representativos y se dan cifras concretas que nos pueden servir de referencia para comparar con las nuestras.

El interés por los IL-2R en clínica se inició con los trastornos proliferativos hematológicos. En las leucemias de células T del adulto asociadas al virus linfotrópico humano tipo I las células CD4+ transformadas expresan altos niveles del receptor de IL-2. Al observarse que *in vitro* la infección de las células T por el HTLV-I se asociaba también a la liberación de grandes cantidades de IL-2R en los sobrenadantes de los cultivos se inició una serie de investigaciones sobre la utilidad de su medición en la clínica. En los portadores asintomáticos del virus se observa un aumento pequeño pero significativo de los receptores de IL-2 en sangre con un gradiente progresivo que va de los casos de bajo grado a los crónicos y finalmente a la fase aguda de la leucemia de células T del adulto.

También en la enfermedad de Hodgkin las cifras de IL-2R se relacionan con la masa tumoral y con la etapa evolutiva del proceso. Pui⁹² encuentra que en el estadio III o en el IV el nivel medio era de 3.195 U/mL y en los estadios inferiores era sólo de 1.087 U/mL. Asimismo era mayor en los estadios B (3.262 U/ml) que en los que no tenían síntomas constitucionales (999 U/ml). En linfomas no Hodgkin se han encontrado cifras altas de IL-2R en todos los casos de linfomas de células T y en la mayoría de los de células B relacionándose asimismo con el pronóstico⁹³.

Mientras que son relativamente abundantes los estudios en las neoplasias hematológicas existen pocas comunicaciones sobre la dosificación de IL-2R en tumores sólidos y los casos en los que se ha estudiado han sido sobre todo tumores extendidos encontrándose cifras mas elevadas en los cánceres metastáticos que en los limitados⁹⁴.

En enfermedades autoinmunes reumáticas, concretamente en la artritis reumatoide y en el lupus, existen cantidades elevadas en el suero y, lo que tiene mas interés por reflejar mejor lo que sucede en el sitio de la enfermedad, concentraciones aún mayores en el líquido sinovial, mientras que en las artritis no inmunológicas se encuentran tasas similares a las de los sujetos normales. Los estudios secuenciales muestran una correlación con el nivel de actividad de la enfermedad. Las cifras encontradas por Symons en 67 enfermos fueron de 1.170 ± 70 U/ml en el fluido articular, de 610 ± 40 U/ml en el suero de los enfermos y de 370 ± 35 U/ml en la sangre de los controles⁹⁵.

En la *patología neurológica de base autoinmune* Chalon⁹⁶ ha estudiado los receptores solubles de IL-2 en el suero y en el líquido cefaloraquídeo de pacientes con diferentes procesos. En la esclerosis múltiple encuentra una media de 685 U/ml, variando según el estadio de la enfermedad o si estaban siendo tratados con inmunosupresores. En el síndrome de Guillain-Barré los valores eran mas altos con una media

de 2.134 U/ml. En enfermos con procesos neurológicos no inflamatorios que tomó como grupo control encontró 480 U/ml, es decir cifras normales. En el líquido cefalorraquídeo muchas veces resultaron indetectables con valores de menos de 18 U/ml en prácticamente todos los del grupo control así como en la esclerosis múltiple y en el Guillain-Barré. Por el contrario en los casos de infecciones del sistema nervioso central y en las carcinomatosis las tasas fueron altas, sin que se apreciara una relación con el número de linfocitos del líquido. Al comparar sangre periférica y líquido cefalorraquídeo no se encontraba correlación. Los altos niveles de IL-2R en sangre periférica en el síndrome de Guillain-Barré no se asociaron con presencia de estos receptores en el líquido cefalorraquídeo. En las infecciones y en las neoplasias sí se encuentran, por el contrario, receptores de IL-2 en el LCR en una proporción de un 10 a un 15% de los niveles de sangre periférica, tasas que según el autor no parecen explicarse por paso de la barrera hematoencefálica debiendo atribuirse a la producción intratecal de IL-2R.

La elevación de los receptores de IL-2 en suero puede ser un fenómeno general en las enfermedades con patogénesis inmune pues se han encontrado cifras altas además de en los procesos citados en otras muchas. Aparte de las implicaciones conceptuales de este hecho desde un punto de vista clínico se puede afirmar que la medición de los IL-2R

solubles es un buen marcador de la activación general y local en las enfermedades inmunológicas y puede ser un índice de la actividad del proceso.

Los receptores solubles de IL-2 también han interesado en la patología infecciosa. En relación a la infección por HIV se ha visto que casi el 80% de las personas con riesgo de desarrollar SIDA tienen altos niveles de IL-2R en el suero siendo mas elevados en los sujetos HIV+ con linfadenopatía que en los HIV+ asintomáticos y mas aún en el complejo relacionado con el SIDA y en el SIDA florido.

Se han encontrado también tasas altas de IL-2R solubles en la infección por otro retrovirus, el HTLV-I, en una enfermedad en la que se asocian una mielopatía espástica no maligna y una afectación pulmonar que cursa con linfocitosis T broncoalveolar. En estos casos además de estar elevados los IL-2R en sangre lo están en el lavado broncoalveolar. Sugimoto⁹⁸ estudió 13 pacientes con este proceso encontrando unos niveles en suero de 685 ± 210 U/ml mientras que en los sujetos normales eran de 286 ± 49 U/ml de media. En el BAL encuentra cifras mas de doce veces superiores a las halladas en la sangre periférica (166 ± 103 U/mg de albúmina vs 13 U/mg de albúmina) lo que indica la activación local de los linfocitos pulmonares.

La medición de IL-2R solubles tiene interés especial en aquellas enfermedades infecciosas en las que una activación inmune aberrante puede intervenir en algún aspecto de la patogénesis de la enfermedad y en el daño tisular. Se han encontrado cifras elevadas en la hepatitis aguda vírica, volviendo a lo normal en la fase de recuperación mientras que cuando existía una progresión a hepatitis crónica activa los IL-2R se mantenían elevados. En la lepra lepromatosa los receptores solubles de IL-2 están elevados en sangre en relación a los controles o a los enfermos con lepra tuberculoide.

Takahasi¹⁰¹ intenta comprobar si en la tuberculosis la dosificación de estos receptores en suero podría servir para evaluar la actividad de la enfermedad. Estudió con esta finalidad 77 enfermos con lesión pulmonar y 6 con pleuritis tuberculosa. Incluyó además 21 controles sanos, y otros enfermos con neumonías bacterianas, sarcoidosis, neumonía intersticial, cáncer, neumonitis de hipersensibilidad y linfomas. Encuentra las siguientes cifras, en unidades/ml: Tuberculosis: 1.327 ± 209 . Sarcoidosis: 1.037 ± 115 . Normales: 468 ± 49 . En las neumonías bacterianas no se podía apreciar un aumento significativo de los IL-2R solubles y en la neumonitis de hipersensibilidad, en la neumonía intersticial y en el cáncer se podían encontrar cifras altas pero no significativamente.

Al relacionar estas cifras en los tuberculosos con la extensión radiológica de la enfermedad encuentra entre ambas una relación directa: 2.745 ± 705 en tuberculosis avanzadas, 1.082 ± 189 en medias y 455 ± 92 en mínimas. En casos de pleuritis tuberculosa en el suero encontró cifras que considera altas como 2.111 ± 679 . También encuentra correlación con la existencia de síntomas. Al enfrentar los niveles con algunos parámetros analíticos de actividad inflamatoria aprecia una correlación con la positividad de la proteína C reactiva mientras que con la velocidad de sedimentación la correlación fué pobre. En estudios secuenciales de niveles de IL-2R se pudo comprobar que, cuando por efecto del tratamiento, tenía lugar una mejoría clínica el nivel de receptores en el suero descendía de forma evidente.

En patología respiratoria los investigadores que se han ocupado de los IL-2R se han interesado sobre todo por su estudio en el lavado broncoalveolar. Reynolds⁹⁹ con uno de los grupos mas amplios de enfermos con patología pulmonar, incluyendo criadores de palomas, sarcoidosis y fibrosis idiopáticas, además de sujetos normales, dosifica la IL-1, la IL-2, los IL-2R de membrana y el perfil fenotípico de las poblaciones celulares del BAL. No encuentra diferencias significativas en la cuantía de los receptores de IL-2 en los distintos grupos patológicos pero la IL-2 estaba aumentada. Existía una correlación positiva entre IL-2R e

IL-1 y negativa entre IL-2R y el porcentaje y el número de linfocitos por mililitro.

Buscando un procedimiento para poder medir la activación linfocitaria en la sarcoidosis Lawrence¹⁰⁰ estudió los niveles de IL-2R solubles en el lavado broncoalveolar y en el suero de 15 enfermos comparándolos con otros marcadores de actividad de la enfermedad. Estableció un grupo control de voluntarios sanos tanto para las mediciones en suero como para el BAL. Los IL-2R en el suero de los sujetos normales fueron 224 U/ml y en el de las sarcoidosis 1.110 U/ml, diferencia altamente significativa y sin valores superpuestos. En el BAL se encontraron cantidades detectables de IL-2R en 10 de 15 sarcoidosis y únicamente en 2 de los 36 normales. La discriminación entre normales y sarcoidosis no fué tan grande en este medio como para el suero. La correlación entre los valores de IL-2R en sangre y los parámetros habituales de actividad fué escasa. En los enfermos que respondieron favorablemente al tratamiento esteroide los IL-2R solubles descendieron de una media de 1.499 U/ml a 476 U/ml.

Además de los cambios en los receptores de IL-2 libres se ha observado aumento de la expresión del IL-2R sobre las células del parénquima pulmonar y en las de los linfáticos de los enfermos de sarcoidosis no sólo en los linfocitos T sino también en células de la línea macrofágica como las

células gigantes y epitelioides. En consecuencia todas estas células activadas, podrían ser fuentes potenciales dentro del pulmón, junto a los linfocitos, para las altas cifras de IL-2R soluble encontradas.

La expresión de los IL-2R de membrana en las células del BAL de sarcoidosis está aumentada¹⁰² en cuantía que guarda relación con la actividad de la enfermedad¹⁰⁴ y los IL-2R solubles se elevan tanto en sangre periférica como en el lavado siendo mas altos en éste que en el suero. Este desprendimiento de IL-2R en el compartimento pulmonar verosimilmente contribuye a su aumento en la sangre. Lo que resulta interesante es que la expresión de este receptor en los macrófagos es alta¹⁰⁵ incluso mas que en los linfocitos, existiendo una correlación positiva entre el IL-2R soluble en suero y el porcentaje de macrófagos alveolares IL-2R positivos. Esto parece indicar que en la sarcoidosis los elevados niveles de IL-2R en sangre periférica pueden ser derivados de los macrofagos alveolares e indicar activación de esas células.

Otros autores han referido que los IL-2R solubles sólo están ligeramente elevados en el suero de los pacientes con fibrosis pulmonar idiopática y son normales en la asbestosis lo que indica que los valores altos de la sarcoidosis no son una respuesta generalizada común a las inflamaciones pulmonares.

Otra parcela de la patología respiratoria en la que ha despertado interés el estudio de los IL-2R solubles y de membrana es la del asma^{106,107} Estos receptores están mas elevados en el BAL de los enfermos con asma sintomático que en los sanos y en los pacientes con asma asintomático pero no se aprecian diferencias en los IL-2R solubles entre los sujetos sanos y los pacientes asintomáticos.

2.4.3.1.3.-IL2-R EN LIQUIDO PLEURAL

Son muy escasas las determinaciones que se han hecho de IL-2R en líquido pleural. En 1990 Ito¹⁰⁸ publica sus hallazgos en el exudado pleural de 38 enfermos. Estudia 10 pleuresías tuberculosas, 10 exudados bacterianos inespecíficos, 10 metástasis de cáncer pleural y 8 trasudados. Al mismo tiempo estudia a 20 voluntarios sanos para referencia de las cifras en suero. Encuentra 8.651 ± 2.779 U/ml en tuberculosis, 1.469 ± 490 en derrames bacterianos, 2.528 ± 831 en neoplasias y 422 ± 209 en trasudados, diferencias altamente significativas. En los respectivos sueros las cifras fueron: 1.704 ± 1.942 para tuberculosis, 672 ± 380 para exudados bacterianos, 765 ± 413 para derrames neoformativos y 749 ± 367 para trasudados. En los normales las cifras eran 261 ± 69 . Cuando se compararon IL-2R y adenosindesaminasa en líquido pleural tuberculoso encontró una correlación positiva ($r=0.7748$, con $p < 0.01$) entre ambos parámetros.

En 1990 Kojiro¹⁰⁹ mide los receptores de IL-2 en líquido pleural y en suero de 20 enfermos con cáncer. Encuentra unas tasas de 2.930 ± 1.722 en exudado pleural y de 965 ± 610 en sangre periférica, diferencia altamente significativa como también eran significativas las diferencias entre la sangre periférica de enfermos con cáncer y la de controles (264 ± 70). Antes se ha citado el trabajo de Takahasi⁹⁶ dedicado fundamentalmente al estudio de los receptores libres de IL-2 en suero. Entre los casos estudiados había 6 con pleuritis tuberculosa, 6 con derrames por cáncer y 3 con trastornos hematológicos. En pleuresías tuberculosas encuentra unas cifras de 3.255 ± 636 U/ml, en los derrames neoplásicos 2.412 ± 583 y en los linfomas malignos 6.010 ± 711 . Mientras que en las dos primeras etiologías las respectivas cantidades en sangre periférica eran mucho mas bajas que en pleura en los linfomas también en sangre se encontraban unas tasas elevadas de IL-2R (4.544 ± 587).

Sarandakou¹¹⁰ estudia 13 enfermos con tuberculosis, 28 con cáncer y 17 con trasudados por insuficiencia cardiaca: en los tuberculosos los IL-2R solubles en líquido pleural eran 3.777 ± 501 U/ml, en los cancerosos 1.981 ± 501 y en los trasudados 713 ± 111 . Encuentra cifras mas altas en sangre periférica de los enfermos con neoplasias y en los que tenían trasudados que en los controles, mientras que no se apreciaban diferencias significativas entre los tuberculosos y los controles. La relación líquido pleural/sangre

periférica fué de 5.32 ± 0.60 en tuberculosis, 2.67 ± 0.20 en neoplasias y 0.76 ± 0.10 en trasudados.

2.4.3.2.-MOLECULAS CD8.

2.4.3.2.1.-GENERALIDADES.

Desde las primeras aplicaciones de los anticuerpos monoclonales para diferenciar los tipos de linfocitos T se hizo evidente que existía una serie de glucoproteínas de membrana comunes a todos los linfocitos y otras que se expresaban en subpoblaciones linfocitarias mutuamente excluyentes. Entre éstas se encontraban las identificadas por los anticuerpos anti-Leu.3 y anti-Leu.2 de Becton-Dickinson y los anticuerpos OKT4 y OKT8 de Ortho. Hoy se conoce en gran parte la estructura de esas moléculas y se van estableciendo muchos detalles de su función. La glucoproteína CD8 está presente en la subpoblación linfocitaria que se ha dado en llamar citotóxica/supresora, si bien hoy sabemos que no existe una relación estrecha entre las distintas actividades funcionales linfocitarias y sus manifestaciones fenotípicas.

La molécula CD8, como la CD4 expresada por los linfocitos T colaboradores, se considera hoy una "molécula

accesoria" que, junto al receptor para el antígeno de la célula T y el grupo de cinco proteínas que constituyen el complejo CD3 presente en todos los linfocitos periféricos, forma la base molecular del reconocimiento del antígeno y de la activación subsiguiente de las células T. Su función está relacionada con la adhesión célula-célula y con la transducción de la señal para la activación. Consta de un homodímero de una cadena polipeptídica de 34 kD llamada CD8 alfa o bien se presenta como complejos de heterodímeros compuestos de la cadena CD8 alfa y otra cadena, aun no bien caracterizada, llamada CD8 beta. Los clásicos anticuerpos Leu-2 y T8 reconocen la cadena alfa.

Las primeras observaciones de la presencia de estas moléculas de superficie en forma libre en el suero se originaron durante el tratamiento de leucemias y de enfermedades inmunes con anticuerpos monoclonales. En los primeros años de la década de los ochenta se hicieron intentos terapéuticos en este sentido empleando anticuerpos monoclonales contra los antígenos de superficie celulares y en una de estas experiencias¹¹¹ se observó que tras la infusión del anticuerpo monoclonal en enfermos con leucemia de células T aparecía en el suero antígeno Leu-1 libre (el antígeno correspondiente al CD5) lo que entonces se consideró un inconveniente pues se pensó que podía reducir la eficacia del tratamiento. Eso animó al mismo equipo a investigar la presencia de otros antígenos de superficie de

los linfocitos en forma libre en el suero o en el medio de cultivo y así en 1983¹¹² se comunicó la detección de moléculas CD8 (entonces denominadas T8) libres en el sobrenadante de cultivos. Se empleó el anticuerpo monoclonal anti-Leu 2 y se encontró el antígeno CD8 sólo en los cultivos de linfocitos T que expresaban ese mismo antígeno en su membrana. Al no conseguir detectar en el medio de cultivo otros antígenos de superficie de esas células se dedujo que la presencia de CD8 se debía a liberación espontánea y no a destrucción celular. El análisis de la molécula liberada permitió identificarla como una cadena polipeptídica simple de 27 kD de peso molecular, algo mas pequeña que la correspondiente molécula de la superficie celular. A continuación se estudió suero de sujetos normales y de enfermos con leucemia en busca del antígeno CD8 libre y se encontraron pequeños niveles en todos los normales y cantidades elevadas en el suero correspondiente a las leucemias de células T CD8+.

2.4.3.2.2.-CD8 EN DIFERENTES MEDIOS BIOLÓGICOS.

En los años siguientes algunos autores se dedicaron a investigar la presencia de esta molécula en su forma soluble en diferentes situaciones clínicas, generalmente en sangre pero también en otros medios biológicos.

Uno de los trabajos de mas interés es el de Tomkinson¹¹³ por ser de los que mas claramente muestran la relación entre los niveles de CD8 solubles y la activación de la subpoblación linfocitaria CD8+. Este autor diseñó dos anticuerpos monoclonales que denominó C9 y B12 con los que montó un inmunoensayo tipo sandwich para la cuantificación de los CD8 libres en el medio. La especificidad del método se comprobó en cultivos de células leucémicas que constitutivamente expresan y liberan la molécula CD8 y en una serie de líneas celulares CD8+. Que la liberación de CD8 era un marcador de la activación celular se comprobó viendo la relación de esta liberación con la activación producida por estimulación de linfocitos humanos con PHA, anticuerpo anti-CD3 y anticuerpo anti-OKT3 así como comparándola con la expresión del antígeno HLA-DR que indica activación celular. Tras la activación persistía mas tiempo la elevación de los CD8 solubles en el medio que la de células activadas según expresión del antígeno HLA-DR. Tras confirmar la correlación *in vitro* entre liberación de CD8 y activación celular se eligió para comprobarlo *in vivo* una enfermedad, la mononucleosis infecciosa, que se sabía que estaba asociada a una intensa activación de los linfocitos T CD8+. Análisis secuenciales del CD8 soluble en el suero de 17 enfermos mostraron que los niveles estaban elevados en todos ellos, alcanzando una media en el momento agudo de la enfermedad de 7.939 U/ml, claramente mayor que las 289 U/ml de un grupo control. Se pudo comprobar también en estos enfermos que los

niveles de CD8 se correlacionaban estrechamente con el porcentaje de expresión por los linfocitos CD8+ del antígeno de activación HLA-DR.

Los niveles de CD8 soluble han sido medidos por Semenzato¹¹⁴ en enfermos con leucemia linfocítica crónica correlacionándolos con diferentes signos clínicos y con una serie de datos relevantes hematológicos e inmunológicos. Encuentra valores aumentados respecto a los controles con unas medias de 603 ± 81 U/ml y de 315 ± 31 U/ml respectivamente apreciando los valores mas bajos en los casos con enfermedad menos invasiva. No existía correlación de las tasas de CD8 soluble con el número absoluto de linfocitos CD8+ circulantes, indicando que su aumento no es simplemente el reflejo de un incremento de la población celular sino que representa la activación de esta subpoblación linfocitaria.

La medición de CD8 soluble como índice de actividad de las células supresoras/citotóxicas ha sido empleada también para investigar una posible respuesta a la malignidad en enfermos con leucemia de células vellosas¹¹⁵. La media en los pacientes no esplenectomizados fue de 1.025 U/ml, mas alta que en los esplenectomizados con 200 U/ml o en los controles normales, con 350 U/ml. La diferencia entre los controles y los esplenectomizados fue significativa. En los enfermos tratados con antimetabólicos o con interferón alfa tuvo lugar una normalización de los CD8.

En el Hodgkin se ha encontrado una gran dispersión de cifras, desde 220 hasta 2.585 U/ml con una media de 556 U/ml¹¹⁶. En los casos de enfermedad avanzada, en estadios III y IV las medias son significativamente mas altas que en los estadios I y II: 675 vs 477 U/ml y mas elevadas asimismo en los estadios B (sintomáticos) que en los demás: 622 vs 494 U/ml.

Agostini¹¹⁷ encuentra los CD8 solubles elevados en el suero de enfermos de SIDA y trastornos asociados. Estudia este parámetro en enfermos HIV positivos, en controles heterosexuales sanos y en seronegativos sanos pero pertenecientes a grupos de riesgo de SIDA. Los HIV positivos tenían niveles mas altos que el grupo control. No se encontró relación con el estadio de la enfermedad según la clasificación del CDC y no existía tampoco correlación apreciable entre los niveles de CD8 soluble por mililitro y el número absoluto de linfocitos CD8 ni en los HIV positivos ni en los controles. En pacientes en estadios avanzados en los que ya existía una disminución de la tasa de células CD8 no se apreció disminución de las cifras de CD8 soluble por lo que es concebible que en estos casos pueda existir una liberación aumentada o un mayor desprendimiento de moléculas CD8 por célula.

Se han encontrado también tasas elevadas de CD8 solubles en sujetos adictos a drogas por vía parenteral¹²⁰ y

en homosexuales, tanto en los HIV negativos como en los SIDA, atribuyéndose a las infecciones víricas, por el citomegalovirus o por el propio HIV¹¹⁹. Lin¹¹⁸ estudia los CD8 solubles en drogadictos intravenosos sin síntomas ni signos de SIDA o de complejo relacionado con el SIDA. Las cifras de CD8 solubles eran mas altas en los HIV+ que en los negativos: 1.640 ± 578 vs 804 ± 264 . En los HIV+ se podía comprobar una correlación con el porcentaje y con el número absoluto de células mononucleares CD3+DR+ periféricas. Estos resultados indican un estado de activación de los linfocitos CD8 en estadios precoces de la infección por HIV.

Griffin⁸⁰ estudia los CD8 solubles en niños con sarampión encontrándolos claramente elevados, con cifras de 4.145 ± 437 , muy superiores a otras enfermedades infecciosas (2.399 ± 771) o a la media de niños sanos (1.026 ± 169). Dosifica tambien los CD8 en líquido cefaloraquídeo de enfermos con encefalomiелitis y encuentra tasas que considera elevadas (686 ± 350).

También se han dosificado los CD8 solubles en líquido cefaloraquídeo y en sangre periférica de panencefalitis esclerosante subaguda, de esclerosis múltiple y de otros desórdenes neurológicos comparándolos en ambos medios¹²¹ y se ha visto que están mas elevados en el líquido cefaloraquídeo de los enfermos con panencefalitis y con esclerosis múltiple que en los que tenían otras enfermedades neurológicas

mientras que en sangre periférica los niveles son similares. Cuando se han medido los niveles secuencialmente se ha comprobado que en las panencefalitis se elevan durante los periodos de empeoramiento clínico y disminuyen en la mejoría.

En malaria experimental humana¹²² se han estudiado las tasas de CD8 solubles además de las de interferón, IL-2R solubles, TNF y otros marcadores inmunitarios en voluntarios inmunizados con esporozoitos irradiados y en voluntarios no inmunizados. En estos últimos aparecieron síntomas y coincidiendo con ello se elevaron los niveles sobre todo de IFN pero también los de CD8 solubles y los de receptores solubles de IL-2. El aumento de interferón fue más precoz y brusco mientras que los CD8 y los IL-2R solubles se incrementaban de una forma más tardía y gradual.

Motohasi¹²³ encuentra cifras altas de CD8 solubles en las fases agudas de la enfermedad de Kawasaki y en el sarampión. Al mismo tiempo cuantifica en sangre los linfocitos CD4+, los CD8+ y los que expresan el marcador de activación HLA-DR y encuentra que ninguno de ellos aumenta de forma significativa durante las fases agudas. Piensa que en sangre periférica puede existir un pequeño grado de activación y que al aumento de los CD8 solubles puede contribuir también la activación de los linfocitos de los tejidos, pasando el CD8 soluble producido por ellos a la sangre periférica.

Se han medido los niveles de CD8 solubles en el fluido del lavado alveolar de enfermos con neumonitis de hipersensibilidad¹²⁴ encontrándose mas elevados que en la sarcoidosis y en otras enfermedades pulmonares aunque en el suero eran similares a los controles. Se encuentra elevado tambien el número de células CD8+ y se puede apreciar una correlación entre ambas medidas. Una fracción del lavado, rica en CD8 solubles, aumenta la proliferación *in vitro* de los linfocitos estimulados con *Criptococcus neoformans*, uno de los agentes causales de la enfermedad.

2.4.3.2.3.- CD8 EN LÍQUIDO PLEURAL.

No hemos encontrado referencias en la literatura de dosificación de las moléculas CD8 solubles en este medio.

2.4.3.3.-INTERFERÓN GAMMA.

2.4.3.3.1-GENERALIDADES

En 1957 se descubrió que muchas células de vertebrados podían producir, en respuesta a la infección viral o a otros estímulos, unas sustancias que impedían la replicación de los virus. A este fenómeno se le llamó "interferencia"

vírica y en consecuencia, se empezó a hablar de "los interferones".

Existen varios tipos de interferones: los llamados tipo I son el interferón alfa y el interferón beta. El alfa es producido sobre todo por los leucocitos y el beta por células no leucocíticas, incluyendo los fibroblastos. En 1965 se demostró la existencia de un tercer tipo de interferón, tipo II, que se llamó gamma, segregado por células mononucleares de sangre periférica humanas estimuladas por PHA. En un primer momento el peso molecular del IFN se estableció en 35 a 70 kD aunque hoy se considera que está formado por dímeros de un tamaño de 20 a 25 kD.

El IFN gamma es el interferón inmune. Es producido durante las reacciones inmunológicas por los linfocitos T o por los linfocitos granulares grandes (LGL) con actividad asesina natural (NK), cuando estas células son estimuladas por antígenos, por mitógenos o por lectinas.

Si bien la primera actividad que se apreció en los interferones fué la antiviral realmente tienen múltiples y potentes efectos celulares. Pueden aumentar o disminuir la diferenciación celular dependiendo de la célula y de la dosis. Son potentes agentes inmunomoduladores ejerciendo este efecto a través de su acción sobre diferentes células, bien induciendo directamente la diferenciación de éstas o

estimulando la producción de otras citoquinas. Sus acciones se ejercen sobre los macrófagos, los linfocitos T y B y los linfocitos LGL con actividad NK. Los interferones activan a los macrófagos, aumentando la capacidad bactericida y tumoricida de éstos y favoreciendo sus funciones de células accesorias. Tienen actividad MAF y MIF, es decir de atracción y de inhibición de la emigración de los macrófagos. La activación de los macrófagos por el IFN va acompañada de aumento de la expresión de los receptores para el Fc, lo cual da lugar a una potenciación de la fagocitosis de complejos inmunes y de la lisis de bacterias recubiertas de inmunoglobulinas. *In vivo* e *in vitro* pueden aumentar la actividad NK aunque, paradójicamente, el pretratamiento de algunas células diana con IFN las hace menos susceptibles a la citolisis NK.

El IFN induce y mantiene la expresión del MHC-II sobre las células presentadoras de antígeno y del MHC-I sobre las células diana. Su acción sobre los linfocitos se traduce en un aumento o en una disminución de la inmunidad celular dependiendo de la dosis, del tiempo, etc. Experimentalmente se ha visto que la administración de interferón antes de la sensibilización antigénica tiene efectos inhibitorios mientras que si se hace después aumenta la respuesta celular y humoral. Esto quizás está en relación con el hecho de que *in vivo* el IFN es producido relativamente tarde en el curso

de la respuesta inmune. El interferón puede tener tanto efectos positivos como negativos sobre fenómenos de inmunidad celular tales como la hipersensibilidad retardada, el rechazo de injertos o la reacción de leucocitos mixtos.

El origen celular depende del estímulo que lo desencadena. Los linfocitos CD4 y CD8 lo producen en respuesta a alloantígenos o a mitógenos aunque los antígenos solubles estimulan principalmente su producción por los CD4. Con un estímulo apropiado también las células NK lo producen. La producción de IFN por los linfocitos T puede tener las características de una respuesta primaria o de una respuesta anamnésica secundaria, la primera con un retraso de varios días y la secundaria mas rápida e intensa a cargo de linfocitos de vida larga que se comportan como células memoria. La producción de interferón por los linfocitos es dependiente de la secreción de IL-1 por los macrófagos y de la IL-2 producida principalmente por las células T colaboradoras. En algunas circunstancias, como cuando los linfocitos están en reposo y el estímulo es la IL-2, lo producen fundamentalmente las células NK quizá porque los linfocitos T en reposo no poseen los adecuados receptores para la IL-2 y las NK sí lo tienen.

Uno de los primeros efectos atribuidos a los interferones fué la habilidad para inhibir el crecimiento de las células normales y neoplásicas. En algunas de las

primeras experiencias pareció observarse un efecto citolítico directo del IFN aunque hoy mas bien se cree que en esos primitivos experimentos las preparaciones de interferón estaban contaminadas con linfotoxina. El IFN tiene un efecto sinérgico con la linfotoxina y así las células son lisadas o su crecimiento es inhibido por concentraciones de ambas citoquinas juntas mucho menores que de cada una de ellas por separado. No está claro si el IFN recombinante, es decir el IFN puro, puede tener este efecto inhibidor.

Excepto para este efecto inhibidor la mayoría de las acciones del IFN son estimulatorias. De esta manera activa a las células maduras mielomonocíticas como los neutrófilos y los macrófagos. Induce en las células mieloides inmaduras la habilidad para mediar una eficaz citotoxicidad anticuerpo dependiente y también lo hace sobre los granulocitos maduros y los macrófagos contra células tumorales recubiertas de anticuerpos. Activa el metabolismo del O_2 en los granulocitos y en los macrófagos y aumenta su habilidad para producir y segregar enzimas proteolíticos. Incrementa la actividad antiprotozoaria celular, tanto la que es dependiente como la que es independiente del oxígeno. Esta actividad antiprotozoaria se ha puesto de manifiesto en experiencias en ratones con inyección de IFN recombinante¹²⁵ y con anticuerpos anti-IFN¹²⁶.

Ya antes del descubrimiento del interferón se sabía que la activación de los macrófagos era dependiente de los linfocitos T sensibilizados. Cuando la técnica permitió emplear interferón puro en lugar de los extractos de sobrenadantes de cultivos celulares con los no bien caracterizados "factores de activación de los macrófagos" se pudo estudiar la cinética y los detalles de la activación de estas células. El macrófago humano es una célula quiescente que generalmente requiere al menos 12 a 24 o hasta 72 horas de exposición *in vitro* a IFN recombinante para mostrar una activación óptima, activación que es relativamente transitoria y se desvanece en dos o tres días tras retirar el interferón. Por el contrario si el monocito de sangre periférica que ya intrínsecamente tiene una actividad antimicrobiana y respiratoria se trata con interferón recombinante los resultados son distintos. Una exposición breve a bajas concentraciones induce una persistente activación que se mantiene hasta cinco o siete días tras suspender el tratamiento. Esto indica que en los tejidos donde tiene lugar una infección asociada con células T sensibilizadas, por ejemplo en un granuloma, la relativamente lenta activación de los macrófagos residentes parasitados puede ser sobrepasada por la más rápida y más persistente activación de los monocitos que llegan de la sangre.

2.4.3.3.2.-IFN EN DIFERENTES MEDIOS BIOLÓGICOS

Son escasos los trabajos en los que se han medido los niveles de interferón en suero o en otros medios biológicos en diferentes procesos patológicos y abundan mas los estudios en animales de experimentación o bien las determinaciones *in vitro* del interferón producido por elementos celulares cultivados. Posiblemente es por el hecho de que en la mayoría de las situaciones clínicas y en la mayor parte de los medios biológicos (el caso del líquido pleural en la tuberculosis es una excepción) el interferón se muestra indetectable o en cantidades tan en el límite de detección de los métodos que resulta muy difícil encontrar diferencias significativas.

Algunas de las pocas referencias que se encuentran en la literatura se refieren a procesos exóticos o poco frecuentes. Se han encontrado niveles elevados de IFN gamma en el suero de enfermos con meliodosis¹²⁷. También en el suero de tuberculosis miliar y de tuberculosis muy avanzada pero no en los casos mas leves¹²⁸, en niños con sepsis meningocócica grave y púrpura fulminante en los que se encuentran niveles elevados en el 19% de los casos con cifras mas altas en los que tienen un desenlace fatal¹²⁹, en linfadenopatía angioinmunoblástica¹³⁰, en la malaria experimental humana en la cual se encuentran niveles elevados en los enfermos con parasitemia, incrementándose

abruptamente el día previo a la aparición de la fiebre¹²² y en transplante renal en el curso de los episodios de rechazo y mas aún durante las complicaciones infecciosas¹³¹.

En patología respiratoria lo ha estudiado Prior¹³² en un grupo de enfermos con sarcoidosis con afectación pulmonar en los que comprobó que aquellos que tenían niveles mas elevados de IFN en sangre respondían mejor al tratamiento con esteroides. El mismo autor no encontró niveles detectables en el fluido del lavado alveolar de una serie de otros procesos neumológicos.

2.4.3.3.3.-IFN EN LÍQUIDO PLEURAL

Las primeras publicaciones sobre dosificación de interferón gamma en líquido pleural son las de Ribera y colaboradores en 1988¹³³: En esa fecha se conocía ya que los linfocitos de los exudados pleurales producían grandes cantidades de interferón gamma *in vitro* al ser cultivados con PPD^{134,135} así como que los linfocitos del lavado broncoalveolar también lo producían¹³⁶ y que, por el contrario, en algunas ocasiones los de sangre periférica en enfermos tuberculosos mostraban un déficit de producción¹³⁷. Esto estaba de acuerdo con el concepto vigente de compartimentalización de los linfocitos lo que llevó a Ribera a investigar la producción local de esta citoquina

por los linfocitos del líquido pleural *in vivo*, dosificándola asimismo en sangre y relacionando estos datos con las subpoblaciones linfocitarias y con la cuantía de la efusión³⁰.

Fueron 80 enfermos de los que 30 eran tuberculosos, 20 eran portadores de derrames malignos, 10 tenían pleuresías paraneumónicas, 10 trasudados y otros 10 eran derrames de etiología desconocida. Las tasas de interferón se encontraban llamativamente más elevadas en los derrames tuberculosos que en las demás etiologías. La media en los primeros era de 91,2 U/ml, con una cifra mínima de 2,3 y máxima de 413 U/ml. En el resto de los grupos la cantidad de interferón era siempre inferior a las 2 U/ml y las determinaciones en sangre periférica en todas las etiologías, incluida la tuberculosis, estaban generalmente por debajo o cerca del límite de sensibilidad de la prueba siendo en todo caso, siempre inferiores a 1 U/ml. Al comparar las tasas de interferón con la cuantía del derrame y con la presencia o ausencia de lesión pulmonar aunque los niveles eran más altos en los derrames mayores o en los enfermos que también tenían afectación pulmonar las diferencias no eran significativas. Tampoco encontró ninguna correlación estadística con el número total de linfocitos o con la cuantía de linfocitos CD4, ni relación con la edad y sexo de los pacientes.

El autor indica que los elevados niveles de interferón encontrados *in vivo* pueden ser el resultado de la estimulación local en la pleura de los linfocitos CD4 por los antígenos bacterianos y serían equivalentes a los altos niveles encontrados *in vitro* tras la estimulación por PPD.

En una publicación posterior¹³⁸ Ribera amplía el número de casos estudiando el interferón en 162 enfermos y comparándolo en este caso con la adenosindesaminasa. Estableció cinco grupos: 48 tuberculosos, 46 neoplasias, 19 derrames inespecíficos, 24 metaneumónicos y 25 trasudados. Las cifras de interferón en líquido pleural tuberculoso mostraron una gran dispersión con una media de 93,2 U/ml, una mediana de 48 y una desviación estándar de 120,5. En ningún tuberculoso la cifra era inferior a 2 y, como ya se había visto, en los no tuberculosos la cantidad siempre fue menor a esta cifra. Al estudiar la relación de la adenosindesaminasa con el interferón en líquido pleural tuberculoso no encuentra ninguna correlación indicando que, aunque ambos marcadores están relacionados con la población linfocitaria, realmente representan procesos independientes. La elevación del interferón depende de la activación de los linfocitos por los antígenos o por las interleucinas y aunque no está del todo claro el mecanismo del incremento de la adenosindesaminasa en el exudado pleural tuberculoso parece estar en relación con la proliferación y diferenciación de los linfocitos T. En la tuberculosis

existen ambos procesos, el de proliferación y el de activación por lo que se produce un aumento de ambos marcadores. En linfomas tiene lugar una proliferación de linfocitos poco diferenciados que producen una cantidad aumentada de adenosindesaminasa pero son linfocitos no activados por antígenos o por interleucinas que no segregan interferón. En los empiemas también está aumentada la adenosindesaminasa pero en este caso es a expensas de los polimorfonucleares y lógicamente no existe motivo para que se eleve el interferón.

El mismo autor¹³⁹ se ocupa en otro trabajo de la producción de interferón por los linfocitos pleurales, esta vez *in vitro*. Estudió el comportamiento de los linfocitos procedentes de exudados pleurales tuberculosos y no tuberculosos al ser estimulados con PPD. Los linfocitos de los enfermos tuberculosos sufren transformación blástica cuando se les somete a ese estímulo y producen IFN. La respuesta de los linfocitos del líquido pleural era mayor que la de los linfocitos de la sangre periférica. En la literatura en esas fechas no había apenas referencias a la respuesta de los linfocitos pleurales de enfermos no tuberculosos que fueran tuberculín positivos, cuyos linfocitos había que suponer que se encontrarían activados por un contacto previo con antígenos tuberculosos. Estudió la respuesta blástica y la producción de interferón en exudado pleural y en sangre periférica haciendo hincapié en

las diferencias entre los tuberculosos y los no tuberculosos que se comportaban como tuberculin positivos. La respuesta linfoblástica, medida por la incorporación de timidina tritiada al DNA celular fué expresada, en forma de índice blastogénico, como la relación entre las cuentas por minuto medidas en los cultivos estimulados y las medidas en los cultivos no estimulados y la producción de interferón se estudió por un procedimiento de radio-inmunoensayo. Fueron 41 enfermos: 15 tuberculosos, 19 con neoplasias y 7 con derrames de etiología desconocida. Los dos primeros grupos fueron ulteriormente clasificados en tuberculín positivos y tuberculín negativos. En los líquidos pleurales tuberculosos la respuesta de los linfocitos fué, con un índice blastogénico de $9,4 \pm 4,3$, mas alta que la de los de sangre periférica con un I.B. de $5,1 \pm 2,2$ mientras que en los no tuberculosos tuberculin positivos fué mayor la respuesta en sangre periférica ($6,2 \pm 2,3$) que en exudado pleural ($3,9 \pm 1,7$). Por otra parte los linfocitos de los líquidos pleurales tuberculosos sufrían una mayor transformación linfoblástica que los linfocitos de líquido pleural de aquellos enfermos no tuberculosos que se comportaban como tuberculín positivos, mientras que ocurrió lo opuesto en sangre periférica con mayor respuesta en este caso en los pacientes no tuberculosos tuberculín positivos. Como era de esperar los linfocitos de los sujetos que no reaccionaban a la prueba de Mantoux no tuvieron respuesta proliferativa ante el estímulo con PPD. Existía una concordancia entre la

producción de interferón y los índices de transformación linfoblástica indicados antes aunque no se pudo comprobar una correlación estadísticamente significativa entre ambos fenómenos. La producción de IFN fué mayor por parte de los linfocitos de líquido pleural tuberculoso (374 ± 549) que por los linfocitos de sangre periférica de los mismos enfermos (71 ± 106). En los enfermos no tuberculosos tuberculín positivos tenía lugar lo contrario, una mayor producción en sangre (92 ± 103) que en exudado pleural (36 ± 37). Comparando la producción de IFN por los linfocitos de líquido pleural tuberculoso con los de líquido pleural de pacientes no tuberculosos tuberculín positivos la diferencia era marcadamente significativa a favor de los primeros. En sangre periférica no se encontraron diferencias significativas. En el trabajo se citan dos enfermos con pleuritis tuberculosa en los que la reacción de Mantoux fué negativa. En ambos se comprobó una falta de respuesta de los linfocitos sanguíneos a la estimulación *in vitro* con PPD mientras que la respuesta blástica de los linfocitos pleurales y su producción de interferón fueron elevadas.

En 1989 Barnes¹⁴⁰ estudió la producción de interferón gamma por linfocitos pleurales de enfermos tuberculosos. Aisló la subpoblación que dentro de los linfocitos T CD4+ expresan el fenotipo CDw29, subpoblación que corresponde a las células memoria y, tras ser estimuladas con PPD, estas células proliferaron intensamente y produjeron cantidades

significativas de IFN: de 83 a 135 U/ml contra 3 U/ml los cultivos no estimulados. La producción de interferón era altamente específica pues sólo se produjo con PPD y no con una serie de otros antígenos. Al medir directamente las tasas de interferón en líquido pleural de 10 enfermos tuberculosos encuentra una media de 84 U/ml.

En un trabajo posterior el mismo grupo¹⁴¹ con un protocolo en el que se incluyó el TNF, estudió 15 enfermos tuberculosos, 14 de ellos tuberculín positivos, junto a 12 enfermos con pleuritis no tuberculosas. Se cultivaron las células mononucleares del líquido pleural con antígenos obtenidos de micobacterias tuberculosas y se midió la producción de IFN y de TNF. La cantidad de citoquinas atribuible a la estimulación por el antígeno bacteriano se calculó restando a la producida en cultivos estimulados la producida en cultivos sin estimular. Por hibridación *in situ* se estudió la producción de RNA mensajero para esas citoquinas en biopsias de tejido pleural. En 3 de 5 enfermos la detección fué positiva para el interferón.

Shimokata¹⁴² dosificó el IFN en 20 derrames pleurales tuberculosos y en 20 neoformativos midiendo al mismo tiempo otras citoquinas, (concretamente la IL-1 y la IL-2) y la adenosindesaminasa. El interferón lo estudió por dos métodos, un radioinmunoensayo similar al utilizado en esta tesis y un bioensayo en el que se valora la capacidad

inhibitoria del interferón de la muestra sobre el crecimiento viral. Los resultados obtenidos por los dos métodos mostraban una correlación significativa. En cuanto a las cifras obtenidas la media para el interferón en líquido pleural tuberculoso fué de 73 U/ml con un rango de 1.5 a 410 U/ml. En los derrames neoplásicos con una media de menos de 1 U/ml hay un rango que va de menos de 1 U/ml a 570. Verdaderamente todos los casos en este grupo estaban alrededor de 1 U/ml (concretamente el 75% menos de 1 U/ml) salvo uno que tenía, sorprendentemente, esa alta cifra de 570 U/ml. Ningún caso entre las pleuresías tuberculosas tenía menos de 1 U/ml. En este estudio se encontró una correlación significativa ($p < 0,01$) entre IFN e IL-2 en líquido pleural tuberculoso pero no se halló correlación entre los niveles de ADA y los de IFN.

Valdés¹⁴³ en un amplio trabajo en el que, junto al interferón, dosifica la adenosindesaminasa y la lisozima, estudia 145 enfermos que clasifica en seis grupos. 35 tuberculosos, 36 neoplasias, 21 derrames paraneumónicos, 8 empiemas, 29 trasudados y un grupo de 16 pacientes con diferentes procesos agrupados como miscelánea. Para la determinación del interferón utiliza un enzima-inmunoensayo en fase sólida tipo sandwich (un kit de Genzyme®) y da las cifras en picogramos por ml definiendo el pg/ml como igual a 2.5×10^{-2} U/ml. Los resultados son los siguientes: En tuberculosis 449.6 ± 375.2 pg/ml, en neoplasias 94 ± 30.1 pg/ml.

en pleuresías paraneumónicas 97,5±42,1 pg/ml, en empiemas 104,1±35 pg/ml, en trasudados 70,8±21,3 pg/ml y en el grupo de miscelánea 100,7±43,7 pg/ml. En la valoración que da a este parámetro como ayuda para el diagnóstico de la pleuritis tuberculosa lo atribuye una sensibilidad de 94,2, una especificidad de 91,8, un valor predictivo positivo de 78,5 y un valor predictivo negativo de 98. Existe una diferencia entre estos valores y los que da Rivera que son del 100%. A señalar que en este trabajo hay dos enfermos diagnosticados de tuberculosis que tienen una cifra baja de interferón y, por otra parte, nueve casos no tuberculosos, concretamente tres pleuritis metaneumónicas, tres tromboembolismos, un linfoma, una leucemia linfática crónica y un neuroblastoma en los que el interferón se encontraba elevado.

2.4.3.4.-FACTOR DE NECROSIS TUMORAL.

2.4.3.4.1.-GENERALIDADES

El camino que llevó al descubrimiento del TNF se inició con las experiencias sobre el efecto de las endotoxinas de algunos gérmenes gram negativos, concretamente con los lipopolisacáridos (LPS). Se comprobó que las células linforeticulares eran las que mediaban las respuestas del

huesped a estas endotoxinas. Los ratones que constitucionalmente se mostraban resistentes a los LPS se hacían sensibles al efecto letal de éstos tras el trasplante de médula de ratones sensibles y, a la inversa, los sensibles se hicieron resistentes cuando se les transplantaba la médula de los resistentes¹⁴⁴. Como se sabía que ciertos estímulos como la inoculación de BCG, de *C. parvum* o de *My. lepraemurium*, gérmenes todos ellos que causaban hiperplasia reticuloendotelial, daban lugar a que los animales se mostraran sensibles a los LPS, se pensó que el macrófago estaba implicado en esta respuesta y, a través de las experiencias adecuadas, se comprobó que los macrófagos activados por la endotoxina producían *in vitro* un factor capaz de matar a los ratones que habían resistido a la propia endotoxina¹⁴⁵

En 1980 y en los años siguientes se publicaron una serie de trabajos por Cerami y colaboradores que ponían de manifiesto la existencia de una sustancia responsable de la caquexia que aparecía en una serie de modelos animales experimentales. En los conejos infectados con *Trypanosoma Brucei* se producía, junto a la caquexia, una marcada hipertrigliceridemia que era debida a un déficit del enzima lipoproteinlipasa¹⁴⁶. Cerami diseñó un modelo para detectar a los mediadores endógenos de la supresión de este enzima y pudo comprobar la presencia en el suero de animales estimulados con endotoxinas de un factor que tenía esa

propiedad originando el consiguiente aumento de triglicéridos y paralelamente la caquexia¹⁴⁷. En consecuencia ese factor se denominó "cachectina". Posteriormente se demostró que macrófagos aislados de animales sensibles a las endotoxinas producían esta sustancia y en su momento se llegó a purificar la cachectina¹⁴⁸ que se mostró activa a concentración de pocos picomoles.

Por otra parte los clínicos sabían desde hacía tiempo que una infección intercurrente podía producir una necrosis hemorrágica en el seno de los tumores y se habían hecho pruebas para reproducir este fenómeno en un intento terapéutico para tratar algunos cánceres pero la toxicidad del procedimiento no lo hacía viable. Se buscó el aislamiento del producto bacteriano responsable y se identificaron como tales los lipopolisacáridos de los gérmenes gram negativos. El empleo de estas sustancias también resultó tóxico pero estas experiencias sirvieron para demostrar que la necrosis hemorrágica se producía por un factor desencadenado por los lipopolisacáridos mas que por los propios LPS. El suero de ratones a los que se les había producido un shock endotóxico producía necrosis hemorrágica en tumores implantados en su piel y el factor responsable recibió el nombre de factor de necrosis tumoral.

Hoy se sabe que lo de menos en esa sustancia es su capacidad para producir citólisis tumoral y caquexia y que

su papel en el shock es compartido por otros mediadores, particularmente por la IL-1. Posteriormente al TNF se le distinguió como TNF alfa diferenciándolo del TNF beta o linfotoxina.

El TNF es una citoquina tóxica por lo que dado este potencial efecto deletéreo tienen que existir eficientes mecanismos de control. No existe en forma almacenada y es eficientemente exportado de la célula tras su producción. Es citotóxico para varios tumores, tiene una actividad variable respecto al crecimiento de los fibroblastos y produce efectos sistémicos. A diferencia de otras citoquinas puede actuar a distancia y se pueden detectar niveles tras la administración de endotoxinas. Las principales acciones del TNF son catabólicas e inflamatorias. Da lugar a la liberación de IL-1 por las células endoteliales y promueve la adhesión de los neutrófilos al endotelio lo que conduce a su marginación y trasudación.

Se han observado efectos sobre el tejido adiposo, sobre el músculo, sobre el hígado y tracto gastrointestinal, sobre el sistema nervioso central, sobre glándula suprarrenal así como sobre piel, hueso y cartílago. En cuanto a su posible papel en diferentes estados patológicos se han hecho varios intentos para medir el TNF en fluidos biológicos de hombres y animales con infecciones o neoplasias obteniéndose resultados conflictivos.

Los monocitos y los macrófagos activados de diferentes orígenes, incluyendo las células de Kupffer y los macrófagos pulmonares son la mayor fuente de TNF sobre todo cuando son estimulados por lipopolisacáridos. El tratamiento simultáneo con IFN hace que los macrófagos activados sean mucho mas sensibles a bajas dosis de LPS, lo cual concuerda con la observación de que los macrófagos aislados de granulomas resultantes de inmunidad mediada por células T liberan mucho mas TNF después de la estimulación con LPS que los procedentes de granulomas inducidos por material inerte. Los macrófagos también pueden liberar TNF tras la fagocitosis de zymosan o de glóbulos rojos opsonizados o a través del entrecruzamiento de sus receptores de Fc pero en proporción diez veces menor que la inducida por los LPS. La liberación de TNF tras la fagocitosis de partículas no digeridas puede explicar la fuerte producción de este factor en granulomas producidos por *My. tuberculosis* y *My. Bovis*.

Los linfocitos también pueden producir TNF alfa y, aunque parece que todos los tipos de linfocitos pueden hacerlo, claramente sólo se ha visto en los CD4 humanos. Las células NK y las células LAK pueden producir TNF tras contacto con sus células diana, en cultivos mantenidos con IL-2 y tras otros estímulos. Además de los macrófagos y los linfocitos otras células como las células cebadas, los polimorfonucleares, keratinocitos, astrocitos y células

microgiales, células del músculo liso, células intestinales de Paneth, células tumorales, etc. pueden segregar TNF.

Sobre los monocitos y los macrófagos el TNF ejerce una poderosa función de activación y diferenciación, sobre todo si se suma la acción sinérgica del IFN e *in vitro* se muestra quimiotáctico para estas células. Puede poner en marcha, las dos vías citotóxicas de los macrófagos, la de los intermediarios del oxígeno y la del óxido nítrico. El TNF induce la diferenciación a monocitos de los precursores inmaduros y actúa sobre los monocitos mismos como un factor de crecimiento, impidiendo su muerte por apoptosis.

En cuanto a los linfocitos las células T en reposo no responden al TNF porque no llevan el receptor adecuado, apareciendo éste después de la activación. Con células T estimuladas que llevan TNF-R la exposición a TNF aumenta la producción de IL-2 y la afinidad del IL-2R. La coestimulación de TNF y de IL-2 aumenta la producción de IFN. Estos efectos son observados en células CD4 y CD8 estimuladas con anticuerpos anti-CD3. Sobre las células B estimuladas activa su crecimiento y maduración y sobre las células NK y LAK aumenta su expresión de IL-2R así como su capacidad citolítica.

Sobre los polimorfonucleares aumenta la actividad fagocitaria, la degranulación y la producción de

superóxidos, su atracción por diferentes mecanismos y la adhesión de los neutrófilos y los eosinófilos a las células endoteliales que son subsiguientemente dañadas. Las propias células endoteliales representan una importante diana para el TNF. Estimula la actividad procoagulante y suprime la actividad anticoagulante de estas células y tiene una poderosa acción antifibrinolítica disminuyendo la producción de activadores del plasminógeno y aumentando la del inhibidor de los activadores del plasminógeno.

El TNF influye también sobre otras células. Los fibroblastos son estimulados en su crecimiento, pueden ser atraídos y responden al TNF con la producción de numerosas citoquinas, en particular GM, G-CSF e IL-8. Parece inhibir la síntesis de colágeno por los fibroblastos y aumentar la de colagenasa. Se han comprobado también diferentes acciones del TNF sobre algunas células nerviosas, sobre adipocitos y células musculares y sobre queratinocitos.

En lo que se refiere a las células tumorales las hay insensibles o sensibles al TNF, manifestándose esta sensibilidad por un efecto de citolisis o de citostasis. El mecanismo final de la citolisis parece estar en gran parte en relación con los radicales de oxígeno. Una exposición previa a TNF puede dar lugar en ciertas células a protección en una exposición posterior y de esto puede depender que el

TNF unas veces se comporte como protector y otras como lesivo.

El TNF puede tener un efecto antiviral por inhibición de la replicación del virus, quizá a través del IFN, y es capaz de destruir *in vitro* a células infectadas.

Se han hecho diferentes estudios con inyección intradérmica de TNF los cuales muestran la aparición de la molécula de adhesión leucocitaria ELAM-1 en las vénulas y en los neutrófilos. Posteriormente aparece la molécula de adhesión intercelular ICAM-1 y tiene lugar un acúmulo de mononucleares lo que, junto al aumento de permeabilidad vascular, tiene una gran semejanza con lo que sucede en las reacciones alérgicas y en la hipersensibilidad de tipo retardado cutánea, reacciones que parecen estar mediadas por el TNF. Cuando se administra una infusión prolongada de TNF se produce una densa acumulación de fibroblastos, una neoangiogénesis y una hiperplasia epidérmica lo que ha llevado a algunos autores a investigar si existe alguna relación con la aparición de cicatrices cutáneas en estos experimentos.

La inyección sistémica de TNF produce efectos diferentes según la dosis. Bajas cantidades dan lugar a fiebre transitoria junto a leucocitosis, aumento de las proteínas de fase aguda y una moderada hipertrigliceridemia.

es decir los signos de una inflamación generalizada. Si se inyectan dosis repetidas se puede dar lugar a un estado de tolerancia. La administración de altas dosis produce los síntomas del shock séptico por endotoxinas o los síntomas de un síndrome de distress respiratorio del adulto. El TNF juega un papel importante en el shock séptico, tanto en el producido por inyección de lipopolisacáridos como por infecciones bacterianas.

En la infección por BCG los granulomas sintetizan y contienen TNF aunque éste no alcanza normalmente la sangre en cantidades detectables excepto tras la inyección de lipopolisacáridos. Los anticuerpos anti-TNF administrados tras el inicio de las respuestas de células T impiden el desarrollo de los granulomas o bien dan lugar a su rápida desaparición si ya se habían formado. Cuando esto ocurre el crecimiento subsecuente de las micobacterias puede terminar en la diseminación de la infección en el animal de experimentación. El TNF parece necesario no sólo para destruir a las bacterias sino también para la acumulación y diferenciación de los macrófagos y para mantener la estructura de los granulomas o su propia síntesis de TNF con lo que el TNF formado parece contribuir a un proceso de autoamplificación local.

Puesto que el TNF es liberado por los macrófagos y por linfocitos T activados, no tiene que extrañar su implicación

en los fenómenos de la inmunidad mediada por células. Un ejemplo de su papel en las reacciones de hipersensibilidad retardada lo tenemos en las reacciones cutáneas con dinitroclorobenceno. Tras la aplicación de esta sustancia tiene lugar la acumulación de células CD4-memoria y se puede detectar un aumento del RNA mensajero del TNF. Mediante anticuerpos anti-TNF se evita el edema, la infiltración linfocítica y la necrosis de la piel.

Existe un numero rapidamente creciente de publicaciones que relacionan el TNF y el cáncer. Es un hecho conocido que muchos tumores se encuentran infiltrados por linfocitos y por macrófagos los cuales pueden liberar TNF e IFN que a su vez pueden atraer y activar mas células que contribuyan a la lisis del tumor. La toxicidad contra las células tumorales puede ser inducida por el TNF mismo dependiendo de su sensibilidad a esta citoquina o mas frecuentemente por otros mecanismos por ejemplo la liberación de superóxidos por los macrófagos o por linfocitos T citotóxicos o por células NK. Respecto a la acción citotóxica puede ser mediada por células asesinas pues se han descrito receptores de TNF en algunas de ellas.

Se han realizado estudios inyectando tumores con TNF o LPS. En el ratón esto produce necrosis hemorrágica que se acompaña de trombosis aunque la necrosis hemorrágica no es debida a esta última porque no se evita con heparina. La

periferia del tumor generalmente no resulta afectada y sobrevive lo que explica porqué no tiene lugar una remisión total del tumor. Para ello se requeriría posiblemente una respuesta celular a través de los linfocitos T y sería mediada por macrófagos que infiltrarían al tumor y liberarían TNF. Es decir es importante el papel jugado por los macrófagos atraídos y activados por las células T, concretamente por el IFN liberado por éstos.

Mediante ingeniería genética se han manipulado tumores para hacer que produzcan TNF los cuales, al ser injertados, quedan sin crecer posiblemente por la respuesta del huésped al TNF liberado por el tumor, respuesta que implica a los macrófagos, a las células NK y a los linfocitos T. Así se piensa que muy pequeñas cantidades de TNF, menores de las que producen necrosis hemorrágica, son útiles para prevenir el crecimiento de los tumores. En el caso de los linfocitos que infiltran a los tumores, sean CD4 o CD8 la liberación de IFN más que la citotoxicidad mediada por células CTL parece representar el mayor mecanismo de control.

Como se ha dicho, uno de los efectos primeramente atribuidos al TNF fue su capacidad para producir caquexia. En ratones a los que se les ha transplantado un tumor que libera un pequeño pero continuo nivel de TNF en sangre se produce una manifiesta emaciación. Lógicamente surge la pregunta de si esto sucede también en el cáncer humano

aunque hasta ahora no se ha encontrado buena correlación entre los niveles de TNF y la caquexia en la clínica humana. En la caquexia del SIDA también puede estar implicado el TNF pero aunque se han encontrado altos niveles en sangre periférica y en líquido cefalorraquídeo en general no se ha apreciado una relación con la pérdida de peso.

Se ha dicho que el TNF es mas que un factor de necrosis tumoral y desde luego es tambien mas que una cachectina o mas que un mediador del shock. Sus acciones son innumerables. Puede estimular a la médula osea, inducir la degranulación de los neutrófilos y liberar leucotrieno, estimular a los linfocitos que están en curso de división a dividirse mas, a los fibroblastos a producir colagenasa, etc. Como mediador de la inflamación dispara la liberación de practicamente todos los mediadores conocidos. Tiene capacidad para influir el tráfico de los leucocitos induciendo o aumentando la expresión de moléculas de adhesión sobre las células endoteliales y favorece la acumulación de los macrófagos. Puede promover la adhesión de los neutrófilos a las vénulas o la lenta infiltración de los linfocitos. Posee la habilidad para atacar a invasores extraños induciendo o aumentando, a menudo en asociación con el interferón, la producción de reactantes de oxígeno y de nitrógeno. Pero al mismo tiempo también protege contra estos radicales por inducción de enzimas de limpieza como la superóxido dismutasa. Dependiendo del momento, de la

localización y de la extensión de la liberación puede ser un importante agente protector del huésped contra muchos de los efectos que el mismo desencadena.

2.4.3.4.2.-TNF EN DIFERENTES MEDIOS BIOLÓGICOS

Muchas investigaciones sobre TNF se han realizado *in vitro* midiendo su producción por diferentes células y tejidos y en cambio son menos abundantes los intentos de detección de esta citoquina en suero u otros medios biológicos en la clínica. El repaso de la literatura nos muestra que hoy por hoy no disponemos de datos consistentes para establecer el comportamiento del factor de necrosis tumoral en prácticamente ningún proceso patológico.

Algunos autores han observado niveles elevados en el suero de enfermos con tumores sólidos. Ardizzoia¹⁴⁹ estudió 48 pacientes con cáncer (de pulmón, de colon, de mama y renales), de ellos 27 con metástasis, encontrando niveles elevados en el 56% en comparación con un grupo control. Las cifras de TNF eran mas altas en los que tenían enfermedad extendida, sobre todo en aquellos con metástasis viscerales.

Cuando se han evaluado los niveles de TNF alfa en suero, en relación a la evolución de la enfermedad¹⁵⁰ se ha visto disminución en los pacientes que, tras el tratamiento

oncológico, seguían vivos y un aumento significativo en los que fallecieron durante el periodo de seguimiento.

Entre las enfermedades infecciosas se ha encontrado TNF alfa elevado en el suero del 91% de los niños con púrpura infecciosa grave¹²⁹, mas en los que tuvieron un desenlace fatal que en los que sobrevivieron y en el suero de tuberculosis miliar o tuberculosis muy avanzadas¹²⁸.

En artritis reumatoide se han encontrado niveles mensurables tanto en el líquido sinovial como en el suero en alrededor del 50% de los casos mientras que en artritis inespecíficas sólo se encontraba elevado en el 27% en líquido sinovial y en casi ningún caso en suero¹⁵¹.

En secreción bronquial de enfermos con síndrome de distress respiratorio¹⁵² se han encontrado concentraciones de TNF de mas de 500 unidades/ml lo que contrasta con la ausencia de detección en el aspirado bronquial de otras patologías (tuberculosis, sarcoidosis y hemoptisis sin hallazgos).

En líquido cefaloraquídeo se han visto altas concentraciones en el 82% de meningitis purulentas bacterianas y sólo en el 6% de meningitis víricas. En las meningitis tuberculosas el aumento de TNF era moderado¹⁵³.

2.4.3.4.3.-TNF EN LÍQUIDO PLEURAL:

Son pocos los autores que se han ocupado del TNF en líquido pleural. Barnes¹³⁹ en 1990 estudió 15 pacientes con tuberculosis pleural, dosificando TNF e IFN y comparando los resultados con los de 12 derrames no tuberculosos, concretamente seis neoplasias, dos derrames de estasis, dos post-traumáticos, uno paraneumónico y uno idiopático. La concentración media de TNF en líquido pleural tuberculoso fué de 545 pg/ml (recorrido de 210 a 1530 pg/ml), mientras que en suero la media fué de 102 pg/ml (recorrido de 0 a 237 pg/ml) diferencia significativa con una $p < 0,02$. Afirma no encontrar diferencia entre los pacientes tratados y no tratados lo cual no es de extrañar porque refiere que los tratados llevaban todos menos de cinco días. La concentración media en los derrames no tuberculosos fué de 62 pg/ml. Para demostrar que el TNF era producido *in situ* por las lesiones tuberculosas realizó hibridación para detectar el RNA mensajero para TNF en tejido pleural lo que ocurrió en algunos casos.

Ishii en 1990¹⁵⁴ comunica un solo caso (un adenocarcinoma pulmonar) de medición de TNF en líquido pleural con una cifra de 34,4 pg/ml, pero con el interés de que comprobó una citotoxicidad del líquido pleural contra las células del cancer pulmonar del paciente, citotoxicidad que parecía

depender del TNF pues fué bloqueada por medio de un anticuerpo monoclonal anti-TNF.

Broaddus¹⁵⁵ estudió el TNF, junto a la IL-8, en 51 casos dando las siguientes cifras de la primera de las citoquinas. En empiemas (14 casos) 318 ± 173 pg/ml, en derrames paraneumónicos (4 casos) 5 ± 5 , en tuberculosos (8 casos) 132 ± 76 , en neoplásicos (9 casos) 19 ± 14 en misceláneos exudativos (7 casos) 6 ± 6 y en trasudados (9 casos) 0. Otros autores¹⁵⁶ no encuentran diferencias entre los derrames tuberculosos y los no tuberculosos benignos.

Ching Chi Lin¹⁵⁷ dosificó por método ELISA en diez enfermos con derrames malignos los niveles de TNF antes de la instilación de tetraciclina, y de 4 a 14 días después. Midió también por un método de bioensayo la producción de TNF por parte de las células mononucleares de la pleura cultivadas y estimuladas con PHA y con acetato forbolmirístico. *In vivo* los niveles de TNF antes de la instilación de tetraciclina fueron de $29,5 \pm 4,6$, a los cuatro días $676,8 \pm 41,2$ y a los 14 días $163,2 \pm 21,4$. En cuanto a la síntesis *in vitro*, en los mismos momentos las tasas fueron $127,6 \pm 21,3$, $2.437,3 \pm 167,8$ y $229,8 \pm 12,1$. Es decir era evidente un aumento transitorio de la producción y acúmulo del TNF que, independientemente de las cuestiones patogénicas que suscite, se puede considerar al menos como marcador de un estado inflamatorio.

SEGUNDA PARTE

3.-HIPOTESIS

Se trata de determinar si, mediante el estudio de una serie de parámetros biológicos entre los que se incluye la dosificación de varias citoquinas es posible establecer un perfil analítico-inmunológico del líquido pleural en las diferentes etiologías consideradas que pueda servir de ayuda para el diagnóstico o que proporcione claves para entender algunos de los hechos de la patogenia.

Como puntos mas concretos nos planteamos las siguientes cuestiones:

1- Si bien no cabe duda de que el papel principal de la lucha contra los parásitos intracelulares recae sobre los linfocitos T4 se ha sugerido, principalmente por Kauffmann^{158,159} que mecanismos citolíticos a cargo de los CD8 pueden también estar implicados. Dado que la presencia de niveles elevados de CD8 solubles en el medio es un marcador de la actividad de los linfocitos citotóxicos-supresores intentamos demostrar que en la infección tuberculosa existen indicios de la participación de esta subpoblación linfocitaria.

2- A nivel experimental parece claramente demostrado que el TNF juega un papel en la inmunidad mediada por células, concretamente en la génesis del granuloma tuberculoso. Hemos querido averiguar si ésto se refleja *in vivo* en diferencias del contenido de esta citoquina en el líquido pleural tuberculoso, en comparación con otras etiologías en las que no se sabe que el factor de necrosis tumoral pueda estar implicado.

3- En lo que se refiere a los receptores solubles de IL-2 y al IFN gamma, conspicuos marcadores de la activación linfocitaria y claramente elevados en aquellos procesos como la tuberculosis en los que los linfocitos T son protagonistas, intentamos averiguar si el estudio de su concentración en líquido pleural y sangre nos permite suponer una respuesta defensiva del organismo ante el crecimiento tumoral y si esta respuesta se ve reflejada en distinto comportamiento evolutivo, pronóstico, etc.

Aparte de estos tres puntos concretos se ha intentado encontrar relaciones entre la composición de los derrames y distintos aspectos clínicos, evolutivos, con la antigüedad del proceso, o con otros marcadores de actividad como la fiebre, la velocidad de sedimentación, etc. valorando de forma individualizada algunos casos, sobre todo aquellos que se desvían mas claramente de las medias en los parámetros bioquímicos o inmunológicos medidos.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.- POBLACIÓN ESTUDIADA.

Se han recogido 149 pacientes ingresados en el Hospital General Gregorio Marañón, de Madrid, portadores de derrames pleurales de diferentes etiologías. La mayor parte estaban siendo estudiados y tratados en el Servicio de Neumología y algunos lo eran en los de Medicina Interna, Digestivo, Nefrología, etc.

En cada uno de ellos además de los datos básicos de identificación, edad, sexo, etc, se hace un resumen de la historia clínica y se recogen aquellos datos de la exploración, de los exámenes analíticos bioquímicos y de la evolución que, a priori, se piensa que puede tener interés relacionarlos con los parámetros inmunológicos estudiados. Se hace asimismo hincapié en aquellos procedimientos de diagnóstico (biopsias, microbiología, etc) que puedan tener mayor relevancia en la confirmación de la etiología de los procesos.

El estudio inmunológico y la analítica convencional de líquido pleural y de sangre periférica se hicieron en muestras obtenidas simultáneamente que se remitían en el mismo momento al laboratorio.

La obtención del líquido pleural se hizo siempre aprovechando toracocentesis necesarias para el diagnóstico o para el tratamiento. La mayoría de las veces se trataba de la primera punción tras el ingreso por lo que en general los pacientes no estaban sometidos a ningún tratamiento. Hay algunos casos en los que se estudió mas de una muestra en el mismo enfermo.

Desde el punto de vista diagnóstico se establecieron de entrada cuatro grupos: pleuritis tuberculosas, procesos neoformativos, trasudados y un cuarto grupo que titulamos "miscelánea" en el que se agruparon todos aquellos derrames pleurales, incluidos los que no pudieron finalmente ser diagnosticados, que no se podían encuadrar en ninguno de los tres primeros diagnósticos. En un segundo momento en este cuarto grupo se distinguieron diferentes etiologías como pleuritis inespecíficas, empiemas, tromboembolismo pulmonar, etc. grupos que se sometieron a la correspondiente evaluación estadística siempre que su número lo permitió.

Dentro del grupo de los tuberculosos en la mayoría el diagnóstico se confirmó mediante biopsia pleural o por el hallazgo del bacilo de Koch y en unos pocos casos, si bien falta esa confirmación anatomopatológica o bacteriológica, por los datos clínicos y epidemiológicos, pruebas complementarias y evolución el diagnóstico puede darse como seguro. Otro tanto sucede con los procesos neoplásicos de

los cuales la mayor parte cuenta con confirmación anatomopatológica. Distinto es el caso de los considerados como trasudados, en los que logicamente no cabe esperar una prueba diagnóstica con el valor confirmatorio de un estudio anatomopatológico o microbiológico. En éstos la clasificación como hidrotórax se basó en el cumplimiento de las características bioquímicas y citológicas admitidas generalmente así como en la congruencia con los datos clínicos. Esto plantea el problema de que en muchos de los casos clasificados como trasudados no se puede descartar que el enfermo padeciera concomitantemente cualquier otro proceso, infeccioso, neofornativo, etc, que pudiera sesgar los resultados. Sobre este problema me extenderé mas en la discusión.

4.2.- PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

Los parámetros analíticos que se estudiaron fueron las proteínas, la LDH, la glucosa, los leucocitos con fórmula leucocitaria, los hematíes y el pH, además de los mas propiamente inmunológicos, y que constituyen el eje de esta tesis, la adenosindesaminasa, los receptores solubles de interleuquina-2, las moléculas CD8 solubles, el interferón gamma y el factor de necrosis tumoral.

Los IL-2R solubles se han analizado mediante un inmunoensayo de Cellfree® (T Cell Diagnostics, Inc) tipo sandwich. La preparación lleva un anticuerpo murino monoclonal contra el IL-2R humano que recubre una serie de pocillos de poliestireno. Las muestras se introducen en los pocillos e inmediatamente después se añade un enzima, concretamente peroxidasa del rábano picante, conjugado con un anticuerpo monoclonal anti IL-2R. Los IL-2R solubles presentes en la muestra se unen al anticuerpo que recubre los pocillos mientras que el anticuerpo conjugado se une a un segundo y distinto epitopo sobre la molécula de IL-2R completando el sandwich. Los componentes que no han reaccionado se retiran por lavado. Se añade una solución cromógena a los pocillos y se forma un producto final coloreado que es proporcional a la cantidad de IL-2R presente en la muestra. La reacción finaliza por la adición de un reactivo de parada y medición de la absorbancia a 490 nm. Se realiza una curva de calibración mediante seis soluciones estándar de IL-2R a las concentraciones de 0, 200, 400, 800, 1.600 y 3.200. Los valores de IL-2R se expresan en unidades por ml. Mil unidades se definen como la cantidad de IL-2R liberado o soluble presente en 1,0 ml de una preparación de referencia de T Cell Diagnostics Inc. de sobrenadante de linfocitos sanguíneos estimulados con fitohemaglutinina. Con este método los valores normales que da el fabricante son de 573 u/ml siendo el límite superior de lo normal de 919 (media + 2 DE). Cuando se obtienen

valores por encima de la curva estándar hay que proceder a una dilución. El límite de detección se sitúa en 50 u. En cuanto a la precisión del método, tras un gran número de ensayos, se ha mostrado una variación intra-muestra de 2,2 a 3,4% y una variación inter-muestra de 5,6 a 4,8%.

El procedimiento de dosificación de CD8 soluble es también mediante un kit de T Cell Diagnostics, Inc, CellFree® ELISA tipo sandwich como el de los IL-2R. La técnica es igual y los valores normales del fabricante son de 336 u con 533 (media + 2 DE) como cifra máxima y 138 (media - 2 DE) como cifra mínima. La concentración también se expresa en unidades/ml siendo 1.000 unidades la cantidad de CD8 liberada en 1,0 ml de una preparación de referencia del fabricante de un sobrenadante del cultivo de una línea de células T leucémicas humanas CD8 positivas. El límite de detección también se sitúa en 50 u. La precisión corresponde a una variación intra-muestra de 5,9 a 7,4% y una variación inter-muestra de 7,9 a 12,4%.

El TNF se determina asimismo mediante técnica ELISA (BIOKINE®, de T Cell Diagnostics) con dos anticuerpos monoclonales anti-TNF dirigidos contra diferentes epitopos siendo el procedimiento similar al de los IL-2R y CD8 solubles. Las cifras medias proporcionadas por el fabricante como normales en sangre (obtenidas en un número adecuado de donantes sanos) es de menos de 10 pg/ml y se considera como

límite superior de lo normal 67 pg/ml. La precisión se refleja en una variabilidad intra-muestra de 3.1 a 9.2% y una variabilidad inter-muestra de 6.1 a 9.9 %. El método es altamente específico para el TNF humano y no es afectado por el TNF desnaturalizado ni por el TNF o linfoxina.

Finalmente el interferón gamma se determina a través de un procedimiento de radio-inmunoensayo, con dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra diferentes epitopos del interferón, uno recubriendo el tubo de ensayo y otro marcado con I¹²⁵.

4.3.-ANALISIS ESTADISTICO

Se han obtenido los datos estadísticos básicos (media, desviación estándar, error estándar, etc) de cada variable cuantitativa analizada. El ajuste o no a una distribución normal se valoró por su *kurtosis* y *skewness* así como por la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se hicieron comparaciones entre medias para muestras independientes empleando en su caso la prueba de Mann-Whitney así como comparaciones entre muestras pareadas, en este caso empleando la prueba de Wilcoxon cuando era preciso utilizar test no paramétricos. Asimismo se ha estudiado la correlación entre diferentes variables mediante el coeficiente de Pearson.

5.-RESULTADOS:

Del total de 149 pacientes se han recogido 156 muestras de líquido pleural y otras tantas de sangre periférica si bien en tres de estas últimas por problemas técnicos no se pudieron determinar los parámetros inmunológicos. Hay cinco enfermos de los que se dispone de dos determinaciones en muestras y días diferentes y un sexto paciente con tres muestras analizadas, lo que nos permite hacer consideraciones sobre la variabilidad dentro del mismo enfermo. Uno de los casos de doble analítica presenta la particularidad de que los derrames pleurales que aparecieron en diferentes momentos se pueden considerar de distinta etiología. Este caso y otros que presentan peculiaridades de interés serán analizados de forma individualizada.

El reparto por etiologías (tabla II) nos da un total de 27 tuberculosos (18 % del total), 55 neoformativos (36 %) con 56 muestras, 18 trasudados (12 %), con 19 muestras y un amplio grupo de miscelánea con 39 casos (26 %) de los que disponemos de 43 muestras. Este grupo a su vez se dividió en las siguientes categorías: Procesos hematológicos malignos de los que hay cuatro casos, tromboembolismo pulmonar, con dos casos pero de uno de los cuales hay tres muestras, empiemas con 11 casos y pleuresías que hemos calificado de inespecíficas con 19 casos. Finalmente hay tres casos con un

TUBERCULOSIS	27	18%
NEOPLASIAS	55 (56)	36,6%
TRASUDADOS	18 (19)	12%
HEMAT. MALIG.	4 (5)	2,7%
EMB. PULM.	2 (4)	1,3%
EMPIEMAS	11 (12)	7,3%
INESPECIFICAS	19	12,6%
OTROS DIAG.	3	2%
NO DIAG.	11	7,3%
TOTAL	150* (156)	

Tabla II (*) Un paciente con dos diagnósticos

diagnóstico concreto no encuadrable en los previos (un hemotórax en un paciente anticoagulado, un derrame traumático y un síndrome de Dressler), así como once enfermos en los que no se pudo llegar a un diagnóstico concreto.

En prácticamente todos los casos en los que se puede disponer de un dato patognomónico para el diagnóstico, bien sea bacteriológico o anatomopatológico, como ocurre en la tuberculosis y en las neoplasias, se ha llegado a precisar la etiología de esa manera y en los casos en los que no ha sido así los datos analíticos, la clínica, las pruebas complementarias, la evolución y en muchos casos la respuesta a un tratamiento, etc. hacen que la adscripción a un diagnóstico concreto se pueda considerar como cierta. En algunos de los casos en los que no se ha etiquetado

concretamente la enfermedad existían fundadas sospechas en algún sentido determinado pero al mantenerse dudas razonables no hemos querido incluirlos en ningún apartado específico.

La edad media del grupo total era de 57 años con una mínima de 17 y máxima de 90 años. Respecto al sexo 107 eran varones y 42 mujeres.

5.1.-PLEURESÍAS TUBERCULOSAS

5.1.1.-DATOS CLÍNICOS

En los tuberculosos la edad media era de 27 años con una mínima de 17 y máxima de 57. Veinte eran varones y 7 mujeres. El cuadro clínico era agudo en la mayoría de los casos, en general con una duración de unas dos semanas. En cuatro pacientes los síntomas databan de un mes antes y había sólo dos cuyo tiempo de evolución había sido mas prolongado. Cinco de los casos presentaban lesión pulmonar y en el resto la afección era exclusivamente pleural.

Respecto a la reacción tuberculínica 23 se comportaron como positivos, con un diámetro medio de 16 milímetros de

pápula con dos unidades de tuberculina PPD RT-23, dos eran negativos y en dos no se realizó o no se midió el Mantoux.

Veintidos pacientes tenían fiebre alta en el momento del ingreso, cuatro presentaban febrícula y sólo uno estaba claramente afebril. En 18 casos el derrame era derecho y en el resto izquierdo. Cuantificándolo muy a *grosso modo* como moderado, (hasta sexto arco costal anterior), medio (entre tercero y sexto arco) e importante (por encima del tercer arco costal) a 8 podemos clasificarlos como moderados, a 16 como medios y a 3 como importantes o severos.

En 15 enfermos se dispone de la confirmación anatomopatológica o bacteriológica del diagnóstico: 10 por la biopsia pleural con aguja, y 5 por cultivo positivo para micobacterias. Hay alguno de estos casos en los que tanto la anatomía patológica como la microbiología fueron positivas.

5.1.2.-DATOS ANALÍTICOS

En la tabla III se exponen las medias aritméticas y la desviación estándar (DE) de cada parámetro. La cifra media de proteínas en líquido pleural fué de 4,9 gramos por decilitro con un mínimo de 2,9 y un máximo de 6,2. En sangre la media fue de 7,25 grs/dl. con mínimo de 5,65 y máximo de 9,5.

La LDH media en líquido pleural fué de 940 unidades con mínimo de 365 y máximo de 2.050. En sangre la media fué de 356 u. con 238 de mínimo y 545 de máximo.

La glucopleuria media fué de 68.5 con mínimo de 5 y máximo de 119 y la glucemia media de 97.4 con mínimo de 73 y máximo de 142.

TUBERCULOSIS. PARAMETROS CONVENCIONALES		
	LIQ. PLEURAL	SANGRE
PROTEINAS	4,9 (DE 0,8)	7,25 (DE 0,9)
LDH	940 (DE 406)	356 (DE 81)
GLUCOSA	68,5 (DE 24,9)	97,4 (DE 17,6)
LEUCOCITOS	3032 (DE 2.265) *	
LINFOS %	76 (DE 24)	
LINF. TOTALES	2355 (DE 1.958)	
HEMATIES	7625 (DE 8.156)	
PH	7,27 (DE 0,12)	

Tabla III

(*) Tras retirar el empiema

El recuento de leucocitos del líquido pleural fué de 6.216 con mínimo de 560 y máximo de 89.000. Esta última cifra corresponde a un caso de empiema tuberculoso y se desvía mucho del resto, siendo así que el caso con la cifra inmediata inferior era de 10.000 leucocitos por mm³. Si, a efectos de evitar el sesgo introducido en el recuento de leucocitos por este caso, lo retiramos la cifra media de leucocitos queda reducida a 3.032. El porcentaje medio de linfocitos fué de 76% y la cifra media de linfocitos totales

de 2.355. Al retirar el caso del empiema el porcentaje queda en 79% y los linfocitos totales en 2.446 por mm³.

El recuento de hematies dió una cifra media de 7.625, con un recorrido muy amplio desde un mínimo de 640 a un máximo de 40.000. En cuanto al pH la media fue de 7,27 con un mínimo de 6,8. el caso del empiema, y un máximo de 7,43. Al retirar el caso del empiema la media no se modifica mucho logicamente teniendo en cuenta la escasa desviación en términos absolutos de este pH respecto al resto, quedando en 7,29.

Al comparar los datos de este grupo con cada una de las diferentes etiologías aparecen diferencias (cuyo grado de significación se expresa en la tabla IV) en la tasa de proteínas de líquido pleural con las neoplasias, con los trasudados y con las leucosis. En LDH con los trasudados, con los empiemas y con las leucosis. En glucosa con las neoplasias, los trasudados y el tromboembolismo pulmonar. La tasa de leucocitos totales no era significativamente diferente a la de ninguna de las etiologías. El porcentaje de linfocitos sólo mostraba diferencias con los empiemas. y existían diferencias en el número de linfocitos totales con los trasudados, los empiemas y las leucosis.

En la tabla se expresan también las diferencias en sangre entre tuberculosis y el resto de las etiologías.

DIFERENCIAS ENTRE TUBERCULOSIS Y:				
	NEOPLASIAS	TRASUD.	INESPECIF.	EMPIEMAS
PROT.LP	p<0,01	p<0,001	NS	NS
PROT.SP	NS	p<0,01	NS	p<0,05
LDH.LP	NS	p<0,001	NS	p<0,01
LDH.SP	NS	NS	NS	NS
GLUC.LP	p<0,01	p<0,05	p<0,1	NS
GLUC.SP	p<0,01	p<0,1	NS	p<0,05
LEUCOCIT.	NS	p<0,001	NS	p<0,05
LINFOS %	NS	NS	NS	p<0,001
LINFOS.TOT	NS	p<0,001	NS	p<0,001
HEMATIES	p<0,05	p<0,01	NS	NS
pH	p<0,1	NS	p<0,05	p<0,001

Tabla IV

En lo que se refiere ya a los parámetros mas propiamente inmunológicos (tabla V), la adenosindesaminasa dió una cifra media de 87,2 unidades con un mínimo de 40 y un máximo de 306.

Los IL-2R en líquido pleural fueron de 10.161 unidades con un mínimo de 1.640 y un máximo de 24.880. En sangre la media fué de 2.180 con mínimo de 590 y máximo de 24.320 unidades.

La tasa media de los CD8 solubles fué de 535 unidades en líquido pleural con un mínimo de 0 y un máximo de 1.938 y de 726 en sangre periférica con mínimo de 334 y máximo de 2.226.

TUBERCULOSIS. PARAMETROS INMUNOLOGICOS		
	LIQUIDO PLEURAL	SANGRE
ADA	87,5 (DE 50,4)	
IL-2R SOLUBLES	10.161 (DE 5118)	2.180 (DE 4469)
CD8 SOLUBLES	535 (DE 408)	726 (DE 413)
INTERFERON GAMMA	75,5 (DE 64,1)	0,88 (DE 0,69)
TNF	23,9 (DE 29,5)	21,2 (DE 27,5)

Tabla V

El interferón gamma en exudado fue de 75.5 unidades de media con una cifra mínima de 16 y una máxima de 236 y de 0.88 en sangre con mínimo de 0.4 y máximo de 4.

Finalmente el TNF fue de 23.9 pg/ml de media en el fluido pleural con mínimo de 0.5 y máximo de 132 y de 21.2 pg/ml en sangre periférica con mínimo de 0 y máximo de 136.

Enfrentando estos resultados a cada uno de los distintos grupos (Tabla VI) la adenosindesaminasa es diferente a todas las demás etiologías. Los IL-2R solubles son diferentes entre la tuberculosis y todas las etiologías menos las leucosis.

Los CD8 solubles muestran diferencias con los de las neoplasias, con los trasudados, los empiemas y las leucosis

y no con las pleuresías inespecíficas ni con los tromboembolismos pulmonares.

DIFERENCIAS ENTRE TUBERCULOSIS Y:				
	NEOPL.	TRASUD.	INESPECIF.	EMPIEMAS
ADA	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,01
IL-2R.LP	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
IL-2R.SP	NS	NS	NS	NS
CD8.LP	p<0,01	p<0,05	NS	p<0,001
CD8.SP	p<0,05	NS	NS	NS
IFN.LP	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
IFN.SP	p<0,05	NS	p<0,05	p<0,05
TNF.LP	NS	NS	NS	NS
TNF.SP	p<0,1	NS	NS	p<0,05

Tabla VI

Las tasas de interferón son diferentes a las de todas las etiologías y en el TNF no se encuentran diferencias con ninguna.

En sangre hay menos diferencias. Sólo son significativas las de los CD8 solubles con las neoplasias y con el tromboembolismo, las del interferón con las neoplasias, con las pleuresías inespecíficas y con los empiemas y las del TNF con los empiemas.

5.2.- DERRAMES NEOFORMATIVOS:

5.2.1.- DATOS CLÍNICOS

Fueron 55 enfermos en uno de los cuales se analizaron dos muestras de líquido pleural y de sangre periférica. De ellos 39 eran hombres y el resto mujeres. La edad media era de 66 años con máximo de 90 y mínimo de 18. En 39 casos se llegó a la confirmación de la afectación pleural por la neoplasia, sea citológica o histológica mediante biopsia con aguja o a través de toracoscopia y en otros casos, hasta 52, había diagnóstico anatomopatológico de la afectación tumoral de otro órgano. En estos casos sólo se consideraron como derrames neoplásicos aquellos en los que por la evolución, respuesta al tratamiento o pruebas complementarias se podía descartar razonablemente otra etiología del derrame. En 26 enfermos la citología del líquido pleural fué positiva, en 24 casos negativa y en seis no se realizó o no consta el dato. Se realizaron 35 biopsias pleurales que fueron positivas en 26 casos. Se pudo precisar la estirpe anatomopatológica en 44 casos: 26 adenocarcinomas, 9 epidermoides, 2 microcíticos, 5 indiferenciados no microcíticos, un schwanoma y un sarcoma. En cuanto al origen 23 fueron neoplasias pulmonares, 4 de mama, 3 de aparato digestivo, 2 de ubicación abdominal sin que se pudiera indicar con certeza el órgano, uno de ovario, uno de la

articulación de la rodilla, un neurofibroma malignizado de la espalda, dos posibles mesoteliomas y uno probablemente de próstata.

Sólo en cuatro casos la extracción de líquido pleural se practicó estando el enfermo bajo tratamiento con citostáticos. En 12 casos tuvo lugar el éxitus en un plazo igual o inferior a 30 días tras el estudio.

De los 23 de origen pulmonar en 20 se hizo fibrobroncoscopia y de ellos la visión endoscópica fué positiva en 17 y la biopsia bronquial en 11. En el resto de los que se concretó la estirpe anatomopatológica lo fué a través de citología de esputos o del broncoaspirado, punción o biopsia pulmonar. En alguno de estos casos aunque falta la confirmación anatomopatológica del origen pulmonar las técnicas de imagen así como la negatividad de las investigaciones en busca de otro foco primitivo proporcionaron suficientes datos para aceptar este origen.

En cuanto a otros datos a señalar la frecuente existencia de un segundo o tercer diagnóstico, lo mas a menudo EPOC, pluripatología en parte condicionada por la edad media del grupo. La localización fue derecha en 26 casos, izquierda en 26 y bilateral en tres. La referencia al tabaquismo figura en 52 casos, 33 de los cuales eran fumadores. Concretamente de los 23 en los que se confirmó el

origen pulmonar 19 eran fumadores. En 30 enfermos la reacción tuberculínica fué negativa, en 17 positiva y en el resto no se realizó o no se midió.

5.1.2.- DATOS ANALÍTICOS (Tabla VII):

Las proteínas en líquido pleural fueron de 4.29 grs/dl de media con mínimo de 2.4 y máximo de 5.8 y en sangre periférica de 6.95 con mínimo de 4.7 y máximo de 8.6. La LDH en exudado pleural fue de 847 (mínimo 143, máximo 3.192) y en sangre de 379 (mínimo 19, máximo 1.398). La glucosa en líquido pleural 105 (mínimo 5, máximo 263) y en sangre periférica 113 (mínimo 63, máximo 207). El recuento medio de leucocitos fué de 2.941 (mínimo 500, máximo 17.000) con 70% de linfocitos (22 a 100%) y cifras totales de linfocitos de 2.088 (mínimo 220, máximo 12.240). Los hematíes fueron de 214.341 de media (mínimo 160 y maximo 3.680.000) y el pH de

NEOPLASIAS. PARAMETROS CONVENCIONALES		
	LIQUIDO PLEURAL	SANGRE PERIFERICA
PROTEINAS	4,29 (DE 0,74)	6,95 (DE 0,80)
LDH	847 (DE 737)	379 (DE 218)
GLUCOSA	105 (DE 45)	113 (DE 36)
LEUCOCITOS	2941 (DE 2891)	
LINFOCITOS %	70 (DE 21)	
LINFOS TOTALES	2.088 (DE 2286)	
HEMATIES	214341 (DE 673592)	
pH	7,33 (DE 0,09)	

Tabla VII

7,33 (mínimo 6,93, máximo 7,48).

El análisis comparativo de estos parámetros convencionales entre las neoplasias y cada una de las restantes etiologías (tabla VIII) muestra diferencias significativas para las proteínas del líquido pleural con los hidrotórax y las pleuresías inespecíficas y casi significativas con las leucosis, para la LDH pleural con los hidrotórax y los empiemas y para la glucosa en líquido pleural con los empiemas, siendo casi significativa con los hidrotórax. Tanto la cifra de leucocitos totales como la de linfocitos totales fueron significativamente diferentes a

DIFERENCIAS ENTRE NEOPLASIAS Y:			
	TRASUD.	INESPECIF.	EMPIEMAS
PROT. LP	p<0,001	p<0,05	NS
PROT. SP	p<0,05	p<0,05	p<0,1
LDH. LP	p<0,001	NS	p<0,01
LDH. SP	NS	NS	NS
GLUC. LP	p<0,1	NS	p<0,001
GLUC. SP	NS	NS	p<0,1
LEUCOCITOS	p<0,001	NS	p<0,05
LINFOS %	NS	NS	p<0,001
LINF. TOT	p<0,001	NS	p<0,001
HEMATIES	p<0,05	p<0,05	p<0,05
pH	NS	NS	p<0,001

Tabla VIII

las de los hidrotórax, las de los empiemas y las de los procesos hematológicos malignos y el recuento de hematíes al de todas las demás etiologías. Las escasas diferencias encontradas en sangre se reflejan en la tabla y la comparación con tuberculosis se ha expuesto en párrafos anteriores.

En cuanto a los parámetros inmunológicos (Tabla IX) las cifras fueron las siguientes: En líquido pleural ADA de 24 unidades (mínimo 8, máximo 60), IL-2R de 5.386 (mínimo 489, máximo 19.356), CD8 solubles de 209 (mínimo 0,5, máximo 671), interferón de 0,78 (mínimo 0,4, máximo 2) y TNF 20,4 (mínimo 0,5, máximo 256).

En sangre los IL-2R solubles fueron 1.413 (mínimo 472, máximo 4.980), los CD8 solubles 482 (mínimo 144, máximo 1.064), el IFN 0,56 (mínimo 0,2, máximo 1) y el factor de necrosis tumoral 10,2 (mínimo 0, máximo 67).

NEOPLASIAS PARAMETROS INMUNOLOGICOS		
	LIQUIDO PLEURAL	SANGRE PERIFERICA
ADA	24,7 (DE 10,5)	
IL-2R SOLUBLES	5386 (DE 3501)	1413 (DE 852)
CD8 SOLUBLES	209 (DE 146)	482 (DE 219)
INTERFERON GAMMA	0,78 (DE 0,33)	0,56 (DE 0,20)
TNF	20,4 (DE 41,6)	10,2 (DE 14,8)

Tabla IX

La comparación de cada parámetro con el correspondiente de cada una de las restantes etiologías arroja los siguientes resultados (Tabla X): En pleura la cifra de adenosindesaminasa fué diferente a la de la tuberculosis, los hidrotórax y los empiemas, la de los IL-2R solubles a las de tuberculosis, hidrotórax, pleuresías inespecíficas y empiemas, la de CD8 solubles a la de los empiemas y tuberculosis, la de IFN sólo a la de tuberculosis y la de TNF no fué significativamente diferente a las de ninguna de las demás etiologías.

En sangre los receptores solubles de IL-2 fueron diferentes a los de las pleuresías inespecíficas, los CD8 solubles diferentes a los de tuberculosis, hidrotórax y embolias, el interferón sólo fué diferente al de tuberculosis y el TNF no mostró diferencias significativas con ninguna etiología.

DIFERENCIAS ENTRE NEOPLASIAS Y			
	TRASUD.	INESPECIF.	EMPIEMAS
ADA	p<0,01	NS	p<0,05
IL-2R. LP	p<0,05	p<0,01	p<0,01
IL-2R. SP	p<0,1	p<0,01	NS
CD8. LP	NS	NS	p<0,001
CD8. SP	p<0,01	NS	NS
IFN. LP	NS	NS	NS
IFN. SP	NS	NS	NS
TNF. LP	NS	NS	NS
TNF. SP	NS	NS	NS

Tabla X

5.3.- TRASUDADOS

5.3.1.- DATOS CLÍNICOS

Fueron 18 casos en uno de lo cuales se dispuso de dos muestras. Diez tenían cardiopatías en situación de insuficiencia cardiaca, cuatro eran hepatopatías con descompensación edemo-ascítica, había dos nefropatías con insuficiencia renal y un caso se trataba de una hipoproteïnemia severa. Catorce de los pacientes eran varones y 4 mujeres. Las edades oscilaron entre 46 y 87 con una media de 72 años. En cinco los derrames eran derechos, en otros cinco izquierdos y en nueve bilaterales. Hubo dos enfermos con fiebre y el resto estaban afebriles. Nueve se comportaron como tuberculin negativos, 7 eran positivos y en el resto no se hizo o no se midió la reactividad tuberculínica.

5.3.2.- DATOS ANALÍTICOS (Tabla XI):

La tasa media de proteínas en líquido pleural fué de 2.0 grs/dl (mínimo 0.5, máximo 3.6) y en sangre de 6.43 (mínimo 5.2 máximo 7.9). La LDH en pleura fué de 144 (mínimo 25, máximo 309) y en sangre de 326 (mínimo 185, máximo 593). La glucopleuria media fué 139 (mínimo 89, máximo 252) y la glucemia de 123 (mínimo 76 y máximo 291). Los leucocitos en

TRASUDADOS. PARAMETROS CONVENCIONALES		
	<u>LIQUIDO PLEURAL</u>	<u>SANGRE PERIFERICA</u>
PROTEINAS	2 (DE 0,8)	6,4 (DE 0,6)
LDH	144 (DE 58)	325 (DE 111)
GLUCOSA	139 (DE 49)	123 (DE 57)
LEUCOCITOS	801 (DE 816)	
LINFOCITOS %	76 (DE 17)	
LINFOS TOTALES	635 (DE 714)	
HEMATIES	2255 (DE 2848)	
pH	7,40 (DE 0,04)	

Tabla XI

líquido pleural fueron 801 (mínimo 104, máximo 2.800), con un porcentaje de 76 (mínimo 20, máximo 100) y unas cifras totales de linfocitos de 636 (mínimo 93, máximo 2.492). Finalmente el recuento de hematíes fué de 2.255 (mínimo 20, máximo 10.000).

La comparación de estos datos con los correspondientes de cada uno de los grupos revela unas diferencias significativas en casi todos los parámetros bioquímicos y en cuanto a los celulares sobre todo en las cifras de leucocitos y de linfocitos totales. En la tabla XII se hace referencia a la comparación con pleuresías inespecíficas y empiemas, habiéndose expuesto en tablas previas la comparación con tuberculosis y neoplasias.

DIFERENCIAS ENTRE TRASUDADOS Y:		
	INESPECIF	EMPIEMAS
PROT. LP	p<0,001	p<0,001
PROT. SP	p<0,001	NS
LDH. LP	p<0,05	p<0,01
LDH. SP	NS	NS
GLUC. LP	p<0,1	p<0,01
GLUC. SP	NS	NS
LEUCOCITOS	p<0,05	p<0,05
LINFOS %	NS	p<0,001
LINF. TOT.	p<0,05	NS
HEMATIES	NS	NS
pH	p<0,1	p<0,001

Tabla XII

La determinación de adenosindesaminasa dió una media de 17,4 con mínimo de 9 y máximo de 26, los IL-2R solubles fueron 3.260 (mínimo 736, máximo 12.640) en el fluido pleural y 3.315 (mínimo 574 y máximo 14.894) en plasma, los CD8 solubles 272 (mínimo 58, máximo 849) en líquido pleural y 673 (mínimo 172, maximo 1.198) en sangre, el interferón de

TRASUDADOS PARAMETROS INMUNOLOGICOS		
	LIQUIDO PLEURAL	SANGRE PERIFERICA
ADA	17,4 (DE 4,4)	
IL-2R SOLUBLES	3260 (DE 2661)	3315 (DE 3875)
CD8 SOLUBLES	272 (DE 204)	673 (DE 286)
INTERFERON GAMMA	1,03 (DE 0,51)	0,67 (DE 0,84)
TNF	31 (DE 79)	18,3 (DE 29,8)

Tabla XIII

1 (mínimo 0,5, máximo 2,1) en pleura y 0,67 (mínimo 0,2 máximo 4) en sangre periférica y el factor de necrosis tumoral 31 (mínimo 0,5, máximo 353,) en pleura y 18,3 (mínimo 0,5 máximo 117) en sangre (Tabla XIII).

Los parámetros inmunológicos en líquido pleural se comportaron de la manera siguiente: La ADA fué diferente a la de la tuberculosis, las neoplasias y los empiemas. Los niveles de IL-2R sólo fueron diferentes a los de tuberculosis y neoplasias, los de CD8 e IFN a tuberculosis, neoplasias y empiemas y el TNF no mostró diferencias con ninguno de los grupos. En sangre los IL-2R fueron diferentes a los de las inespecificas, los CD8 solubles mostraron diferencias con los de neoplasias y embolias y en los demás parámetros no se apreció ninguna diferencia con el resto de las etiologías (Tabla XIV).

DIFERENCIAS ENTRE TRASUDADOS Y:		
	INESPECIF	EMPIEMAS
ADA	p<0,1	p<0,01
IL-2R. LP	NS	NS
IL-2R. SP	p<0,05	NS
CD8. LP	NS	p<0,001
CD8. SP	NS	NS
IFN. LP	p<0,1	p<0,05
IFN. SP	NS	NS
TNF. LP	NS	NS
TNF. SP	NS	NS

Tabla XIV

5.4.- PLEURESÍAS INESPECÍFICAS:

5.4.1.- DATOS CLÍNICOS

Este grupo logicamente es menos homogéneo que los anteriores. En él se han incluido aquellos en los que se descartó, por supuesto, la naturaleza tuberculosa, neoplásica o mecánica del derrame y, en lo que se refiere a otras etiologías mas difíciles de descartar de forma absoluta como el tromboembolismo pulmonar por ejemplo, no había ningún indicio para sospechar esos procesos.

Fueron 19 casos, 12 varones y 7 mujeres, con una edad media de 50 años, mínima de 17 y máxima de 80.

El Mantoux fué positivo en 8, negativo en 7 y no se realizó en 4. Todos los casos se resolvieron, la mayor parte sin secuelas importantes, algunos dejando una paquipleuritis de mayor o menor cuantía. En casi todos se empleó tratamiento antibiótico y en algunos sólo medicación anti-inflamatoria.

Hubo cuatro casos en los que se comprobó derrame pericárdico y tres en los que existía infiltrado pulmonar. Doce enfermos tuvieron fiebre y siete estuvieron apiréticos durante toda la evolución del proceso. En los cinco casos en

los que se realizó biopsia pleural la histología era de inflamación crónica inespecífica.

Se ha considerado que todos estos casos tenían grandes probabilidades de corresponder a infecciones inespecíficas, bien bacterianas o virales.

5.4.2.-DATOS ANALÍTICOS (Tabla XV):

La cifra media de proteínas en el líquido pleural fué de 4,68 grs/dl (mínimo 3,8 y máximo 6,2) y en sangre periférica de 7,2 (con un recorrido de 6,1 a 8,1), la LDH de 600 (mínimo 148, máximo 3.420) en exudado y de 358 (mínimo 178, máximo 1.100) en plasma, la glucosa de 94 (mínimo 2, máximo 253) en pleura y de 106 (mínimo 74, máximo 200) en sangre. El pH medio del grupo fué de 7,36 con unas cifras extremas de 7,27 y 7,52.

PLEURESIAS INESPECIFICAS PARAMETROS CONVENCIONALES		
	LIQUIDO PLEURAL	SANGRE PERIFERICA
PROTEINAS	4,68 (DE 0,59)	7,28 (DE 0,49)
LDH	600 (DE 814)	358 (DE 244)
GLUCOSA	94,6 (DE 47,2)	106,7 (DE 32,5)
LEUCOCITOS	3375 (DE 4699)	
LINFOCITOS%	66 (DE 25)	
LINFOS TOTALES	1721 (DE 1611)	
HEMATIES	7656 (DE 14292)	
pH	7,36 (DE 0,07)	

Tabla XV

En cuanto a los recuentos celulares en líquido pleural los leucocitos fueron 3.375 por milímetro cúbico con un mínimo de 520 y un máximo de 21.000, el porcentaje de linfocitos de 66 (mínimo 12, máximo 95), la cifra media de linfocitos totales de 1.721 (mínimo 288, máximo 5.889) y los hematíes fueron 7.656 (mínimo 80, máximo 60.000).

En lo referente a los parámetros inmunológicos (Tabla XVI) la ADA fué de 26 unidades (mínimo 13, máximo 100), los IL-2R en líquido pleural 3.597 (mínimo 1.054, máximo 5.244), y en sangre 961 (mínimo 424, máximo 1.743), los CD8 en líquido 385 (mínimo 55, máximo 1.417), y en sangre 613 (mínimo 167, máximo 1.400), el IFN en líquido 0.74 (mínimo 0.3, máximo 1.8) y en sangre 0.53 (mínimo 0.24, máximo 0.8), el TNF en líquido pleural 29 (mínimo 0.5, máximo 275) y el TNF en sangre periférica 52 (mínimo 0, máximo 487).

PLEURESIAS INESPECIFICAS PARAMETROS INMUNOLOGICOS		
	LIQUIDO PLEURAL	SANGRE PERIFERICA
ADA	26,1 (DE 20,4)	
IL-2R SOLUBLES	3595 (DE 1397)	961 (DE 364)
CD8 SOLUBLES	385 (DE 377)	613 (DE 346)
INTERFERON GAMMA	0,74 (DE 0,39)	0,53 (DE 0,17)
TNF	28,9 (DE 62,4)	51,9 (DE 124,6)

Tabla XVI

Las diferencias en las cifras de adenosindesaminasa se revelaron significativas con las de tuberculosis y las de

neoplasias y en cuanto a los demás parámetros en líquido pleural, para receptores solubles de IL-2 hubo diferencias con tuberculosis, con neoplasias y con tromboembolismos, los CD8 solubles sólo fueron diferentes a los de los empiemas y el interferón al de las tuberculosis mientras que el factor de necrosis tumoral no mostró diferencias al enfrentarlo con ninguna de las categorías.

En sangre periférica, las diferencias fueron significativas para los receptores solubles de IL-2 con las neoplasias, con los empiemas y con los hidrotórax, para los CD8 solubles con las embolias y para el interferón con las tuberculosis y con el tromboembolismo mientras que el contenido del factor de necrosis tumoral no fué diferente al de ninguna del resto de las etiologías.

5.5.-EMPIEMAS

5.5.1.-DATOS CLÍNICOS

Fueron once casos, uno de ellos proporcionando dos muestras, de los que nueve eran varones, con una edad media de 62 años, mínima de 21 y máxima de 90. En este grupo era frecuente la pluripatología (etilismo, un proceso neoplásico, adicción a drogas por vía parenteral, EPOC, etc)

y la mitad de los pacientes eran fumadores. Todos ellos estaban febriles, la localización del derrame fué derecha en ocho casos, dos de los enfermos fallecieron en un plazo corto tras el estudio y el resto curó tras drenaje con tubo endotorácico, antibioterapia, etc.

5.5.2.-DATOS ANALÍTICOS (Tabla XVII)

Las proteínas en líquido pleural fueron 4,2 grs/dl (mínimo 2,2, máximo 6,8) y en sangre periférica de 7,2 (mínimo 5, máximo 7,7), la LDH de 5.753 (mínimo 481, máximo 14.443) en líquido y 367 (mínimo 156, máximo 551) en suero, la glucosa de 44 (mínimo 0, máximo 177) en exudado y de 134 (mínimo 80, máximo 224) en sangre periférica y el pH en fluido pleural de 6,86 (mínimo 6,5, máximo de 7,16).

EMPIEMAS PARAMETROS CONVENCIONALES		
	LIQUIDO PLEURAL	SANGRE PERIFERICA
PROTEINAS	4,2 (DE 1,3)	6,5 (DE 0,82)
LDH	5753 (DE 4805)	367 (DE 119)
GLUCOSA	44,8 (DE 58,5)	134,5 (DE 47,4)
LEUCOCITOS	13.488 (DE 15.559)	
LINFOCITOS %	10 (DE 6,7)	
LINFOS TOTALES	635 (DE 565)	
HEMATIES	7270 (DE 16.853)	
pH	6,86 (DE 0,22)	

Tabla XVII

En cuanto a los datos citológicos un recuento de leucocitos de 13.488 (mínimo 400, máximo 41.000), un porcentaje de linfocitos de 10,5 (de 4 a 20%) con cifras totales de 763 (de 56 a 2.310) y un recuento de hematíes de 7.270 (mínimo 100, máximo 57.600).

Los análisis inmunológicos proporcionaron los siguientes datos: ADA de 48 unidades (mínimo 26, máximo 90), receptores solubles de IL-2 en líquido pleural de 3.297 unidades (mínimo 11, máximo 6.076), y en sangre periférica 2.498 (mínimo 361, máximo 890), CD8 solubles en pleura de 40

EMPIEMAS PARAMETROS INMUNOLOGICOS		
	LIQUIDO PLEURAL	SANGRE PERIFERICA
ADA	48,2 (DE 21)	
IL-2R SOLUBLES	3297 (DE 1813)	2498 (DE 2148)
CD8 SOLUBLES	40,7 (DE 41,2)	572 (DE 220)
INTERFERON GAMMA	0,66 (DE 0,21)	0,55 (DE 0,24)
TNF	18,2 (DE 22,9)	6,2 (DE 12,4)

Tabla XVIII

unidades (mínimo 0, máximo 105) y en suero de 572 (mínimo 278, máximo 890), interferón gamma de 0,66 (de 0,3 a 1) en exudado y 0,55 (de 0,2 a 1) en suero y TNF de 18,2 picogramos por mililitro (mínimo 0, máximo 70) y 6,2 pg/ml (mínimo 0, máximo 42) en pleura y sangre respectivamente (Tabla XVIII).

La comparación con las otras etiologías revela unas diferencias significativas en la adenosindesaminasa con la tuberculosis, los hidrotórax y las pleuresías inespecíficas, en los receptores de IL-2 con las tuberculosis, las neoplasias y los procesos hematológicos malignos, en los CD8 solubles con las tuberculosis, las neoplasias, los hidrotórax y las inespecíficas, en el interferón con las tuberculosis y los hidrotórax y con ninguna categoría etiológica había diferencias en lo que respecta al TNF.

En sangre solamente se diferenciaban los empiemas de las pleuresías inespecíficas para los IL-2R, de las embolias para los CD8 solubles y de la tuberculosis para el interferón y el factor de necrosis tumoral.

5.6.- TROMBOEMBOLISMOS

Fueron solamente dos casos, uno de los cuales como se ha dicho antes proporcionó tres muestras. En uno de los pacientes al año y medio del estudio se descubrió un cáncer pulmonar epitelial no microcítico que, aunque indetectable en la época de la embolia pulmonar, posiblemente ya se estaba desarrollando entonces. La embolia estaba completamente documentada y la neoplasia no es probable que influyera de manera importante en los parámetros analíticos estudiados. El otro enfermo, con riesgo tromboembólico

permanente tras un traumatismo que dió lugar a fracturas e intervenciones en extremidades inferiores y caderas, tuvo tromboembolismos de repetición. Las tres toracocentesis en este paciente se hicieron en el lapso de un mes.

Dado el escaso número de casos no se intenta sacar conclusiones. Sólo a señalar la evidente menor desviación de los parámetros inmunológicos en sangre periférica que en el líquido pleural.

5.7.- PROCESOS HEMATOLÓGICOS MALIGNOS.

Fueron cuatro casos, tres varones y una mujer, con edades de 66 a 81 años. Uno de ellos (n^{os} 42 y 102) al que se le había diagnosticado unos años antes de anemia refractaria con exceso de blastos, en la época del estudio fué diagnosticado como leucemización de síndrome mielodisplásico, mediante biopsia de médula. Los dos líquidos pleurales que proporcionó, con una diferencia de cinco días entre ellos, muestran poca dispersión en los valores lo que representa un indicio de la reproductibilidad de los resultados. Otro (n^o 52) era un linfoma no-Hodgkin de alto grado, de estirpe B, CD30+. En el momento del estudio estaba en tratamiento con quimioterapia. Otro paciente (caso 59) padecía un linfoma centroblástico-centrocítico, con elementos neoplásicos CD20+, CD43- y CD58-, con extensa

afectación ganglionar torácica y abdominal y con presencia de células tumorales linfoides en el líquido pleural. Porcentualmente en el exudado pleural predominaban las células de estirpe B. Por último la paciente clasificada con el número 70, con una leucemia aguda no linfoide, tenía curiosamente el antecedente de una tuberculosis ganglionar cervical cuatro años antes, debiendo ser señalado que el diagnóstico de este proceso tuberculoso estaba correctamente documentado tanto por anatomía patológica como por los resultados bacteriológicos y la enferma había sido tratada correctamente y considerada como curada. En este caso en el que no hay una seguridad absoluta de la afectación leucémica de la pleura se da la circunstancia de que es el único de los procesos hematológicos malignos en los que los IL-2R solubles estaban francamente elevados, tanto en sangre periférica como en el líquido pleural. A señalar que el interferón gamma, con 2,7 es una de las cifras mas altas en los procesos no tuberculosos pudiéndonos plantear la cuestión de hasta que punto podía influir en ello la tuberculosis ganglionar padecida anteriormente. Puede ser interesante destacar que esta enferma se comportó como tuberculin negativa con diez unidades de PPD.

El detalle de las cifras de estos enfermos se expone en las tablas pero no se intenta sacar conclusiones estadísticas sobre el grupo.

5.8.- NO DIAGNOSTICADOS

Fueron once casos, nueve varones y dos mujeres. Algunos de ellos padecían un proceso neoplásico confirmado en otro órgano pero no había seguridad de la afectación neoplásica de la pleura, en otros se sospechó que se tratara de un derrame mecánico por la clínica u otros datos pero no cumplían criterios de trasudado y algún otro pudo ser una pleuritis infecciosa inespecífica pero, existiendo otras alternativas, no se tuvo la oportunidad de confirmarlo al no ser posible el seguimiento del paciente. Los datos analíticos y clínicos de estos enfermos se exponen en las tablas del apéndice.

5.9.- ANÁLISIS COMPARATIVO

Cuando se comparó cada parámetro tanto convencional como inmunológico entre cada etiología y el resto de los casos en conjunto los resultados fueron los siguientes:

Al enfrentar a las pleuritis tuberculosas contra el resto (Tabla XIX) se apreciaron diferencias significativas en el líquido pleural para las proteínas, la glucosa, el porcentaje de linfocitos y la cifra de hematíes así como para todos los parámetros inmunológicos menos para el factor de necrosis tumoral. Diferencias calificadas de casi

significativas se encontraron en la cifra de leucocitos y de linfocitos totales. En sangre periférica existían diferencias en las cifras de proteínas, de glucosa y de interferón con respecto a las respectivas del conjunto de las demás etiologías. Para los CD8 solubles en sangre, la diferencia se calificó de casi significativa.

COMPARACION ENTRE TUBERCULOSIS Y EL RESTO			
PARAMETROS CONVENCIONALES		PARAMETROS INMUNOLOGICOS	
PROT. LP	p<0,001	ADA	p<0,001
PROT. SP	p<0,05	IL-2R LP	p<0.001
LDH LP	NS	IL-2R SP	NS
LDH SP	NS	CD8 LP	p<0,01
GLUC. LP	p<0,001	CD8 SP	p<0,1
GLUC. SP	p<0,001	IFN LP	p<0,001
LEUC. LP	p<0,1	IFN SP	p<0,001
LINF. %	p<0,05	TNF LP	NS
LINF. TOTALES	p<0,1	TNF SP	NS
HEMATIES	p<0,05		
pH	NS		

Tabla XIX

En lo que se refiere a los procesos neoformativos existían diferencias significativas (Tabla XX) sólo para los hematíes y el pH en líquido pleural dentro de los parámetros convencionales y casi significativas para la glucosa y la cifra de leucocitos totales. En sangre ninguno de los parámetros convencionales mostró diferencias significativas. Ya dentro de los datos inmunológicos se vieron diferencias significativas para la adenosindesaminasa, los CD8 solubles

y el IFN y casi significativas para el TNF en líquido pleural así como para los CD8 solubles en sangre, considerándose como "casi significativas" las diferencias encontradas en las cifras de IL-2R solubles en este último medio.

COMPARACION ENTRE NEOPLASIAS Y EL RESTO			
PARAMETROS CONVENCIONALES		PARAMETROS INMUNOLOGICOS	
PROT. LP	NS	ADA	p<0,05
PROT. SP	NS	IL-2R LP	NS
LDH LP	NS	IL-2R SP	p<0,1
LDH SP	NS	CD8 LP	p<0,01
GLUC. LP	p<0,1	CD8 SP	p<0,001
GLUC. SP	NS	IFN LP	p<0,001
LEUC. LP	NS	IFN SP	p<0,1
LINF. %	NS	TNF LP	p<0,1
LINF. TOTALES	NS	TNF SP	NS
HEMATIES	p<0,05		
pH	p<0,05		

Tabla XX

Reviste gran interés la comparación entre los datos de los hidrotórax y el resto de las etiologías (Tabla XXI) con vistas al intento del trabajo de considerar a estos derrames como un grupo control o de referencia.

En lo que respecta a los datos citológicos y bioquímicos convencionales las diferencias encontradas en el líquido pleural con el conjunto de las demás etiologías son significativas en todos ellos. En sangre periférica había

diferencia en las proteínas pero no en las cifras de LDH ni en las de glucosa. En líquido pleural fueron diferentes la adenosindesaminasa, los receptores de IL-2 y el IFN, y en sangre sólo fueron diferentes los IL-2R.

COMPARACION ENTRE HIDROTORAX Y EL RESTO			
PARAMETROS CONVENCIONALES		PARAMETROS INMUNOLOGICOS	
PROT. LP	p<0,001	ADA	p<0,001
PROT. SP	p<0,01	IL-2R LP	p<0,001
LDH LP	p<0,001	IL-2R SP	p<0,01
LDH SP	NS	CD8 LP	NS
GLUC. LP	p<0,001	CD8 SP	NS
GLUC. SP	NS	IFN LP	p<0,001
LEUC. LP	p<0,001	IFN SP	NS
LINF. %	p<0,05	TNF LP	NS
LINF. TOTALES	p<0,001	TNF SP	NS
HEMATIES	p<0,05		
pH	p<0,001		

Tabla XXI

En las pleuresías inespecíficas se vieron diferencias significativas en la tasa de proteínas, en la cifra de LDH, el recuento de hematíes y el pH en el exudado así como en la tasa de proteínas en sangre y no eran significativas las diferencias en glucosa, en leucocitos, en porcentaje de linfocitos ni en linfocitos totales en líquido pleural ni tampoco en LDH y glucosa en sangre periférica (Tabla XXII).

De los parámetros inmunológicos fueron diferentes las medias de la adenosindesaminasa, de receptores solubles de

IL-2 y de interferón gamma y casi significativamente diferentes las de factor de necrosis tumoral en líquido pleural y de IL-2R solubles e IFN en sangre periférica.

COMPARACION ENTRE PL. INESPECIFICAS Y EL RESTO			
PARAMETROS CONVENCIONALES		PARAMETROS INMUNOLOGICOS	
PROT. LP	p<0,01	ADA	p<0,05
PROT. SP	p<0,01	IL-2R LP	p<0,001
LDH LP	p<0,05	IL-2R SP	p<0,001
LDH SP	NS	CD8 LP	NS
GLUC. LP	NS	CD8 SP	NS
GLUC. SP	NS	IFN LP	p<0,001
LEUC. LP	NS	IFN SP	p<0,005
LINF. %	NS	TNF LP	p<0,1
LINF. TOTALES	NS	TNF SP	NS
HEMATIES	p<0,05		
pH	p<0,01		

Tabla XXII

También tiene interés el grupo de los empiemas para la valoración posterior de las diferencias que se puedan encontrar en los parámetros inmunológicos ya que aquí partimos de entrada de un líquido pleural con una fórmula leucocitaria claramente diferente de la del resto de las etiologías (Tabla XXIII).

Así en los derrames pleurales todos los parámetros convencionales salvo la tasa de proteínas fueron diferentes. En sangre periférica fué diferente la glucosa, no diferente

la LDH y existían diferencias casi significativas para las proteínas. Respecto a los marcadores inmunológicos había diferencias en las medias de IL-2R solubles, CD8 solubles e IFN en líquido pleural y en la de TNF en sangre periférica pero no se apreciaban diferencias en el resto de los parámetros.

COMPARACION ENTRE EMPIEMAS Y EL RESTO			
PARAMETROS CONVENCIONALES		PARAMETROS INMUNOLOGICOS	
PROT. LP	NS	ADA	NS
PROT. SP	p<0,1	IL-2R LP	p<0,001
LDH LP	p<0,01	IL-2R SP	NS
LDH SP	NS	CD8 LP	p<0,001
GLUC. LP	p<0,001	CD8 SP	NS
GLUC. SP	p<0,05	IFN LP	p<0,001
LEUC. LP	p<0,05	IFN SP	NS
LINF. %	p<0,001	TNF LP	NS
LINF. TOTALES	p<0,001	TNF SP	p<0,05
HEMATIES	p<0,05		
pH	p<0,001		

Tabla XXIII

En las demás etiologías al ser menor el número de casos los resultados tienen menos peso estadístico pero merece la pena reseñar los resultados:

La comparación entre los tromboembolismos y el resto de las etiologías es poco valorable al disponer sólo de cuatro muestras, proporcionadas únicamente por dos enfermos. Sólo

se apreciaron diferencias significativas en el recuento de hematíes y en la cifra de IFN en líquido pleural y en la de CD8 soluble en sangre, considerándose como casi significativas las del pH del exudado y no significativas las del resto.

Por último en los procesos hematológicos malignos en líquido pleural sólo se encontraron diferencias en la tasa de LDH, en los recuentos celulares y en el contenido de interferón mientras que en sangre no había ninguna diferencia en las medias de ninguno de los parámetros convencionales ni inmunológicos entre este grupo etiológico y el resto.

En la tabla XXIV se consignan los valores numéricos de aquellos parámetros analíticos convencionales del líquido pleural que estadísticamente han mostrado unas diferencias claramente significativas entre cada etiología y el conjunto de las demás. Estos datos si se les considera sólo desde el punto de vista puramente matemático sin ser enjuiciados en su aspecto clínico pueden ser engañosos. Así es evidente que en lo que se refiere a los hematíes el grupo de los no tuberculosos, por ejemplo, tiene una cifra tan elevada por incluir a los derrames neoplásicos cuya media es de 214.000 por mm^3 . Al retirar del grupo de los no tuberculosos a los neoplásicos aunque la media sigue siendo mas alta que la de los tuberculosos (20.000 hematíes) las diferencias ya no son

	TUBERCULOSIS	NO TUBERC.	<i>GRADO DE SIGNIF.</i>
PROTEÍNAS	4,9	4	p<0,001
GLUCOSA	68	103	p<0,001
LINFOCITOS %	76	65	p<0,05
HEMATÍES	7.652	114.471	p<0,05
	NEOPLASIAS	NO NEOPLASIAS	
HEMATÍES	214.341	15.674	p<0,05
pH	7,33	7,26	p<0,05
	TRASUDADOS	NO TRASUDADOS	
PROTEÍNAS	2	4,5	p<0,001
LDH	144	1.278	p<0,001
GLUCOSA	139	90	p<0,001
LEUCOCITOS	801	4.650	p<0,001
LINFOCITOS %	77	65	p<0,05
LINFOS TOTALES	635	1.909	p<0,001
HEMATÍES	2.255	108.241	p<0,05
pH	7,4	7,27	p<0,001
	INESPECIFICAS	NO INESPECIFIC.	
PROTEÍNAS	4,7	4	p<0,01
LDH	600	1.210	p<0,05
HEMATÍES	7.656	107.449	p<0,05
pH	7,36	7,28	p<0,01
	EMPIEMAS	NO EMPIEMAS	
LDH	5.753	712	p<0,01
GLUCOSA	45	101	p<0,001
LEUCOCITOS	13.488	3.303	p<0,05
LINFOCITOS %	10	72	p<0,001
LINFOS TOTALES	635	1.842	p<0,001
HEMATÍES	7.260	101.250	p<0,05
pH	6,84	7,33	p<0,001

Tabla XXIV

significativas. Esto mismo ocurre en las demás etiologías y lógicamente para cualquier dato analítico cuya media se separe de forma muy importante de las de los demás.

Las modificaciones que resultan en los parámetros inmunológicos si, al hacer la comparación, retiramos del grupo "resto de las etiologías" aquella que en alguno de los parámetros muestra estas grandes desviaciones, se reflejan en la tabla XXV. Así por ejemplo, es evidente que una media de 23,5 u/ml de interferón gamma en el conjunto de todos los grupos cuando se incluye la tuberculosis no responde a la realidad pues esa cifra está "contaminada" por la alta tasa de este mediador en los derrames tuberculosos.

De esta manera, como se ha indicado en párrafos anteriores, en lo que se refiere a la adenosindesaminasa además de las claras diferencias con la tuberculosis (86 frente a 27 unidades) aparentaba haber diferencias también entre las neoplasias y el resto, entre los trasudados y el resto, (esta vez con cifras más elevadas en el resto) y entre las inespecíficas y el resto. Al retirar de este grupo la tuberculosis la media baja en unos 12 puntos y las comparaciones reflejan mejor la realidad: no resultan así diferencias significativas entre los derrames neoplásicos y el resto de las etiologías ni entre las pleuresías inespecíficas y el resto pero sí se mantiene la diferencia entre los trasudados con una media de 17 y el resto, con una

media de 29, lo que está lógicamente más de acuerdo con lo que, en teoría, habría que esperar. Al mismo tiempo hay otra modificación: la ausencia de diferencias significativas entre los empiemas (con 48 unidades de media) y el resto (con 38 de media) se convierte al retirar la tuberculosis en una diferencia de 23 puntos que se considera significativa. En definitiva las alteraciones encontradas en este parámetro se resumen en una media muy elevada en tuberculosis, elevada en empiemas y disminuida en trasudados.

Haciendo la misma operación con los receptores solubles de IL-2 en los que la tasa en líquido pleural es también claramente mayor que en las demás etiologías la media en el resto de los grupos desciende en unas 1.200 u. En este caso, sin embargo, los cambios son menos llamativos. Únicamente en las neoplasias con una media de 5.882 unidades aflora una diferencia significativa con el resto de los grupos que queda con una media de 4.018 unidades.

En lo que se refiere a los CD8 solubles, aunque las cifras de este parámetro en tuberculosis son también claramente mayores que en el resto al retirar el grupo de tuberculosis no cambia el sentido de las comparaciones. Sigue siendo significativa la diferencia entre los empiemas y el resto a favor en este caso del resto.

Los cambios mas notables tienen lugar con el interferón gamma. Como se ha indicado antes la gran desproporción entre las cifras de este mediador en el exudado pleural tuberculoso y el resto de los líquidos hace que la inclusión del grupo de tuberculosis desvíe de forma muy importante las medias resultando unas diferencias en todos los grupos etiológicos respecto al resto que desfiguran la realidad.

CADA ETIOLOGIA VS RESTO SIN TUBERCULOSIS (Cambio de significación)					
ADA LP					
<i>NEOPL</i>	25	<i>NO NEOPL</i>	26	NS	
<i>INESP</i>	26	<i>NO INESP</i>	27	NS	
<i>EMP</i>	48	<i>NO EMP</i>	25	S	p<0,01
IL-2R SOLUBLES LP					
<i>NEOPL</i>	5.296	<i>NO NEOPL</i>	4.081	S	p<0,05
<i>TRAS</i>	3.265	<i>NO TRAS</i>	4.866	S	p<0,05
<i>INESP</i>	3.597	<i>NO INESP</i>	4.822	S	p<0,05
<i>EMP</i>	3.297	<i>NO EMP</i>	4.775	S	p<0,05
CD8 SOLUBLES LP					
<i>NEOPL</i>	209	<i>NO NEOPL</i>	259	NS	
INTERFERON LP					
<i>NEOPL</i>	0,79	<i>NO NEOPL</i>	0,86	NS	
<i>TRAS</i>	1	<i>NO TRAS</i>	0,78	CS	p<0,1
<i>INESP</i>	0,75	<i>NO INESP</i>	0,84	NS	
<i>TEP</i>	0,82	<i>NO TEP</i>	0,82	NS	
<i>EMP</i>	0,66	<i>NO EMP</i>	0,84	S	p<0,05
<i>LEUC</i>	1,22	<i>NO LEUC</i>	0,8	NS	

Tabla XXV

Con la modificación referida resalta la gran diferencia entre tuberculosis y el resto y, cosa interesante, persiste la diferencia entre los empiemas y el resto, que aunque en términos absolutos es pequeña (0,66 frente a 0,83), se considera significativa sobre todo porque va en el mismo sentido que los cambios en otros marcadores de los linfocitos T. En los trasudados queda una diferencia con una $p < 0,1$ que se considera casi significativa.

5.10. CORRELACIONES

Se ha investigado si existe correlación entre el mismo parámetro en líquido pleural y en sangre. Bien es cierto que ambos son compartimentos distintos y que gran parte de las sustancias estudiadas tienen una producción eminentemente local con lo que en principio cabría suponer que no existiría ninguna correlación. Sin embargo, aunque no con tanta facilidad como las moléculas pequeñas, algunas de las sustancias estudiadas por su tamaño molecular y la forma de su molécula podrían en parte ser filtradas desde el torrente sanguíneo a la cavidad pleural. Incluso así si la producción mayor de la sustancia en cuestión tiene lugar *in situ* este paso de un compartimento a otro quedaría enmascarado y no se debería apreciar una correlación significativa.

A pesar de estas consideraciones se ha encontrado una correlación significativa, con una $p < 0.05$, entre los dos medios para las proteínas en tuberculosis, neoplasias, pleuresías inespecíficas y leucosis, para LDH en tuberculosis, en neoplasias y en pleuresías inespecíficas, para glucosa en neoplasias, trasudados y pleuritis inespecíficas, para receptores solubles de IL-2 en pleuresías inespecíficas y leucosis, para CD8 solubles en tuberculosis, en neoplasias y pleuresías inespecíficas, para interferón en neoplasias, trasudados, pleuresías inespecíficas y empiemas y para TNF en procesos neoformativos, pleuresías inespecíficas y leucosis.

Especialmente significativas se pueden considerar la correlación de glucosa en trasudados ($r=0.85$), de LDH y de CD8 solubles en pleuresías inespecíficas ($r=0.94$ y $r=0.87$ respectivamente), interferón en empiemas ($r=0.89$), y proteínas e IL-2R en leucosis ($r=0.98$ y $r=0.97$ respectivamente).

El significado de la correlación positiva es diferente en aquellas sustancias que, como la glucosa, se sintetizan fuera del compartimento pleural que en las que, como los mediadores inmunológicos estudiados, tienen su origen tanto en elementos celulares del líquido pleural como en células extrapleurales. En las primeras la correlación se puede explicar simplemente por paso de la sustancia de un

compartimento a otro en base a condicionamientos puramente fisicoquímicos. En las de origen pleural y extrapleural además de este mecanismo hay que considerar la posibilidad de que exista una relación entre las correspondientes alteraciones en el mismo sentido de los elementos celulares productores.

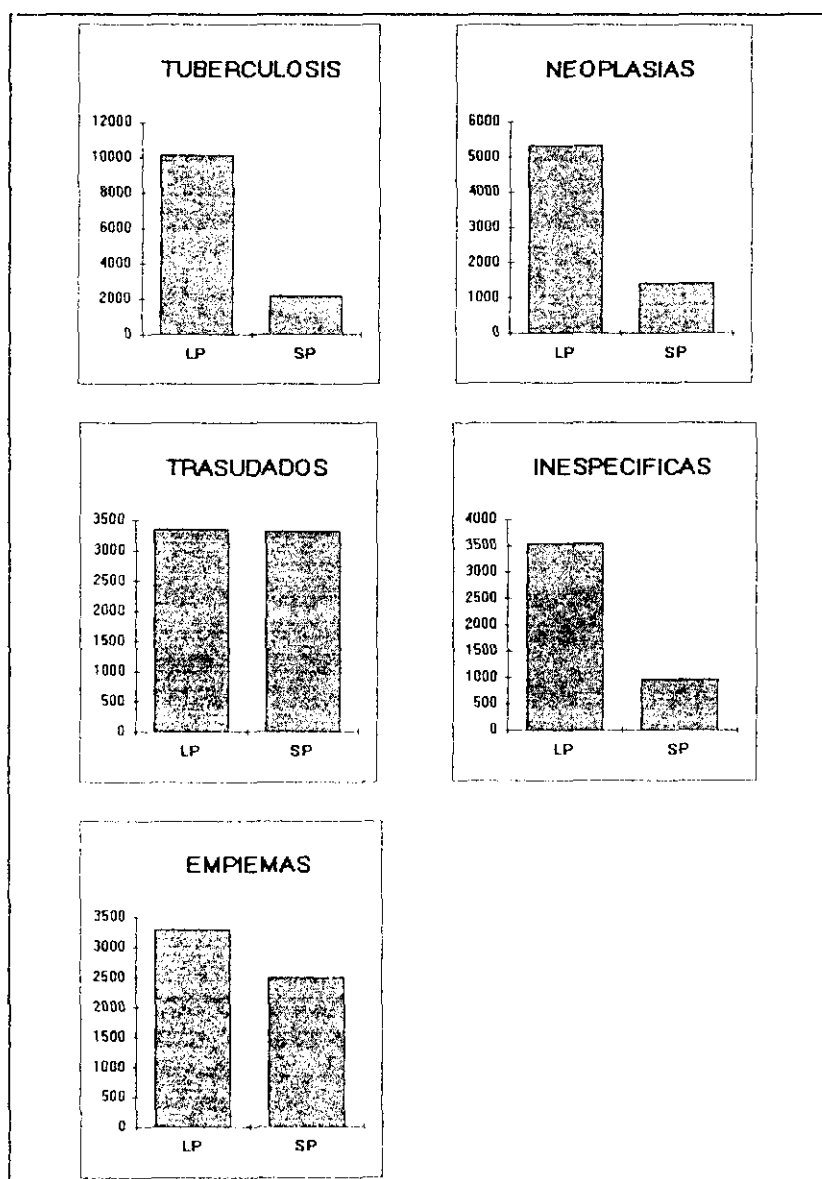


Figura 1: Niveles de IL2R en líquido pleural y en sangre.

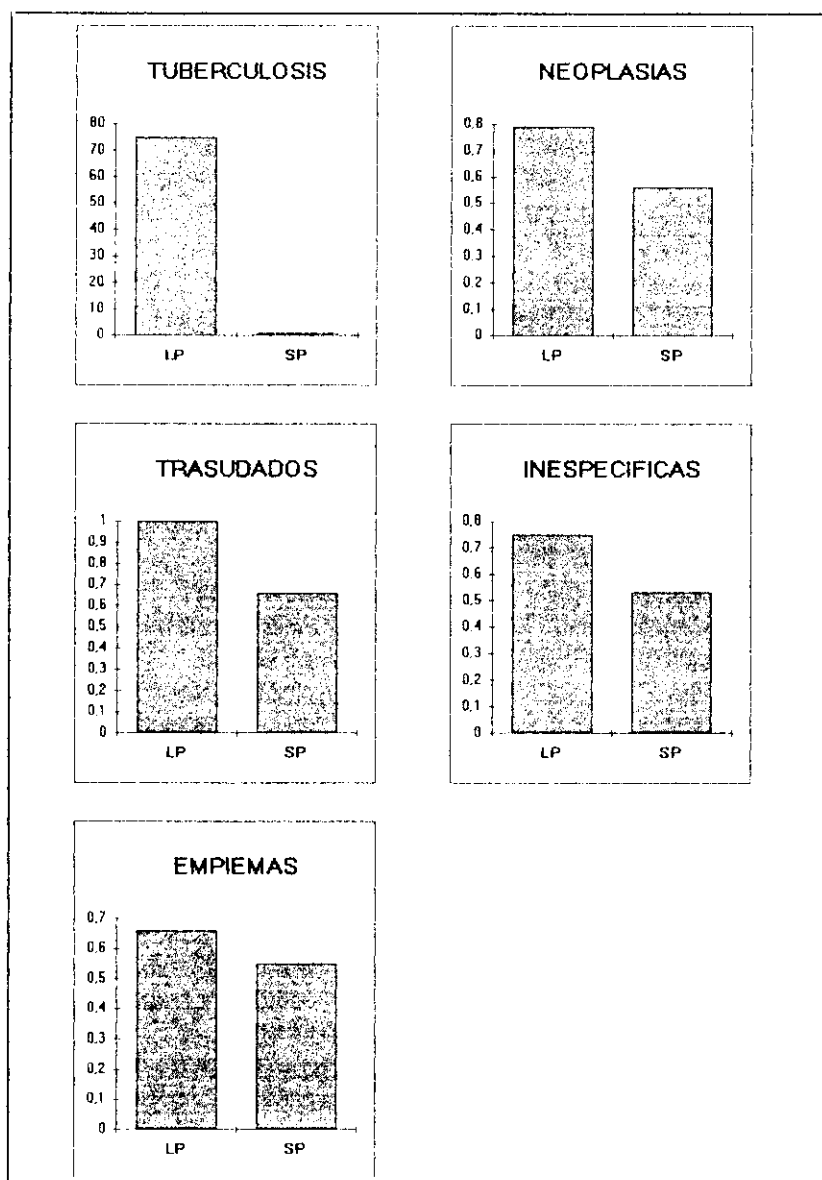


Figura 2: Niveles de IFN en líquido pleural y sangre.

Al comparar las medias de cada parámetro inmunológico en líquido pleural con las de sangre periférica encontramos los resultados que se representan en las figuras 1 a 4. En todas las etiologías salvo en los trasudados el contenido de IL-2R en pleura era mayor que en sangre, con una proporción parecida en tuberculosis, en neoplasias y en pleuresias

inespecíficas. En empiemas los IL-2R eran un 30% mas elevados que en sangre. diferencia que no era significativa.

También el interferón gamma está mas elevado en exudado pleural que en sangre en todas las etiologías y, aunque no

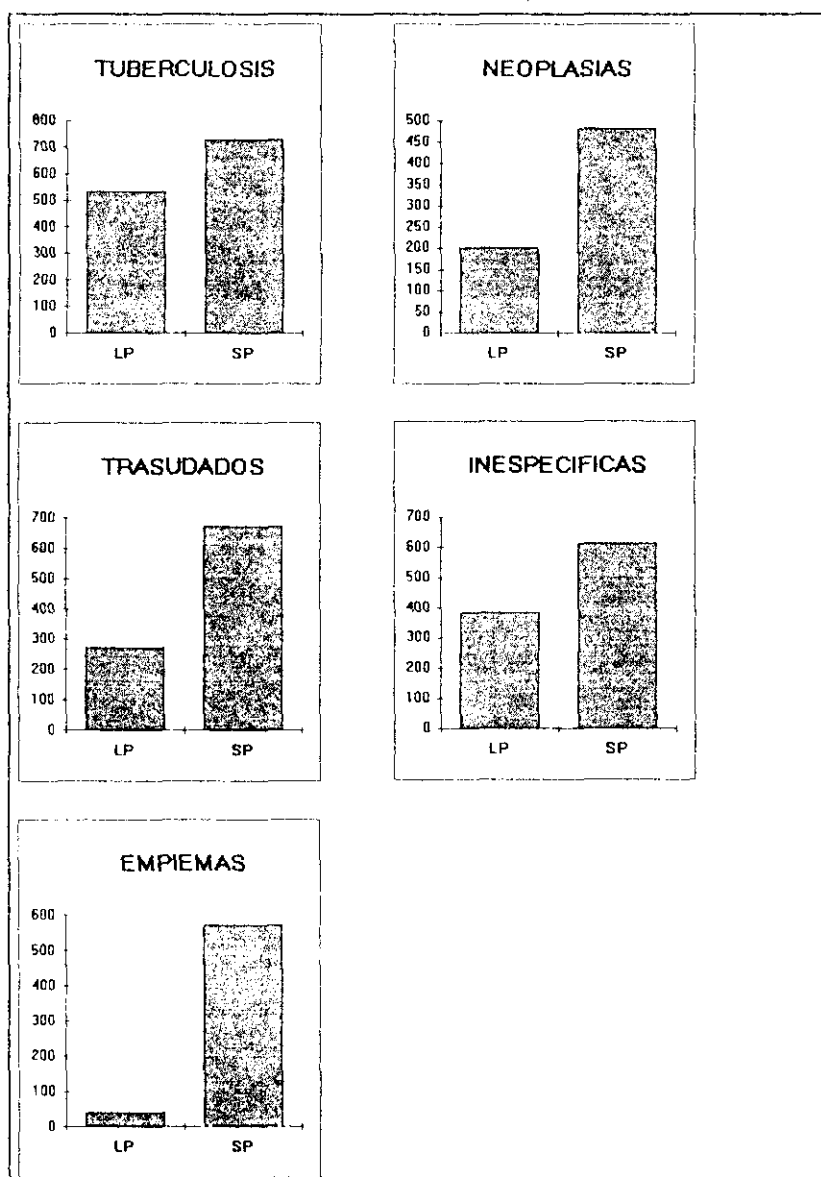


Figura 3: Niveles de CD8 en líquido pleural y sangre.

con la desproporción que existe en la tuberculosis, también en neoplasias y pleuresías inespecíficas con una diferencia en torno al 40% y en empiemas con el 20%, la diferencia es significativa.

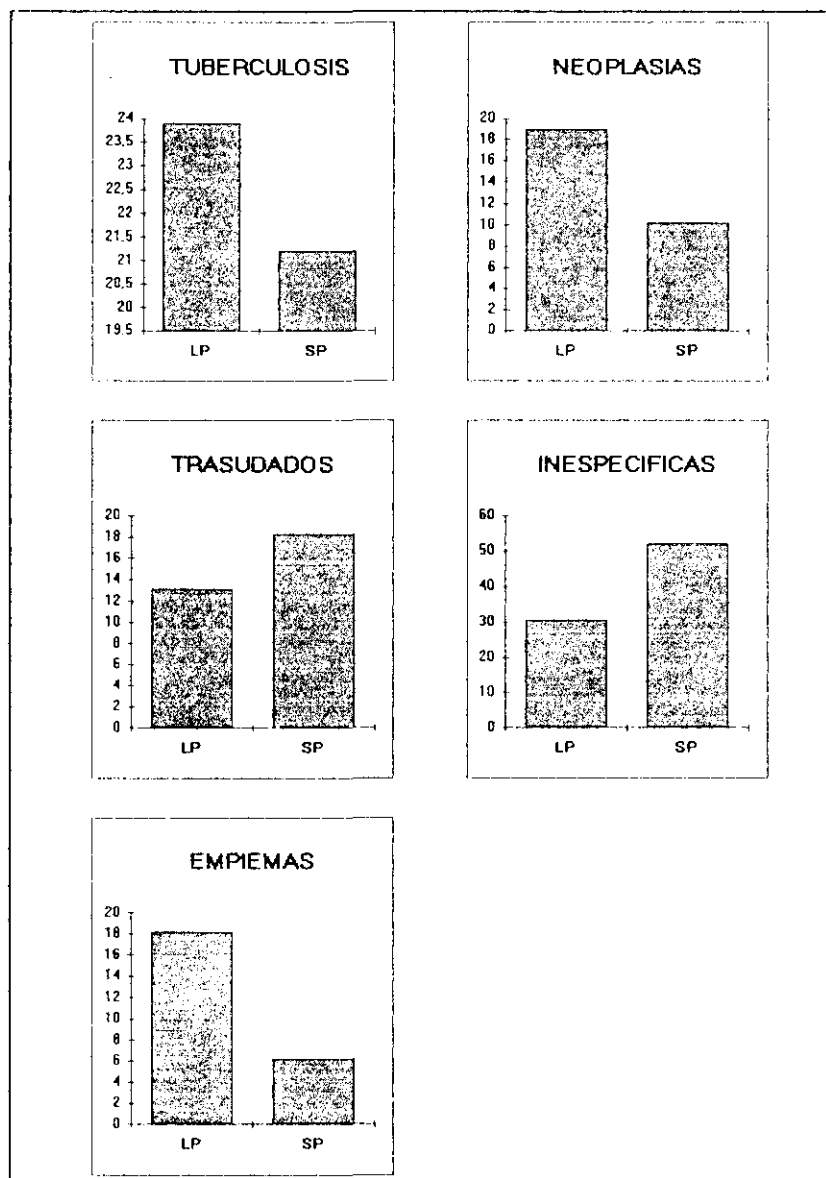


Figura 4: Niveles de TNF en líquido pleural y sangre.

El comportamiento de los CD8 solubles difiere del de los dos parámetros considerados anteriormente. Esta molécula se encuentra en concentración mas elevada en sangre que en el fluido pleural en todos los grupos etiológicos y en todos los casos las diferencias son estadísticamente significativas destacando en este aspecto los empiemas con una cifra media catorce veces mas alta en suero que en pleura.

El TNF se comporta de manera mas irregular. Las medias son mas altas en líquido pleural que en sangre en tuberculosis, en neoplasias y en empiemas y mas altas en sangre en trasudados y pleuresías inespecíficas pero sólo la diferencia en neoplasias con un 86% mas en líquido pleural es significativa con una $p < 0,05$.

6.-DISCUSIÓN

6.1.-PROBLEMAS GENERALES

El planteamiento de la tesis se apoya en la idea de que el estudio del medio biológico mas próximo a los órganos o a los tejidos en los que están teniendo lugar acontecimientos fisiológicos o fisiopatológicos como la inflamación, los fenómenos inmunes, etc, tiene un gran interés. Podemos considerar que la sangre con su continua y universal recirculación representa el espejo general de estos acontecimientos puesto que en ella se pueden detectar sustancias que aparecen tanto como consecuencia de reacciones generales como por reacciones locales que se produzcan en cualquier territorio del organismo. Al mismo tiempo podemos asumir que los cambios que tengan lugar en el medio íntimo o propio de cada órgano reflejan mas fiel y directamente lo que está sucediendo en ese lugar.

Desde luego lo ideal sería tener acceso al líquido intersticial de cada tejido pero ésto, obviamente, no es fácil en casi ninguna circunstancia. Una buena aproximación a este desideratum la tenemos en algunos fluidos locales como pueden ser el lavado broncoalveolar, el líquido cefaloraquídeo o el líquido sinovial por ejemplo. No es necesario insistir en la rentabilidad que desde el punto de

vista diagnóstico y de la investigación representa el estudio de esos medios. Concretamente en lo que se refiere al lavado alveolar basta con repasar la extraordinaria cantidad de trabajos sobre casi cualquier sustancia o célula existente en ese fluido que se está publicando en los últimos tiempos.

El considerar los cambios en el líquido pleural como una buena referencia de lo que sucede en el pulmón plantea por otro lado algunas dudas. ¿Hasta que punto podemos considerarlo como un líquido local, como un fluido íntimo?. Parece lógico que no podamos compararlo con un líquido intersticial pero es lícito especular con la idea de que sea una buena aproximación. Sabemos, sin embargo, que el líquido pleural no es un medio estático, sino que con mayor o menor rapidez se produce y se reabsorbe y diferentes estudios que pretenden cuantificar este movimiento sugieren una renovación del líquido de una cierta celeridad.

Se ha dicho en algún momento que la pleura sería como una gran vena, queriendo indicar la gran capacidad de reabsorción de sustancias que tiene esta serosa así como la rapidez de recirculación del líquido. Si aceptamos esta comparación tendríamos que considerar que la imagen que podamos tener de la patología local reflejada en la pleura se encontraría desfigurada al ser también el espejo de acontecimientos que están teniendo lugar a distancia. A

pesar de todas estas disquisiciones teóricas de hecho ya tenemos indicios de que, en muchas circunstancias, el líquido pleural sí refleja verdaderamente lo que está teniendo lugar en su proximidad.

Un ejemplo muy demostrativo de esta "sensibilidad" de la pleura para poner de manifiesto los fenómenos fisiopatológicos implicados en la patología local lo podemos encontrar en el caso del interferón. Es evidente que esta sustancia participa de forma general en la patogenia de la tuberculosis, sea del órgano que sea. Sin embargo si se hubiera dosificado este mediador solamente en la sangre no habría resultado fácil sospechar su importancia dada la baja concentración y lo invaluable de sus variaciones en este medio. Para darnos cuenta de la relevancia del interferón en la infección tuberculosa ha sido necesario analizarlo en el líquido pleural que, como se ve, ha resultado ser un amplificador extraordinario en este aspecto.

Uno de los problemas con los que nos encontramos al abordar este estudio fué el de no poder disponer de un líquido pleural "normal" que pudiera servir de referencia o de control. En sangre es muy fácil conocer cualquier parámetro químico, inmunológico o citológico en la población normal. No nos faltan oportunidades para disponer de muestras suficientes de sangre o de suero humanos normales. En otros medios biológicos como el lavado broncoalveolar o

el líquido cefalorraquídeo por ejemplo no existen grandes problemas técnicos para su obtención y en estos casos el único obstáculo lo representan las lógicas consideraciones éticas que impiden proceder a maniobras de extracción molestas o de riesgo si no están justificadas por un fin diagnóstico o terapéutico.

A pesar de estas limitaciones los investigadores generalmente han podido disponer de muestras normales de la mayoría de los fluidos biológicos, unas veces por el empleo de voluntarios sanos y otras gracias a los casos en los que, estando clínicamente justificado el proceder a la obtención de la muestra, se ha llevado a cabo la extracción y tras el análisis no se ha encontrado patología que pudiera representar una alteración de las características normales del medio.

Esta posibilidad de obtención de muestras normales no la tenemos en el fluido pleural. En la introducción se han citado los medios que se han empleado para el estudio del líquido pleural normal en el hombre o en los animales de experimentación y como se ve no es fácil recurrir a esos procedimientos. Por ese motivo nos planteamos el que nos pudieran servir de referencia los líquidos pleurales considerados como trasudados mecánicos en los que no se espera que intervengan en su producción mecanismos inflamatorios, inmunológicos, etc.

Otro problema al que se ha hecho referencia en párrafos anteriores lo representa la comparación entre líquido pleural y sangre periférica. Al no ser compartimentos completamente estancos e independientes es lógico que en muchos elementos de su composición exista una correlación entre las concentraciones en ambos medios como sabemos que ocurre con las proteínas, la glucosa, la LDH, etc. Cuando lo que valoramos son los cambios de sustancias producidas por elementos celulares comunes a ambos medios hay que considerar siempre en que cuantía puede influir la producción *in situ* y cuanto es debido al paso del elemento en cuestión de uno a otro espacio. Sabemos que para la mayor parte de las sustancias no hay impedimentos físicos demasiado importantes para su filtrado a través de las barreras endoteliales o mesoteliales y concretamente cualquiera de las sustancias estudiadas en este trabajo tienen las características fisicoquímicas, tamaño molecular, etc. compatibles con su difusión al menos cuando se dan las condiciones de vasodilatación, aumento de permeabilidad de membranas, etc. propias del estado inflamatorio.

Otra cuestión se relaciona con la procedencia de los linfocitos pleurales. Pretendemos que estas células nos informen de lo que está sucediendo en el líquido pleural y estos linfocitos no se producen en la pleura obviamente, sino que vienen de fuera por lo que en cierto modo son visitantes circunstanciales. A pesar de ello, en base al

concepto ya expuesto de compartimentalización podemos con todo derecho calificarlos de linfocitos pleurales. ¿Pero en qué proporción provienen de la circulación sanguínea sistémica, de la pulmonar o de la circulación linfática? La pregunta no es banal pues guarda relación con el problema de la especialización de los linfocitos, con el hecho de que esos linfocitos comisionados, unas veces han conocido al antígeno en la propia pleura pero otras lo han podido hacer en lugares muy alejados.

Sabemos que existe una recirculación continua general de las células sanguíneas y, en teoría todos y cada uno de los elementos celulares de la sangre puede llegar a cualquier tejido vascularizado del organismo pero esta recirculación no es aleatoria, se establecen vías y circuitos diferenciados y direccionamiento preferencial de las células inmunológicamente especializadas. De esta manera nos podemos cuestionar cuantos de los linfocitos pleurales sensibilizados contra las sustancias micobacterianas han aprendido a conocer al antígeno en el sitio del afecto primario pulmonar y cuantos lo hacen al ponerse en contacto con los antígenos que pueda haber en el exudado pleural. Y las mismas consideraciones nos podemos hacer en el caso del cáncer. No se trata de un aspecto puramente conceptual y teórico sino de gran interés en la investigación sobre los antígenos bacterianos y neoplásicos con su innegable potencial diagnóstico y terapéutico.

En lo que se refiere a las citoquinas hay que recordar que éstas se han definido como sustancias autocrinas o paracrinas, es decir que no circulan normalmente en la sangre para actuar a distancia. Este aserto hay que matizarlo hoy día que, con medios de laboratorio mas precisos, se ha comprobado que la mayoría de las citoquinas se encuentran en la sangre en cantidades detectables que posiblemente representan un estado basal de estimulación de las poblaciones celulares responsables de su producción pero ello no invalida la idea de que basicamente estas sustancias son mensajeros de corto radio de acción y por tanto sus variaciones deben reflejar sobre todo el estado de activación de las células inmunitarias locales. En todo caso en la interpretación de cualquier resultado cuando hacemos mediciones locales de sustancias mediadoras inmunológicas tenemos que tener en cuenta la posible influencia de los cambios generales o de los cambios que tengan lugar en otros territorios del organismo.

En general, como veremos, no parece existir correlación entre los parámetros inmunológicos de sangre y de líquido pleural pero en los casos en los que encontramos una correlación positiva nos podemos preguntar si es que la sustancia en cuestión puede difundir, siendo otras explicaciones alternativas la de que hubiera una también una correlación entre el número de los elementos celulares

productores en sangre y en líquido pleural o bien una correlación en su estado de activación.

Aunque como se ha dicho al expresar los objetivos de la tesis el planteamiento general, quizá demasiado ambicioso, fuera intentar establecer el perfil analítico-inmunológico propio de los derrames pleurales de cada etiología, de hecho lo que se ha buscado con mas interés es la respuesta a una serie de interrogantes que surgen cuando se repasa la casi inabarcable literatura sobre la inmunidad celular en la tuberculosis y en la patología tumoral.

6.2.-CUESTIONES PLANTEADAS.

6.2.1.-PRIMERA CUESTION: PAPEL DE LOS LINFOCITOS CD8 EN LA TUBERCULOSIS.

El primer punto es el del posible papel de los CD8 en la inmunidad antituberculosa. En los mecanismos de defensa contra los gérmenes capaces de parasitar las células del huesped tales como las micobacterias tuberculosas, todo parece dominado por el innegable protagonismo de los linfocitos CD4 (al lado naturalmente de los macrófagos). Sin embargo en los últimos años algunos autores están insistiendo en la posibilidad de que otros elementos celulares jueguen un papel mas o menos relevante.

Hay situaciones que parecen demandar esa colaboración. Así muchos gérmenes pueden infectar a células diferentes de los fagocitos mononucleares, células que no expresan el antígeno MHC de clase II y por lo tanto no son capaces de hacerse microbicidas tras la estimulación por linfoquinas. Pero incluso aunque las células parasitadas sean fagocitos mononucleares no todos ellos están adecuadamente equipados para destruir a los gérmenes introducidos en su citoplasma. En estas condiciones es difícil que las células *helper* CD4+ por si solas sean capaces de proporcionar una suficiente protección.

Otras reflexiones surgen cuando se repara en los detalles de la configuración anatómica del granuloma tuberculoso. Las descripciones clásicas nos decían que éste consistía básicamente en una estructura en la que, con necrosis caseosa o sin ella, existía un acúmulo central de células epitelioides y de células gigantes rodeado de un manto de linfocitos. Pues bien cuando, mediante la aplicación de las técnicas de anticuerpos monoclonales, se ha estudiado el fenotipo de estos linfocitos se ha visto que no todos pertenecen a la estirpe CD4. En efecto, una corona de linfocitos CD8 se dispone, en forma de manto externo, rodeando a los granulomas. No es sólo el hecho de que existan linfocitos CD8 sino esa disposición particular la que sugiere que su presencia en el granuloma no es aleatoria

ni es expresión de un tropismo general de los linfocitos T sino que cumplen una misión concreta.

Existen datos experimentales que apoyan la idea de esta participación de los linfocitos CD8. De Libero¹⁶⁰ encuentra que en los ratones los linfocitos T Lyt2+, restringidos a reconocimiento del MHC de clase I, que son equivalentes a los CD8 humanos, cuando están sensibilizados contra la *L. monocitogenes* son capaces de liberar interferón y de llevar a cabo una acción citolítica sobre los macrófagos infectados por la listeria, parásito intracelular cuya infección tiene, como sabemos, muchos puntos de contacto patogénicos con la infección tuberculosa. Orne¹⁶¹ en experiencias de transferencia adoptiva inmune pudo transmitir en el ratón la protección antituberculosa mediante células Lyt2+. Curiosamente en otras experiencias de este último autor¹⁶² se comprobó que las células Lyt2+ (las correspondientes como se ha dicho a las CD8+) parecían ser especialmente efectivas para proteger a los receptores contra una infección por micobacterias tuberculosas administradas en aerosol mientras que los linfocitos L3T4+ (los correspondientes a los CD4) eran mas eficaces para controlar la infección cuando los microorganismos se administraban por via intravenosa. Estas diferencias en la respuesta según la via de entrada tienen claras implicaciones en los intentos que se llevan a cabo para la elaboración de una vacuna eficaz antituberculosa.

La participación activa de los linfocitos CD8 en la patogenia de la tuberculosis podría explicar por ejemplo el hallazgo de Rossi¹⁶³ de un gran porcentaje de esas células que, en el líquido pleural, reaccionan al PPD o la observación de Ainsle¹⁶⁴ de que en algunas formas clínicas de tuberculosis el número de las células supresoras/citotóxicas está aumentado en la sangre y en los lugares de actividad de la enfermedad.

Hay otras experiencias de laboratorio que sugieren también un papel para los linfocitos CD8 en la infección tuberculosa. Flynn¹⁶⁵ emplea ratones a los que genéticamente les falta la capacidad para desarrollar células CD8 funcionales ya que no disponen de moléculas MHC de tipo I. Estos interesantes mutantes son un modelo de laboratorio muy útil para evaluar el papel de las células restringidas a reconocimiento del MHC I en la resistencia a la infección con micobacterias tuberculosas virulentas. Tras la inoculación de los gérmenes la formación de granulomas tuvo lugar tanto en los ratones mutantes como en los normales pero se vieron muchos más bacilos en los pulmones de los mutantes y necrosis caseosa solamente se produjo en estos. El 70% de los ratones que no tenían células CD8 funcionantes habían muerto tras seis meses de infección mientras que todos los controles estaban vivos. No se encontraron diferencias en la evolución entre los mutantes y los normales en la infección por una cepa avirulenta de BCG. La

administración de BCG prolongó la supervivencia de los mutantes infectados por micobacterias tuberculosas cuatro semanas mas pero no impidió su muerte. Estos resultados indican la necesidad de una subpoblación de linfocitos CD8 plenamente funcionante para una normal respuesta protectora a la infección tuberculosa en el ratón.

6.2.2.-SEGUNDA CUESTIÓN: PARTICIPACIÓN DEL TNF EN LA TUBERCULOSIS.

La justificación de buscar en esta tesis alteraciones en las tasas de factor de necrosis tumoral en los derrames pleurales tuberculosos viene dada por la creciente evidencia del papel jugado por esta citoquina en la patogénesis de las infecciones micobacterianas.

En modelos animales en los que se producen granulomas mediante la inoculación de BCG, la inyección posterior de lipopolisacáridos produce necrosis alrededor de los granulomas¹⁶⁶ y se detecta una masiva liberación de productos de los macrófagos sobre todo de TNF¹⁶⁷. La liberación de ese mediador tambien tiene lugar en ratones con granulomas a los que se les inyecta material sonicado de antígeno micobacteriano. Se han realizado estudios en cobayas en los que, tras la inoculación de micobacterias muertas emulsionadas en aceite, una inyección de muramildipéptido

(MDP) en un lugar distante unas semanas mas tarde da lugar a la aparición de necrosis en el sitio de inyección de los bacilos¹⁶⁸ y se ha visto asimismo que la administración de MDP y de IFN *in vitro* potencia en los macrófagos humanos y de cobaya la capacidad de liberación de mediadores que pueden ser importantes en la necrosis.

Los macrófagos humanos expuestos al IFN sintetizan y liberan cantidades importantes de TNF¹⁶⁹. También la exposición a vitamina D da lugar a este efecto¹⁷⁰. El TNF en teoría podría explicar algunos de los síntomas de la tuberculosis aunque en general los macrófagos activados sólo liberan grandes cantidades de TNF si son al mismo tiempo incitados por fuertes estímulos como los lipopolisacáridos de los gérmenes gram negativos. No hay razón para suponer que en la tuberculosis haya ocasiones especiales para el estímulo por estas endotoxinas pero las micobacterias vivas y algunos de sus componentes como los glicolípidos y el muramildipéptido pueden también constituir un disparador efectivo del factor de necrosis tumoral.

Es interesante comparar algunos aspectos de la patogenia de la tuberculosis con la de la sarcoidosis. Si bien tienen muchos rasgos en común hay detalles que las diferencian. En la sarcoidosis no se ha demostrado la producción de TNF y ello es quizá debido a que le falta ese

disparador de los macrófagos que en la tuberculosis es proporcionado por *el Mycobacterium tuberculosis*.

Aparte de todos estos hechos de laboratorio que implican al factor de necrosis tumoral en la patogenia de la tuberculosis, desde el punto de vista clínico se ha especulado sobre el papel que pudiera jugar esta citoquina en el cuadro general constitucional que puede acompañar a la infección tuberculosa. Bien es verdad que hoy día, al menos en nuestro medio, no solemos ver tuberculosos caquéuticos o profundamente emaciados y, desde luego esto no ocurre en la pleuritis tuberculosa pero se ha intentado explicar la agravación que a veces se presenta en algunos enfermos con el tratamiento con rifampicina, sobre todo si están marasmáticos o son alcohólicos, a través del TNF. Esta hipótesis se basa en experiencias en las que se ha visto en el ratón que un daño hepático previo les vuelve mil veces más sensibles al TNF¹⁷¹. Quizá estos enfermos, con una insuficiencia hepática previa, pueden sucumbir a los efectos letales del factor de necrosis tumoral cuando se suman el mayor daño hepático producido por la rifampicina y el estímulo que para la producción de TNF representa la liberación de material inmunogénico por las bacterias rápidamente muertas.

6.2.3.-TERCERA CUESTIÓN: ACTIVACIÓN DE LOS LINFOCITOS EN EL CÁNCER

La justificación del planteamiento viene dada por el siguiente razonamiento: Si el aumento de las tasas tanto de receptores solubles de IL-2 como de interferón gamma representa un marcador de la activación de los linfocitos CD4 y en el líquido pleural, de alguna manera, los mecanismos inmunológicos se representan de forma amplificada respecto a como lo hacen en la sangre (caso del interferón en tuberculosis) quizá sea posible detectar en el derrame pleural algunos signos o marcadores de la participación de esta subpoblación linfocitaria en la inmunidad antitumoral, signos que en el medio sanguíneo serían mas difíciles de descubrir.

Hay datos experimentales que sugieren la intervención de las células T colaboradoras en estos mecanismos de defensa. En 1980 Fernandez Cruz demostró que estas células T bien directamente por contacto célula a célula o indirectamente a través de la interleuquina 2 y del interferón gamma regulaban la respuesta de citotoxicidad antitumoral frente a sarcomas singénicos en ratas¹⁷².

También, y de forma mas contundente, hay evidencia experimental de la participación de otros elementos celulares (células supresoras-citotóxicas, macrófagos,

células asesinas naturales, etc), en la defensa antitumoral, pero nos hemos interesado especialmente por la indagación sobre la posible actividad de los linfocitos CD4+ en parte influidos por la gran expresividad que muestra esta subpoblación linfocitaria a través de la secreción de las linfoquinas que le son mas propias, como se ha mostrado en el caso de la tuberculosis.

6.3.-DESCRIPCIÓN DE CASOS

La exposición individualizada de algunos de los casos plantea una serie de consideraciones.

Caso no 5: Fué en un principio diagnosticado de tuberculosis pleural y fué tratado con tuberculostáticos. Se trataba de un varón de 26 años adicto a drogas por vía parenteral desde ocho años antes que aquejaba un cuadro de disnea, fiebre y dolor torácico de varios días de evolución. Se conocía que era portador de anticuerpos anti-HIV desde hacía unos cuatro meses. El diagnóstico de pleuritis específica, sin confirmación anatomopatológica ni microbiológica, se basó en las características clínicas y en los datos analíticos del líquido cuya fórmula era linfocitaria y tenía una cifra de adenosindesaminasa de 100 unidades. Si bien el paciente se comportó como tuberculín negativo con diez unidades de tuberculina PPD se atribuyó

éste hecho a la posible inmunodepresión por la infección por HIV y se inició tratamiento tuberculostático con respuesta favorable desapareciendo el derrame pleural. En el estudio de la inmunidad celular en sangre este enfermo tenía una cifra de linfocitos CD4 de 370 por milímetro cúbico (normal de 482 a 2.210) con una relación CD4/CD8 de 0,74 (normal 1,1 a 2,9).

En líquido pleural la tasa de receptores solubles de IL-2 era de 3.570 siendo la media en los derrames bacilares de 5.632 y sólo, entre los 24 pacientes de este grupo, hubo un caso con una cifra inferior a estas 3.570 unidades. Mas llamativo es el caso del interferón gamma con una cifra en líquido pleural de 1,5 unidades, es decir muy por debajo de la media y de las tasas mas bajas encontradas en los derrames tuberculosos que fueron de 16 unidades en un caso y de 17 en otros tres. Pero por otra parte tambien hay que decir que entre los no tuberculosos pocos casos tuvieron una cifra de IFN en líquido pleural por encima de 1.

Este fué uno de los primeros casos estudiados. En esas fechas conocíamos los datos de la literatura que indicaban la existencia de cifras altas de interferón en el líquido pleural tuberculoso pero no nos constaba que en las pleuritis del SIDA este mediador pudiera estar especialmente bajo. En consecuencia pensamos que ésta podría ser una peculiaridad del comportamiento de los Infocitos CD4 en los

infectados por HIV con las interesantes consideraciones que se podrían seguir de ello. Con los conocimientos actuales, tras haber analizado este parámetro en mas de 150 enfermos y a pesar de que, que sepamos, no se ha descrito ningún caso de pleuritis tuberculosa en SIDA en el que se haya analizado el interferón gamma, no nos hemos atrevido a considerar para la estadística a este caso como tuberculoso. Pero ello no evita las dudas. Por supuesto que la respuesta al tratamiento antibacilar, que incluye un antibiótico de amplio espectro, la rifampicina, no descarta que la etiología haya sido bacteriana inespecífica o vírica pero si era así lo que ahora quedaba sin explicar era la alta cifra de adenosindesaminasa.

También es interesante que en este paciente la cifra de CD8 soluble era de 1.417 unidades, muy por encima de la media (511 unidades) y con sólo un caso por encima (el caso 6, con 1.938 unidades).

Caso 6: Se trataba de otro enfermo HIV positivo, tuberculoso confirmado mediante cultivo del líquido pleural. No era drogadicto, y la infección por HIV se había adquirido por contagio heterosexual. Tenía cifras elevadas de CD8 soluble tanto en el exudado pleural como en el suero, de 1.938 y 2.409 unidades respectivamente. Se comportó como tuberculín negativo con diez unidades de PPD y tenía una cifra de IFN en el líquido pleural de 77 unidades. No se

estudió en profundidad la inmunidad celular en sangre en este paciente pero tenía una cifra de linfocitos totales bastante conservada, de 1.023. Existía una lesión pulmonar infiltrativa además de la afectación pleural y la baciloscopia en esputo fué positiva. La cifra de adenosindesaminasa en el líquido fué de 90 unidades.

Caso 113: Tiene la particularidad de tratarse de un empiema tuberculoso. Era un varon de 57 años de edad que había padecido una tuberculosis pulmonar a los 32 años. Tres meses antes de ingresar en el hospital había sido diagnosticado de recaída de su antigua tuberculosis pulmonar y, de hecho, se había demostrado una baciloscopia positiva en esputo iniciando un tratamiento antituberculoso que, posiblemente, no había seguido con demasiado rigor. A su ingreso en el hospital se obtuvo por toracocentesis un líquido pleural con características de pus. Tenía una cifra de leucocitos de 81.000 de los que el 100% eran polimorfonucleares, el pH era de 6,83 y se cultivaron micobacterias tuberculosas en este exudado pleural. Son interesantes las cifras de mediadores: La de IL-2R fué de 1.640 mucho mas baja que en el resto de los derrames tuberculosos, en consonancia con la composición celular del líquido en el que había una casi total ausencia de linfocitos. Asimismo destaca la falta de detección de CD8 solubles, lo cual está también de acuerdo con la escasez de linfocitos, en este caso de los CD8. El IFN se puede

considerar como positivo pero con una cifra de 28 unidades es una de las tasas mas bajas encontradas. A señalar en cambio el alto contenido de adenosindesaminasa.

Lo mas interesante de este caso es que realza el valor del interferón gamma en el diagnóstico de la pleuritis tuberculosa. El líquido se comportó en casi todas sus características como un pus, analíticamente predominaban sus características de empiema, con su gran neutrofilia, su pH bajo, etc, perdiendo desde el punto de vista analítico el patrón de derrame tuberculoso en lo que se refiere a otros parámetros como los receptores de IL-2 y los CD8 solubles. Sin embargo, como derrame tuberculoso, conservó la elevación del interferón gamma.

La gran concentración de adenosindesaminasa, de 306 unidades, la cifra con mucho mas alta en nuestros casos, se puede entender como consecuencia de concurrir en este enfermo las dos circunstancias (etiología tuberculosa y empiema) en las que se eleva este parámetro.

Caso 98: Perteneciente al grupo de los trasudados era un paciente con una nefropatía diabética con síndrome nefrótico en situación de insuficiencia renal importante. Los receptores solubles de IL-2 en sangre fueron de 15.469, una de las cifras mas altas encontradas. Sólo otros dos, uno de ellos con una leucosis y un cirrótico con derrame pleural

tuberculoso, tuvieron cifras mas elevadas. El contenido de IL-2R en líquido pleural fué sólo de 1.204 lo que da la relación IL-2R LP/IL-2R SP mas baja de todos los enfermos estudiados. La elevación de IL-2R en este caso hay que atribuirla a un déficit de eliminación de este receptor debido a la insuficiencia renal y no a un estado de activación de los linfocitos, pues este hecho ha sido ya descrito⁸⁸. Hay que señalar sin embargo que el otro paciente cuyo derrame pleural fué atribuido a la insuficiencia renal (caso 112) tenía una cifra de IL-2R en sangre periférica de solamente 2.983 a pesar de tener un aclaramiento de creatinina muy pobre. Otro (caso 41), con un derrame de estasis claramente de origen cardiogénico tenía también una insuficiencia renal, no severa, con cifras de receptores solubles de IL-2 muy próximas a las medias de su grupo. Es posible que estas diferencias guarden relación con la situación renal momentánea de cada enfermo y el tiempo transcurrido desde la última diálisis.

Caso 99 y 99 bis: Lo consideramos un caso muy interesante porque nos permitió comparar en el mismo enfermo dos derrames pleurales de mecanismo diferente. Se trataba de un varon de 46 años con una hepatopatía alcohólica que ingresó por un cuadro febril de pocos dias de evolución presentando un derrame pleural izquierdo junto a unas lesiones apicales pulmonares de aspecto residual tuberculoso. La baciloscopia en esputo fue positiva. El

líquido pleural se comportó analíticamente como un exudado con 3.3 grs de proteínas (6 grs. en sangre) con un 60% de linfocitos, una cifra de adenosindesaminasa de 73 unidades y de IFN de 58 unidades. Los IL-2R solubles en el líquido pleural eran de 16.984, una cifra muy dentro de lo normal que encontramos en tuberculosis, con una tasa también muy alta en sangre de 24.320. Se inició tratamiento con tuberculostáticos y a las dos semanas, habiendo ya mejorado el derrame izquierdo surgió una descompensación edemoascítica de su hepatopatía apareciendo un derrame pleural derecho. Analizado éste tenía unas claras características de trasudado con una cifra indetectable de proteínas, 200 leucocitos por milímetro cúbico, 16 unidades de adenosindesaminasa y 2 de interferón gamma. También se habían modificado claramente los IL-2R solubles aunque, con una cifra de 12.640 unidades en líquido pleural y 7.700 en suero, se mantenían por encima de lo encontrado en el resto de los trasudados. Concretamente en los otros debidos a hepatopatía eran de 984 y 5.152 unidades en el líquido pleural y de 1.703 y 9.880 unidades en sangre periférica respectivamente.

Caso 37-43: clasificado como hidrotórax con una tasa de proteínas de menos de 2 grs/dl, con menos de 200 leucocitos y con cifras muy bajas de LDH era una mujer con una hipertensión portal, con hipoalbuminemia y con derrames pleurales recidivantes, siempre con el mismo patrón

bioquímico y citológico. Tenía además un diagnóstico de colecistopatía y pancreatitis crónica y por otra parte en la ocasión en la que se estudió inmunológicamente había ingresado con una posible infección respiratoria aguda y presentando también un herpes simple labial. En esta enferma disponemos de dos líquidos extraídos con una diferencia de ocho días y pudimos comprobar cifras muy parecidas en ambos lo que nos permite valorar la buena reproducibilidad de los resultados. En una de las muestras de líquido pleural las cifras para IL-2R solubles, CD8 solubles, IFN y TNF fueron 2.705, 568, 0,8 y 49 respectivamente y en el otro líquido 2.264, 485, 1,6 y 29. En sangre y en el mismo orden las cifras fueron 2.103, 1.198, 0,6 y 8 en una muestra y 1.855, 1.017, 0,6 y 5 en la otra. Los IL-2R eran algo menores que la media en trasudados pero destaca el gran aumento de los CD8 solubles, prácticamente el doble de la cifra media en hidrotórax, siendo concretamente en sangre periférica la cifra mas alta de este grupo. Logicamente podemos hacer especulaciones pero no saber cual de los procesos que tenía la enferma podía justificar estos resultados.

Caso 38: Este enfermo tenía un líquido pleural que claramente cumplía las condiciones de trasudado y que se justificó por una insuficiencia hepática pero tenía también una posible neoformación hepática, que no pudo ser confirmada anatomopatológicamente. Se apreciaba en estudios de imagen de abdomen una masa en el hígado que experimentó

un crecimiento lento, midiendo 3,5 cms de diámetro en 1980 y 8 cms en 1992. Las cifras de todos sus parámetros inmunológicos se separaban menos de una desviación estándar de las medias correspondientes en el grupo.

6.4.-PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS.

6.4.1.-ADENOSINDESAMINASA:

Las medias en las distintas etiologías se muestran de forma gráfica en la figura 5. Siendo este enzima un instrumento de tanto valor en el diagnóstico de los exudados

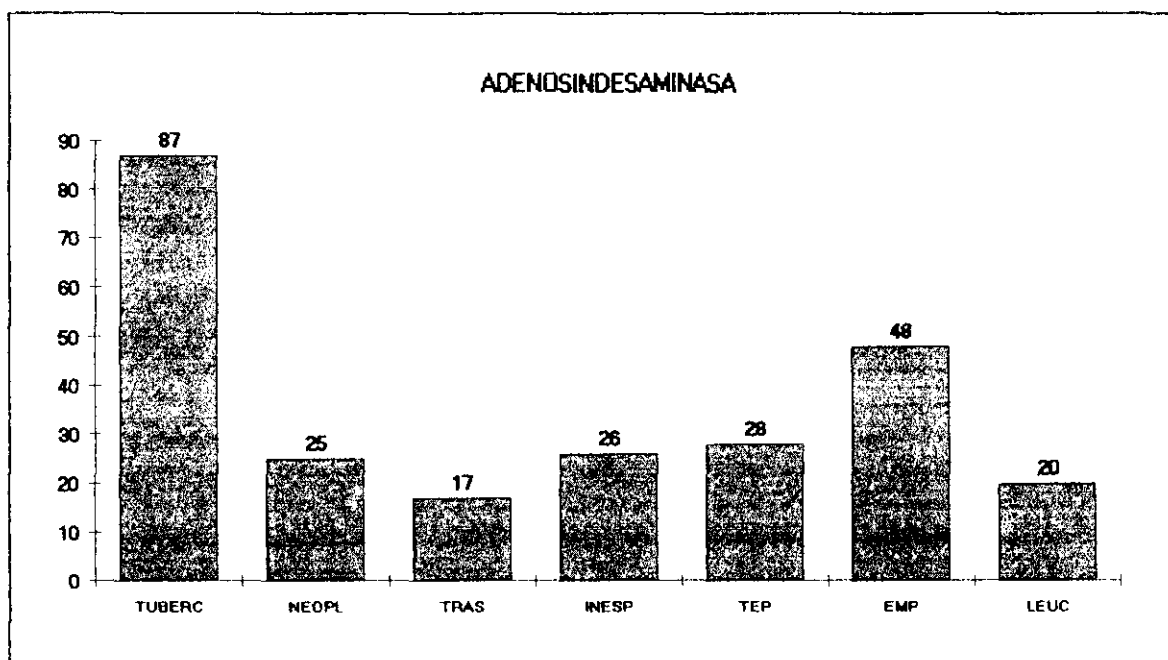


Figura 5

serosos de origen tuberculoso, como sobre todo a través de los trabajos del grupo del Hospital Valle de Hebron se ha demostrado, resulta importante establecer con la mayor exactitud las cifras consideradas normales para cada etiología, precisar la sensibilidad y especificidad del método y el valor de corte.

Ribera¹³⁸ da para un valor discriminativo de 43 unidades una sensibilidad de 1.00 una especificidad de 0.92, un valor predictivo positivo de 0.84, un valor predictivo negativo de 1.00 y un valor predictivo total de 0.94. Con este límite de positividad encuentra falsos positivos en los derrames reumatoideos (el 100% de 9 casos estudiados), en el 67% de los derrames linfomatosos y en el 13% de los derrames infecciosos producidos por bacterias piógenas, sobre todo los claramente empiemáticos.

Valdés¹⁴³ con una cifra límite de 47 unidades no encuentra ningún derrame tuberculoso con tasas inferiores y considera que un nivel por debajo de ese límite descarta la pleuresía tuberculosa y, en razón a los falsos positivos encontrados, un nivel superior da una probabilidad de que el derrame sea tuberculoso veinte veces superior a la probabilidad de que sea de otra etiología. Concretamente los falsos positivos que encuentra son un 50% en empiemas, un 16.6% en linfomas, un 8.1% en neoplasias y un 1.7% en derrames paraneumónicos.

En nuestros enfermos tuberculosos hemos encontrado tres casos con cifras de adenosindesaminasa por debajo de las indicadas por los autores citados: dos casos con 40 unidades y uno con 42 unidades. Dos de ellos (caso 2 y caso 66) tenían un tiempo de evolución prolongado antes del diagnóstico y el derrame mostró tendencia a la organización. En el otro caso mientras que una muestra dió efectivamente una cifra de 42 unidades en otra posterior la adenosindesaminasa fué de 70 unidades. El caso que se aparta mas de la cifra media de ADA, con 306 unidades (3,5 veces mas que la media) es el del empiema tuberculoso, que logicamente es el que tiene la cifra mas alta de leucocitos totales, practicamente todos ellos neutrófilos. Hay sólo otro caso con una cifra de mas de una desviación estándar sobre la media que no presenta ninguna peculiaridad analítica ni clínica.

Entre los derrames neoplásicos se encuentran cinco con cifras por encima de 40 unidades (casos 48, 49, 60, 44 y 46). Los cinco estarían por lo tanto por encima del valor de corte dado por Ribera y por Valdés. Esto da un índice de falsos positivos de 9,1%. En dos de los cuatro, con cifras cercanas a 40, aunque la invasión pleural neoplásica estaba confirmada, es posible por una serie de datos clínicos y analíticos que tuvieran también una infección inespecífica del derrame pleural. El caso que tenía 60 unidades era un paciente de 18 años con un sarcoma sinovial con metástasis

múltiples pulmonares y pleurales y un derrame de características serohemáticas. También en este caso aunque los cultivos del líquido pleural fueron estériles existían algunos datos analíticos que lo aproximaban a un derrame infeccioso pre-empíemático con un pH de 6,93, una cifra de un 49% de granulocitos y 5 mgs/100 mls de glucosa. Naturalmente a pesar de que existía la seguridad de la afectación neoplásica pleural y pese a la ausencia de datos microbiológicos positivos cabe plantearse la inclusión de este caso sólo como neoplásico o también como empiema.

Entre los trasudados, con una media de 17 unidades, la cifra mas elevada, de 26 unidades, corresponde a un cardiópata (caso 80) portador de un derrame que analítica y clínicamente reunía los criterios suficientes para ser catalogado como trasudado mecánico pero que poco antes de la aparición del derrame había tenido una neumonía abscesificada contralateral sin que se pueda decir si este proceso pudo influir de alguna manera.

En las inespecíficas con 26 unidades de media hay dos casos por encima de 40 que son especialmente interesantes por plantear importantes problemas diagnósticos. Uno de ellos es el ya expuesto con detalle anteriormente (caso 5). El otro (caso 112) era un paciente de 46 años con antecedentes de adicción a drogas por via inhalatoria y con un episodio previo de asma que se atribuyó a la inhalación

de heroína. Era HIV negativo. Este paciente estaba sometido a un tratamiento con corticoides inhalados cuando se hizo el estudio de su pleuritis. No se pudo demostrar ni anatomopatológica ni bacteriológicamente la etiología tuberculosa pero a pesar de ello por la cifra de ADA y la positividad de la prueba tuberculínica se empezó con tratamiento tuberculostático. Al conocer el resultado del interferón se reclasificó como pleuritis inespecífica pero las dudas sobre el diagnóstico, como en el otro caso, se mantienen. La mejoría se inició antes de comenzar con los tuberculostáticos pero eso naturalmente no descarta la etiología tuberculosa. Si verdaderamente era tuberculoso sería un caso de falso negativo del IFN lo cual, a la vista de los datos recogidos hasta ahora, lo consideramos muy improbable. Aunque se puede especular sobre el papel de los esteroides inhalados que estaba utilizando este paciente en las modificaciones de los parámetros inmunitarios, lo más probable es que tuvieran poca o ninguna influencia. Sí merece la pena señalar el posible valor orientativo de las cifras de IL-2R solubles y de CD8 solubles en este caso, ambos parámetros, sobre todo el CD8, por debajo de las cifras encontradas en los enfermos tuberculosos lo cual nos puede servir para apoyar su inclusión como pleuritis inespecífica.

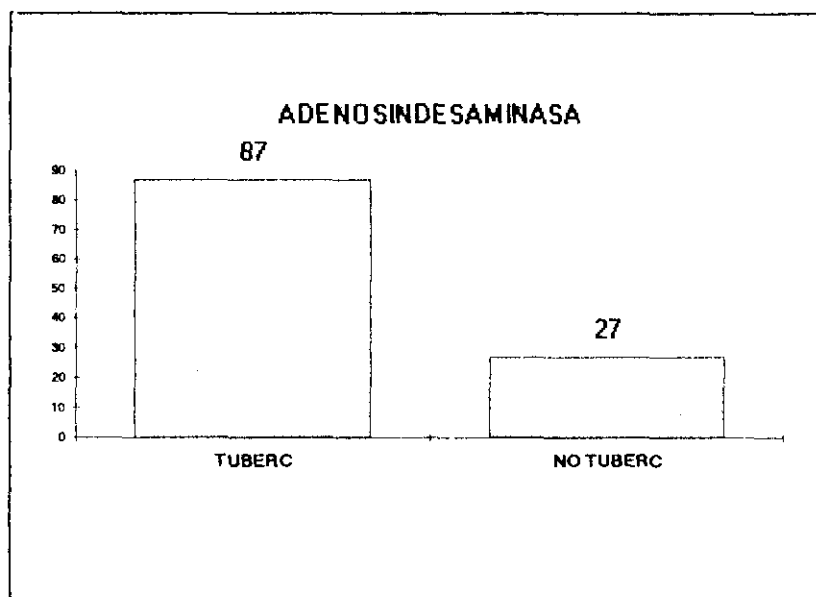


Figura 6

Los resultados comparativos para la adenosindesaminasa entre cada etiología y el resto, cuando de este resto se separa la tuberculosis, dan resultados acordes a lo que se

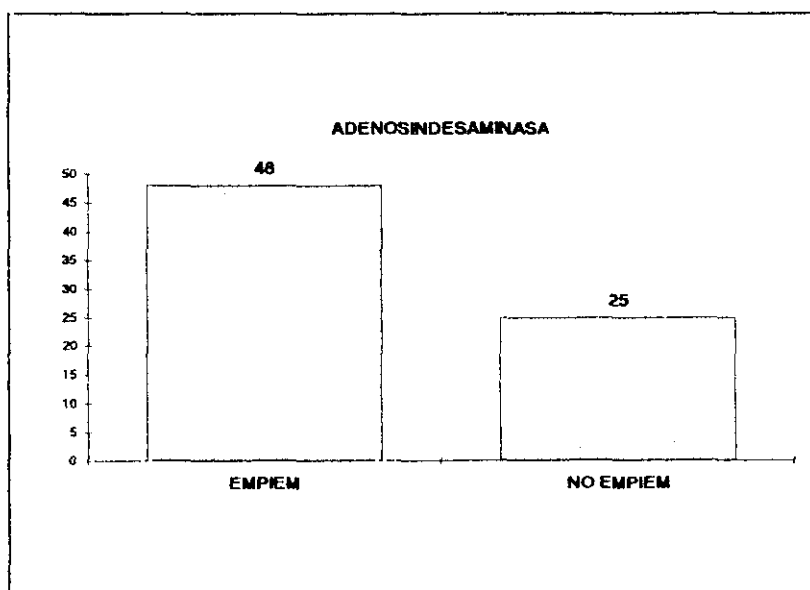


Figura 7

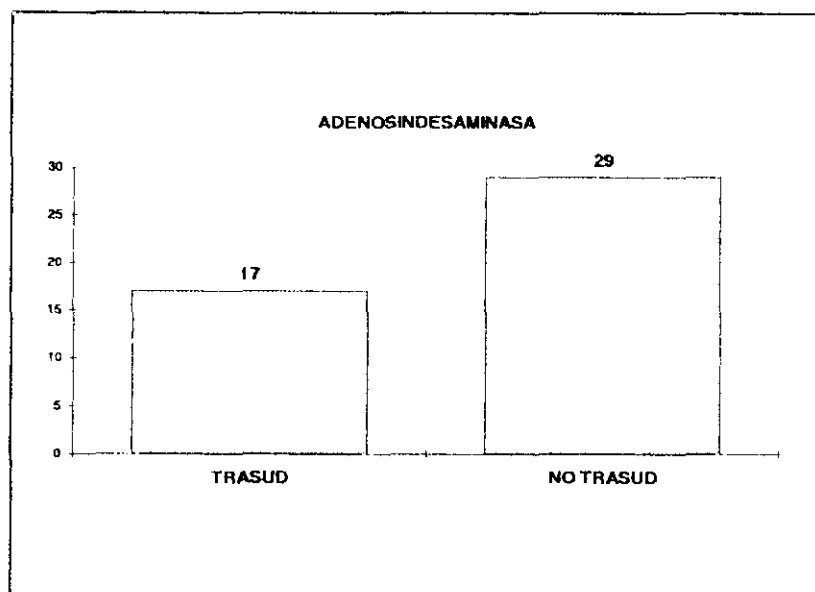


Figura 8

podía esperar, con una media mas de tres veces superior en la tuberculosis respecto a las demás, (figura 6) de casi el doble en el caso de los empiemas (figura 7) y de algo mas de la mitad para los trasudados (figura 8) en relación al resto de los grupos.

La adenosindesaminasa en tuberculosis ha mostrado en nuestro trabajo una correlación fuertemente positiva ($r=0,87$) con la cifra de leucocitos en el líquido pleural y una correlación negativa con el pH ($r= -0,70$) y con la cifra de glucosa ($r=-0,53$). No hemos encontrado, al contrario que Masami Ito¹⁰⁶, correlación con los receptores solubles de IL-2 en el líquido pleural. Tampoco con parámetros clínicos como la cuantía del derrame o el tiempo de evolución.

En los empiemas, que son la otra etiología en la que la adenosindesaminasa está elevada, se pone de manifiesto una correlación negativa ($r=-0.62$) con las cifras de TNF en el líquido pleural. La media de adenosindesaminasa, de 48 ± 21 unidades está como se ve algo por encima del valor de corte generalmente admitido. En nuestros empiemas alrededor de la mitad (5 de 9 enfermos) tenían con arreglo a estos criterios una adenosindesaminasa "positiva", lo que concuerda con las cifras de Valdés.

Cuando se han comparado los niveles de adenosindesaminasa en pacientes tuberculín positivos y tuberculín negativos (59 y 26 unidades respectivamente), la diferencia ha sido muy significativa ($p<0.001$) obviamente debido no al hecho de la positividad tuberculínica en sí sino porque entre los reactores a la tuberculina están prácticamente todos los enfermos tuberculosos. Por eso, para investigar si la activación linfocitaria que existe en cualquier sujeto Mantoux positivo independientemente de la enfermedad que padezca se refleja en diferentes niveles de adenosindesaminasa se ha comparado también este parámetro entre los enfermos no tuberculosos tuberculín positivos y los no tuberculosos tuberculín negativos. Las medias, de 23 y 25 unidades respectivamente, no eran significativamente diferentes en ambos grupos.

Tampoco se han encontrado diferencias cuando se ha realizado la misma comparación en aquellos grupos etiológicos como las neoplasias en los que el número de sujetos era suficientemente alto para que las operaciones fueran válidas. Así, los once pacientes con derrames pleurales malignos tuberculín positivos, tuvieron una cifra de ADA prácticamente idéntica (21,9) que los trece negativos a la prueba de Mantoux.

6.4.2.- IL-2R SOLUBLES

En la figura 9 se representan las medias de receptores solubles de IL-2 en líquido pleural y en la figura 10 en sangre periférica para cada una de las etiologías.

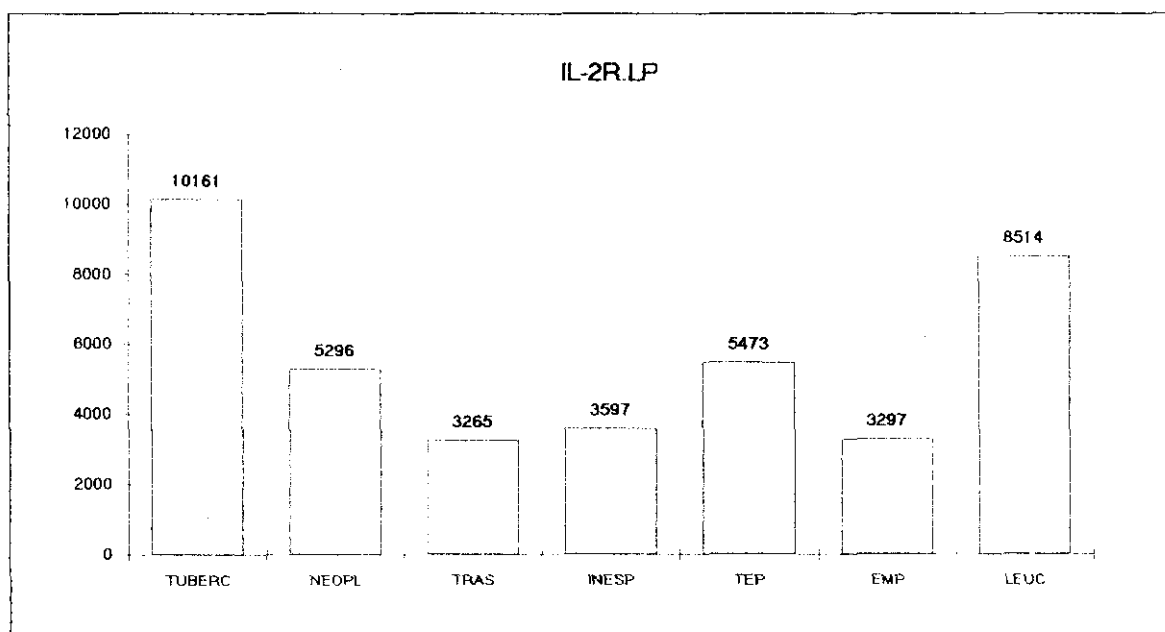


Figura 9

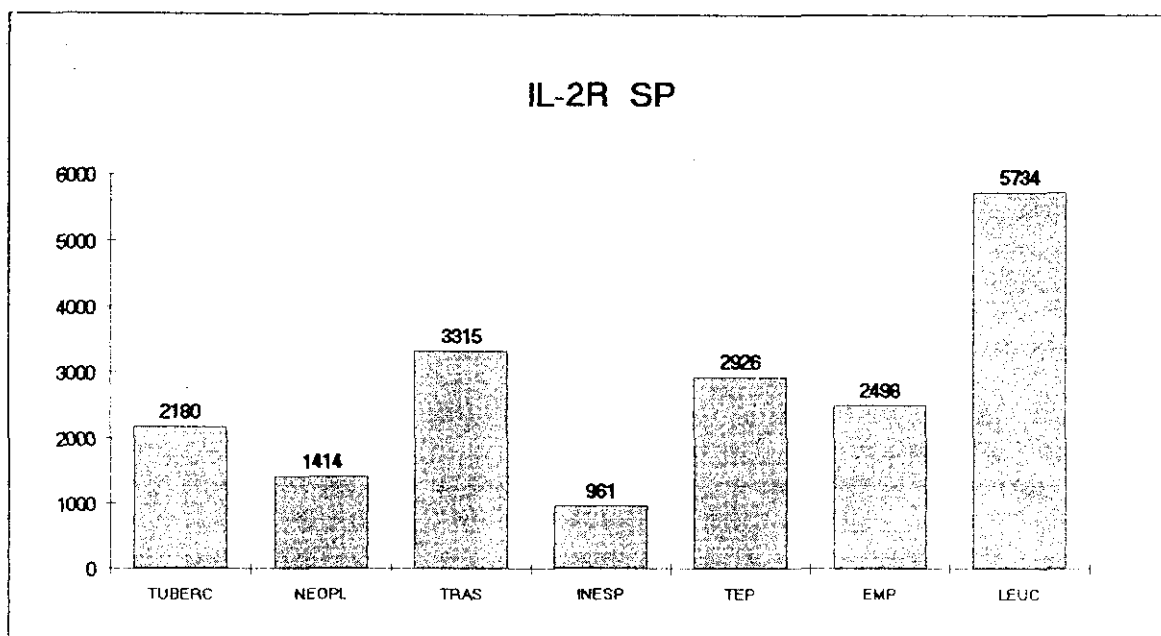


Figura 10

La cifra media encontrada en líquido pleural tuberculoso, por encima de las 10.000 unidades (figura 11), representa mas del doble de la media del conjunto del resto

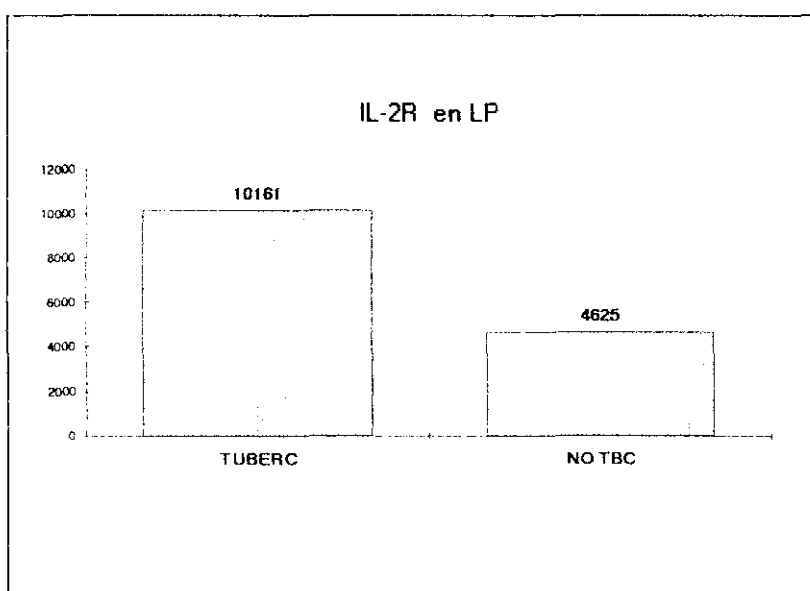


Figura 11

de los grupos. No parece haber duda de que este alto contenido de IL-2R solubles representa un marcador de la activación sobre todo de los linfocitos CD4 en el sitio de la enfermedad pero en el caso de la tuberculosis también los linfocitos CD8 podrían contribuir si éstos, como parece sugerir el concomitante aumento de los CD8 solubles del líquido pleural también muestran un estado de activación superior al normal.

Hay que señalar la falta de evidencia de correlación entre los receptores solubles de IL-2 y el interferón gamma siendo ambos mediadores producidos por los mismos elementos celulares y estando ambos en relación con la activación celular.

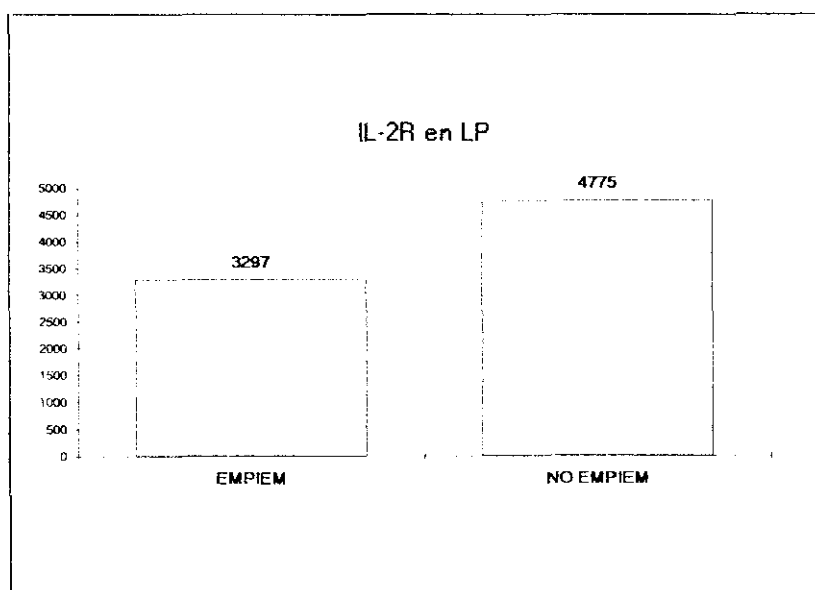


Figura 12

La observación de una cifra menor en empiemas, acorde al menor número de linfocitos en estos líquidos es lógica (figura 12) como también es fácil de entender el menor contenido en trasudados que en no trasudados (figura 13) y,

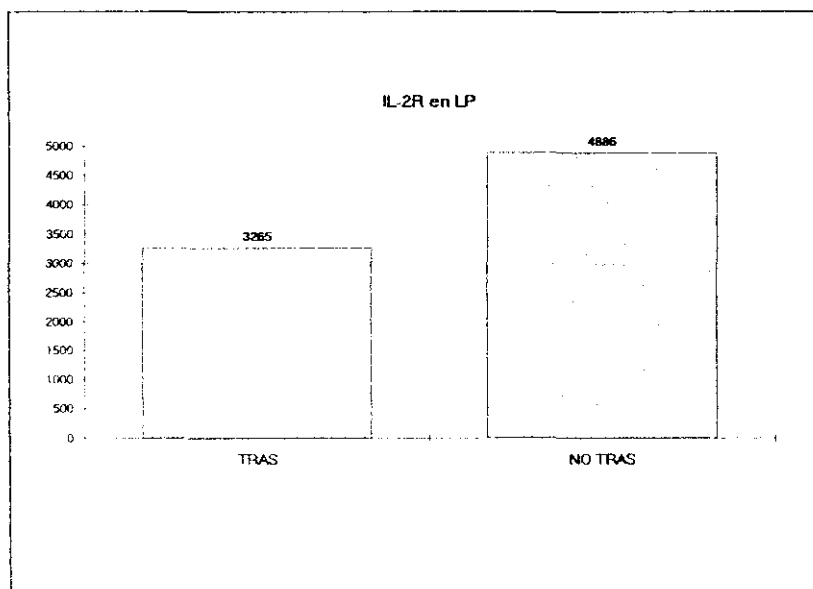


Figura 13

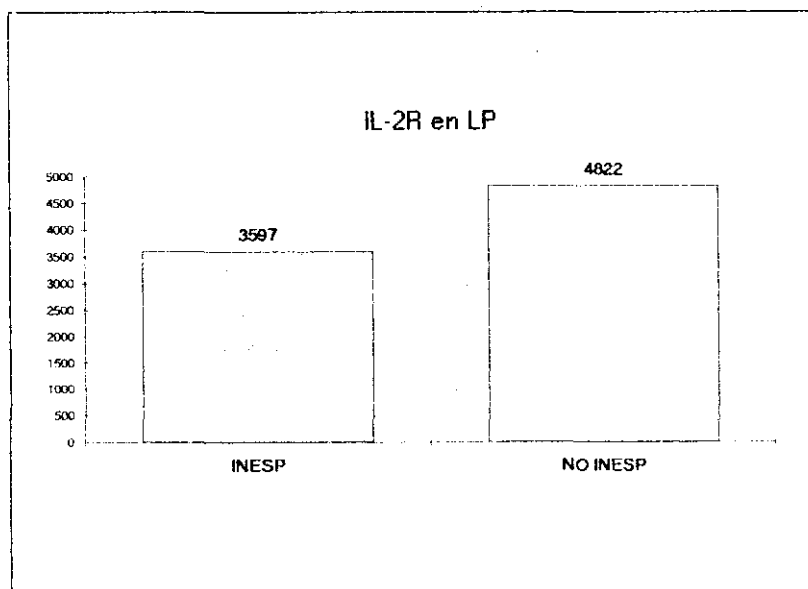


Figura 14

en cambio, la diferencia encontrada entre las pleuresías inespecíficas y el resto de las etiologías descartando la tuberculosis (figura 14) es un hallazgo inesperado. Este menor contenido de IL-2R en esta etiología no se relaciona con un menor contenido de linfocitos en líquido pleural.

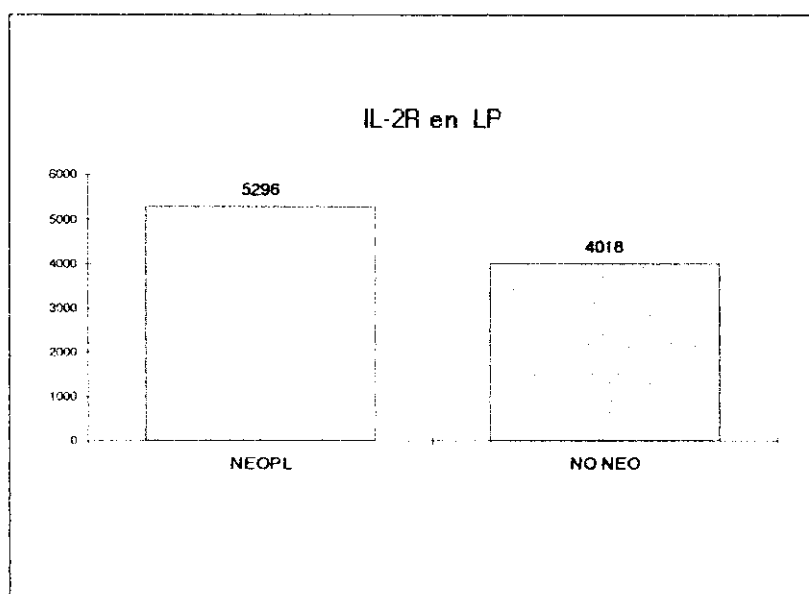


Figura 15

Tiene interés la diferencia encontrada entre los derrames neoformativos y el resto de los grupos, también descartando los tuberculosos, (figura 15) con la sugerencia de que ésto podría ser reflejo de una actividad antitumor expresada por los linfocitos pleurales.

Hoy día no hay duda del importante papel jugado por las células asesinas naturales (NK) en la inmunidad antitumoral y la capacidad tumoricida de estas células es incrementada por una serie de citoquinas de origen linfocitario o

macrofágico, incluyendo la interleuquina 2. Pero mientras que en la literatura hay argumentos suficientes para admitir que la IL-2 influye favorablemente en la defensa antitumoral el aumento de sus receptores específicos de forma libre en el medio se puede interpretar de varias maneras. El lado favorable sería su consideración como una expresión de la activación de los linfocitos T en esa defensa antitumoral pero por otra parte se puede pensar que esos receptores solubles de IL-2 podrían competitivamente impedir la estimulación de las células asesinas naturales con el consiguiente detrimento de su capacidad citolítica.

Concretamente en el caso de las metástasis tumorales nos podemos hacer la siguiente pregunta: ¿hay metástasis porque el aumento de los receptores solubles de IL-2 disminuye la posibilidad de actuación de esta interleuquina en su sitio natural, es decir en la membrana de las correspondientes células o el aumento de estos receptores en el líquido es simplemente el reflejo del incremento de los receptores unidos a la membrana que a su vez es testimonio del mayor esfuerzo inmunitario para luchar contra esas metástasis?

Para intentar sacar conclusiones sería interesante, además de llevar a cabo las pertinentes experiencias de laboratorio, con cultivos celulares, etc, diseñar estudios clínicos amplios en los que se pudiera relacionar este

parámetro con diferentes variables como estadio, evolutividad, pronóstico, extensión de la metástasis en la pleura, etc.

Independientemente de las implicaciones patogénicas que pueda tener, este hallazgo suscita una reflexión: diversos autores al encontrar niveles elevados de IL-2R solubles en neoplasias hematológicas de células con fenotipo asociado a la expresión en membrana del receptor de IL-2 quieren encontrar en ello un dato diagnóstico de interés en estos procesos. Sin embargo si, acorde a los hallazgos citados, existe en las neoplasias una respuesta del huésped puesta de manifiesto por una activación linfocitaria marcada por un aumento de los IL-2R solubles, al incremento de estos receptores en las neoplasias hematológicas habría que restar para interpretar bien los resultados lo que de inespecífico hubiera, simplemente por ser un proceso neofornativo.

Al menos esa reflexión hay que hacerla en relación a los datos de líquido pleural ya que en la sangre los niveles de IL-2R no están aumentados. También aquí como en otros aspectos del trabajo se pone de manifiesto el poder amplificador del estudio de los acontecimientos inmunológicos *in situ*. Esa presunta activación linfocitaria sólo se manifiesta en el sitio del tumor, en este caso en el líquido pleural, su "fluido local"

En sangre hay una cifra de receptores solubles de IL-2 casi 1,8 veces menor en los procesos neoformativos que en el resto que con una $p < 0,1$ se considera casi significativa. Mayor grado de significación, con $p < 0,01$, alcanzan las diferencias entre los niveles sanguíneos de IL-2R entre los enfermos portadores de trasudados y el resto de los grupos y sobre todo, con $p < 0,001$, entre los enfermos con pleuresías inespecíficas y el resto (Figuras 16, 17 y 18).

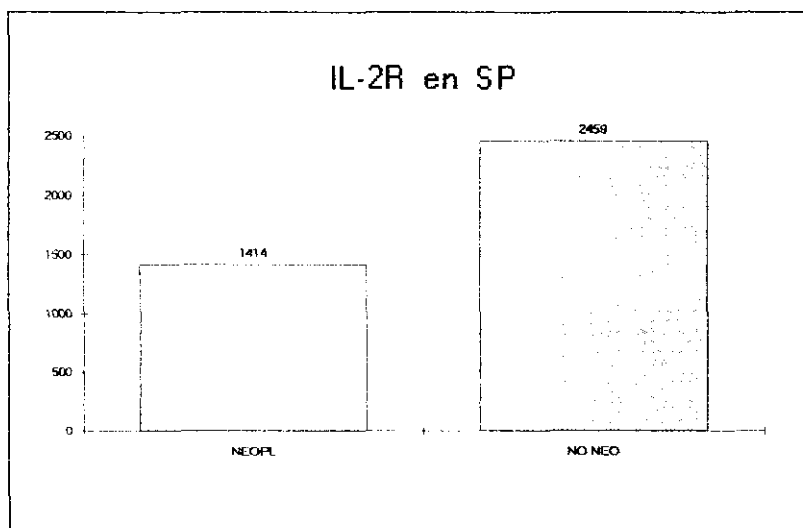


Figura 16

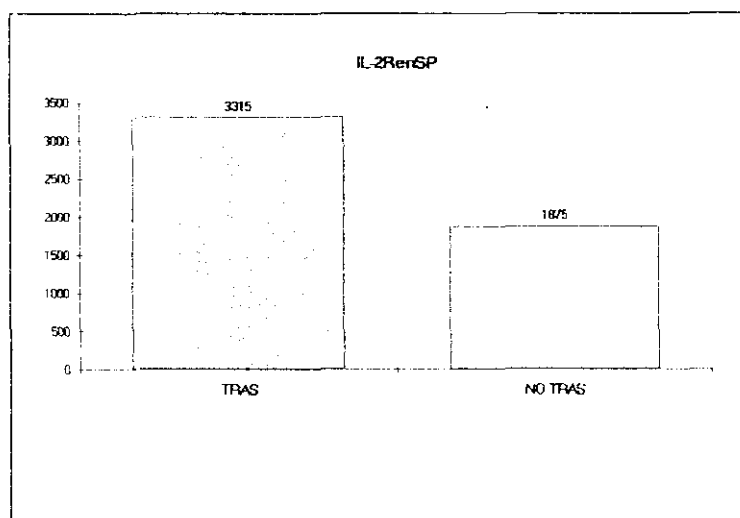


Figura 17

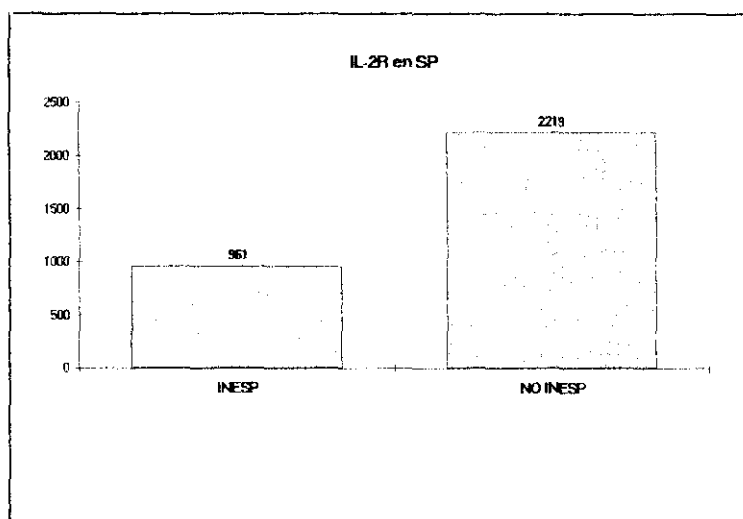


Figura 18

Hay que destacar una correlación positiva ($r=0,81$) entre IL-2R solubles en sangre y CD8 solubles en el mismo medio en los enfermos tuberculosos y menor ($r=0,52$) aunque aún considerándose con una $p<0,05$, también en neoplasias. Asimismo una correlación ($r=0,60$) entre IL-2R en sangre e IFN en sangre en los enfermos con empiemas. También se pone de manifiesto una correlación ($r=0,84$) no fácilmente explicable entre las tasas de IL-2R solubles en líquido pleural y el IFN en sangre en los pacientes con trasudados. Como se ha citado antes al comparar exudado pleural y sangre se ha apreciado también una correlación para los IL-2R solubles entre esos dos medios en las pleuritis inespecíficas y las leucosis.

Al igual que con la adenosindesaminasa se han buscado posibles influencias de la activación linfocitaria por los

antígenos micobacterianos en los niveles de IL-2R. La media en líquido pleural en el conjunto de los tuberculín positivos fué de 7.348 cifra considerada con una $p < 0,1$ casi significativamente diferente de las 5.230 unidades de los tuberculín negativos. No hubo en cambio diferencias significativas entre los no tuberculosos tuberculín positivos (4.605 unidades) y los no tuberculosos tuberculín negativos (4.804 unidades), como tampoco entre los cánceres tuberculín positivos (5.210 unidades) y los tuberculín negativos (4.787 unidades). Tampoco se encontraron diferencias en los niveles de IL-2R en sangre relacionados con la reactividad a la tuberculina.

6.4.3.- CD8 SOLUBLES.

Las medias para cada una de las distintas etiologías en líquido pleural y en sangre periférica se reflejan en las figuras 19 y 20.

La existencia de unos niveles aumentados de CD8 solubles en el líquido pleural tuberculoso es posiblemente el hallazgo de mas interés en la tesis. Con una media de 535 unidades, (figura 21) al compararlo con las 261 unidades del resto de las etiologías la diferencia se considera significativa con una $p < 0,01$.

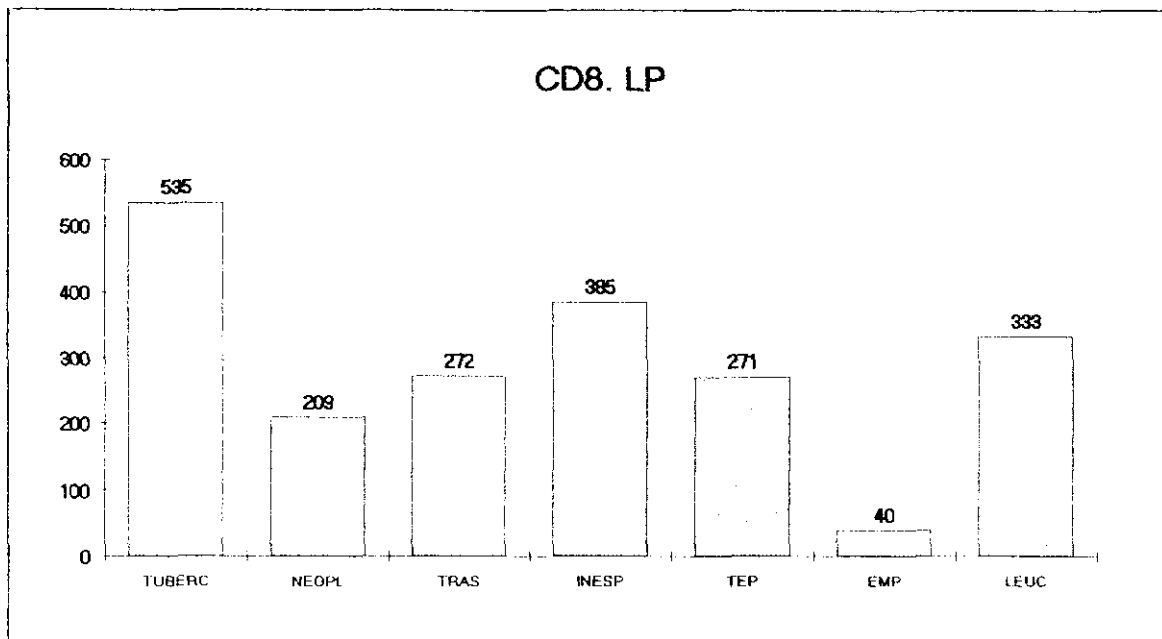


Figura 19

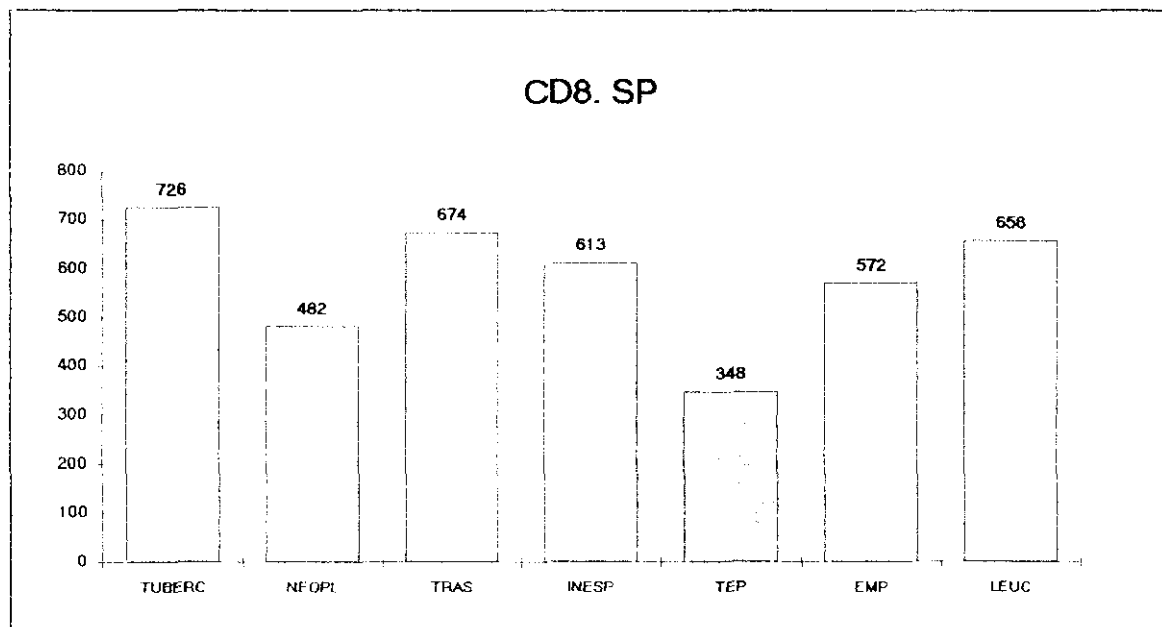


Figura 20

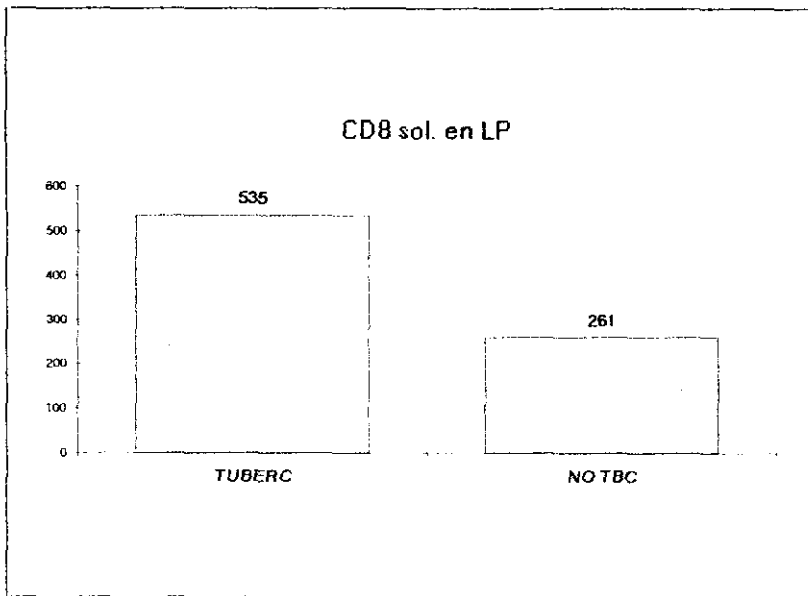


Figura 21

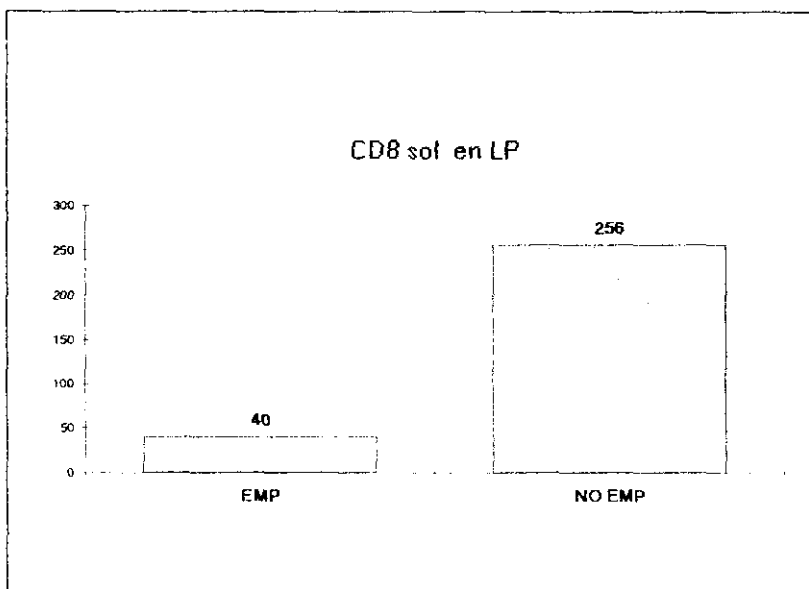


Figura 22

La única otra etiología en la que existe una diferencia con las demás, en este caso con niveles disminuidos, es en los empiemas. Con una cifra muy baja, de 40 unidades, destacan claramente frente al resto de las etiologías con

310 o frente al resto quitando la tuberculosis con 256 (Figura 22).

En ambos casos la diferencia es altamente significativa con una $p < 0,001$. Aquí podríamos plantearnos la misma reflexión que al comparar cualquiera de las etiologías con el resto, comparación en la que era conveniente retirar la tuberculosis para evitar el sesgo introducido por las cifras claramente diferentes de este grupo. En este caso la cifra de 40 unidades en los empiemas rebaja algo la media del total. Al hacer las comparaciones con las nuevas medias las diferencias para la tuberculosis se mantienen con el mismo grado de significación (535 vs 256, $p < 0,01$). Sí tiene lugar un cambio en el caso de las neoplasias: La cifra de 209 unidades, más baja que la media del resto menos tuberculosis de 259 unidades, no alcanzaba unas diferencias significativas. Al enfrentarla a la media del grupo, sin empiemas, que queda en 318, la diferencia se hace significativa aunque con sólo una $p < 0,05$.

Parece evidente que la baja tasa de CD8 solubles en los empiemas puede ser tan sólo un reflejo del bajo número de linfocitos en esos exudados. El aumento en el líquido pleural tuberculoso consideramos que puede ser expresión de un mayor estado de activación de los linfocitos T CD8+.

Hay que hacer hacer mención de los dos casos con infección por HIV que hay en la serie y que se describen de forma mas detallada en la sección 6.3. Uno de ellos era un tuberculoso y el otro tenía una pleuritis infecciosa inespecífica. Ambos tenían cifras elevadas de CD8 soluble tanto en sangre periférica como en líquido pleural. Como se ha indicado en la parte general se ha descrito esta elevación en suero de sujetos HIV+ ¹¹⁸, mientras que no existen referencias del mismo hecho en exudados pleurales de pacientes portadores del virus. En el caso de la pleuritis inespecífica las tasas de CD8 solubles eran muy similares en líquido pleural y en sangre periférica mientras que en el tuberculoso los niveles eran mucho mas elevados en pleura que en suero. Siendo sólo unos casos aislados no se pueden sacar conclusiones pero se puede pensar, al igual que en el caso del empiema tuberculoso citado anteriormente en relación a la adenosindesaminasa, que el hecho de que en el exudado tuberculoso los CD8 se eleven mas es debido a que se juntan dos procesos, infección por HIV y tuberculosis, que cada uno por su parte tienden a elevarlo.

La presencia del caso HIV+ entre los tuberculosos hace naturalmente que surja una duda: ¿Los niveles elevados de CD8 soluble en el líquido pleural de este grupo etiológico serán un artefacto debido al sesgo introducido por la inclusión de este caso que tiene una cifra de mas de tres veces la media en tuberculosis?. Para responder a esta

pregunta se ha hecho la comparación entre las medias después de retirar el caso HIV+. La nueva media, lógicamente algo menor, de 471 unidades, sigue siendo significativamente diferente y con el mismo grado a la media del resto de las etiologías.

En sentido contrario, es decir una disminución artificial de la media, puede influir el caso del empiema tuberculoso, en el que al estar el líquido pleural casi exclusivamente constituido por polimorfonucleares, las tasas de CD8 soluble fueron indetectables. Haciendo la misma operación de exclusión de este caso la media de CD8 soluble en exudados tuberculosos se eleva ligeramente (559 unidades) y la diferencia con el resto de los grupos conserva el mismo grado de significación con $p < 0,01$.

El valorar el incremento de los niveles de CD8 solubles en líquido pleural como un marcador de la activación de los linfocitos citotóxicos-supresores está basado en la amplia literatura existente, parte de la cual ha sido citada, que le atribuye ese significado. Podría argumentarse que también podría ser reflejo simplemente del aumento del número de esos linfocitos en el medio y, sin duda, esta variable ha de influir pero ninguno de los autores que se han ocupado de la cuantificación de subpoblaciones linfocitarias en líquido pleural ha encontrado diferencias en porcentaje o cifras totales de linfocitos CD8 que pudieran explicar las

variaciones de moléculas CD8 solubles encontradas. Al contrario, incluso algunos investigadores citan una disminución de la cuantía de células CD8 en tuberculosis.

El que en los otros diferentes procesos no se haya apreciado una elevación de los CD8 solubles no descarta en absoluto que en ellos no se produzca en algún momento una activación de los linfocitos CD8 ya que esa activación puede ser fugaz y mas difícil de detectar que en las enfermedades en las que la activación es mas continua.

Al estudiar las correlaciones de CD8 solubles con otros parámetros se encuentran las siguientes: CD8 en líquido pleural con IFN en sangre en tuberculosis ($r=0,70$), con TNF en líquido pleural en trasudados ($r=0,58$), con ADA en líquido pleural ($r=0,63$) y en sangre ($r=0,57$) en pleuresías inespecíficas y con TNF en exudado ($r=0,68$) en empiemas, además de las correlaciones positivas antes citadas entre CD8 en sangre e IL-2R en sangre en tuberculosis y en neoplasias y CD8 en sangre y líquido pleural en tuberculosis, neoplasias y pleuritis inespecíficas.

En el estudio de la influencia de la reactividad tuberculínica sobre este parámetro encontramos, al igual que con la adenosindesaminasa y con los receptores solubles de IL-2 en líquido pleural una diferencia ($p<0,05$) entre los niveles de CD8 solubles en líquido pleural del conjunto de

los tuberculín positivos (427 unidades) y los del conjunto de los tuberculín negativos (245 unidades). Con el razonamiento aplicado a la evaluación de los otros parámetros podíamos preguntarnos si la diferencia era debida mas al hecho de que entre los reactivos a la tuberculina estaban practicamente todos los tuberculosos que a la circunstancia de la sensibilización linfocitaria a los antígenos micobacterianos, pero si comparamos las tasas de CD8 soluble en líquido pleural de los cánceres tuberculín positivos (302 u) y los cánceres tuberculín negativos (156 u) resulta una diferencia también significativa con $p < 0,05$.

Las moléculas CD8 solubles en sangre han mostrado unas diferencias significativas ($p < 0,001$) sólo entre las neoplasias y el resto de las etiologías (figura 23)

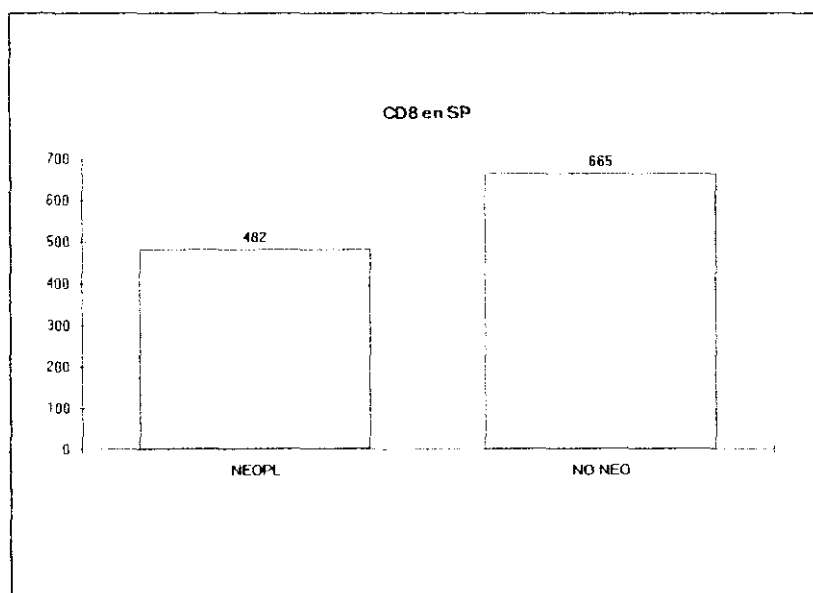


Figura 23

6.4.4. - INTERFERÓN GAMMA

Aquí los resultados son mucho mas llamativos sobre todo en líquido pleural (figura 24).

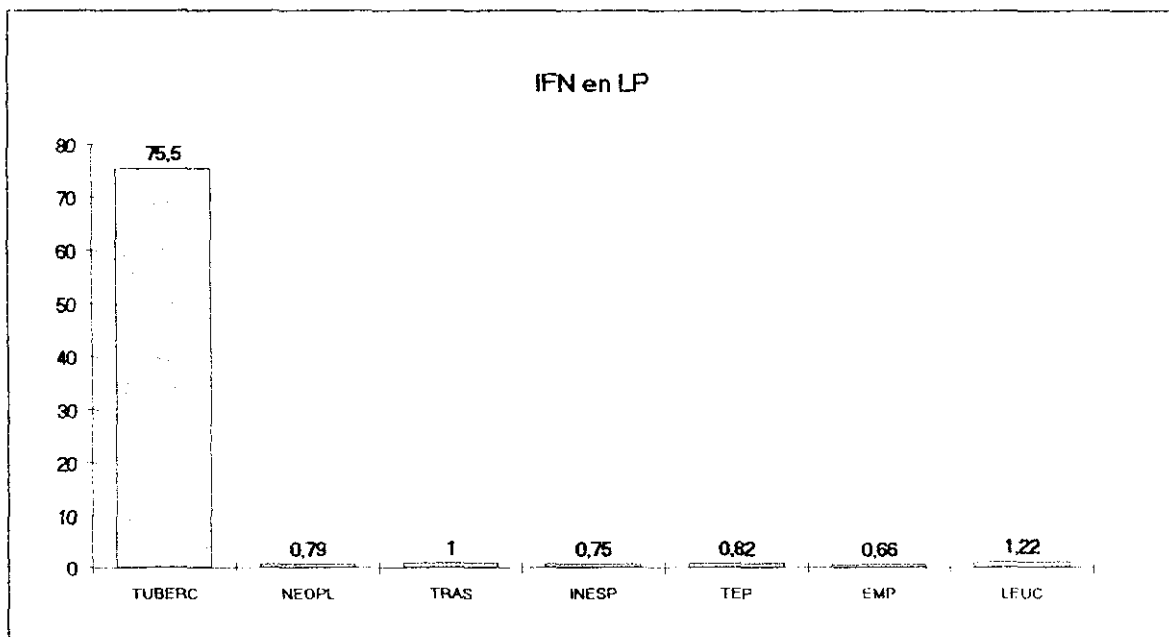


Figura 24

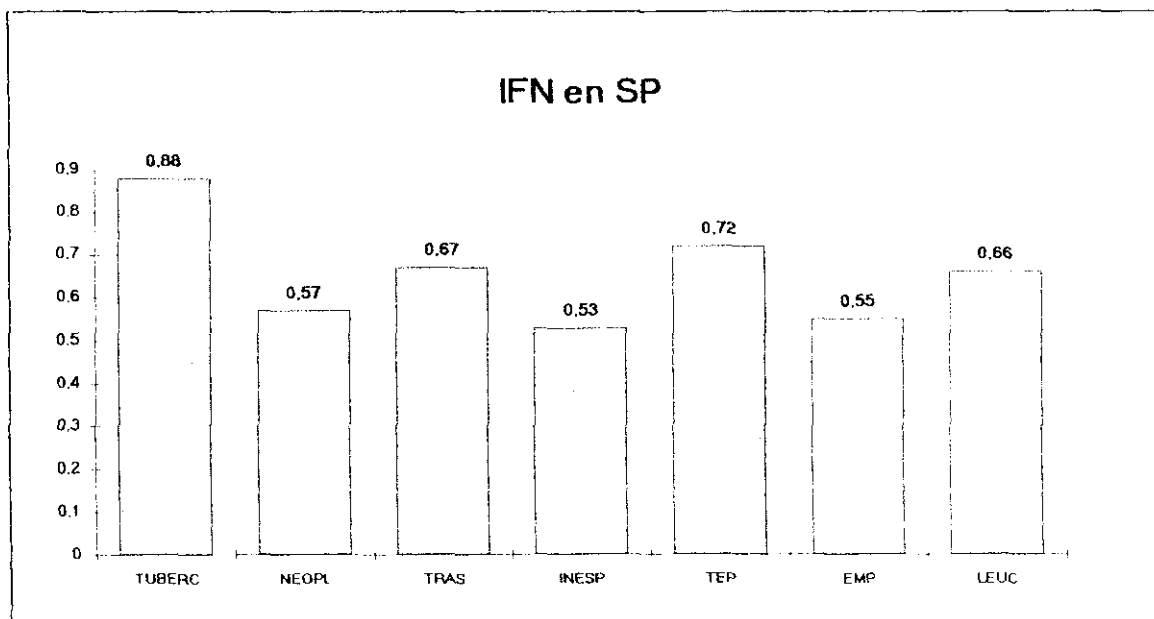


Figura 25

En sangre periférica las medias son mas uniformes aunque, como veremos, se observan algunas diferencias significativas (figura 25).

Destaca la constante y marcada elevación en líquido pleural tuberculoso, que resulta 85 veces mayor que la media del resto de las etiologías (Figura 26).

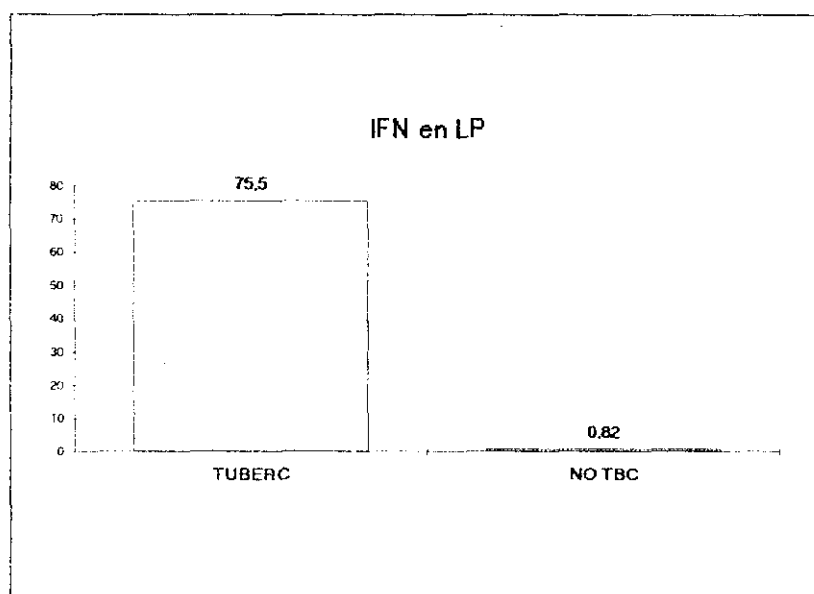


Figura 26

Estos resultados ya publicados en la literatura confirman el extraordinario valor de este parámetro para el diagnóstico de la tuberculosis, con las únicas consideraciones del inconveniente que representa la dificultad de la técnica y el precio. A este respecto hay que señalar que, restringiéndolo a aquellos casos de diagnóstico dudoso está perfectamente justificado su empleo

en la clínica. Siempre será menos costosa, tanto en estancia hospitalaria, como en riesgos, etc. la determinación de interferón que una prueba diagnóstica invasiva.

Sólo ante esto una reserva que viene dada por el caso reseñado (caso 5) si verdaderamente se tratara de un falso negativo, así como los dos casos del trabajo de Valdés considerados como falsos negativos. Estos dos casos parece que se trataban de derrames de muy pequeña cuantía a lo que el autor citado considera como una posible causa de la anomalía. En nuestros enfermos verdaderamente no había ninguno que se pudiera considerar derrame mínimo pero también aunque las diferencias no son significativas se ha encontrado una relación entre los niveles de IFN y la cuantía del derrame. Así en los clasificados como pequeños la media era de 62 unidades, en los medios de 75 y en los grandes derrames de 108.

En cuanto a los falsos positivos encontrados por Valdés y que se citan en la introducción nos ha interesado observar lo que ocurría en nuestros pacientes con diagnósticos similares. Todos tenían cifras por debajo de una unidad salvo uno (caso 70). Se trataba de una leucosis aguda no linfoide cuyos detalles se comentan al reseñar los procesos hematológicos malignos.

Sería muy interesante realizar nuevos estudios investigando el comportamiento del interferón en pleuritis tuberculosas de pacientes HIV+, si bién es verdad que los otros dos casos recogidos en esta tesis de enfermos portadores de anticuerpos anti-HIV dieron unas cifras elevadas de IFN. Puede estar justificado recoger un número adecuado de enfermos que nos permitan estudiar la influencia en este parámetro de la afectación inmunológica celular, de las cifras de CD4, etc.

Una consideración respecto al caso 107 diagnosticado de pleuritis inespecífica. Se trataba de un síndrome de Down y en esta enfermedad se ha descrito una deficiente producción de interferón tras el estímulo adecuado con mitógenos. Este paciente fué tuberculín positivo y por la edad y otras circunstancias se planteó la posibilidad de que se tratara de una pleuritis tuberculosa. El resto de las pruebas, la evolución, etc, descartaron este diagnóstico pero habrá que tener en cuenta la citada posibilidad de una incapacidad congénita para la producción de interferón en los casos en los que se den estas mismas circunstancias.

Entre los derrames no tuberculosos la comparación de las tasas de interferón con las del resto de las etiologías, retirando de este resto la tuberculosis, refleja unas

diferencias significativas en los empiemas: 0,66 unidades en empiemas vs 0,84 en el resto, con $p < 0,05$, lo que es expresión como en otros parámetros, del bajo contenido de linfocitos en estos líquidos (figura 27).

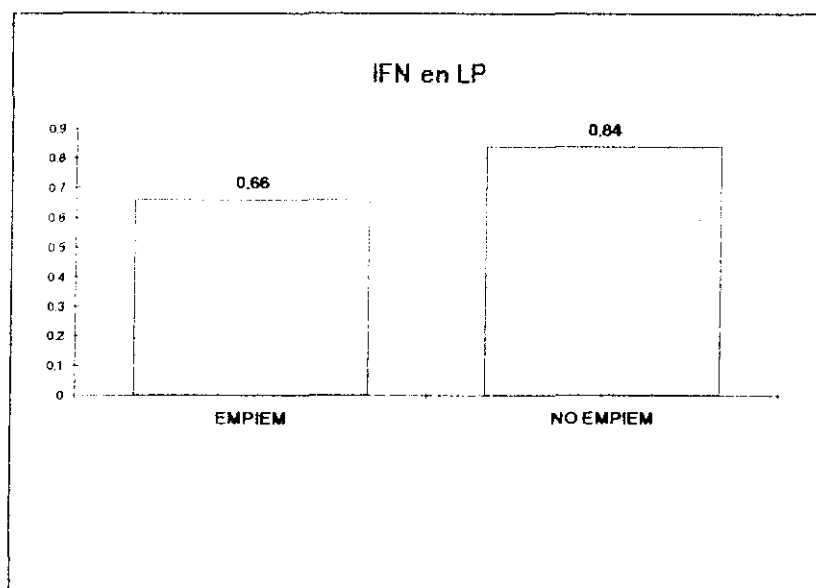


Figura 27

Resulta de un gran interés, al menos conceptual, el hallazgo de unas diferencias que son significativas entre las cifras de interferón en la sangre de los enfermos tuberculosos y en la del resto de las etiologías, siendo mayor en los pacientes tuberculosos aunque no con las diferencias encontradas en líquido pleural (figura 28). Las medias respectivas, de 0,88 unidades en tuberculosis y de 0,58 en el resto se consideran diferentes con una $p < 0,05$.

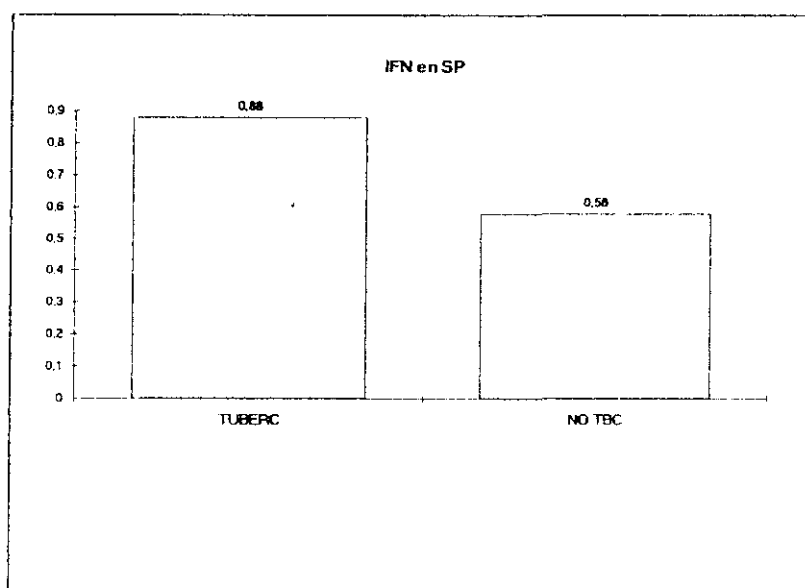


Figura 28

Obviamente esto no se puede considerar un dato de valor diagnóstico pero, si lo valoramos como la evidencia de un cierto estado de activación específica de los linfocitos sanguíneos, se presta a especulaciones sobre la recirculación de esta población linfocitaria y a cuestiones sobre el lugar donde estos linfocitos han encontrado al antígeno y han sufrido la activación, etc, cuestiones que tienen relevancia en las investigaciones que se llevan a cabo para encontrar una vacuna antituberculosa eficaz.

Menos explicable es la razón por la que se encuentra una diferencia significativa entre pleuresías inespecíficas y el resto, esta vez con tasas menores de interferón en las inespecíficas (figura 29).

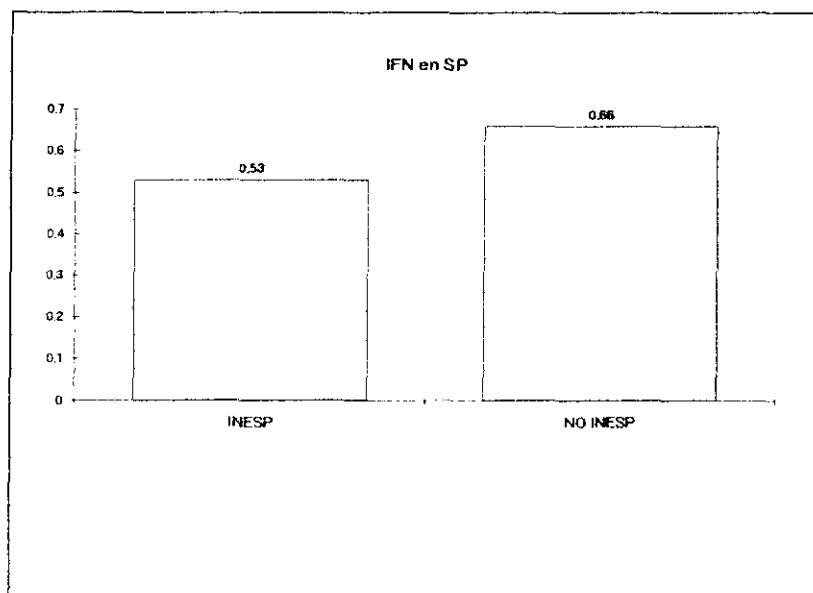


Figura 29

Además de las correlaciones citadas en otros momentos se ha encontrado una correlación positiva ($r=0,58$) entre IFN en sangre y LDH en sangre en empiemas y negativa entre IFN en líquido y proteínas en líquido ($r=0,62$) en trasudados.

Nos interesaban especialmente las posibles relaciones entre las tasas de interferón y el estado de activación específica antituberculosa de los linfocitos dada la demostrada extrema sensibilidad de este parámetro inmunológico en este sentido. Encontramos una clara diferencia, lógica y esperada, entre los niveles de interferón en líquido pleural del grupo de todos los tuberculin positivos (43 unidades) y una diferencia también significativa aunque menor ($p<0,01$) entre los respectivos

niveles en sangre de ambos grupos (0,74 y 0,50 unidades). No pudimos sin embargo encontrar diferencias significativas entre los niveles de interferón de los tuberculín positivos no tuberculosos respecto a los tuberculín negativos, asimismo no tuberculosos. Solamente en el grupo concreto de los procesos neoplásicos se hace evidente una diferencia calificada de casi significativa ($p < 0,1$) entre las concentraciones de IFN en líquido pleural de los positivos (0,87 unidades) respecto a los negativos (0,66 unidades)

6.4.5.-FACTOR DE NECROSIS TUMORAL.

Las medias se representan en las figuras 30 y 31.

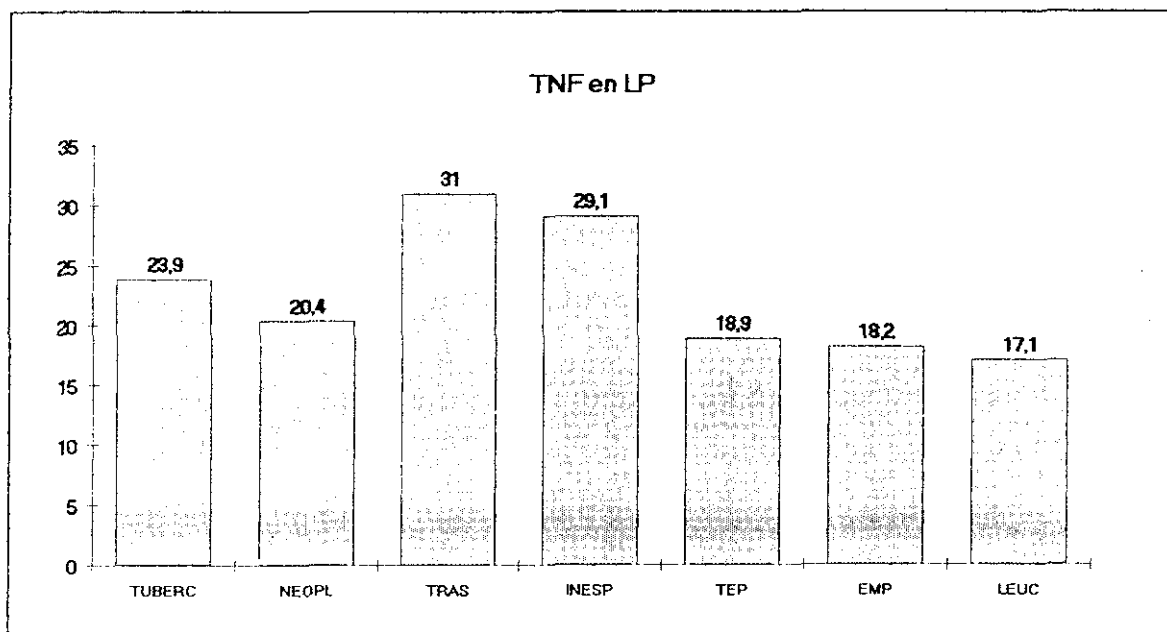


Figura 30

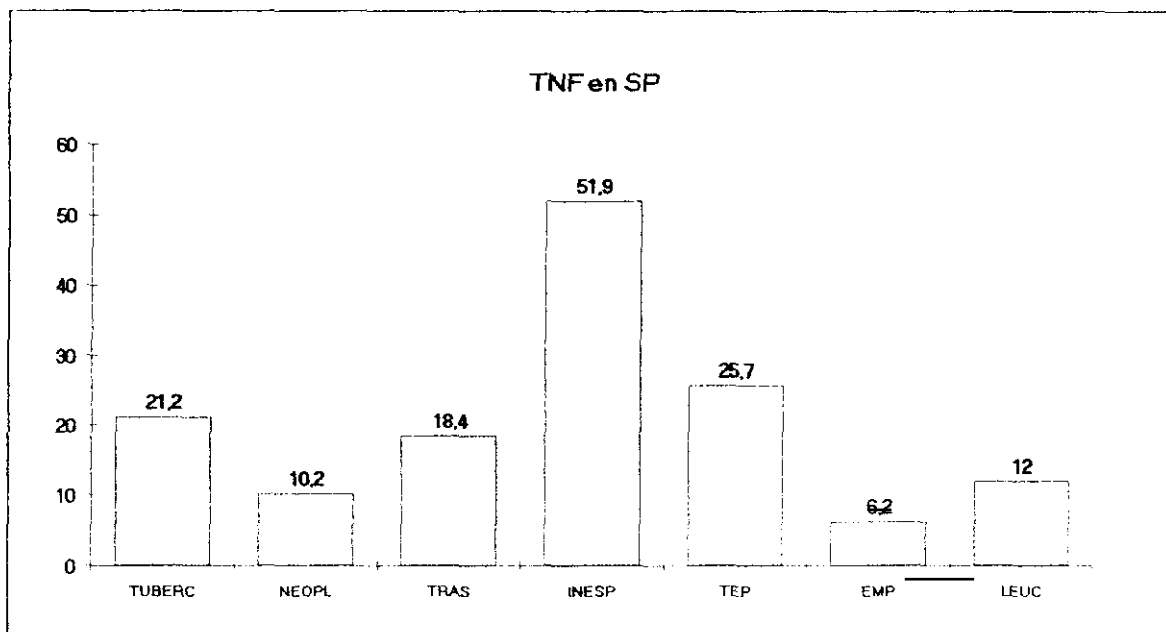


Figura 31

En lo que se refiere al TNF los resultados han sido mas bien decepcionantes, sobre todo teniendo en cuenta lo que hoy se conoce sobre la ubicuidad y las innumerables acciones de esta citoquina en casi cualquier fenómeno inflamatorio o inmunitario. No se han encontrado diferencias significativas en las tasas de esta citoquina en líquido pleural para ninguna etiología.

En sangre periférica sí se han observado diferencias con una $p < 0,05$ entre los bajos niveles de los enfermos con empiemas al compararlos con el resto de los grupos (figura 32).

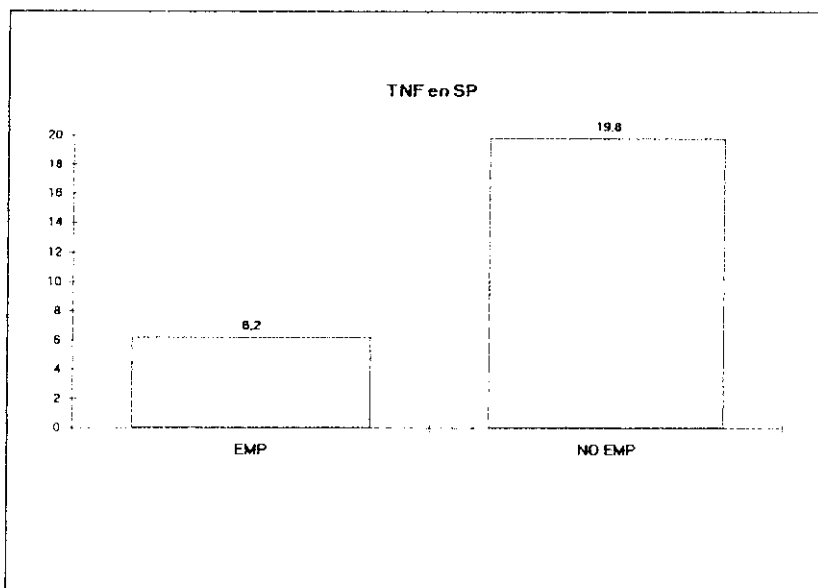


Figura 32

En cuanto a las correlaciones significativas ($p < 0,05$) las ya citadas entre TNF en exudado pleural y en sangre periférica en los pacientes con pleuresías inespecíficas ($r = 0,60$), en las leucosis ($r = 0,80$) y en los procesos neoformativos ($r = 0,69$). El TNF en líquido guarda una correlación negativa ($r = -0,53$) y en sangre periférica también una correlación negativa ($r = -0,55$) con el porcentaje de linfocitos en líquido pleural en las pleuresías inespecíficas y positiva con el pH en empiemas ($r = 0,60$). Además de éstas se han citado antes las correlaciones con CD8 en trasudados, con ADA y CD8 en empiemas, así como entre TNF en líquido y en sangre en neoplasias.

Posiblemente es debido a la extraordinaria cantidad de facetas y de actividades y a su implicación en todos los fenómenos de inmunidad celular por lo que resulta poco expresivo y rentable el estudio de este parámetro en un trabajo clínico de este tipo. Sólo hay que señalar para entenderlo la gran dispersión de valores encontrada en todas las etiologías con unas desviaciones estándar que en general eran mayores que las medias.

Uno de los aspectos en los que, al planificar el trabajo, teníamos interés era el de una hipotética relación entre el TNF y la evolución a la fibrosis pleural que con mayor o menor extensión tiene lugar en algunas pleuritis tuberculosas. En la clínica vemos que, en general, en aquellos enfermos en los que se ha hecho un drenaje adecuado y se ha realizado una fisioterapia correcta, a veces con el papel coadyuvante de un tratamiento esteroide (si bien éste es un punto discutido) no queda la secuela de una paquipleuritis apreciable pero existe algún caso en el que, a pesar de darse todas esas circunstancias favorables, la evolución es a la formación de un engrosamiento pleural que alguna vez obliga a una decorticación. Existen fundamentos teóricos para pensar que el TNF puede jugar algún papel en esos hechos.

Ya se ha comentado que el TNF tiene algunos efectos, al menos *in vitro*, sobre los fibroblastos, concretamente el atraerles quimiotacticamente y estimular o inhibir su crecimiento segun las circunstancias. Así a concentraciones bajas estimula su proliferación y a dosis mas altas bloquea el crecimiento inducido por suero o por otras citoquinas.

El que el efecto mitogénico del TNF sobre los fibroblastos en muchos casos sea débil puede ser resultado de la simultánea estimulación de la producción de IL-6 por los fibroblastos ya que esta citoquina es un inhibidor del crecimiento. De hecho cuando se cultivan fibroblastos con TNF y con anticuerpos anti IL-6 el efecto promotor del crecimiento del TNF puede ser apreciado de forma completa.

En modelos experimentales de fibrosis pulmonar producida por la instilación intratraqueal de sílice o de bleomicina¹⁸⁰ se observa un aumento del RNA mensajero del TNF durante los primeros días que aún es posible detectar varias semanas mas tarde. La inyección de anticuerpos anti-TNF disminuye la acumulación de hidroxiprolina en el pulmón e inhibe la formación de reacciones fibróticas. Si se administra una perfusión de TNF se potencia claramente la producción de fibrosis por estos agentes.

Estos resultados logicamente no indican que no haya otros mediadores de la fibrosis como tampoco por supuesto que la liberación local de TNF sea por si misma fibrogenética. El TNF posiblemente actúa de forma sinérgica con otras citoquinas fibrogenéticas pero la red de interacciones es tan compleja que no es fácil sacar conclusiones de experimentos en los que las condiciones creadas son forzosamente muy esquemáticas y bastante alejadas de las circunstancias de la clínica. En el caso del pulmón la liberación crónica de TNF puede estar asociada a algunas formas de fibrosis. El tema es conflictivo pues existen comunicaciones indicando que el TNF aumenta la síntesis de colágeno mientras otras argumentan que la suprime. En muchas de estas experiencias y quizá en la clínica el efecto fibrogenético puede ser indirecto a través de la inducción de daño alveolar, puesto que se ha visto en muchos casos rotura alveolar tras la administración de TNF alfa intravenoso¹⁷³

En el caso de la formación de tejido fibroso en la pleura un candidato como citoquina fibrogenética podría ser el TNF. Otras citoquinas como la IL-2 que también están presentes en los exudados pleurales y que se sabe que cuando se administran intraperitonealmente para el tratamiento de ciertos tumores provocan intensas reacciones fibrosas en esa

serosa, en cambio parece que no tienen el mismo efecto en pleura. El interferón gamma puede tener un papel un poco ambiguo. Si bien podría actuar precozmente en el curso de la enfermedad promoviendo la producción de citoquinas fibrogenéticas por los macrófagos, en un segundo momento podría inhibir la síntesis de colágeno.

Entre los tuberculosos estudiados sólo dos tuvieron una evolución tórpida, con aparición de fibrosis pleural que en uno de los casos obligó a practicar una decorticación. Esta evolución desfavorable parecía justificada al menos en parte porque uno de ellos había abandonado la terapéutica voluntariamente durante un periodo relativamente largo y el otro había sido diagnosticado tardíamente, tras llevar dos o tres meses de evolución. En el primero las cifras de TNF en líquido pleural eran de 6 pg/ml y en el segundo de 13 pg/ml es decir unas tasas por debajo de las medias para ambos.

Sólo un enfermo tuberculoso tenía un contenido de TNF alto (30pg/ml) y aunque naturalmente es aventurado intentar atribuir una relación a ambos hechos hay que señalar que este enfermo había sufrido una pérdida de peso de 15 kilos en 15 días, lo cual no es habitual en los pacientes con pleuritis tuberculosa.

Teníamos un cierto interés en comprobar si existían diferencias en el contenido en TNF del líquido pleural no sólo entre los procesos neoformativos y otras etiologías sino también entre las neoplasias pulmonares y extrapulmonares, pues existen datos en la literatura que indican que los macrófagos pleurales de los enfermos con cáncer pulmonar, incluso cuando la pleura no tiene metástasis apreciables, segregan cantidades aumentadas de factor de necrosis tumoral.

En este sentido Kimura¹⁷⁴ estudió los macrófagos de la cavidad pleural recogidos mediante lavado de la superficie de esta serosa durante intervenciones quirúrgicas de enfermos con cáncer de pulmón sin afectación macroscópica pleural y los comparó con los macrófagos de sangre periférica. Midió la citotoxicidad anti-tumor contra una línea de células de melanoma. Los macrófagos pleurales mostraron espontáneamente una alta citotoxicidad que fué dependiente de la relación efector/diana y fué claramente mayor que la mostrada por los macrófagos sanguíneos y, lo que tiene mas interés, los macrófagos pleurales produjeron mas TNF que los macrófagos de sangre periférica del mismo enfermo, indicando una correlación entre la citotoxicidad mediada por macrófagos y la producción de TNF.

Las experiencias anteriores ponen de manifiesto que el TNF puede jugar un papel en la defensa contra la invasión de la pleura por el cáncer pero ésto en los enfermos estudiados por nosotros no se refleja en cambios significativos de los niveles de esta citoquina en líquido pleural. La media de 20,4 picogramos es muy similar a la del conjunto de las demás etiologías y, como en la mayor parte de los grupos, la dispersión es grande con una desviación estándar mayor que la media. Los tres casos de nuestra serie con tasas de TNF mayores a dos desviaciones estándar sobre la media tienen en común que eran casos avanzados, con afectación metastática de otros órganos.

No se han apreciado diferencias significativas entre los niveles de TNF en líquido pleural de los enfermos con neoplasias de origen pulmonar o extrapulmonar. Tampoco, dentro de cada grupo etiológico se ha encontrado relación con variables clínicas como la fiebre, estado de nutrición, etc, ni con marcadores analíticos de actividad inflamatoria como la sedimentación, etc.

7.-RESUMEN

Nuestro interés en las enfermedades de la pleura tiene una serie de motivaciones: en primer lugar la insatisfacción que produce el hecho de que a pesar de todos los medios de diagnóstico que se poseen actualmente, continuen quedando en la práctica una serie de procesos pleurales a los que no se les puede catalogar con certeza. En la literatura reciente todavía se sigue citando una cifra del 20% de derrames pleurales que quedan sin diagnóstico¹⁷⁵ y aunque ese porcentaje actualmente con las técnicas analíticas e instrumentales mas recientes se haya reducido no cabe duda de que representa un reto intentar acercarnos al cien por cien de diagnósticos correctos, máxime en unos procesos que nos ofrecen como pocos la oportunidad de muestrear el "medio interno" del órgano afectado.

Esa misma facilidad de acceso representa una vía a través de la cual se puede intentar desentrañar algunas de las innumerables cuestiones que en la patogenia de las enfermedades inflamatorias, infecciosas, neoplásicas, inmunológicas, etc, que pueden afectar a la pleura, quedan por resolver. A este respecto siempre nos ha parecido que el líquido pleural se ha aprovechado poco y tardíamente.

Teniendo así un campo de la patología, el de las enfermedades pleurales, que aún representa para los clínicos un problema diagnóstico demasiado frecuente y con la posibilidad de disponer con gran facilidad de un medio biológico no exhaustivamente estudiado hasta ahora nos planteamos que aspecto de la biopatología del líquido pleural podría ofrecer mayor rentabilidad en un trabajo de investigación clínica.

En este sentido nos pareció que la inmunología podría aportar resultados de interés. Ante todo existe el hecho notable, sobre cuya significación no se ha insistido demasiado, de que prácticamente en todas las enfermedades pleurales, salvo los empiemas, la fórmula leucocitaria muestra un predominio neto de los principales vectores de la inmunidad celular, es decir de los linfocitos. Y ésto es así tanto en enfermedades de las que conocemos la relevancia en su patogenia de los mecanismos de inmunidad celular como ocurre en la tuberculosis como en otros procesos como las neoplasias en las que el protagonismo de esta faceta de la inmunidad no es tan notorio. Pero mas aún, en los derrames de estasis también predominan estos elementos celulares tan característicamente inmunológicos.

Por otra parte recientemente hemos podido disponer en los laboratorios clínicos de la posibilidad de dosificar una serie de citoquinas, de mediadores y de marcadores inmunológicos hasta ahora poco o nada investigados en el líquido pleural.

De la amplia lista de estas sustancias que, en teoría, se pueden estudiar en el líquido pleural se han escogido los cuatro parámetros que nos parecía que mejor podían responder a las cuestiones planteadas en la hipótesis, sobre todo a los tres puntos concretos citados.

En la primera parte del trabajo, a través de una amplia revisión de la literatura se intenta mostrar que las poblaciones celulares de los exudados pleurales en las diferentes etiologías no son unos simples residentes pasivos sino que, jugando un papel patogénico muchas veces importante, tendrían mucho que decir, si les supiéramos interrogar adecuadamente.

Se han expuesto también en esta parte aquellos datos que nos sirven para poner en evidencia el hecho de que, aunque existen diferencias cuantitativas en las subpoblaciones linfocitarias pleurales en las distintas etiologías, estas diferencias puramente numéricas ni son suficientes para que tengan valor diagnóstico ni por si

mismas nos explican las diferencias que, en los parámetros inmunológicos estudiados, encontramos tanto entre los diferentes procesos como entre líquido pleural y sangre periférica.

Se han recogido alrededor de 3000 datos analíticos en el conjunto de enfermos estudiado, datos que se han tratado estadísticamente y se han relacionado con diferentes variables clínicas o biológicas permitiéndonos, si no unas conclusiones definitivas, si una aproximación al perfil del líquido pleural para cada etiología en cuanto a los parámetros inmunológicos considerados.

En general aquellas sustancias que se han dosificado en líquido pleural y en sangre muestran un comportamiento similar en prácticamente todas las etiologías en cuanto a su proporción en los dos medios. Entre los parámetros analíticos convencionales sólo la LDH se encuentra a concentración superior en pleura que en sangre, mientras que entre los parámetros inmunológicos todos salvo los CD8 solubles existen en mayor concentración en líquido pleural.

Los líquidos que, por su mecanismo de producción y por su composición celular, habría que esperar que poseyeran un perfil analítico-inmunológico mas diferenciado son los empiemas y los trasudados. En los primeros los hallazgos están por lo general de acuerdo con lo que se debería

esperar, encontrándose tasas bajas de los productos de origen linfocitario, sobre todo los CD8 solubles. En los trasudados esperábamos encontrar unas cifras mas bajas y mas homogéneas de estos parámetros acorde a la teórica ausencia de fenómenos inflamatorios en su producción. En este grupo las medias de adenosindesaminasa y de IL-2R eran efectivamente algo mas bajas que en el resto mientras que en los CD8 solubles no había diferencias, pero sobre todo es a destacar que en algunos de estos parámetros se apreciaban desviaciones relativamente importantes indicando que posiblemente algunos de los líquidos pleurales, aunque fueran de génesis mecánica, recibían la influencia de cualquier proceso inflamatorio simultáneo. Esta sensibilidad de la pleura indudablemente tiene ventajas pues es la que nos ha permitido apreciar alteraciones que en sangre son mas dificilmente detectables pero por otro lado nos han dificultado la consideración de los hidrotórax como una aproximación al líquido pleural normal.

Los derrames tuberculosos presentan desde el punto de vista de la analítica convencional un perfil mas bien anodino pero, por el contrario, en lo que se refiere a los parámetros inmunológicos constituyen el grupo etiológico con mayor personalidad. Algunos de los datos como las altas tasas de interferón en el fluido pleural ya se habían descrito. Otros representan una aportación inédita.

Esta enfermedad, la tuberculosis, representa un reto especial. Posiblemente sea uno de los procesos "no inmunológicos" de mas interés para la Inmunología. Quizá pueda parecer una exageración la afirmación de que casi todo en la patogenia de la tuberculosis es inmunología. De hecho los tratados de Inmunología Clínica, incluso los de Inmunología Clínica Neumológica como el de Turner-Warwick¹⁷⁶, el de Biennestock¹³ o el de Molina¹⁷⁷ no dedican ningún capítulo a la tuberculosis y si la mencionan es sólo de pasada generalmente poniéndola como ejemplo de hipersensibilidad retardada. Esto contrasta con el enorme interés actual que los investigadores inmunólogos muestran por las peculiaridades inmunológicas de la tuberculosis, hasta el punto de haber hecho afirmar a un autor (Hart) que si el bacilo de Koch desapareciera de la faz de la Tierra habría que reinventarle, tal es su importancia como herramienta de trabajo en la investigación inmunológica.

Los investigadores siguen interesados por la inmunología de la tuberculosis debido a la necesidad de elaborar una vacuna que pueda aliviar este grave problema sanitario mundial. El Centro para el Control de las Enfermedades de Estados Unidos y la American Lung Association han publicado recientemente directrices^{178, 179} recomendando intensificar los esfuerzos de investigación

para comprender los mecanismos de la inmunidad protectora contra las micobacterias y así favorecer el desarrollo de una vacuna efectiva. Se tiene la idea ante el creciente y reciente aumento de la morbilidad tuberculosa en muchos países y la desilusión en las expectativas de erradicación que lo mas viable para conseguir esta erradicación será el empleo de una vacuna realmente eficaz y que duda tiene que para el logro de dicha vacuna es de extraordinaria importancia cualquier aportación en el terreno de la inmunología de esta enfermedad.

Otro motivo del creciente interés en los mecanismos inmunológicos implicados en la patogenia de la tuberculosis se debe a que hace tiempo que se tiene la sensación de que al clásico esquema basado en el macrófago parasitado y estimulado por los CD4 le falta "algo". En el medio artificioso de laboratorio no hay duda de que las cosas funcionan: Los macrófagos peritoneales murinos, por ejemplo, ejercen una clara inhibición del crecimiento de las micobacterias tuberculosas cuando al medio se añaden células T cultivadas procedentes de ganglios de ratones inmunizados, sus productos de secreción o directamente el interferón gamma. Las dificultades surgen cuando se quieren extrapolar los resultados del laboratorio a lo que puede suceder *in vivo*. Por ejemplo el hecho de que *in vitro* se produzca sobre

todo estasis de los bacilos y no lisis suscita muchas reflexiones.

Gran parte de las dudas que persisten sobre muchos aspectos de la infección tuberculosa humana se deben a que en el hombre las cosas suceden en muchas maneras de forma diferente a como tienen lugar en los ratones. Los monocitos normales en ausencia de un estímulo activador poseen un efecto inhibitorio débil y variable que es abolido por los esteroides. La adición de IFN o de otras linfoquinas ocasiona una inhibición adicional de pequeña cuantía. Un mayor efecto tiene lugar con la adición del metabolito activo de la vitamina D3 (calcitriol). Las diferencias encontradas entre el comportamiento de las células humanas y las murinas plantea la duda de si se ha usado el macrófago adecuado en estos experimentos. En el ratón se ha utilizado fundamentalmente el de peritoneo que se muestra muy activo en estos estudios y parece que también el de médula ósea se muestra efectivo. Los estudios referentes al ser humano se han realizados sobre todo con macrófagos alveolares y no parece que se hayan utilizado los de médula ni los de peritoneo.

Aparte de que las diferencias entre los datos experimentales y lo que sucede en la infección real humana

se expliquen en cierta medida por esas diferencias metodológicas se plantea la posibilidad de que existan mecanismos protectores no dependientes de los macrófagos y por ejemplo se ha especulado sobre el posible papel de los polimorfonucleares. Estos predominan en los primeros estadios, lo cual es evidente cuando se estudia secuencialmente la fórmula leucocitaria de los derrames pleurales tuberculosos pero no se ha insistido demasiado en la posibilidad de que tuvieran un papel importante. Sin embargo es posible que en infecciones subclínicas de las que desconocemos la histología los microorganismos puedan ser controlados sin necesidad de la intervención decisiva de los macrófagos. Los leucocitos polimorfonucleares normales de la sangre no tienen ninguna actividad inhibitoria apreciable pero no se puede negar la posibilidad de que sí la tengan en el caso de ser activados por linfoquinas. Otro mecanismo de defensa extra-macrofágico podría ser a través de un efecto directo de los productos de los linfocitos. La literatura clásica menciona muchas veces la existencia en el suero de actividades inhibitorias y aunque tradicionalmente se ha pensado sobre todo en una disminución de la disponibilidad de hierro por los gérmenes, podrían estar también implicados otros mecanismos.

Los resultados obtenidos en este trabajo en lo que se refiere a la tuberculosis ofrecen un gran interés. Las altas concentraciones de receptores solubles de IL-2 y, sobre todo, de interferón gamma en líquido pleural nos muestran lo extraordinariamente activos que se muestran los linfocitos CD4+ en la defensa contra las micobacterias. Pero el protagonismo de esta subpoblación linfocitaria era ya ampliamente reconocido. El hallazgo, del que no hemos encontrado referencias en la literatura, de unas cifras significativamente elevadas de CD8 solubles en estos exudados va en apoyo de que también la subpoblación linfocitaria citotóxica-supresora juega un papel en la patogénesis de la enfermedad. Es probable que la tarea concreta de estas células consista en la lisis de aquellos macrófagos parasitados por las micobacterias que no dispongan de la necesaria capacidad bactericida. La lisis de estos macrófagos impide que sean utilizados por los bacilos como un nicho donde evadir las defensas y posibilita la actuación de otros macrófagos mas eficientes.

El hecho de que en las pleuresías tuberculosas la determinación de marcadores inmunitarios en líquido pleural haya resultado tan rentable sugiere una reflexión: Algunos autores han justificado su interés por los aspectos inmunológicos de la pleura por haberles llamado la atención

el hecho de que muchas veces las pleuresías tuberculosas tienen tendencia a la limitación y realmente antes de que existieran tratamientos antituberculosos eficaces en bastantes ocasiones curaban espontaneamente; bien es verdad que con mas o menos secuelas pero, en todo caso, con mayor frecuencia que lo hacía la tuberculosis pulmonar. Eso les ha hecho pensar que en las pleuritis tuberculosas se ponen en marcha potentes mecanismos inmunológicos. Sin dudar de la eficacia de esos mecanismos de defensa pienso que en realidad la diferencia radica en que en la pleuritis tuberculosa la lesión inicial, el afecto primario, verdaderamente es pequeño, quizá como el de algunas primoinfecciones de las que no dan lugar a enfermedad clínica y es el gran potencial exudativo de la pleura el que hace tan aparatosa a esta primoinfección. Es decir la enfermedad en realidad es leve desde el punto de vista del *quantum* de infección y del tamaño e importancia lesional y es esta capacidad de amplificación de la pleura la que nos da una visión desproporcionada de la virulencia de la agresión.

Los derrames neoplásicos se han mostrado claramente menos expresivos que los tuberculosos. Del análisis de los datos recogidos se deduce que hay manifestaciones de activación linfocitaria en estos procesos pero posiblemente

el grupo es demasiado heterogéneo para que sea fácil sacar conclusiones.

En relación a los casos clasificados como trasudados la primera consideración que hay que hacer es que, a la vista de los resultados, es obvio que a pesar de que los casos cumplían los criterios establecidos de forma general para ser clasificados como tales y que clínicamente el cuadro era compatible, no podemos considerar a todos ellos como "neutros" desde el punto de vista inmunológico y por lo tanto no nos podemos referir a ellos como controles. Como se ha indicado antes pocas veces tenemos en la clínica la ocasión para hacer una toracocentesis con finalidad terapéutica o diagnóstica a un enfermo con un derrame puramente mecánico, un cardíaco por ejemplo, sin una complicación infecciosa u otra. Entre nuestros dieciocho pacientes con hidrotórax diez tenían insuficiencia cardíaca y sus derrames deberían ser los mas neutros del grupo pero algunos de ellos padecían otro proceso además de su cardiopatía y la mayor parte tenían al menos la velocidad de sedimentación elevada lo cual podía indicar la presencia de algún proceso infeccioso o inflamatorio concomitante.

En la primera parte de este trabajo se han citado los estudios que se han hecho (bien es verdad que muy escasos) sobre la fórmula celular del fluido pleural normal y

conviene resaltar la alta proporción de monocitos y de macrófagos que se ha descrito en estos líquidos en su estado fisiológico, mientras que las cifras de linfocitos son muy escasas, dato que estaría en contradicción con lo encontrado en los líquidos que asumimos que son mas parecidos a los normales en la patología humana, es decir en los trasudados de origen mecánico.

Esto plantea el problema, en relación con el tráfico linfocitario, de los motivos que puedan existir para que en estos trasudados, en los que en teoría no hay implicado ningún mecanismo inflamatorio ni inmunológico, etc, los linfocitos sean las células predominantes. En estos trasudados al ser el número de células totales similar al del líquido normal lo que ocurre es que los linfocitos están en mayor cuantía absoluta, con una disminución concomitante de los monocitos. Sería muy conveniente actualizar, con los medios de que se dispone actualmente, la identificación del fenotipo de las poblaciones celulares normales del espacio pleural. Si se confirmaran las diferencias entre el fluido pleural normal y los trasudados de origen mecánico se plantearía una serie de interrogantes en relación a los conceptos de recirculación y compartimentalización linfocitarias.

CONCLUSIONES

1- Las moléculas CD8 solubles se encuentran en concentración significativamente mas elevada en el líquido pleural tuberculoso que en el resto de las etiologías consideradas. Esto indica una participación activa de la subpoblación linfocitaria CD8+ en la patogenia de la infección tuberculosa. Esta afirmacion no conlleva que sea la poblacion citotóxica la implicada. Podrían serlo las células supresoras ya que el procedimiento empleado no distingue entre ambas subpoblaciones. Creemos que aunque esta participación no sea muy llamativa el haberla estudiado en líquido pleural con su capacidad de magnificar los fenómenos es los que nos ha permitido detectarla.

2- Se ha detectado asimismo una elevación de las moléculas CD8 solubles en sangre periférica, con una diferencia con el resto que con una $p < 0,1$ resulta sugestiva pero no claramente significativa. En todo caso este dato justifica profundizar la investigación estudiando esta molécula en el suero de casos de tuberculosis mas graves o mas extensos que la pleuritis tuberculosa.

3- Además del hecho ya conocido del aumento del interferón gamma en el exudado pleural tuberculoso, se aprecia un incremento de esta citoquina en el suero de los

enfermos con diferencia estadísticamente significativa en relación al resto de los grupos. Si bien este dato obviamente carece del valor diagnóstico que tiene en el líquido pleural, posee un innegable interés teórico para profundizar en el entendimiento de la patogenia de la enfermedad.

4- Se encuentran niveles claramente elevados de receptores solubles de IL-2 en los derrames tuberculosos lo que indica la acumulación y la proliferación de células T activadas por productos de las micobacterias en el sitio de la enfermedad. Se considera que la responsable de este aumento es fundamentalmente la subpoblación CD4+ pero es posible que otros elementos celulares como los macrófagos y los linfocitos CD8+ puedan también contribuir.

5- No hemos detectado un aumento significativo de las tasas de receptores solubles de IL-2 en la sangre periférica de los enfermos con pleuritis tuberculosa. Esta ausencia de variación significativa en un parámetro que, en principio, debe representar un marcador tan eficaz de la activación de los linfocitos T contrasta con la sensibilidad demostrada por el interferón.

6- No se ha podido apreciar correlación entre las tasas de IL-2R solubles e interferón en el líquido pleural tuberculoso a pesar de que ambos se considera que están producidos por los mismos elementos celulares, cuando son sometidos al mismo estímulo. En el supuesto de que una parte de los IL-2R solubles estuvieran originados por los linfocitos CD8+ o por los macrófagos esta falta de correlación estaría mas justificada.

7- A pesar del indudable papel que el TNF juega en la patogenia de la tuberculosis ésto no se ve reflejado en cambios detectables de esta citoquina en el líquido pleural ni por supuesto en sangre periférica. Es llamativa esta falta de capacidad para apreciar cambios significativos en el caso del TNF siendo así que otros marcadores como el interferón gamma y los receptores solubles de IL-2 (y según lo mostrado en esta tesis los CD8 solubles) se han manifestado tan rentables en la investigación. Posiblemente es debido a la extraordinaria ubicuidad del TNF, la multitud de factores que influyen en él y sobre los que influye, su omnipresencia en tantos mecanismos inflamatorios, inmunológicos, metabólicos, etc por lo que no somos capaces de apreciar variaciones consistentes.

8- Se ha comprobado en los derrames pleurales metastáticos un aumento de las tasas de IL2R con una diferencia significativa ($p < 0,05$) respecto al resto de las etiologías salvo la tuberculosis, lo que sugiere un estado de activación linfocitaria en la defensa antitumoral pero al no ser esta linfoquina de producción tan exclusivamente linfocitaria como el interferón por ejemplo no tenemos argumentos para descartar que el aumento de IL-2R sea reflejo de la activación de otros elementos celulares.

9- A pesar de que tenemos datos proporcionados por la literatura de indicios según lo mostrado en esta tesis de la activación de los linfocitos T en las neoplasias esta activación no se refleja en cambios en las tasas del interferón ni en sangre ni en líquido pleural, abundando en la gran especificidad de esta citoquina en relación a la infección micobacteriana.

10- Aunque el análisis individualizado de los casos hace sospechar en muchas ocasiones una relación entre alguno de los parámetros inmunológicos y ciertas variables clínicas o analíticas convencionales no se han podido demostrar correlaciones que sean estadísticamente significativas.

BIBLIOGRAFIA

- 1- AGOSTONI, E.: Mechanics of the pleural space. In: *Handbook of Physiology. The Respiratory System III*. Edit. by Fishman, A. P. Bethesda, Maryland, USA, 1985.
- 2- WANG, N.S.: The preformed stomas connecting the pleural cavity and the lymphatics in the parietal pleura. *Am. Rev. Respir. Dis.* 111: 12-20, 1975.
- 3- NEERGARD, K, von, Zur Frage des Druckes im Pleuraspalt. *Beitr. Klin. Erforsch. Tuberk. Lungenkr.* 65: 476-485, 1927
- 4- RICHTER, C. P.: The physiology and cytology of pulmonary edema and pleural effusion produced in rats by alpha-naphthyl thiourea. *J. Thorac. Surg.* 23: 66-91, 1952.
- 5- MILLER, K. S., HARLEY, R. A., SAHN, S. A.: Pleural effusions associated with ethchlorvynol lung injury result from visceral pleural leak. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140: 764-70, 1989.
- 6- WIENER-KRONISH, J. P., BROADDUS, V. C., ALBERTINE, K. H. et al: Relationship of pleural effusions to increased permeability pulmonary edema in anesthetized sheep. *J. Clin. Invest.* 82: 1422-29, 1988.
- 7- WIENER-KRONISH, J. P., ALBERTINE, K. H., LICKO, V. et al: Protein egress and entry rates in pleural fluid and plasma in sheep. *J. Appl. Physiol.* 56: 459-63, 1984.
- 8- BROADDUS, V. C., ARAYA, M.: Liquid and protein dynamics using a new minimally invasive pleural catheter in rabbits. *J. Appl. Physiol.* 72: 851-57, 1992.
- 9- MINIATI, M., PARKER, J. C., PISTOLESI, M. et al: Reabsorption kinetics of albumin from the pleural space of dogs. *Amer. J. Physiol.* 255:H375-85, 1988.
- 10- NEGRINI, D., PISTOLESI, M., MINIATI, M. et al: Regional protein absorption rates from the pleural cavity in dogs. *J. Appl. Physiol.* 58: 2062-67, 1985.
- 11- STAUFFER, J. L., POTTS, D. E., SAHN S. A.: Cellular content of the rabbit pleural space. *Acta Cytol.* 22: 570-574, 1978.
- 12- MISEROCCHI, G., AGOSTONI, E.: Contents of the pleural space. *J. Appl. Physiol.* 30: 208-213, 1971.

- 13- BIENESTOCK, J. *Immunology of the Lung and Upper Respiratory Tract*. McGraw-Hill Book Co., New York, 1984: Preface, pag. XIV.
- 14- YAM, L. T.: Diagnostic significance of lymphocytes in pleural effusions. *Ann. Intern. Med.* 66: 972-982, 1967.
- 15- LOPES CARDOZO, E., HARTING, M. C.: On the function of lymphocytes in malignant effusions. *Acta Cytologica.* 16: 307-313, 1972.
- 16- DJEU, J. L., MAC COY, G. B., REEVES, W. J. et al.: Lymphocytes forming rosettes with sheep erythrocytes in metastatic pleural effusions. *J. Natl. Cancer Inst.* 56: 1051-1052, 1976.
- 17- PETTERSSON, T., KLOCKARS, M. HELLSTRÖM, P. et al.: T and B Lymphocytes in pleural effusions. *Chest.* 73: 49-51, 1978.
- 18- CATANZARO, A., BARKER, A. F.: Immunocompetence of pleural fluid lymphocytes. *Clin. Res.* 24: 326A, 1976
- 19- MICHALEVICZ, R.: Predominance of T cells in pleural fluid of a patient with systemic lupus erythematosus. *New Engl. J. Med.* 296: 51-52, 1977
- 20- MOISAN, T., CHANDRASEKHAR, A. J., ROBINSON, J. et al.: Distribution of lymphocyte subpopulations in patients with exudative pleural effusions. *Am. Rev. Respir. Dis.* 117: 507-511, 1978.
- 21- BOUSQUET, J., CLOT, J., ANDRAY, M. et al.: Sous-populations lymphocytaires au cours des pleurésies séro-fibrineuses. *Rev. Fr. Mal. Resp.* 6: 666-667, 1978.
- 22- DOMAGALA, W., EMESON, E. E., KOSS, L. G.: Distribution of T-lymphocytes and B-lymphocytes in peripheral blood and effusions of patients with cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 61: 295-300, 1978.
- 23- JAKUBUSEK-PRZYLIPIAK, M., JANICKA, G., ZAGORECCKA, A. ET AL.: Leucocyte migration inhibition and rosette tests in pleural effusion. *Eur. J. Respir. Dis.* 61: 67-70, 1980.
- 24- POTRYCUS, A. M., STEINMANN, G., STEIN, E. et al.: T and B-cell responses in patients with malignant pleural effusions. *Br. J. Cancer.* 43: 471-477, 1981.
- 25- FALÇAO, R. P., BOTTURA, C.: A comparative study of lymphocytes in effusions of patients with tuberculosis or malignant disease. *Clin. Exp. Immunol.* 45: 201-204, 1981.

- 26- FUJIVARA, H., OKUDA, Y., FUKUKAWA, T. et al.: *In vitro* tuberculin reactivity of lymphocytes from patients with tuberculous pleurisy. *Infection and immunity*. 35: 402-409, 1982.
- 27- REINHERZ, E. L., KUNG, P. C. GOLDSTEIN, G. et al.: A monoclonal antibody reactive with the human cytotoxic/suppressor T cell subset previously defined by a heteroantiserum termed TH₂. *J. Immunol.* 124: 1301- 1305, 1980.
- 28- BERGROTH, V., KONTTINEN, Y. T. NORDSTRÖM, D. et al.: Lymphocyte subpopulations, activation phenotypes and spontaneous proliferation in tuberculous pleural effusions. *Chest* 91: 338-341, 1987.
- 29- LUCIVERO, G., PIERUCCI, G., BONOMO, L.: Lymphocyte subsets in peripheral blood and pleural fluid. *Euro. Respir. J.* 1: 337-340, 1988.
- 30- RIBERA, E., OCAÑA, I., MARTINEZ-VAZQUEZ, J. M. et al. High level of interferon gamma in tuberculous pleural effusion. *Chest* 93: 308-311, 1988.
- 31- BERTHIER, A., BERNARD, J., BARTA, M. et al.: T lymphocytes du sang circulante et du liquide pleural chez des patients atteints de tuberculose évolutive ou de cancer. *Rev. Mal. Resp.* 6: 343-347, 1989.
- 32- GUZMAN, J., BROSS, K. J., COSTABEL, U.: Malignant pleural effusions due to small cell carcinoma of the lung. *Acta cytol.* 34:497-501, 1990.
- 33- AKOUN, G. M., MILLERON, B. J., BADARO, D. M. et al.: Pleural T-Lymphocyte subsets in amiodarone-associated pleuropneumonitis. *Chest* 95: 596-597, 1989.
- 34- GUZMAN, J., BROSS, K. J., WÜRTEMBERGER, G. et al: Immunocytology in malignant pleural mesothelioma. *Chest* 95: 590-595, 1989.
- 35- FLAMMANG, M. P., MILLERON, B. J., AKOUN, G. M.: Pleural, alveolar and blood T-lymphocyte subsets in pleuropulmonary sarcoidosis. *Chest* 98: 782-783, 1990.
- 36- BARNES, P. F., MISTRY, S. D., COOPER, C. L. et al.: Compartmentalization of a CD4+ T lymphocyte subpopulation in tuberculous pleuritis. *J. Immunol.* 142: 1114-1119, 1989.
- 37- ALBERA, C., MABRITTO, I., SCAGLIOTTI, G. V. et al.: Lymphocyte subpopulations analysis in pleural fluid and peripheral blood in patients with lymphocytic pleural effusions. *Respiration* 58: 65-71, 1991.

- 38- KOSTER, F. T., MCGREGOR, D. D., MACKANESS, G. B.: The mediator of cellular immunity. *J. Exp. Med.* 133: 400-409, 1971.
- 39- POUJOLET, N. KREMPF, JOVER, A.: Différence de réactivité a la PHA et a la tuberculine des lymphocytes des épanchements pleuraux tuberculeux et neoplasiques: *Annales d'Immunologie* 126: 368, 1975.
- 40- PETTERSSON, T., KLOCKARS, M., RISKÅ, H.: PHA and PPD reactivity of lymphocytes in pleural effusions. *Chest* 80: 44-47, 1981.
- 41- OKUBO, Y., KUSAMA, S., YANO, A.: PPD-specific proliferative response in humans. *Microbiol. Immunol.* 26: 511-521, 1982.
- 42- WIDSTROM, O., NILSSON, B. S.: Pleurisy induced by intrapleural BCG in immunized guinea pigs. *Eur. J. Respir. Dis.* 63: 425-434, 1982.
- 43- ELLNER, J. J.: Pleural fluid and peripheral blood lymphocyte function in tuberculosis. *Annals Intern. Med.* 89: 932-922, 1978.
- 44- FUJIWARA, H., TSUYUGUCHI, I.: Frequency of tuberculin-reactive T-lymphocytes in pleural fluid and blood from patients with tuberculous pleurisy. *Chest* 89: 530-532, 1986.
- 45- RIBERA, E., OCAÑA, I., ESPAÑOL, T.: Respuesta linfocitaria a mitógenos y antígenos en las pleuritis. *Med. Clin (Barc).* 91: 131-134, 1988.
- 46- UCHIDA, A., MICKSCHE, M.: Autologous mixed lymphocyte reaction in the peripheral blood and pleural effusions of cancer patients. *J. Clin. Invest.* 70: 98-104, 1982.
- 47- BADGER, A. M., COOPERBAND, S. R., MERLUZZI, V. J. et al.: Immunosuppressive activity of ascitic fluid from patients with cancer metastatic to the peritoneum. *Cancer Research* 37: 1220-1226, 1977.
- 48- UCHIDA, A., MICKSCHE, M.: Lysis of fresh human tumor cells by autologous large granular lymphocytes from peripheral blood and pleural effusions. *Int. J. Cancer.* 32: 37-44, 1983.
- 49- VANKY, F., VOSE, B. M., FOPP, M. et al: Human tumor-lymphocyte interaction *in vitro*. Specificity of primary and secondary autologous lymphocyte mediated cytotoxicity. *J. Nat. Cancer Inst.* 62: 1407-14013, 1979.

- 50- VANKY, F., KLEIN, E.: Specificity of auto-tumor cytotoxicity exerted by fresh activated and propagated human T lymphocytes. *Int. J. Cancer*. 29: 547-553, 1982a.
- 51- VOSE, B. M.: Specific T-cell-mediated killing of autologous lung tumor cells. *Cell. Immunol.* 55: 12-19, 1980.
- 52- ROBERTS, T., SHIPTON, U., MOORE, M.: Proliferative and cytotoxic responses of human peripheral blood lymphocytes to autologous malignant effusions. *Cancer Immunol. Immunother.* 22: 107-113, 1986.
- 53- NAGASHIMA, A., YASUMOTO, K., NAKAHASHI, H. et al.: Antitumor activity of pleural cavity macrophages and its regulation by pleural cavity lymphocytes in patients with lung cancer. *Cancer Res.* 47: 5497-5500, 1987.
- 54- YAMAMOTO, S., DUNN, C. J., WILLOUGHBY, D. A.: Studies on delayed hypersensitivity pleural exudates in guinea-pigs. I. Demonstration of substances in the cellfree exudate which cause inhibition of mononuclear cell migration *in vitro*. *Immunology* 30: 505-511, 1976.
- 55- YAMAMOTO, S., DUNN, C. J., WILLOUGHBY, D. A.: Studies on delayed hypersensitivity pleural exudates in guinea-pigs. II. The interrelationship of monocytic and lymphocytic cells with respect to migration activity. *Immunology.* 30: 513-519, 1976.
- 56- HAMMERSTRØM, J.: *In vitro* response to *corynebacterium parvum* of human effusion lymphocytes isolated from patients with malignant and benign disease. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. C.* 88: 211- 218, 1980.
- 57- PETERSSON, T., WELIN, M.G., WEBER, T. H.: *In vitro* production of leucocyte migration inhibitory factor by lymphocytes in exudative pleural effusions. *J. Clin. Lab. Immunol.* 8: 107-111, 1982.
- 58- HIRANO, T. TERANISHI, T., TOBA, H., et al.: Human helper T-cell factor (s) (THF) I. Partial purification and characterization. *J. Immunol.* 126: 517- 522, 1981.
- 59- RUBIN, L. A., CURMAN, C. C., FRITZ, M. E., et al.: Soluble interleukin-2 receptors are released from activated human lymphoid cells *in vitro*. *J. of Immunology.* 135: 3172-3177, 1985.
- 60- BALDERAS, R. S., JOSIMOVIC-ALASEVIC, O., DIAMANTSTEIN, T, et al.: Elevated titers of cell-free interleukin 2 receptor in serum of lupus mice. *J. of Immunology.* 139: 1496-1500, 1987.

- 61- NELSON, D. L., RUBIN, L. A., KURMAN, C. C. et al.: An analysis of the cellular requirements for the production of sIL-2R *in vitro*. *J. Clin. Immunol.* 6: 114, 1986.
- 62- TANIGUCHI, T., MATSUI, H., FUJITA, T. et al.: Structure and expression of cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature.* 302:305-310, 1983.
- 63- STEIS, R. G., MARCON, L., CLARK, J. et al.: Serum soluble IL-2 receptor as a tumor marker in patients with hairy cell leukemia. *Blood.* 71: 1304-1309, 1988.
- 64- PIZZOLO, G., CHILOSI, M., SEMENZATO, G. et al.: The soluble interleukin-2 receptors levels in various stages from HTLV-I infection to ATL leukaemogenesis. *Br. J. Haematol.* 67:377-380, 1987.
- 65- PIZZOLO, G., CHILOSI, M., VINANTE, F. et al.: Soluble interleukin-2 receptors in the serum of patients with Hodgkin's disease. *Br. J. Cancer.* 55: 427-428, 1987.
- 66- CHILOSI, M., SEMENZATO, G., VINANTE, F. et al.: Increased levels of soluble interleukin-2 receptors in non-Hodgkin's lymphomas. Relationship with clinical, histologic, and phenotypic features. *Am. J. Clin. Pathol.* 92: 186-191, 1989.
- 67- ROVELLI, F., LISSONI, P., CRISPINO, S. et al.: Increased level of soluble interleukin-2 receptor in advanced solid tumors: a preliminary study. *Tumori.* 74: 633-637, 1988.
- 68- WIEBKE, E. A., ROSENBERG, S. A., LOTZE, M. T., et al.: Acute immunologic effects of interleukin-2 therapy in cancer patients: decreased proliferative response to soluble antigens. *J. Clin. Oncol.* 6: 1440-1449, 1988.
- 69- KEYSTONE, E. C., SNOW, K. M., BOMBARDIER, C. et al.: Elevated soluble IL-2R levels in the sera and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 31: 844-849, 1988.
- 70- RUBIN, L. A., SNOW, K. M., NELSON, D. L., et al.: Serum levels of soluble IL-2 receptor in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis correlate with disease activity. *J. Rheum.* 17: 597-602, 1990.
- 71- CAMPEN, D. H., HORWITZ, D. A., QUISMORIA, F. P., et al.: Serum levels of levels of IL-2 receptor and activity of rheumatic diseases characterized by immune system activation. *Arthritis Rheum.* 31: 1358-1364, 1988.
- 72- ENGEL, E. E., CHARLEY, M., STEEN, V. D. et al.: Soluble IL-2R in diffuse cutaneous systemic sclerosis: clinical and laboratory correlations. *Arthritis Rheum.* 32: S42, 1989.

- 73- MILLER, F. W., LOVE, L. A., TURITTY, S. A. et al.: Soluble CD8 and IL-2 receptors are measures of disease activity in the idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum.* 33:S33, 1989.
- 74- LANG, B. A., SILVERMAN, E. D., LAXER, R. M. et al.: Serum soluble IL-2 receptor levels in Kawasaki disease. *J. Paeds.* 116: 592-596, 1990.
- 75- GALLO, P., PICCINO, M.G., PAGNI, S. et al.: Immune activation in multiple sclerosis: study of IL-2 sIL-2 sIL-2R and gamma-IFN in serum and cerebrospinal fluid. *J. Neurol. Sci.* 92: 9-15, 1989.
- 76- GIORDANO, C., GALLUZO, A., MARCO, A. et al.: Increased soluble interleukin-2 receptor levels in the sera of type I diabetic patients. *Diabetes Res.* 8: 135-138, 1988.
- 77- YAMAGUCHI, S., ONJI, M., OHTA, Y. et al.: Increased serum soluble IL-2 receptor levels in patients with viral liver diseases. *Hepatogastroenterology.* 35: 245-248, 1988.
- 78- KLOSTER, B. E., JOHN, P. A., MILLER, L. E. et al.: Soluble IL-2 receptors are elevated in patients with AIDS or at risk of developing AIDS. *Clin. Exp. Immunol.* 45: 440-446, 1987.
- 79- PIZZOLO, G., CHILOSI, M., SEMENZATO, G.: The soluble IL-2 receptor in haematologic disorders. *Br. J. Haematol.* 67: 377-380, 1987.
- 80- GRIFFIN D. E., WARD, B. J., JAUREGUI, E. et al.: Immune activation in measles. *N. England J. Med.* 320: 1667-1672, 1989.
- 81- TUNG, S. K., UMLAND, E., MATZINER, P. et al.: Soluble serum IL-2 receptors levels in leprosy patients. *Clin. Exp. immunol.* 53: 52-58, 1987.
- 82- BROWN, A. E., RIEDER, K. T., WEBSTER, H. K. Prolonged elevations of soluble IL-2 receptors in tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139: 1036-1038, 1989.
- 83- DELORON, P., LEPERS, J. P., COULANGES, P. et al.: Evolution of the levels of soluble IL-2 receptors during *P. falciparum* and *P. vivax* malaria. *J. Clin. Microbiol.* 27: 1887-1889, 1989.
- 84- CORNABY, A., SIMPSON, M. A., RICE, R. V. et al.: IL-2 production in plasma, urine and plasma IL-2 receptor levels and urine cytology as a means of monitoring renal allograft recipients. *Transplantation Proc.* 20:108-110, 1988.

- 85- LAWRENCE, E. C., HOLLAND, V. A., YOUNG, J. B. et al.: Dynamic changes in soluble IL-2 receptor levels after lung or heart-lung transplantation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140: 789-796, 1989.
- 86- ADAMS, D. H., WANG, L., HUBSCHER, S. G. et al.: Soluble IL-2 receptors in serum and bile of liver transplant recipients. *Lancet* 1: 469-471, 1989.
- 87- TEODORCZYK-INJEYAN, J. A., SPARKES, G. B., MILLS, G. B. et al.: Increase of serum IL-2 receptor in thermally injured patients. *Clin Immunol. Immunopathol.* 51: 205-215, 1989.
- 88- PEACOCKE, M., McLAUGHLIN, M. L., RUBIN, L. A. et al.: Elevated serum levels of IL-2 receptors are presents in patients maintained on chronic hemodialysis. *Clin. Res.* 34: 605A, 1986.
- 89- LAURENCE, E. C., BROSSEAU, K. P., BERGER, M. B. et al.: Elevated concentrations of soluble IL-2 receptors in serum samples of bronchoalveolar lavage fluid in active sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137: 759-764, 1988.
- 90- RAPAPORT, M. H., McALLISTER, C. G., PICKER, D. et al.: Elevated levels of soluble IL-2 receptors in schizoprenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 46: 291-292, 1989.
- 91- LOTZE, M. T., CUSTER, M. C., SHARROW, S. O. et al.: *In vivo* administration of purified human IL-2 to patients with cancer: development of IL-2 receptor positive cells and circulating soluble IL-2 receptors following interleukin-2 administration. *Cancer Res.* 47: 2188-2195, 1987.
- 92- PUI, C. H., IP, S. H., THOMPSON, E. et al: high serum interleukin-2 levels correlate with a poor prognosis in children with Hodgkin's disease. *Leukemia.* 3: 481-484, 1989.
- 93- WAGNER, D. K., KIWANUKA, J., EDWARDS, B. K., et al.: Soluble interleukin-2 receptor levels in patients with undifferentiated and lymphoblastic lymphomas: correlation with survival. *J. Clin. Oncol.* 5: 1262- 1274, 1987.
- 94- LISSONI, P., BARNI, S. TANCINI, G. et al.: Effects of cancer chemotherapy on the relation between serum levels of soluble interleukin-2 receptors and CD4/CD8 ratio in patients with solid neoplasms. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 3: 131-133, 1989.
- 95- SYMONS, J. A., WOOD, N. C., DI GIOVINE, F. S. et al.: Soluble IL-2 receptor in rheumatoid arthritis. Correlation with disease activity, IL-1 and IL-2 inhibition. *J. of Immunol.* 141: 2612-2618, 1988.

- 96- CHALON, M. P., SINDIC, C. J. M., LATERRE, E. C.: Serum and CSF levels of soluble interleukin-2 receptors in MS and other neurological diseases: a reappraisal. *Acta Neurol. Scand.* 87: 77-82, 1993.
- 97- LAI-KN, LEUNG, J. C., LAI, F. M. et al.: T-lymphocyte activation in IgA nephropathy: serum-soluble interleukin-2 receptor level, interleukin-2 production and interleukin-2 receptor expression by cultured lymphocytes. *J. Clin. Immunol.* 9: 485-492, 1989.
- 98- SUGIMOTO, M. NAKASHIMA, H., MATSUMOTO, M. et al.: Pulmonary involvement in patients with HTLV-I associated myelopathy: increased soluble IL-2 receptors in bronchoalveolar lavage fluid. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139: 1329-1325, 1989.
- 99- REYNOLDS, S. P., JONES, K. P., EDWARDS, J. H. et al.: A comparative analysis of pigeon breeders' disease, sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis.* 6: 125-134, 1989.
- 100- LAWRENCE, C. E., BROUSSEAU, K. P., BERGER, M.B. et al.: Elevated concentrations of soluble interleukin-2 receptors in serum samples and bronchoalveolar lavage fluids in active sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137:759-764, 1988.
- 101- TAKAHASI, S., SETOGUCHI, Y., NUKIWA, T. et al.: Soluble interleukin-2 receptor in sera of patients with pulmonary tuberculosis. *Chest.* 99:310-314, 1991.
- 102- HOL, B. E., HINTZEN, R. Q., Van-LIER, R. A. et al.: Soluble and cellular markers of T-cell activation in patients with pulmonary sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 148: 643-649, 1993.
- 103- MULLER-QUERNHEIM, J., KRONKE, M., STRAUSS, J. et al.: Interleukin-2 receptor gene expression by bronchoalveolar lavage lymphocytes in pulmonary sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140:82-88, 1989.
- 104- XAUBET, A., AGUSTÍ, C., ROCA, J. et al.: BAL lymphocyte activation antigens and diffusing capacity are related in mild to moderate pulmonary sarcoidosis. *Eur. Respir. J.* 6:715-718, 1993.
- 105- PFORTE, A., BRUNNER, A., GAIS, P. et al.: Concomitant modulation of serum-soluble interleukin-2 receptor and alveolar macrophage interleukin-2 receptor in sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 147: 717-722, 1993.
- 106- PARK, C. S., LEE, S. M., UH, S. T. et al.: Soluble interleukin-2 receptor and cellular profiles in bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91: 623-633, 1993.

- 107- WILSON, J.W., DJUKANOVIC, R., HOWARTH, P. H. et al.: Lymphocyte activation in bronchoalveolar lavage and peripheral blood in atopic asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 145: 958-960, 1992.
- 108- ITO, M., KOJIRO, N., SHIRASAKA, T. et al.: Elevated levels of soluble Interleukin-2 receptors in tuberculous pleural effusions. *Chest.* 97: 1141-1143, 1990.
- 109- KOJIRO, N., MORIWAKI, Y., NISHIKI, M. et al.: Elevated soluble interleukin-2 receptor and interleukin-2 receptor positive cells in carcinomatous pleural effusions. *Nippon Kiobu Shikkan Gakkai Zasshi.* 28: 100-104, 1990. (*)
- 110- SARANDAKOU, A., POULAKIS, N. RIZOS, D. et al.: Pleural fluid and serum soluble interleukin-2 receptors in pleural effusions. *Anticancer Res.* 11: 1365-1368, 1991.
- 111- MILLER, R. A., MALONEY, D. G. McKILLOP, J. et al.: *In vitro* effects of murine hybridoma monoclonal antibody in a patient with T-cell leukemia. *Blood.* 58: 78-80, 1981.
- 112- FUJIMOTO, J., LEVY, S., LEVY, R. et al.: Spontaneous release of the Leu-2 (T8) molecule from human T cells. *J. Exp. Med.* 159: 752-766, 1983.
- 113- TOMKINSON, B. E., BROWN, M. C., IP, S. H. et al.: Soluble CD8 during T-cell activation. *J. Immunol.* 142: 2230-2236, 1989.
- 114- SEMENZATO, G., SIVIERO, F., VINANTE, F. et al.: Serum levels of soluble CD8 are increased in patients with B chronic lymphocytic leukemia. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 25: 1577-1581, 1989.
- 115- HO, A. D., GROSSMANN, M., KNAUF, W. et al.: Plasma levels of soluble CD8 antigen and interleukin-2 receptor antigen in patients with hairy cell leukemia. Relationship with splenectomy and with clinical response to therapy. *Leukemia.* 3: 718-723, 1989.
- 116- PUI, C. H., IP, S. H., THOMPSON, E. et al.: Increased serum CD8 antigen level in childhood Hodgkin's disease relates to advanced stage and poor treatment outcome. *Blood.* 73: 209-213, 1989.
- 117- AGOSTINI, C., SEMENZATO, G., VINANTE, F. et al.: Increased levels of soluble CD8 molecule in the serum of patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related disorders. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 50 146-153, 1989.

(*) Consultado *abstract*

- 118- LIN, R. Y., NYGREN, E., VALINSKY, J. et al.: Levels of soluble CD8 antigen and circulating immune complexes in intravenous drug abusers: relationships to HIV antibody serology. *AIDS*. 5:655-661, 1989.
- 119- REDDY, M. M., LANGE, M. GRIECO, M. H. et al.: Elevated soluble CD8 levels in sera of human immunodeficiency virus-infected populations. *J. Clin. Microbiol.* 27: 297-260, 1989.
- 120- GRIECO, M. H., REDDY, M. M., FUSILLO, C. A. et al.: Cross sectional study of immunologic abnormalities in intravenous drug abusers on methadone maintenance in New York City. *AIDS*. 3: 235-237, 1989
- 121- MEHTA, P. D., KULCZYCKI, J. MEHTA, S. P. et al.: Increased levels of beta 2-microglobulin, soluble interleukin-2 receptor and soluble CD8 in patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 65: 53-59, 1992.
- 122- HARPAZ, R., EDELMAN, R., WASSERMANN, S. S. et al.: Serum cytokine profiles in experimental human malaria. Relationship to protection and disease course after challenge. *J. Clin. Invest.* 90: 515-523, 1992.
- 123- MOTOHASI, T., Serum soluble CD4 and CD8 levels in Kawasaki disease. *Aerugi.* 41: 140-147, 1992. (*)
- 124- HAMAGAMI, S., MIYAGAWA, T., OCHI, T. et al.: A raised level of soluble CD8 in bronchoalveolar lavage fluid in summer-type hypersensitivity pneumonitis in Japan. *Chest.* 101: 1044-1049, 1992.
- 125- MURRAY, H. W., SPITALNY, G. W., NATHAN, C. F. Activation of mouse peritoneal macrophages *in vitro* and *in vivo* by interferon gamma. *J. Immunol.* 134: 1619-1622, 1985.
- 126- RUBIN, B. Y., BARTAL, A. H. ANDERSON, S. L. et al.: The anticellular and protein-inducing activities of human gamma interferon preparations are mediated by the interferon. *J Immunol.* 130: 1019-1020, 1983.
- 127- BROWN, A. E., DABCE, D. A. SUPUTTAMONGKOL, Y. et al.: Immune cell activation in melioidosis: increased serum levels of IFN gamma and sIL-2R without change in sCD8 protein. *J. Infect. Dis.* 163: 1145-1148, 1991.

(*) Consultado *abstract*

- 128- SHIJUBO, N., IMAI, K., MAKANISHI, F. et al.: Elevated concentrations of circulating ICAM-1 in far advanced and miliary tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 148:1298-1301, 1993.
- 129- GIRARDIN, E., GRAU, G. E., DAYER, J. M. et al: TNF and IL-1 in the serum of children with severe infectious purpura. *N. England J. Med.* 318: 397-400, 1988
- 130- PIZZOLO, G., STEIN H., JOSIHOVIC-ALASEVIC, O. et al.: Increased serum levels of sIL-2R, CD30 and CD8 molecules and gamma IFN in angioimmunoblastic lymphadenopathy. *Br. J. Haematol.* 75: 485-488, 1990.
- 131- KHOSS, A. E., BALZAR, E., STEGER, H. et al.: Neopterin and IFN gamma serum levels in renal allograft recipients. *Child. Nephrol. Urol.* 9: 46-49, 1988-89.
- 132- PRIOR, C., HASLAM, P. L.: *In vivo* levels and *in vitro* production of interferon gamma in fibrosing interstitial lung diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 88: 280-287, 1992.
- 133- RIBERA, E., OCAÑA, I., MARTINEZ-VAZQUEZ, J. M. et al.: High level of interferon gamma in tuberculous pleural effusion. *Chest*, 93: 308-311, 1988.
- 134- SHIMOKATA, K., KAWACHI, H., KISHIMOTO, H. et al.: Local cellular immunity in tuberculous pleurisy. *Am. Rev. Respir. Dis.* 126: 822-824, 1982.
- 135- EPSTEIN, L. B., CLINE, M. J., MERIGAN, T. C. et al.: PPD stimulated IFN: *in vitro* macrophage-lymphocyte interaction in the production of a mediator of cellular immunity. *Cell. Immunol.* 2: 602-613, 1971.
- 136- RHORBACH, M. S., WILLIAMS, D. F.: T-lymphocytes and pleural tuberculosis. *Chest.* 89: 473-474, 1986.
- 137- ONWUBALILI, J. K., SCOTT, G. M., ROBINSON, A. et al.: Deficient immune IFN production in tuberculosis. *Clin Exp. Immunol.* 59: 405-413, 1985.
- 138- RIBERA, E., MARTINEZ-VAZQUEZ, J. M., OCAÑA, I. el al.: Interferón gamma y adenosina desaminasa en las pleuritis. *Med. Clin. (Barc).* 94: 364-367, 1990.
- 139- RIBERA, E., ESPAÑOL, T., MARTINEZ-VAZQUEZ, J. M. et al.: Lymphocyte proliferation and gamma-interferon production after *in vitro* stimulation with PPD. *Chest* 97: 1381-1385, 1990.
- 140- BARNES, P. F., MISTRY, S. D., COOPER, C. L. et al.: Compartmentalization of a CD4+ T lymphocyte subpopulation in tuberculous pleuritis. *J. Immunol.* 142: 1114-1119, 1989.

- 141- BARNES, P. F., FONG, S. J., BRENNAN, P. J. et al.: Local production of tumor necrosis factor and interferon gamma in tuberculous pleuritis. *J. Immunol.* 145: 149-154, 1990.
- 142- SHIMOKATA, K., SAKA, H., MURATE, T. et al.: Cytokine content in pleural effusion. Comparison between tuberculous and carcinomatous pleurisy. *Chest.* 99: 1103-1107, 1991.
- 143- VALDÉS, L. SAN JOSÉ, E., ALVAREZ, D. et al.: Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme and interferon gamma. *Chest.* 103: 458-465, 1993.
- 144- MICHALEK, S. M., MOORE, R. N., MCGHEE, J. R. et al.: The primary role of lymphoreticular cells in the mediation of host responses to bacterial endotoxin. *J. Infect. Dis.* 141: 55-63, 1980.
- 145- CERAMI, A., IKEDA, Y., Le TRANG, N. et al: Weight loss associated with an endotoxin-induced mediator from peritoneal macrophages: The role of TNF. *TNF Immunol. Lett.* 11: 173-177, 1985.
- 146- ROUZER, C. A., CERAMI, A.: Hypertriglyceridemia associated with *Trypanosoma brucei* infection in rabbits: role of defective triglyceride removal. *Mol. Biochem. Parasitol.* 2: 31-38, 1980.
- 147- KAWAKAMI, M., CERAMI, A.: Studies of endotoxin-induced decrease in lipoprotein-lipase activity. *J. Exp. Med.* 154: 631-639, 1981.
- 148- BEUTLER, B., MAHONEY, J., LE TRANG, N. et al.: Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J. Exp. Med.* 161:984-995, 1985.
- 149- ARDIZZOIA, A., LISSONI, P., BRIVIO, F. et al: TNF in solid tumors: increased blood levels in metastatic disease. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 6: 103-107, 1992.
- 150- SANTANA-BLANK, L. A., CASTES, M., ROJAS, M. E. et al.: Evaluation of serum levels of TNF and sIL-2R during infrared pulsed laser device treatment. *Clin. Exp. Immunol.* 90: 43-48, 1992.
- 151- SAXNE, T., PALLADINO, M. A., HEINEGARD, D. et al.: Detection of TNF alfa but not TNF beta in rheumatoid arthritis synovial fluid and serum. *Arthritis-Rheum.* 31: 1041-1045, 1988.

- 152- MILLAR, A. B., FOLEY, N. M., SINGER, M.: TNF in bronchopulmonary secretions of patients with ARDS. *Lancet*. 2(8665): 712-714, 1989.
- 153- GLIMAKER, M., KRAGSBJERG, P., FORSGREN, M. et al.: TNF alfa in CSP from patients with meningitis of different etiologies: high levels of TNF alfa indicate bacterial meningitis. *J. Infect. Dis.* 167: 882-889, 1993.
- 154- ISHII, Y., UCHIYAMA, Y., HASEGAWA, S. et al: Detection of TNF/cachectin in pleural effusion of patients with lung cancer. *Clin. Exp. Immunol.* 80:350-353, 1990.
- 155- BROADDUS, V. C., HEBERT, C. A., VITANGCOL, R. V. et al: IL-8 is a major neutrophil chemotactic factor in pleural liquid of patients with empyema. *Am. Rev. Respir. Dis.* 146:825-830, 1992.
- 156- MAEDA, J., UEK, N. OHKABA, T. et al.: Local production and localization of TGF beta in tuberculous pleurisy. *Clin. Exp. Immunol.* 92: 32-38, 1993.
- 157- LIN, C. C., LIU, C. C. LIN, C. Y.: Changes in cell population and TNF, IL-6 and IL-8 in malignant pleural effusion after treatment with intrapleural tetracycline. *Am. Rev. Respir. Dis.* 147: 1503-1506, 1993.
- 158- KAUFFMAN, S. H. E.: CD8+ T lymphocytes in intracellular microbial infections. *Immunology Today*, 9: 168-173, 1988.
- 159- KAUFFMAN, S. H. E. Immunity to intracellular bacteria. *Annu. Rev. Immunol.* 11: 129-163, 1993.
- 160- DE LIBERO, G., KAUFFMANN, S. H. E. et al.: Antigen-specific Lyt-2+ cytolytic T lymphocytes from mice infected with the intracellular bacterium *Listeria monocytogenes*. *J. Immunol.* 137: 2688-2694, 1986.
- 161- ORNE, J. A., COLLINS, F. M.: Adoptive protection of *M.tuberculosis* infected lung: dissociation between cells that passively transfer protective immunity and those that transfer delayed-type hypersensitivity to tuberculin. *Clin. Immunol.* 84: 113-120, 1984
- 162- ORNE, J. M.: The kinetics of emergence and loss of mediator T lymphocytes acquired in response to infection with *M. tuberculosis*. *J. Immunol.* 138: 293-297, 1987
- 163- ROSSI G. A., BALBI, B., MANCA, F.: Evidence for selective presence of PPD-specific T-lymphocytes at site of inflammation in the early phase of the infection. *Am. Rev. Respir. Dis.* 136: 575-579, 1987.

- 164- AINSLIE, G. M., BATEMAN, E. D., SOLOMON, J. A.: Variation in T lymphocyte numbers and subsets in different forms and stages of pulmonary tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 133: 39A, 1986.
- 165- FLYNN, J. L., GOLDSTEIN, M. M., TRIEBOLD, K. J. et al.: Major histocompatibility complex class I restricted T cells are required for resistance to *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89: 12013-7, 1992.
- 166- SHANDS, J. W., SENTERFITT, V. C.: Endotoxin-induced hepatic damage in BCG infected mice. *Am. J. Pathol.* 67: 23-40, 1972.
- 167- CARSWELL, E. A., OLD, L.J., KASSEL, R. L. et al.: An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumours. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 72: 3666-3670, 1975.
- 168-NAGAO, S., TANAKA, A.: Necrotic inflammatory reaction induced by muramyl-dipeptide in guinea-pigs sensitised by tubercle bacilli. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 162: 401-412, 1985.
- 169- NEDWIN, G. E., SVEDERSKY, L. P., BRINGMAN, T. S. et al.: Effect of IL-2, IFN gamma and mitogens on the production of TNF. *J. Immunol.* 135: 2492-2497, 1985.
- 170- ROOK, G. A. W., TAVERNE, J., LEVETON, C. et al.: The role of IFN gamma, vitamin D₃ metabolites and TNF in the pathogenesis of tuberculosis, *Immunology.* 62: 229-234, 1987.
- 171- LEHMAN, V., FREUDENBERG, M. A., GALANOS, C.: Lethal toxicity of lipopolysaccharide and TNF in normal and D-galactosamine treated mice. *J. Exp. Med.* 165: 657-663, 1987.
- 172-FERNANDEZ CRUZ, WODA, A., FELDMAN, J. D.: Elimination of syngenic sarcomas in rat by a subset of T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 152: 823-831, 1980.
- 173- KOVACS, E. J.: Fibrogenic cytokines: The role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immunol. Today* 12:17-23, 1991
- 174- KIMURA, S., SONE, S., TAKAHASI, K. et al.: Antitumor potential of pleural cavity macrophages in lung cancer patients without malignant effusion. *Br. J. Cancer.* 59: 535-539, 1989.
- 175- JAY, S. J.: Diagnostic procedures for pleural diseases. Symposium on pleural diseases. *Clin. Chest. Med.* 6: 33-48, 1985.

- 176- TURNER-WARWICK, M. *Inmunología del pulmón*. Edit. Manual Moderno, Mexico DF, 1980.
- 177- MOLINA, C.: *Immunopathologie broncho-pulmonaire*. Masson C^e, Éditeurs, Paris, 1973.
- 178- CENTERS FOR DISEASE CONTROL. A strategic plan for the elimination of tuberculosis in the United States. *M. M. W. R.* 38: 269, 1988.
- 179- AMERICAN THORACIC SOCIETY COMMITTEE: Priorities for tuberculosis research. Research initiatives in the immunology of tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*: 138: 1327-1328, 1988.
- 180- KHALIL, N., BEREZNAVY, O., SPORN, M. et al.: Macrophage production of transforming growth factor alfa and fibroblast collagen synthesis in chronic pulmonary inflammation. *J. Exp. Med.* 170: 727-737, 1989.

TUBERCULOSIS

DATOS GENERALES

CASO	sexo	edad	DIAG.2	DIAG.3	mantoux	papula	unif	febre	T° EVOL	TAMAÑO	LADO	LES.PUL	FLM	VSG
1	v	26			p	23	2	SI	15	3	I	N	SI	
2	v	33	ETM					SI	180	2	D	N	SI	99
3	m	20			p	10	2	SI	10	2	D	N	SI	67
4	v	32			p	12	10	SI	10	2	D	N	SI	110
6	v	28	HIV+		n		10	SI	18	1	D	SI	SI	119
7	m	18			p	15		SI	30	1	D	N	SI	49
8	v	57	HTA	DIAB	p	12	10	NO	15	2	D	N	SI	
9	v	18			p	17	2	SI	30	2	I	N	SI	79
10	m	20			p	14	2	SI	4	2	D	N	SI	85
11	v	21			p	22	2	SI	10	2	D	N	SI	78
12	v	20			p	14	2	DEC	7	1	D	N	NO	40
13	m	26			p	12	2	SI	7	2	D	N	SI	90
66	v	26			p	12	2	SI	60	2	D	N	NO	113
67	v	30			n		2	SI	20	2	I	N	NO	86
68	v	23			p	20	10	DEC	18	1	D	SI	SI	22
73	v	23	HEPAT A		p	10	2	SI	30	2	D	N	SI	57
75	v	25			p	20	2	SI	25	2	I	N	SI	
76	m	27			p	20	10	SI	7	1	D	N	NO	61
81	m	27	TEP		p	16	2	DEC	2	2	D	N	NO	80
99	v	46	OPR					SI	15	1	I	SI	SI	76
100	m	23			p	20	2	SI	8	1	D	N	SI	95
108	v	19	ASMA		p	13	10	SI	30	2	D	N	NO	105
113	v	57	EMP.TB		p	19	2	SI	90		I	SI	SI	70
118	v	23			p	18	2	DEC	15	1	I	N		
140	v	19			p	25	2	SI	12	3	I	SI		84
142	v	17			p	15	2	SI	20	3	D	N	NO	100
156	v	22			p	30	2	SI	5	2	I	N	NO	12

ANALITICA CONVENCIONAL

CASO	prot.lp	prot.sp	kfh.lp	kfh.sp	gluc.lp	gluc.sp	neucos	lin%	lin tot	hemates	pH
1	4.9	7.6	537	275	86	100	3000	76	2280	5200	7.4
2	3.3	6.9	465	320	49	95	560	95	532	11100	7.2
3	4.8	8	1265	400	67	110	2900	100	2900	3900	7.32
4	4.8	5.8	958	290	74	90	1500	96	1440	640	7.33
6	5.9	7.6	1377	545	64	83	2300	76	1748	9000	7.31
7	4.2	6	1066	365	52	77	10000	88	8800	740	7.1
8	5.2	6.4	796	280	119	139	900	88	792	4160	7.42
9	4.3	7.2	1100	420	60	100	2200	80	1760	10000	7.11
10	4	5.65	1230	500	58	112	3100	92	2852	11200	7.19
11	5	7.9	1146	320	76	110	3800	71	2698	10000	7.43
12	5.7	8.3	505	249	94	92	6900	70	4830	40000	7.36
13	5.2	7.4	503	285	95	95	6300	47	2961	3300	7.4
66	6	7.9	373	238	60	101	1300	48	624	1540	7.33
67	4.6	6.1	1535	469	95	84	4900	85	4165	11000	7.34
68	5	7.5	808	305	73	88	5500	100	5500	2000	7.35
73	6.2	9.5	939	294	60	97	1700	92	1564	10000	7.32
75	5.4	7.3	547	338	87	80	3100	58	1796	800	7.29
76	5.6	7.2	774	297	77	78	4120	96	3955	3200	7.36
81	5.7	7.6	870	435	82	90	3180	94	2989	3500	7.31
99	3.3	6.9	929	390	31	114	560	60	336	19200	7.21
100	5.5	8.1	1578	452	9	73	1200	92	1104	2600	7.16
108	5	7	2050	332	74	99	2680	86	2304	1370	7.27
113	2.9	8.1	1303	420	5	142	89000	0	0	12700	6.8
118	5.4	8.4	774	342	75	74	1220	21	256	16000	7.33
140	5.6	6.5	791	410	86	88	920	85	782	4600	7.32
142	3.8	5.8	365	261	82	122	800	80	640	2250	7.24
156	4.9	7.2	815	400	60	100	4200	95	3990	6500	7.32

PARAMETROS INMUNOLOGICOS

CASO	ADA-LP	IL2-LP	CD8-LP	IFN-LP	TNF-LP	IL2-SP	CD8-SP	IFN-SP	TNF-SP
1	90	4966	208	51	11	714	518	0.6	11
2	40	4531	156	35	6	990	526	0.7	8
3	67	4665	416	40	2	1017	586	0.7	3
4	58	8148	364	126	8	1750	810	1.3	6
6	90	11025	1938	77	9	2409	1238	4	7
7	80	8278	1359	20	25	1347	964	0.5	27
8	40	9550	619	127	14	1117	1327	0.6	6
9	114	13510	200	123	20	1055	780	0.6	30
10	78	9927	335	71	60	616	680	0.9	46
11	62	7308	560	93	20	1146	657	1.6	43
12	60	7470	594	17	11	835	441	0.5	7
13	77	8708	664	23	76	1282	564	0.5	33
66	42	8008		136	13	590		0.6	29
67	49	18879		17	132	2136		0.4	30
68	144	10980		17	9	1297		0.4	11
73	114	14960	546	24	0.5	1862	593	0.5	0.5
75	100	12416	405	23	25	899	334	0.5	25
76	93	6036	498	63	30	640	423	0.5	20
81	58	13192	377	59	2	1803	495	0.8	2
99	73	16984	926	58	1	24320	2226	1.5	53
100	89	24880	500	235	67	3600	875	0.9	20
108	106	12800	470	176	20	1100	340	0.9	0
113	306	1640	0	28	12	1230	525	0.6	0.5
118	70	6800	350	16	1	1240	570	1	0.5
140	70	7872	362	37	1	1803	632	0.7	136
142	66	8980	462	236	38	1440	668	1	0.5
156	110	6842		112	32	1019		1	19

NEOPLASIAS															
DATOS GENERALES															
CASOS	sexo	edad	DIAG.S	DIAG.3	DIAG.4	tumedor	LADO	ORIGEN	ANAT	ex precd?	TRAT	PAPLP	BIOPPL	metastax	VSG
15	v	66	EPOC	IRG	DMNID	S	I	PUL	?			P	P		106
16	v	61	EPOC	FBAUR		S	D	PUL	ADENO	S		P	P		
17	v	60	IAM			S	D	PUL	EPID		QTP	P			92
18	v	56	ACV			S	D	PUL		S					34
19	m	58				N	I	PUL	ADENO			P			11
20	m	58				S	I	PUL	MICR			P			15
21	v	72	EPOC	DMNID		S	D	PUL	?			N	N		99
22	m	65				N		MAMA	?		QTP		P	N	90
24	v	70				S	D	PUL	EPID			N	P		72
25	v	79				N	D	?	?			N	N	N	61
26	v	75				S	D	PUL	ADENO	S		P	P		75
27	v	64	IAM			S	D	?	ADENO	S		P	P	P	120
28	m	70				N	BIL	MAMA				N	N		114
30	m	71				S	I	GAST	ADENO			N			112
31	v	53	NLAR			S	I		EPID				P		137
32	v	69				N	I	PUL	ADENO			N			24
33	v	72	DMNID				D	?	?	S		P			90
34	v	79					BIL	GAST	ADENO						45
35	v	40				S		PUL	ADENO			P	P	P	57
36	v	43	DMNID	NVEJ		S	D	PUL	CELG			P	P	N	117
56	m	66	INS REN			N	D	ABD	ADENO	S		P			90
58	v	77				S		?	ADENO			P	N		47
60	v	57				S	D	?	ADENO				P	P	19
69	v	78	DMID	NPROS		N	I	PROG?	ADENO			P	P		79
83	m	82	DMID	VAG		N	D	PUL	ADENO						45
84	v	71				S	D	?	?	S		N	N	N	46
86	v	75	EPOC	IRG		S	I	PUL	ADENO			P			66
87	m	53	DMNID	NMAMA		N	D	PUL?	ADENO	S	QTP			N	85
88	m	84	ACV			N	I	?	ADENO			N	P	N	102
90	m	51	DMNID			S	I	MAMA	ADENO			N	P	N	56
91	v	69	NINTES			S	D	GAST				N		P	90
92	v	71	HTA			S	I	PUL	EPID			P		N	119
93	v	79	EPOC	IRG		S	I	PUL	EPID			N			23
94	v	61				S	I	?	IND.NM			N	P		15
96	v	69	EPOC			S	I	PUL	EPID	S		N		P	30
97	v	18					I	ARTIC	SARC		QTP	N	P		69
103	v	66	MITRAL			S	D	MESOT?	IND.NM			N			86
104	v	58	HTA			S	D					P		P	68
105	v	52				S	D	PUL	MICR			N	N	P	73
110	m	33	DFPSI			N	BIL	OVARIO	ADENO	S		P	P		56
111	v	80	ACV	EPOC		S	I	MESOT?	ADENO			N	P	N	16
121	m	90	HTA	osteolisis	mieloma?	N	I					N	N	N	116
125	v	81				S	I	?	ADENO			N	P		56
127	m	64	ACV			S	I	?	ADENO			P	P	P	37
129	m	76	DMNID			N	I	GAST	ADENO	S		P			24
131	m	75				N	D	?	ADENO			P	P		7
132	m	83				N	D	MAMA	IND				P		24
133	v	35				N		NEURO	SCHW				P	N	
136	v	87	NLARIN	FAUR		S	I					N	N	N	110
139	v	87	NLARIN	FAUR		S	I	PUL	EPID			N	N	N	54
146	v	56				S	D	PUL	EPID				P	P	32
147	v	63				S	I	PUL	IND.CG	S		P		P	60
148	m		HTA	PMREU	AMELOI			ABD?	ADENO	S		P	N		
149	v	74				S	D		ADENO			P			3
152	v	78				S	D	PUL	ADENO				P		37
153	v	85				N		?	ADENO			N	P	P	38

NEOPLASIAS												
ANALITICA CONVENCIONAL												
CASOS	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linP%	linfor	hemebes	pH	
15	5.6	6.6	2790	307	40	122	2600	77	2002	500000	7.27	
16	4.3	7	1137	339	122	110	2560	76	1945	165000	7.32	
17	3.4	6.5	329	440	116	102	600	78	624	5000	7.4	
18	4	7.9	2085	480	26	83	17000	72	12240	40000		
19	3.1	5.8	162	180	113	124	2440	95	1342	160	7.48	
20	4.9	7.5	766	420	170	105	4600	24	1104	10000	7.47	
21	3.5	6.3	186	130	93	73	1100	75	825	10000	7.43	
22	4.3	6.7	606	376	94	95	920	92	846	30000	7.41	
24	3.5	6.4	1533	500	100	125	1500	75	1125	82000		
25	3.8	7.6	518	145	142	148	980	84	823	81000	7.28	
26	4.2	6.1	1128	625	107	126	1520	26	396	17560	7.31	
27	4.3	6.6	2140	395	118	167	1400	80	1120	19200	7.23	
28	4.1	6.4	296	287	106	119	1400	92	1288	6660	7.34	
30	4.5	6.2	236	338	117	73	11200	78	8736	23000	7.4	
31	4.2	6.9	975	352	98	110	3500	80	2800		7.13	
32	4.2	7.8	1766	684	72	66	5500	95	5225	80000	7.42	
33	3.2	4.7	1293	343	101	163	3160	92	2907	36700	7.26	
34	3.6	6.5	433	273	112	140	10600	96	10176	10400		
35	5	6.6	1182	321	55	89	1620	96	1587	2360	7.26	
36	4.5	6.1	2230	401	162	154	3000	53	1590	35280	7.24	
56	3.2	7.4	367	199	120	91	3400	85	2890	220	7.28	
58	5.4	7	854	310	73	118	1460	40	584	380		
60	4.5	7.1	470	245	80	82	560	80	448	24000	7.36	
69	5.1	7.8	330	200	78	97	800	52	416	22400	7.43	
83	5.4	7.5	3192	713	23	127	5200	32	1664	580000	7.3	
84	4.2	6.9	351	578	133	176	1640	74	1213	5440		
86	5.4	6.6	782	435	90	80	600	90	540	288000	7.35	
87	2.8	5.8	185	200	114	138	1900	96	1824	600	7.4	
88	5	8.4	698	279	128	215	3100	85	2635	30000	7.18	
90	4.2	7.5	491	369	104	157	3200	100	3200	51000	7.36	
91	3.9	6.7	247	110	174	187	1000	22	220	4400	7.32	
92	4.4	7.8	462	318	120	87	7500	25	1875	45200	7.42	
93	3.9	5.8	305	216	142	121	3200	60	1920	1768	7.28	
94	4.6	7.3	510	382	71	97	3500	100	3500	71600	7.27	
96	4.7	8.6	284	337	150	76	2300	72	1656	270000	7.34	
97	4.9	6.1	1836	590	5	90	2900	49	1421	2230000	6.93	
103	4.8	7.6	2068	1398	68	84	1140	68	775	10200	7.32	
104	4.4	7.2	317	286	116	109	1120	70	784	14000	7.45	
105	5.3	7.6	660	453	103	106	3920	36	1411	9760	7.35	
110	4.4	6.4	584	864	79	90	1400	85	1190	16000	7.34	
111	4	6.2	450	301	107	99	1420	86	1221	3660000	7.25	
121	5.8	8	388	328	108	207	2200	62	1364	19200	7.37	
125	4.9	7.9	143	107	30	73	5760	83	4780	17600	7.29	
127	4.7	8	641	552	83	128	1900	60	1140	144000	7.3	
129	4.5	7.4	300	232	100	110	3420	90	3078	15000	7.4	
131	3.6	6.1	671	19	111	98	2340	90	2106	1028	7.26	
132	4.9	8.6	352	316	103	95	980	26	254	680	7.43	
133	3.9	6	2080	459	53	63	2200	67	1474	700000	7.4	
138	3.6	8	172	303	114	88	660	81	534	2800	7.41	
139	3.4	6.7	189	326	93	93	500	80	400	800	7.4	
146	4	6.5	1189	437	118	78	2500	90	2250	17000		
147	4.8	6.5	675	551	138	190	5000	76	3800	1600	7.44	
148	5.7	8	348	400	252	199	960	62	595	24000	7.2	
149	3.3	6.6	741	469	263	164	2460	56	1377	9600	7.37	
152	2.4	6.5	2017	633	108	91	3000	75	2250	42600	7.36	
153	4.4	7.5	413	57	76	75	2200	72	1584	3200	7.38	

NEOPLASIAS									
PARAMETROS INMUNOLOGICOS									
CASOS	ADA-LP	IL2R-LP	CD8s-LP	IFN-LP	TNF-LP	IL2R-SP	CD8s-SP	IFN-SP	TNF-SP
15	37	10377	178	0.4	1	1439	555	0.3	1
16	30	4468	359	0.7	6				
17	10	4100	303	0.5	7	1473	561	0.8	6
18	33	6426	321	0.5	17	1016	542	0.5	8
19	14	489	95	1	6	3136	348	0.6	1
20	10	6081	320	0.6	17	757	328	0.6	8
21	32	4329	303	0.7	1	1139	781	0.4	0.8
22	22	2762	183	0.5	4	832	395	0.4	4
24	31	4103	248	0.5	5	3122	963	0.5	4
25	18	4018	162	0.7	9	842	790	0.5	4
26	25	8316	13	0.9	0.8	2469	276	0.2	0
27	30	5712	67	0.7	35	936	290	0.7	14
28	12	4850	166	0.7	43	1073	426	0.6	34
30	19	4460	671	1	40	1375	1064	0.7	9
31	48	8572	47	1.6	10	1288	358	0.5	6
32	29	3960	487	0.6	189				
33		14532	178	1.6	0.6	1706	558	0.6	1.8
34	24	2736	150	0.8	256	1231	296	0.5	67
35	11	3576	187	0.7	13	852	406	0.5	35
36	22	2668	108	1	19	904	275	0.5	35
56	15	4992	163	0.9	31	2068	804	0.6	15
58	23	2138	8	0.6	12	571	144	0.5	14
60	28	7836		1.2	10	1301		0.4	15
69	27	1791		0.7	24	4980		0.6	29
63	49	9040	25	0.7	1	2520	970	0.5	1
84	8	5560	105	0.6	1	1040	400	0.6	1
86	29	12360	300	0.8	0.5	2280	750	0.7	0.5
87	11	3370	281	0.6	13	1146	495	0.5	6
88	35	19356	230	0.7	0.5	2307	655	0.6	0.5
90	16	4228	186	0.4	7	525	327	0.3	9
91	21	5690	375	0.7	0.5	1427	485	0.5	0.5
92	21	10404	194	0.4	7	1215	565	0.3	9
93	25	13880	308	0.4	44	1759	397	0.3	8
94	26	3956	22	0.5	1	689	402	0.4	1
96	21	4762	596	1.6	116	3687	970	0.4	65
97	60	2376	10	0.4	30	2008	509	0.4	30
103	25	5300	140	0.6	7	1200	375	0.7	0.5
104	20	7200	170	0.7	0.5	1575	290	0.6	0.5
105	30	7600	315	0.7	8	1350	505	0.6	14
110	15	3000	100	0.7	0.5	1150	475	0.6	0
111	23	5160	60	0.7	1	960	425	0.5	1
121	44	2313	0.5	0.8	3	856	144	0.3	4
125	28	7600	280	1	1	1500	300	1	0.5
127	32	3800	280	1	1	850	350	1	1
129	26	3800	140	1	1	890	325	1	20
131	20	6160	150	2	70	850	300	1	1
132	20	3100	200	1	16	990	610	1	10
133	28	4095	210	1	0.5	2003	620	1	0.5
138	18	1668	150	0.7	0.5	699	425	0.4	0.5
139	19	1638	140	0.6	6	1540	330	0.3	11
146	17	2536	492	0.6	94	600	430	0.6	0.5
147	18	5942	460	0.5	8	1079	292	0.4	0.5
148	46	5299	181	0.6	0.5	1136	701	0.6	0.5
149	20	3627	115	0.5	2	472	271	0.5	3
152	28	2858	273	1.3	11	925	667	0.9	14
153	13	2663	80	1.2	69	606	150	0.6	27

TRASUDADOS											
DATOS GENERALES											
CASOS	sexo	edad	DIAG.2	DIAG.3	mantoux	fiebre	tabaco	lado	V de S		
37	m	69	HIPOPR.	PANCR	NEG	S	N	I	20		
38	v	80	HEPAT	NEO?	NEG	N	S	I	13		
39	v	63	CARD		POS	N	S	D	38		
40	v	67	CARD	NEO		N	S	BIL	123		
41	m	81	CARD	INS.REN	NEG	N	N	D	39		
43	m	69	HIPOPR.	PANCR.	POS	N	N	I	24		
53	v	78	CARD		NEG			BIL	37		
61	v	64	HEPAT		NEG		S	BIL	110		
71	m	78	CARD		NEG	N	N	BIL			
79	v	82	CARD		POS	N	S	I	23		
80	v	64	CARD		POS	N		D	20		
82	v	58	HEPAT		NEG	S	S	BIL	65		
95	v	70	CARD	BR.ECT?		NO	S	BIL	16		
98	v	57	NEFR		POS	NO	S	D	42		
99	v	46	HEPAT		POS	NO	S	I	30		
101	m	87	CARD		NEG	NO	N	BIL	18		
122	v	64	NEFR			NO	S	BIL	10		
150	v	56	CARD		POS	NO	N	D	6		
155	v	70	NEFR		NEG	NO	N	BIL	12		
ANALITICA CONVENCIONAL											
CASOS	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
37	2.3	6	196	483	103	82	200	77	154	250	7.48
38	2.2	6.2	136	593	96	99	270	66	178	20	7.5
39	2.5	6.2	99	250	107	82	104	90	93	110	7.5
40	2.2	6.5	25	235	139	140	680	69	469	740	7.41
41	2.4	7.3	79	374	100	103	252	80	201	230	7.38
43	2.3	6.8	174	190	118	120	500	75	375	1200	7.38
53	1.5	7.2	111	445	107	100	1040	20	208	2960	7.42
61	1	7.9	309	210	145	79	300	84	252	400	7.38
71	2.3	6.5	205	398	250	291	1700	100	1700	8000	7.4
79	2.4	6.4	130	263	139	90	840	56	470	1030	7.37
80	0.5	5.2	165	306	125	106	2400	90	2160	5000	
82	2.1	6.1	139	345	121	144	2800	89	2492	40	7.37
95	2.9	6.6	143	424	202	144	360	84	302	4800	7.36
98	1	6.3	111	185	180	114	300	82	246	10000	7.41
99	0.5	6	128	210	105	100	200	85	510	2560	7.36
101	2.5	5.7	115	390	252	260	550	85	467	600	7.38
122	1.5	6.1	140	240	89	93	600	80	480	800	7.34
150	3.6	7	196	360	165	76	2000	60	1200	920	7.4
155	2.3	6.5	152	290	170	120	140	90	126	3200	
PARAMETROS INMUNOLOGICOS											
CASOS	ADA-LP	IL2R-LP	CD8a-LP	IFN-LP	TNF-LP	IL2R-SP	CD8a-SP	IFN-SP	TNF-SP		
37	14	2705	568	0.8	49	2103	1198	0.6	8		
38	16	2593	111	0.8	19	2024	828	0.2	10		
39	18	1957	290	1.1	10	574	503	0.7	30		
40	23	2776	320	0.7	25	2352	591	0.7	3		
41	17	3500	262	0.9	14	3313	172	0.4	10		
43		2264	485	1.6	29	1855	1017	0.6	5		
53	9	736	132	1.8	0.5	1399	395	0.4	117		
61	16	948		2.1	6	1703		0.6	6		
71	15	1240	115	0.5	7	1706	302	0.4	3		
79	14	3008	295	0.5	1	1060	825	0.4	3		
80	26	2540	849	1.3	25	597	707	0.5	30		
82	15	5152	58	0.9	3	9880	854	0.7	70		
95	17	5062	256	0.6	2	2772	694	0.3	5		
98	20	1204	117	0.5	23	15468	494	0.4	21		
99	16	12640	140	2	1	7700	1040	4	1		
101	25	5640	345	0.7	0.5	1200	970	0.5	0.5		
122	12	2709	205	1	20	2983	707	0.4	8		
150	19	3546	85	0.5	2	989	360	0.3	0.5		
155	16	1729		1.5	353						

INESPECIFICAS											
DATOS GENERALES											
CASO	sexo	Mantoux	edad	DIAG	VSG	PIEBRE	TABACO	LADO	PULM	PERIC	
5	V	NEG	22	HIV+		S	S	D			
45	M		60		102	N		I		SI	
48	V		56		102	S	S	I	SI		
49	V	NEG	78		35	S	S	I			
50	V	POS	46		99	N		BIL		SI	
54	V	POS	42		69	S	S	BIL			
55	V	POS	57		107	S	S	D	SI		
62	M	POS	64		88	N	N	I		SI	
64	M	NEG	80			S		I			
65	M	NEG	75	BK+	29	S		I			
72	V		34		9	N	S	I			
77	M	NEG	26		10	S		I			
107	V	POS	30		81	S	N	I	SI		
112	V	POS	46		54	S	S	I			
115	V	POS	49		8	N	S	I			
143	V		73			S		D			
144	M	POS	41		88	N		D			
151	M	NEG	17			S	N	BIL		SI	
154	V	NEG	72		10	N	S	BIL			
ANALITICA CONVENCIONAL											
CASO	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
5	4.7	7.9	2171	824	54	120	980	60	586	8000	7.38
45	3.9	6.7	242	180	108	87	1500	58	870	510	
48	4.7	7	242	378	74	74	520	93	483	15000	7.5
49	4.1	7	332	222	76	76	1100	94	1034	60000	7.3
50	5.2	7.7	471	178	98	100	3300	74	2442	10000	7.36
54	4.3	6.9	797	271	86	100	21000	28	5880	8800	7.27
55	4.3	7.8	287	200	62	110	4200	50	2100		
62	3.8	6.8	300	453	85	152	2000	80	1800	11200	7.39
64	4.3	7.4	148	251	127	143	920	65	598	180	7.52
65	5.5	7.1	383	301	124	140	3200	73	2336	1500	7.37
72	5	7.5	434		75	78	9000	65	5850	3400	7.27
77	4.6	6.9	277	250	253	200	2800	55	1540	7400	7.38
107	5	6.8	522	372	96	99	2540	95	2413	1180	7.33
112	6.2	6	3420	1100	2	89	1450	78	1131	80	7.34
115	4.8	7.2	273	219	96	80	1200	90	1080	180	
143	4.2	7.8	225	216	82	118	1600	18	288	500	7.33
144	4.5	7.5	182		110	81	4500	12	540	850	7.37
151	5.4	8.1	336	332	96	93	1600	81	1296		7.4
154	4.5	6.4	386	345	94	89	720	90	648	1400	
PARAMETROS INMUNOLOGICOS											
CASO	ADA-LP	IL2R-LP	CD8s-LP	IFN-LP	TNF-LP	IL2R-SP	CD86-SP	IFN-SP	TNF-SP		
5	100	3570	1417	1.5	6	1219	1400	0.7	6		
45	17	4562	731	0.7	16	1072	1184	0.3	16		
48	20	2000	239	1	2	1010	533	0.7	5		
49	17	5122	578	0.4	12	1706	465	0.24	17		
50	20	4298	261	0.7	11	605	388	0.5	8		
54	28	2904		0.7	8	569		0.5	19		
55	14	2972		0.9	6	963		0.7	25		
62	19	4548		0.6	0.5						
64	13	5172		0.3	54	1743		0.4	0.5		
65	20	5244		0.5	33	934		0.4	36		
72	21	2549	167	0.3	9	929	373	0.4	7		
77	22	4560	203	0.5	23	1251	543	0.5	30		
107	21	4800	405	0.9	0.5	875	685	0.6	0		
112	60	4772	55	0.6	5	660	490	0.5	5		
115	13	4400	255	1.8	0.5	1000	845	0.8	0		
143	25	1414	164	0.4	5	456	490	0.3	6		
144	20	1054	151	0.7	275	424	167	0.5	266		
151	25	1404		0.6	71	973		0.7	487		
154	22	3006		1.1	12	922		0.8	3		

EMPIEMAS											
DATOS GENERALES											
CASOS	sexo	Mantoux	edad	DIAG	DIAG	DIAG	VSG	FIEBRE	TABACO	LADO	
47	V		56	HEPAT	NEO	QTP				I	
51	V		70	ANEMIA			90		S	D	
74	V		68				14	S		DI	
78	V		47				120	S	S	D	
89	V	NEG	73				75	S	N	D	
114	V		53					S	S	D	
116	V		55	ETL			97	S	S	I	
124	M		90	HTA			99	S	N	D	
126	V	NEG	21	ADVP			91	S	S	D	
128	M		90					S	N	D	
130	M		85	HTA			115	S	N	I	
145	V			EPOC			60	S		D	
ANALITICA CONVENCIONAL											
CASOS	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
47	5	7.2	8124	349	20	98	28000	4	1120	8000	6.95
51	3.7	5.4	7068	240	2	120	6100	10	610	200	6.69
74	4.4	6.1	2930	335	113	136	2460	10	246	3020	6.9
78	4.9	7.3	1470	423	41	80	400	20	80	1670	7.13
89	5	6.1	2984	298	19	81	2020	20	404	1650	6.82
114	6.8	6.6	1207	490	0	140	25600	4	1024	57600	6.51
116	5.7	6.4	4040	305	119	99	700	8	56		6.95
124	3.9	6	14443	482	5	224	41000	5	2050	300	6.68
126	3	7.7	11330	296	0	132	13800	5	690	100	6.5
128	4	7.2	12420	490	10	180	32600	2	652	700	6.68
130	2.2	5	481	551	177	209	1780	20	385	2120	7.16
145	2.7	7.1	2547	156	32	113	1500	14	210	4500	7.12
PARAMETROS INMUNOLOGICOS											
CASOS	ADA-LP	IL2R-LP	CD8a-LP	IFN-LP	TNF-LP	IL2R-SP	CD8a-SP	IFN-SP	TNF-SP		
47		4173	100	0.6	15	1745	607	0.5	0		
51	51	6076	28	0.7	31	2084	637	0.5	0.5		
74	50	1972	10	0.4	0.5	3387	554	0.3	1		
78	29	3504		0.3	50	361		0.2	42		
89	64	5360	10	0.8	1	1320	735	0.4	1		
114	32	5100	105	0.6	32	2900	395	0.6	0.5		
116	60	2800	0	0.7	1	1600	785	0.5	1		
124	90	800	30	0.7	5	2000	300	0.6	1		
126	32	4000	20	0.7	0	2000	890	0.6	1		
128		11	45	1	1	1830	320	1	0.5		
130	26	2530	100	1	70	8900	800	1	8		
145		3240	0.5	0.5	12	1852	278	0.4	18		

PROCESOS HEMATOLOGICOS MALIGNOS											
DATOS GENERALES			edad	DIAG	DIAG	VSG	FIEBRE	TABACO	LADO		
CASOS	sexo	Mantoux									
42	V		81	SMD		110		EX	I		
52	V		88	LNH	DMND				I		
59	V		71	LCEL B	QUILOT						
70	M	NEG	82	LNL		108			D		
102	V		81			139	N	S	I		
ANALITICA CONVENCIONAL											
CASOS	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
42	2.5	5.5	145	380	100	148	520	94	488	336	7.29
52	4.5	7.6	978	333	80	90	1500	88	1020		7.31
59	2.2	5.3	359	631	72	77	140	90	128	2000	7.4
70	4.1	7.4	536	588	96	101	2500	90	2250	800	7.28
102	4.7	8.6	180	400	109	88	800	84	672	2480	7.41
PARAMETROS INMUNOLOGICOS											
CASOS	ADA-LP	IL2R-LP	CD8+LP	IFN-LP	TNF-LP	IL2R-SP	CD8+SP	IFN-SP	TNF-SP		
42	13	3636	425	1	0.8	2219	861	0.8	12		
52	17	6882	365	0.7	17	2349	611	0.6	21		
59		8924	285	0.7	0.5	4753	908	0.6	0.5		
70	37	18320	357	2.7	0.6	18236	578	0.7	28		
102	12	4800	235	1	1	3115	535	0.8	1		
TROMBOEMBOLISMO PULMONAR											
DATOS GENERALES			edad	DIAG	DIAG	VSG	FIEBRE	TABACO	LADO		
CASOS	sexo	Mantoux									
44	V	POS	67	DMND	N.PUL			S	BIL		
135	V		69				57	S	I		
136	V		69					S	I		
137	V		69					S	I		
ANALITICA CONVENCIONAL											
CASOS	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
44	4.3	7.1	1380	340	145	99	5300	96	5088	330	7.32
135	4.5	6	804	750	136	99	3200	60	1920	9400	7.36
136	5.1	8	631	422	118	120	2000	38	760	39200	
137	5.5	6.9	505	251	106	92	3400	64	2178	800	7.4
PARAMETROS INMUNOLOGICOS											
CASOS	ADA-LP	IL2R-LP	CD8+LP	IFN-LP	TNF-LP	IL2R-SP	CD8+SP	IFN-SP	TNF-SP		
44	40	6832	556	0.8	45	6596	275	0.7	101		
135	21	3675	178	1	1	690	400	0.8	0.5		
136	24	7000	270	1	1	1180	370	1	0.5		
137		4587	80	0.5	0.5	1039	349	0.4	1		
OTROS DIAGNOSTICOS											
DATOS GENERALES			edad	DIAG	VSG	FIEBRE	TABACO	LADO			
CASOS	sexo	Mantoux									
48	M	NEG	48	DRESS	76				I		
85	V	NEG	84	TRALMA					O		
117	M			HEMOT					I		
ANALITICA CONVENCIONAL											
CASOS	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
48	4.8	6.5	328	199	141	89	1400	36	504	10000	7.4
85	4.8	7.8	1216	418	92	150	3480	60	2076	7220	
117	5.8	7	824	412			3200	80	2560	800000	7.4
PARAMETROS INMUNOLOGICOS											
CASOS	ADA-LP	IL2R-LP	CD8+LP	IFN-LP	TNF-LP	IL2R-SP	CD8+SP	IFN-SP	TNF-SP		
48	20	1309	459	0.8	6	5500	2192	0.5	4		
85	20	8240	340	0.5	0.5	1485	750	0.5	0.5		
117		5200	280	1	16	840	410	0.9	0.5		

DATOS ESTADISTICOS									
TUBERCULOSIS									
	LIQUIDO PLEURAL					SANGRE PERIFERICA			
	ADA	IL2-R	CD8s	IFNg	TNF	IL2-R	CD8-s	IFNg	TNF
Mean	87.25926	10161.3	535.1739	75.55556	23.90741	2180.185	726.6522	0.888889	21.25926
Standard	9.701469	985.1241	#N/A	12.35207	5.686368	860.2359	#N/A	0.134008	5.311143
Median	77	8708	462	58	13	1230	593	0.7	11
Mode	90	#N/A	#N/A	17	20	1603	#N/A	0.5	0.5
Standard	50.41031	5118.855	408.9219	64.18323	28.54724	4469.917	413.0905	0.696327	27.59751
Variance	2541.199	26202677	167217.2	4119.487	873.0392	19980155	170643.8	0.484872	761.6225
Kurtosis	14.02997	1.355898	6.1347	1.007489	6.222247	25.79301	7.481908	16.07687	11.3587
Skewness	3.322369	1.057079	2.23422	1.276817	2.319059	5.033213	2.4748	3.699412	2.95574
Range	266	23240	1938	220	131.5	23730	1892	3.6	136
Minimum	40	1640	0	16	0.5	590	334	0.4	0
Maximum	306	24880	1938	236	132	24320	2226	4	136
Sum	2356	274355	12309	2040	645.5	58865	16713	24	574
Count	27	27	23	27	27	27	23	27	27
NEOPLASIAS									
	LIQUIDO PLEURAL					SANGRE PERIFERICA			
	ADA	IL2-R	CD8-s	IFNg	TNF	IL2R	CD8s	IFNg	TNF
Mean	24.76364	5386.304	209.5093	0.7875	20.43571	1413.778	482.2692	0.566667	10.24259
Standard	#N/A	467.8758	#N/A	0.044871	5.568078	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Median	23	4394.5	179.5	0.7	8.5	1148	425	0.5	4
Mode	28	7600	150	0.7	1	850	290	0.6	0.5
Standard	10.56192	3501.262	146.0748	0.335783	41.66768	852.2829	219.8555	0.204663	14.80085
Variance	111.5542	12258833	21337.85	0.11275	1736.195	726386.1	48336.44	0.041887	219.0651
Kurtosis	1.666448	4.401305	1.346698	2.866516	18.82218	5.420373	0.346436	0.23071	6.071562
Skewness	1.078919	1.874182	1.051311	1.60349	3.934329	2.074874	0.901855	0.786244	2.353465
Range	52	18867	670.5	1.6	255.5	4508	920	0.8	67
Minimum	8	489	0.5	0.4	0.5	472	144	0.2	0
Maximum	60	19356	671	2	256	4980	1064	1	67
Sum	1362	301633	11313.5	44.1	1144.4	76344	25078	30.6	553.1
Count	55	56	54	56	56	54	52	54	54
HIDROTORAX									
	LIQUIDO PLEURAL					SANGRE PERIFERICA			
	ADA	IL2-R	CD8s	IFNg	TNF	IL2-R	CD8-s	IFNg	TNF
Mean	17.4	3260.474	272.5294	1.031579	31.05263	3315.444	673.9412	0.672222	18.38889
Standard	#N/A	610.6869	#N/A	0.117242	18.13452	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Median	16	2705	256	0.9	10	1939.5	694	0.45	7
Mode	16	#N/A	#N/A	0.5	25	#N/A	707	0.4	3
Standard	4.42073	2661.923	204.8817	0.511048	79.04656	3875.641	286.165	0.843526	29.88781
Variance	19.54286	7085832	41976.51	0.26117	6248.358	15020596	81890.43	0.711536	893.281
Kurtosis	0.572878	8.65232	2.859591	-0.35403	17.79701	5.401165	-0.71194	16.71222	7.131476
Skewness	0.533006	2.626792	1.595294	0.853212	4.166814	2.346473	0.081024	4.025657	2.631793
Range	17	11904	791	1.6	352.5	14894	1026	3.8	116.5
Minimum	9	736	58	0.5	0.5	574	172	0.2	0.5
Maximum	26	12640	849	2.1	353	15468	1198	4	117
Sum	261	61949	4633	19.6	590	59678	11457	12.1	331
Count	15	19	17	19	19	18	17	18	18

DATOS ESTADISTICOS									
INESPECIFICAS									
	LIQUIDO PLEURAL					SANGRE PERIFERICA			
	ADA	IL2R	CDB	IFN	TNF	IL2R	CDB	IFN	TNF
Mean	26,15789	3597,421	385,4167	0,747368	28,92105	961,8333	613,5833	0,53	51,91667
Standard	4,700543	320,622	#N/A	0,089628	14,33156	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Median	20	4298	246,5	0,7	9	948,5	511,5	0,5	6,5
Mode	20	#N/A	#N/A	0,7	0,5	#N/A	490	0,5	6
Standard	20,48919	1397,559	377,7225	0,390681	62,46983	364,3399	346,7009	0,173443	124,4641
Variance	419,807	1953171	142674,3	0,152632	3902,48	132743,6	120201,5	0,030082	15491,3
Kurtosis	10,14453	-1,09061	5,022193	2,048167	15,15438	0,60734	1,802666	-1,06299	9,658397
Skewness	3,116949	-0,56067	2,150894	1,412558	3,773799	0,702874	1,43963	0,049617	3,119621
Range	87	4190	1362	1,5	274,5	1319	1233	0,56	487
Minimum	13	1054	55	0,3	0,5	424	167	0,24	0
Maximum	100	5244	1417	1,8	275	1743	1400	0,8	487
Sum	497	68351	4625	14,2	549,5	17313	7363	9,54	934,5
Count	19	19	12	19	19	18	12	18	18
EMPIEMAS									
	LIQUIDO PLEURAL					SANGRE PERIFERICA			
	ADA	IL2R	CDB	IFN	TNF	IL2R	CDB	IFN	TNF
Mean	48,22222	3297,167	40,77273	0,666667	18,20833	2498,25	572,8182	0,55	6,208333
Standard	#N/A	523,3997	#N/A	0,06072	6,63081	620,3392	#N/A	0,070173	3,583664
Median	50	3372	28	0,7	8,5	1926	607	0,5	1
Mode	32	#N/A	100	0,7	1	2000	#N/A	0,5	1
Standard	21,01653	1813,11	41,28884	0,210339	22,9698	2148,918	220,469	0,243086	12,41418
Variance	441,6944	3287366	1704,768	0,044242	527,6117	4617849	48606,56	0,059091	154,1117
Kurtosis	0,435143	-0,41535	-1,073	-0,09227	0,938344	8,561916	-1,55146	0,568615	7,038342
Skewness	0,898408	-0,30817	0,828037	0,036471	1,317098	2,744908	-0,11361	0,888574	2,622525
Range	64	6065	105	0,7	70	8539	612	0,8	42
Minimum	26	11	0	0,3	0	361	278	0,2	0
Maximum	90	6076	105	1	70	8900	890	1	42
Sum	434	39566	448,5	8	218,5	29979	6301	6,6	74,5
Count	9	12	11	12	12	12	11	12	12

DATOS ESTADISTICOS										
PROCESOS HEMATOLOGICOS MALIGNOS										
	LIQUIDO PLEURAL					SANGRE PERIFERICA				
	ADA	IL2R	CD8	IFN	TNF	IL2R	CD8	IFN	TNF	
Mean	19.75	8514.4	333.4	1.22	17.06	5734.4	658.2	0.66	12.1	
Standard	#N/A	2612.904	33.14453	0.376032	12.63264	2663.897	65.79164	0.04	5.148786	
Median	15	6892	357	1	1	3115	611	0.6	12	
Mode	#N/A	#N/A	#N/A	1	#N/A	#N/A	#N/A	0.6	#N/A	
Standard	11.70114	5842.63	74.11343	0.840833	28.24744	5956.655	147.1146	0.089443	11.51304	
Variance	136.9167	34136325	5492.8	0.707	797.918	35481744	21642.7	0.008	132.55	
Kurtosis	3.265035	2.736044	-0.91749	4.375661	3.678376	4.405686	3.140864	0.3125	-2.52948	
Skewness	1.80562	1.611251	-0.25682	2.060158	1.926923	2.083788	1.7087	1.257788	0.126159	
Range	25	14684	190	2	65.5	14017	373	0.2	25.5	
Minimum	12	3636	235	0.7	0.5	2219	535	0.6	0.5	
Maximum	37	18320	425	2.7	66	16236	908	0.8	26	
Sum	79	42572	1667	6.1	85.3	28672	3291	3.3	60.5	
Count	4	5	5	5	5	5	5	5	5	
TROMBOEMBOLISMO										
	LIQUIDO PLEURAL					SANGRE PERIFERICA				
	ADA	IL2R	CD8	IFN	TNF	IL2R	CD8	IFN	TNF	
Mean	28.33333	5473.5	271	0.825	11.875	2926.25	348.5	0.725	25.75	
Standard	#N/A	800.6669	102.6142	0.118145	11.0423	1890.844	26.64113	0.125	25.08361	
Median	24	5609.5	224	0.9	1	1109.5	359.5	0.75	0.75	
Mode	#N/A	#N/A	#N/A	1	1	#N/A	#N/A	#N/A	0.5	
Standard	10.21437	1601.334	205.2283	0.236291	22.08459	3781.687	53.28227	0.25	50.16722	
Variance	104.3333	2564270	42118.67	0.055833	487.7292	14301160	2839	0.0625	2516.75	
Kurtosis	#DIV/0!	-4.21733	1.53805	0.435732	3.997739	3.98043	1.567315	0.928	3.999557	
Skewness	1.565482	-0.22786	1.185948	-1.19382	1.999315	1.994118	-1.10416	-0.56	1.999868	
Range	19	3325	476	0.5	44.5	7706	125	0.6	100.5	
Minimum	21	3675	80	0.5	0.5	890	275	0.4	0.5	
Maximum	40	7000	556	1	45	8596	400	1	101	
Sum	85	21894	1084	3.3	47.5	11705	1394	2.9	103	
Count	3	4	4	4	4	4	4	4	4	

DATOS ESTADISTICOS											
TUBERCULOSIS											
	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
Mean	4.903704	7.253704	940.3704	356.7407	68.51852	97.51852	6216.296	76.7037	2355.556	7625.926	7.278148
Standard	0.165593	0.177208	78.26593	15.59052	4.808104	3.400758	3212.557	4.683977	376.9916	1569.626	0.024893
Median	5	7.3	870	338	74	95	2900	85	1798	4600	7.32
Mode	4.8	7.6	774	320	60	100	560	92	#N/A	10000	7.32
Standard	0.860448	0.920799	406.6817	81.01073	24.98364	17.67086	16692.94	24.33866	1958.906	8156.016	0.129349
Variance	0.74037	0.84787	165390	6562.738	624.1823	312.2593	2.79E+08	592.3704	3837312	66520602	0.016731
Kurtosis	0.038642	0.044242	0.643545	-0.46903	1.513744	0.887869	25.93742	3.152059	3.190717	9.060504	6.303912
Skewness	-0.79985	0.072695	0.769731	0.54985	-0.87809	0.963964	5.051128	-1.766	1.495598	2.605869	-2.12006
Range	3.3	3.85	1685	307	114	69	88440	100	8800	39360	0.63
Minimum	2.9	5.65	365	238	5	73	560	0	0	640	6.8
Maximum	6.2	9.5	2050	545	119	142	89000	100	8600	40000	7.43
Sum	132.4	195.85	25390	9632	1850	2633	167840	2071	63600	205900	196.51
Count	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
Confidenc	0.324556	0.34732	153.3982	30.55682	9.423697	6.665354	6296.487	9.180413	738.8889	3076.406	0.04879
NEOPLASIAS											
	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
Mean	4.296429	6.953571	847.375	379.0714	105.2679	113.6607	2941.786	70.98214	2088.804	214341.8	7.3314
Standard	0.100129	0.107388	98.51822	29.19584	6.098621	4.869817	386.3436	2.86951	305.5913	#N/A	#N/A
Median	4.3	6.8	551	338.5	107	103.5	2250	76	1416	17560	7.345
Mode	4.2	6.6	#N/A	200	116	110	1400	80	2250	10000	7.4
Standard	0.749294	0.80362	737.2429	218.4817	45.6379	36.44237	2891.131	21.47344	2286.836	673592.6	0.096912
Variance	0.561442	0.645805	543527.1	47734.25	2082.818	1328.046	8358637	461.1088	5229617	4.54E+11	0.009392
Kurtosis	-0.22355	-0.11836	1.238538	7.72459	3.379512	0.330361	10.77849	-0.01608	9.520031	16.84011	4.795613
Skewness	-0.15253	-0.02569	1.409524	1.984702	0.960216	1.012363	2.956542	-0.90858	2.936797	4.087383	-1.56786
Range	3.4	3.9	3049	1379	258	144	16500	78	12020	3679840	0.55
Minimum	2.4	4.7	143	19	5	63	500	22	220	160	6.93
Maximum	5.8	8.6	3192	1398	263	207	17000	100	12240	3680000	7.48
Sum	240.6	389.4	47453	21228	5895	6365	164740	3975	116973	11788800	366.57
Count	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56	50
Confidenc	0.196248	0.210477	193.0919	57.22272	11.95306	9.544651	757.2184	5.624127	598.947	178017.8	0.026862
TRASUDADOS											
	prot.lp	prot.sp	ldh.lp	ldh.sp	gluc.lp	gluc.sp	leucos	linf%	linf.tot	hematies	pH
Mean	1.983333	6.433333	144.5	327.9444	137.9444	123.5	838.6667	76.22222	664.2778	2203.333	7.402353
Standard	0.194239	0.147529	14.19731	27.04214	11.88767	14.01079	194.0993	4.215251	170.6955	688.7409	#N/A
Median	2.25	6.35	137.5	326.5	119.5	101.5	525	81	421	860	7.38
Mode	2.3	6	196	210	107	82	200	90	#N/A	#N/A	7.38
Standard	0.824086	0.625911	60.2341	114.7301	50.43513	59.44276	823.4936	17.88379	724.1997	2922.08	0.048157
Variance	0.679118	0.391765	3628.147	13163	2543.703	3533.441	678141.6	319.8301	524465.2	8538553	0.002319
Kurtosis	-0.07997	0.94574	2.696026	-0.13547	1.099352	4.128942	0.799222	5.139944	1.814035	2.200593	0.45802
Skewness	-0.36912	0.516364	0.844655	0.635044	1.441327	2.143956	1.393387	-1.94771	1.714535	1.705754	1.160567
Range	3.1	2.7	284	408	163	215	2696	80	2399	9880	0.16
Minimum	0.5	5.2	25	185	89	76	104	20	93	20	7.34
Maximum	3.6	7.9	309	593	252	291	2800	100	2492	10000	7.5
Sum	35.7	115.8	2601	5903	2483	2223	15096	1372	11957	39660	125.84
Count	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	17
Confidenc	0.380701	0.28915	27.82618	53.00155	23.29938	27.46061	380.4271	8.261727	334.5565	1349.905	0.022892

COMPARACION LP vs SP					
PARAMETROS INMUNOLOGICOS					
TUB	LP	SP			LP/SP
IL2R	10161	2180	S	p<0,001	4,66
CD8s	535	729	S	p<0,05	0,73
IFNg	75,5	0,88	S	p<0,001	85,7
TNF	23,9	21,2	NS		1,12
NEO					
IL2R	5337	1413	S	p<0,001	3,77
CD8s	201	482	S	p<0,001	0,41
IFNg	0,79	0,56	S	p<0,001	1,41
TNF	19	10,2	S	p<0,05	1,86
TRAS					
IL2R	3350	3315	NS		1,01
CD8s	272	673	S	p<0,001	0,4
IFNg	1	0,67	CS	p<0,1	1,49
TNF	13,1	18,3	NS		0,71
INESP					
IL2R	3544	961	S	p<0,001	3,68
CD8s	385	613	S	p<0,01	0,62
IFNg	0,74	0,5	S	p<0,01	1,48
TNF	30,6	51,9	NS		0,58
TEP					
IL2R	5473	2926	NS		1,87
CD8s	271	348	NS		0,77
IFNg	0,82	0,72	CS	p<0,1	1,13
TNF	18,8	25,7	NS		0,73
EMP					
IL2R	3297	2498	NS		1,31
CD8s	40	572	S	p<0,001	0,06
IFNg	0,66	0,55	S	p<0,01	1,2
TNF	18,2	6,2	CS	p<0,1	2,93
LEUC					
IL2R	8514	5734	S	p<0,05	1,48
CD8s	333	658	S	p<0,05	0,5
IFNg	1,22	0,66	NS		1,84
TNF	17	12,1	NS		1,4

COEFICIENTES DE CORRELACION			
EL MISMO PARAMETRO EN LP Y SP			
SIGNIFICATIVOS CON $p < 0,05$			
TUBERCULOSIS		PROT	0,43979
		LDH	0,62268
		CD8	0,53668
NEOPLASIAS		PROT	0,48717
		LDH	0,52148
		GLUC	0,51078
		CD8	0,46717
		IFN	0,42916
		TNF	0,69266
TRASUDADOS		GLUC	0,85099
		IFN	0,53215
INESPECIFICAS		PTOT	0,46767
		LDH	0,94088
		GLUC	0,66876
		IL2R	0,53659
		CD8	0,87143
		IFN	0,77772
		TNF	0,60728
EMPIEMAS		IFN	0,88899
LEUCOSIS		PROT	0,98082
		IL2R	0,96935
		TNF	0,80848

COEFICIENTES DE CORRELACION			
DIFERENTES PARAMETROS			
SIGNIFICATIVOS CON $p < 0,05$			
TUBERCULOSIS			
	PROT. LP CON:	GLUC.LP	0,45185
		GLUC.SP	-0,51287
		LEUC	-0,45405
		PH	0,65631
	LDH. SP CON:	GLUC.LP	-0,38722
		PH	-0,38956
	GLUC. LP CON:	LEUC	-0,4826
		PH	0,77451
		ADA	-0,53607
	GLUC. SP CON:	LEUC	0,46094
		LINF.TOT	-0,38071
	LEUCOCITOS CON	LINF%	-0,61664
		PH	-0,73072
		ADA	0,87384
	PH CON:	ADA	-0,69678
	IL2R. SP CON:	CD8. SP	0,81335
	LINFOS % CON:	LINF. TOT	0,39321
		PH	0,3733
		ADA	-0,46602

COEFICIENTES DE CORRELACION			
DIFERENTES PARAMETROS			
SIGNIFICATIVOS CON $p < 0,05$			
NEOPLASIAS			
	PROT. LP CON:	LINF. %	-0,29249
	LDH. LP CON:	GLUC.LP	-0,38277
		PH	-0,34659
	GLUC. LP CON:	ADA	0,33491
	LEUCOCITOS CON:	LINF. TOT	0,92972
		CD8. LP	0,30678
		TNF. LP	0,36
	LINFOS % CON:	LINF. TOT	0,3007
	LINFOS. TOT. CON:	CD8.LP	0,32371
		TNF.LP	0,49117
	HEMATIES CON:	PH	-0,3825
	PH CON:	CD8.LP	0,35827
	IL2R. SP CON:	CD8.SP	0,52904

COEFICIENTES DE CORRELACION			
DIFERENTES PARAMETROS			
SIGNIFICATIVOS CON $p < 0,05$			
TRASUDADOS			
	PROT. LP CON:	IFN.LP	-0,5867
		IFN.SP	-0,46951
	PROT. SP CON:	CD8.LP	-0,51519
		CD8.SP	-0,61832
	GLUC. LP CON:	HEMAT.	0,54658
	LEUCOCITOS CON:	LINF.TOT	0,94707
	LINFOS % CON:	TNF.SP	-0,51615
	HEMATIES CON:	IL2R.SP	0,45538
	ADA CON:	CD8.LP	0,49028
	IL2R. LP CON:	IFN.SP	0,83875
	CD8. LP CON:	TNF.LP	0,57793

COEFICIENTES DE CORRELACION			
DIFERENTES PARAMETROS			
SIGNIFICATIVOS CON $p < 0.05$			
PL. INESPECIFICAS			
	PROT. LP CON:	LDH.LP	0,57265
		LDH.SP	0,53383
	LDH. LP CON:	GLUC.LP	-0,54236
		ADA	0,81695
	LDH. SP CON:	GLUC.LP	-0,53472
		ADA	0,81051
	LEUCOCITOS CON:	LINF.%	-0,46075
		LINF.TOT	0,85022
		PH	-0,49394
	LINFOS % CON:	IL2R.LP	0,49281
		IL2R.SP	0,47242
		TNF.LP	-0,49602
	LINF. TOT. CON:	PH	-0,54942
	HEMATIES CON:	IL2R.SP	0,48748
	ADA CON:	CD8.LP	0,6397
		CD8.SP	0,57844
	IL2R. LP CON:	TNF.SP	-0,53793

COEFICIENTES DE CORRELACION			
DIFERENTES PARAMETROS			
SIGNIFICATIVOS CON $p < 0,05$			
EMPIEMAS			
PROT. LP CON:		HEMAT	0,70043
PROT. SP CON:		IL2R.SP	-0,63365
LDH. LP CON:		LEUC	0,74132
		LINF%	-0,68146
		LINF TOT	0,66993
		PH	-0,56448
LDH. SP CON:		GLUC.SP	0,64661
		CD8.LP	0,67094
		IFN.SP	0,58783
GLUC. LP CON:		PH	0,64291
		IL2R.SP	0,70127
GLUC. SP CON:		LEUC	0,53813
		LINF TOT	0,57042
		IL2R.LP	-0,63564
		IL2R.SP	0,59481
		IFN.LP	0,53547
		IFN.SP	0,78281
LEUCOCITOS CON:		LINF %	-0,76173
		LINF TOT	0,86979
		PH	-0,568
		CD8.SP	-0,55783
LINFOS% CON:		LINF TOT	-0,58793
		PH	0,6881
		TNF.SP	0,59467
LINFOS TOT. CON:		PH	-0,54594
PH CON		TNF.SP	0,60163
ADA CON:		TNF.LP	-0,62208
IL2R. SP CON:		IFN.SP	0,60096
		TNF.LP	0,58462
CD8.LP CON:		TNF.LP	0,67846
IFN. LP CON:		TNF.SP	-0,5437

COEFICIENTES DE CORRELACION				
DIFERENTES PARAMETROS				
SIGNIFICATIVOS CON $p < 0,05$				
PROCESOS HEMATOLOGICOS MALIGNOS				
	PROT. LP CON:		CD8.SP	-0,83336
	PROT. SP CON:		CD8.SP	-0,8182
	LDH. LP CON:		LINF. %	-0,81253
	GLUC. LP CON:		CD8.SP	-0,76905
	GLUC. SP CON:		CD8.LP	0,77846
			IFN.SP	0,95369
	LEUCOCITOS CON:		LINF.TOT	0,98465
			IL2R.LP	0,76422
			IL2R.SP	0,77148
			IFN.LP	0,81846
			TNF.LP	0,9376
			TNF.SP	0,87559
	LINFOS TOT. CON:		IL2R.LP	0,81809
			IL2R.SP	0,85359
			IFN.LP	0,9043
			TNF.LP	0,96906
			TNF.SP	0,83614
	PH CON:		CD8.LP	-0,86243
			TNF.SP	-0,91852
	IL2R. LP CON:		IFN.LP	0,86681
			TNF.LP	0,92732
	IL2R. SP CON:		IFN.LP	0,9565
			TNF.LP	0,9355
	CD8. LP CON:		IFN.SP	0,77992
	IFN. LP CON:		TNF.LP	0,9282

COMPARACION LP vs SP				
PARAMETROS CONVENCIONALES				
	LP	SP		
TUB				
PROT	4.9	7.2	S	p<0.001
LDH	940	356	S	p<0.001
GLUC	68	97	S	p<0.001
NEO				
PROT	4.3	6.9	S	p<0.001
LDH	847	379	S	p<0.001
GLUC	105	113	NS	
TRAS				
PROT	2	6.4	S	p<0.001
LDH	144	325	S	p<0.001
GLUC	139	123	S	p<0.05
INESP				
PROT	4.7	6.4	S	p<0.001
LDH	628	358	CS	p<0.1
GLUC	94	107	NS	
TEP				
PROT	4.8	7	S	p<0.5
LDH	830	440	NS	
GLUC	126	102	NS	
EMP				
PROT	4.2	6.5	S	p<0.001
LDH	5753	367	S	p<0.01
GLUC	44	134	S	p<0.001
LEUC				
PROT	3.6	6.8	S	p<0.001
LDH	435	462	NS	
GLUC	91	100	NS	

COMPARACION LP vs SP					
PARAMETROS INMUNOLOGICOS					
TUB	LP	SP			LP/SP
IL2R	10161	2180	S	p<0,001	4,66
CD8s	535	729	S	p<0,05	0,73
IFNg	75,5	0,88	S	p<0,001	85,7
TNF	23,9	21,2	NS		1,12
NEO					
IL2R	5337	1413	S	p<0,001	3,77
CD8s	201	482	S	p<0,001	0,41
IFNg	0,79	0,56	S	p<0,001	1,41
TNF	19	10,2	S	0,0,05	1,86
TRAS					
IL2R	3350	3315	NS		1,01
CD8s	272	673	S	p<0,001	0,4
IFNg	1	0,67	CS	p<0,1	1,49
TNF	13,1	18,3	NS		0,71
INESP					
IL2R	3544	961	S	p<0,001	3,68
CD8s	385	613	S	p<0,01	0,62
IFNg	0,74	0,5	S	p<0,01	1,48
TNF	30,6	51,9	NS		0,58
TEP					
IL2R	5473	2926	NS		1,87
CD8s	271	348	NS		0,77
IFNg	0,82	0,72	CS	p<0,1	1,13
TNF	18,8	25,7	NS		0,73
EMP					
IL2R	3297	2498	NS		1,31
CD8s	40	572	S	p<0,001	0,06
IFNg	0,66	0,55	S	p<0,01	1,2
TNF	18,2	6,2	CS	p<0,1	2,93
LEUC					
IL2R	8514	5734	S	p<0,05	1,48
CD8s	333	658	S	p<0,05	0,5
IFNg	1,22	0,66	NS		1,84
TNF	17	12,1	NS		1,4

DISTRIBUCION NORMAL	DISTRIBUCION NO NORMAL
<i>TUBERCULOSIS</i>	
PROTEÍNAS LP	LEUCOCITOS
PROTEÍNAS SP	IL-2R SP
LDH LP	INTERFERÓN SP
LDH SP	
GLUCOSA LP	
GLUCOSA SP	
% DE LINFOCITOS	
LINFOCITOS TOTALES	
HEMATÍES	
pH	
ADA LP	
IL-2R LP	
CD8 LP	
CD8 SP	
INTERFERÓN LP	
TNF LP	
TNF SP	
<i>NEOPLASIAS</i>	
PROTEÍNAS LP	LDH LP
PROTEÍNAS SP	LEUCOCITOS
LDH LP	LINFOCITOS TOTALES
GLUCOSA LP	HEMATÍES
GLUCOSA SP	ADA LP
% DE LINFOCITOS	IL-2R SP
pH	CD8 LP
IL-2R LP	INTERFERÓN LP
CD8 SP	INTERFERÓN SP
	TNF LP
	TNF SP
<i>TRASUDADOS</i>	
PROTEÍNAS LP	LINFOCITOS TOTALES
PROTEÍNAS SP	pH
LDH LP	IL-2R SP
LDH SP	INTERFERÓN SP
GLUCOSA LP	TNF SP
GLUCOSA SP	
LEUCOCITOS	
% DE LINFOCITOS	
HEMATÍES	
ADA LP	
IL-2R LP	
CD8 LP	
CD8 SP	
INTERFERÓN LP	
TNF LP	

DISTRIBUCION NORMAL	DISTRIBUCION NO NORMAL
<i>PL. INESPECIFICAS</i>	
PROTEINAS LP	LDH LP
PROTEINAS SP	LEUCOCITOS
LDH SP	ADA LP
GLUCOSA LP	TNF LP
GLUCOSA SP	TNF SP
% DE LINFOCITOS	
LINFOCITOS TOTALES	
HEMATÍES	
pH	
IL-2R LP	
IL-2R SP	
CD8 LP	
CD8-SP	
INTERFERÓN LP	
INTERFERÓN SP	
<i>EMPIEMAS</i>	
PROTEINAS LP	TNF SP
PROTEINAS SP	
LDH LP	
LDH SP	
GLUCOSA LP	
GLUCOSA SP	
LEUCOCITOS	
% DE LINFOCITOS	
LINFOCITOS TOTALES	
HEMATÍES	
pH	
ADA LP	
IL-2R LP	
IL-2R SP	
CD8 LP	
CD8-SP	
INTERFERÓN LP	
INTERFERÓN SP	
TNF LP	
<i>TROMBOEMBOLISMO</i>	
PROTEINAS LP	
PROTEINAS SP	
LDH LP	
LDH SP	
GLUCOSA LP	
GLUCOSA SP	
LEUCOCITOS	
% DE LINFOCITOS	
LINFOCITOS TOTALES	
HEMATÍES	
pH	
ADA LP	
IL-2R LP	
IL-2R SP	
CD8 LP	
CD8-SP	
INTERFERÓN LP	
INTERFERÓN SP	
TNF LP	
TNF SP	