

DEPARTAMENT DE MEDICINA  
FACULTAT DE MEDICINA  
UNIVERSITAT AUTÓNOMA DE BARCELONA

INFLUENCIA DE LOS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN  
SOBRE LA DEGRADACIÓN DE LA FIBRINA EN LOS  
DERRAMES PLEURALES INFECCIOSOS

Hospital General Universitari Vall d'Hebron

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR:

Carmen Alemán Llansó

DIRIGIDA POR:

Dr. Tomás Fernández de Sevilla

Ribosa

Dr. José Alegre

Martín

Barcelona, 2000

*A mi familia,  
en especial a mis padres*

## AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Pepe Alegre a quien debo mis logros profesionales. Por levantar mi moral y no dejar que me dejará vencer por el desaliento.
- Al Dr. Tomás Fernández de Sevilla mi crítico más exigente, por sus consejos profesionales y amistad.
- Al Dr. Jaime Guardia un ejemplo a seguir.
- Al Dr. Jesús Recio porque además de una cordial relación profesional, sin ninguna duda mantenemos una sincera amistad.
- Al Dr. Agustí Sellas por acompañarme en mis años de facultad, pero sobretodo convertirse en un gran amigo desde los años de residencia.
- A la Dra. Eva Ruiz por su perseverancia, entusiasmo y gran amistad.
- Al Dr. Carlos Cervera que conozco y considero mi amigo.
- Al Dr. Lluís Armadans por el esfuerzo plasmado en este trabajo y su valía personal.
- A la Dra. Rosa M<sup>a</sup> Segura, la Dra. Encarna Varela y al Dr. Ramon Martí por su gran colaboración y aportaciones.
- A la Dra. Monasterio y Dra. Angles por su metódica de trabajo.
- A las Dras. Eva Domingo, Ana Vázquez y Teresa Soriano por su amistad y colaboración.
- A los Dres. Oscar Len, Daniel Iglesias y Javier Sarrapio por su compañerismo y apoyo.
- Al Dr. Antonio Segura y al Dr. Josep Maria Suriñach por haber trabajado juntos tantos años.
- Al Dr. Jordi Jufresa por su amistad.
- Al Dr. Jordi Klamburg por su apoyo.
- A los Servicios de Medicina Interna, Microbiología, Hematología y Anatomía Patológica.
- A la Supervisora y enfermeras del Hospital de la Esperanza de la Unidad de Medicina Interna de la Vall d'Hebron por su gran ayuda.
- A las enfermeras, técnicos y auxiliares de los laboratorios de Bioquímica, Hemostasia y Microbiología.
- Al Fondo de Investigación Sanitaria (FIS 98/0747).
- A los enfermos, nuestra auténtica y única razón de ser.

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1. La pleura. Estudio fisiopatológico.....	2
2. La inflamación pleural.....	7
3. Los mediadores de inflamación pleural.....	21
4. El sistema de la fibrinólisis en el líquido pleural	31
5. Asociación de los marcadores de inflamación al sistema de la fibrinólisis.....	39
 <b>JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	 <b>48</b>
 <b>PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	 <b>54</b>
1. Pacientes.....	55
2. Material y método.....	59
3. Análisis estadístico.....	64
 <b>RESULTADOS</b> .....	 <b>68</b>
1. Análisis descriptivo de los resultados. Comparación de medias entre los diferentes grupos de derrame pleural.....	69
1.1 Resultados en sangre .....	71
1.2 Resultados en pleura .....	79
1.3 Comparación de medias: plasma - líquido pleural	88
2. Correlación .....	91
2.1 Correlación entre los marcadores de actividad neutrofílica y el sistema de la fibrinólisis en los derrames pleurales exudados .....	92
2.2 Correlación entre los marcadores de actividad neutrofílica y el sistema de la fibrinólisis en los derrames pleurales infecciosos .....	93
2.3 Correlación entre los marcadores de actividad neutrofílica y el sistema de la fibrinólisis en los empiemas .....	94
2.4 Correlación entre los marcadores de actividad neutrofílica y el sistema de la fibrinólisis en los derrames pleurales tuberculosos .....	95
2.5 Correlación entre los marcadores de actividad neutrofílica y el sistema de la fibrinólisis en los derrames neoplásicos .....	96
3. Análisis de componentes principales del sistema de la fibrinólisis .....	97
4. Correlación .....	104
4.1 Correlación entre los marcadores de actividad neutrofílica y los componentes principales del sistema de la fibrinólisis en los derrames pleurales exudados .....	105
5. Análisis de la varianza y de la covarianza .....	106
5.1 Comparación entre infecciosos y neoplásicos ....	107
5.2 Comparación entre empiemas y tuberculosos .....	112

<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>116</b>
1. El sistema de la fibrinólisis.....	117
2. Sistema de la fibrinólisis en plasma y líquido pleural.....	128
3. Asociación del sistema de la fibrinólisis y los mediadores de la inflamación.....	131
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>143</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>146</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>153</b>

# **INTRODUCCIÓN**

## **1. LA PLEURA. ESTUDIO FISIOPATOLÓGICO**

El espacio pleural se encuentra entre la pleura visceral que recubre al pulmón y la pleura parietal que tapiza la superficie interna de la cavidad torácica <sup>1</sup>.

En condiciones fisiológicas la cavidad pleural es un espacio potencial que contiene una mínima cantidad de líquido libre con un contenido bajo en proteínas, menor a 1,5 gramos por dL de líquido pleural y una celularidad escasa de aproximadamente 1500 por mL constituida fundamentalmente por linfocitos, macrófagos y células mesoteliales <sup>1-4</sup>.

Este líquido pleural actúa a modo de lubricante, y se encarga de disminuir la fricción entre el pulmón y la pared torácica durante los movimientos respiratorios, permitiendo así a la pleura visceral deslizarse sobre la pleura parietal <sup>1</sup>.

La pleura es una membrana serosa funcionalmente dinámica. Esta membrana está constituida por varias capas celulares que se dividen en la capa fibroelástica, el submesotelio y finalmente una capa de células mesoteliales <sup>5</sup>.

La capa fibroelástica está formada por una densa e

irregular banda de tejido conectivo que está compuesto fundamentalmente de colágeno y elastina y en cuyo interior se encuentran vasos sanguíneos, fundamentalmente capilares, que proceden de las arterias intercostales en la superficie parietal y de las arterias bronquiales en la superficie visceral, vasos linfáticos y nervios.

El submesotelio situado entre la capa fibroelástica y las células mesoteliales contiene proteoglicanos y fibroblastos.

Las células mesoteliales se disponen en la superficie de la pleura distribuyéndose en una porción apical y otra basal. Estas células mesoteliales son planas cuando alcanzan el submesotelio mientras que en la superficie apical contienen largas y numerosas microvellosidades que fisiológicamente recogen glicoproteínas ricas en ácido hialurónico para disminuir la fricción entre el pulmón y la pared torácica.

Sin embargo se han demostrado otras muchas funciones de las células mesoteliales entre las que fundamentalmente destacan los mecanismos de respuesta ante los procesos de inflamación pleural <sup>5-7</sup>.

Así, las células mesoteliales han evidenciado capacidad para fagocitar bacterias u otras sustancias en el



espacio pleural, liberar óxido nítrico que actuaría sobre los microorganismos bacterianos participando en su destrucción y cambiar de forma local la permeabilidad pleural hacia las proteínas.

Estos cambios en la permeabilidad de la capa de células mesoteliales que se producen tras la interacción con bacterias, interleuquinas y neutrófilos se han implicado en la patogénesis del derrame pleural secundario a un proceso inflamatorio <sup>5,6</sup>.

Aunque en general el líquido pleural se acumula cuando su formación excede la capacidad de absorción por los linfáticos de la pleura parietal, los mecanismos etiopatogénicos de su formación varían dependiendo de la etiología del derrame pleural <sup>1,2,8</sup>.

Así, se ha demostrado que cuando la causa del derrame pleural es secundaria a un exceso de producción del líquido pleural, los mecanismos de formación del líquido en ausencia de inflamación pleural incluyen fundamentalmente:

- el aumento en el volumen intersticial pulmonar, que se produce en los pacientes con insuficiencia cardíaca izquierda o síndrome de distress respiratorio.
- el aumento de la presión intravascular de la pleura

en los pacientes con insuficiencia cardiaca izquierda o derecha y el síndrome de vena cava superior.

- el aumento en la cifra de proteínas en líquido pleural
- el descenso en la presión pleural que se produce en los pacientes con atelectasia pulmonar
- el paso de líquido libre intraperitoneal al espacio pleural a través de agujeros diafragmáticos
- el acumulo de líquido quiloso cuando se rompe el conducto torácico

Si el mecanismo de producción del derrame pleural consiste en una disminución en la absorción del líquido pleural, los mecanismos etiopatogénicos incluyen principalmente:

- el bloqueo del drenaje linfático de la pleura parietal por obstrucción del drenaje linfático, y dado que los linfáticos drenan en la circulación sistémica venosa, la elevación de la presión vascular sistémica que se produce en el síndrome de vena cava superior o en la insuficiencia cardiaca derecha disminuyen el flujo linfático

Si el derrame pleural se produce en el contexto de un proceso inflamatorio intervienen otros factores, que están fundamentalmente en relación con la presencia de neutrófilos y citoquinas, y que tendrán como respuesta una alteración en la permeabilidad de la capa de células mesoteliales, inicialmente local, y rápidamente amplificada al resto de la superficie pleural <sup>5</sup>.

## **2. LA INFLAMACIÓN PLEURAL**

La afectación pleural en las infecciones respiratorias fue descrita por primera vez hace más de 300 años, y ya una publicación que data de 1879 relata un acumulo local de la celularidad y de mediadores de la inflamación con una proliferación de células jóvenes en el desarrollo de los empiemas <sup>9</sup>.

Hoy en día, y a pesar de las nuevas terapéuticas antimicrobianas, las infecciones del espacio pleural siguen siendo una causa muy importante de morbilidad y mortalidad <sup>10-13</sup>.

Generalmente del 40 al 60 % de los pacientes ingresados con neumonía desarrollan derrame pleural paraneumónico. El líquido pleural se puede acumular en pocas horas con graves consecuencias para los pacientes que no son tratados de forma adecuada <sup>5,14-16</sup>.

Tras la infección del espacio pleural se produce una intensa respuesta inflamatoria local que puede evolucionar hacia una resolución completa de dicha infección con un total restablecimiento del mesotelio, aunque sin embargo también puede, por una disregulación en el proceso de reparación, desembocar en una fibrosis pleural lo que

condicionará una severa disfunción anatómica y fisiológica del pulmón y la pared torácica.

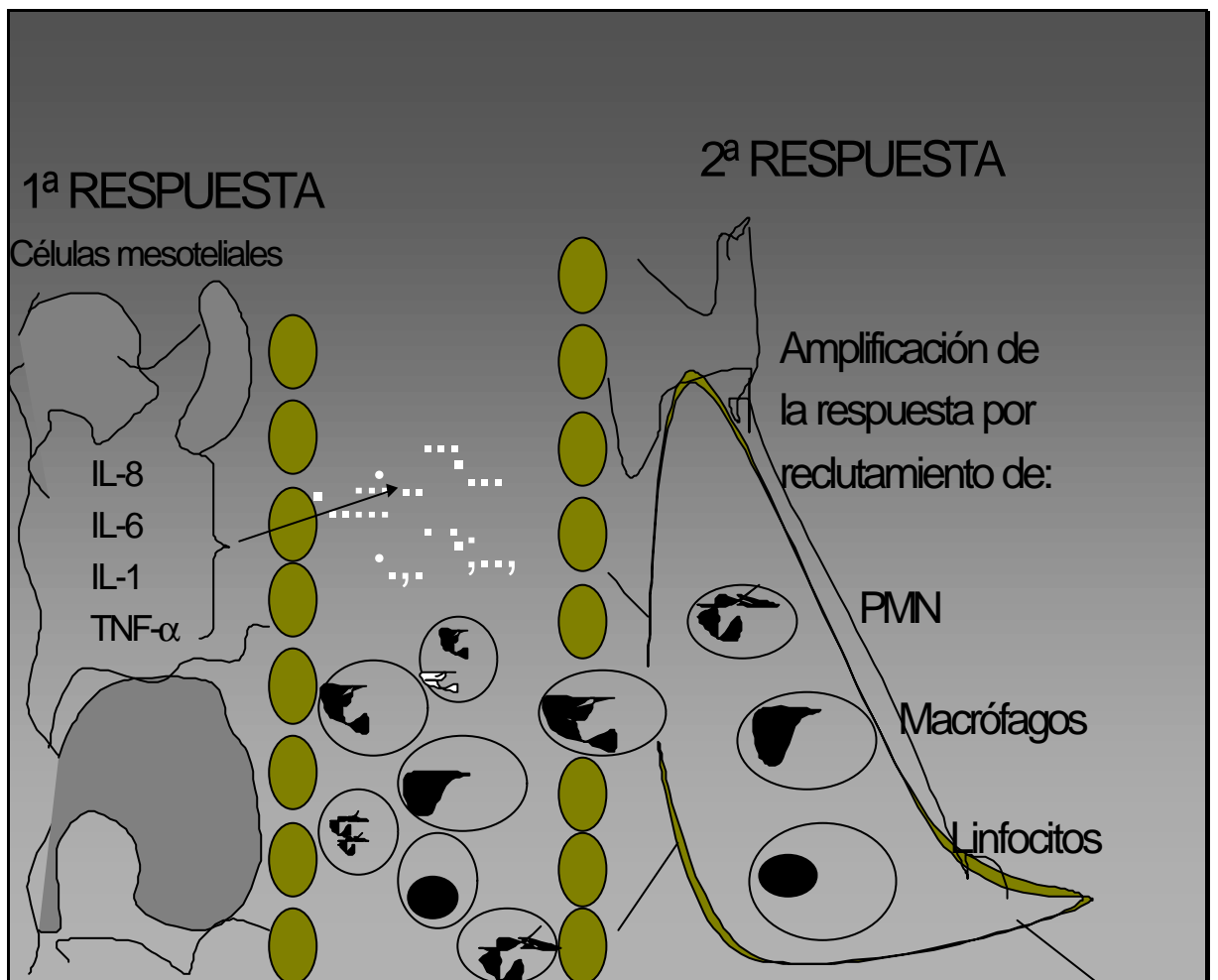
A pesar del acuerdo general acerca de la participación directa del mesotelio en la respuesta inflamatoria inicial, ya que se han evidenciado alteraciones en la permeabilidad pleural de forma inmediata tras la interacción de las células mesoteliales con bacterias o citoquinas, hay escasos trabajos que hayan estudiado su papel en la patogénesis de los empiemas y los derrames paraneumónicos<sup>5</sup>.

La respuesta del mesotelio incluye una fase primaria y una secundaria (Fig 1).

La respuesta primaria o inicial por parte de las células mesoteliales, que actúan como la primera capa celular que recubre tanto el pulmón como la pared torácica tras la agresión local, resulta en la liberación de mediadores de inflamación.

La respuesta secundaria que estaría mediada por las citoquinas liberadas y activadas por la respuesta mesotelial primaria y las células inflamatorias reclutadas, se encargaría de aumentar y perpetuar el proceso de inflamación local.

FIGURA 1. RESPUESTA INFLAMATORIA DEL MESOTELIO PLEURAL TRAS LA AGRESIÓN BACTERIANA.



Así pues, las células mesoteliales pleurales responderían a estímulos tales como las bacterias, las

endotoxinas de las bacterias Gramnegativas o las exotoxinas de las bacterias Grampositivas con la liberación de potentes citoquinas proinflamatorias.

La activación de la capa de células mesoteliales provoca la aparición de unos gaps o espacios intercelulares que se asocian con cambios en la morfología de las células mesoteliales. Este fenómeno permite el paso de las células inflamatorias al espacio pleural.

Las citoquinas son proteínas de bajo peso molecular que oscilan desde 8 a 30000 Da, liberadas por un gran número de células y que poseen múltiples funciones biológicas <sup>17-19</sup>.

Las citoquinas son producidas primariamente como respuesta a un estímulo externo, fundamentalmente una enfermedad o estímulo inflamatorio contribuyendo a las respuestas inmunes e inflamatorias <sup>20,21</sup>.

Se han detectado cifras elevadas de las citoquinas proinflamatorias en los tejidos, líquidos orgánicos o suero de pacientes con procesos infecciosos locales o sistémicos, lo cual atribuye a estas citoquinas un importante papel como mediador en la respuesta inflamatoria <sup>22-24</sup>.

En el mesotelio estas citoquinas actuarían reclutando neutrófilos y células mononucleares permitiendo el

movimiento de dichas células a través del mesotelio activado hacia el espacio pleural <sup>25-31</sup>.

Los neutrófilos y células mononucleadas posteriormente también producirán y liberarán localmente citoquinas en cantidades importantes lo cual mantendrá la respuesta inflamatoria en el espacio pleural <sup>5</sup>.

El reclutamiento y migración de los leucocitos polimorfonucleares y fagocitos al espacio pleural son responsables de la aparición del líquido pleural tras la infección pleural.

La evolución desde una fase inicial de derrame paraneumónico no complicado hasta el empiema ha sido clásicamente separada en una fase exudativa, un estadio fibrinopurulento y el estadio final organizativo del empiema (Tabla 1) <sup>15</sup>.

En la fase exudativa se produce un aumento de la permeabilidad como respuesta a la agresión tisular con acumulo de células inflamatorias en el espacio pleural y paso de líquido pleural estéril procedente del intersticio pulmonar al espacio pleural. Este líquido pleural se caracteriza por una escasa celularidad con predominio neutrofílico, elevado contenido de proteínas y un pH y glucosa normales. En esta fase la cantidad de líquido

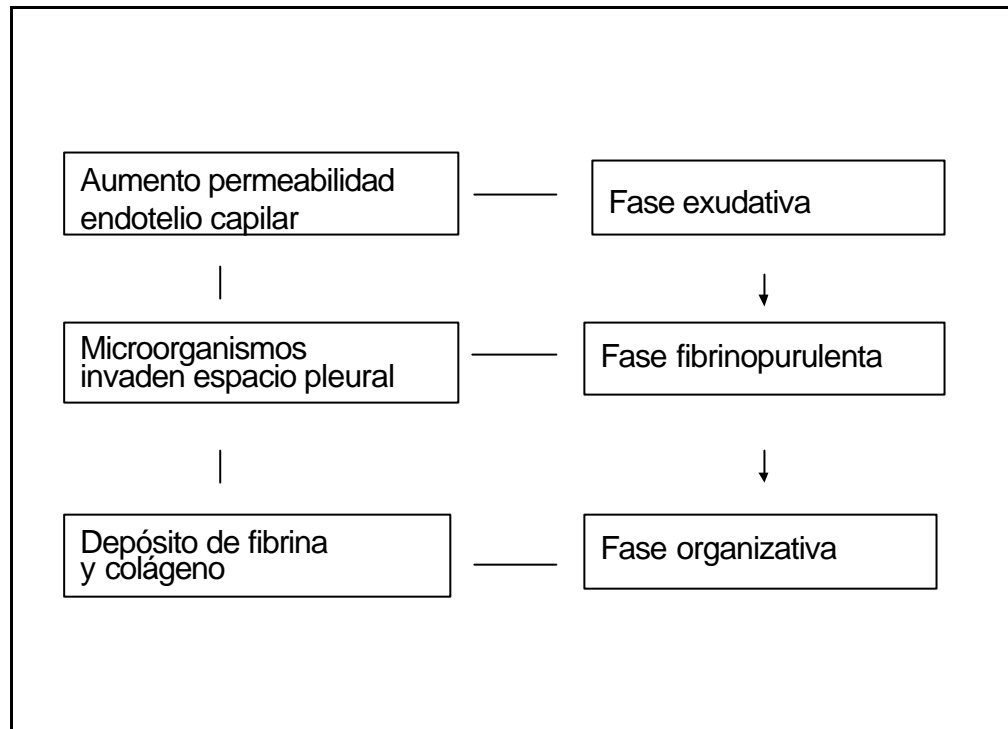


pleural es pequeña y al instaurar una terapéutica antibiótica correcta el derrame pleural se suele resolver.

En la fase fibrinopurulenta se mantiene la respuesta inflamatoria celular en el espacio pleural, con un aumento progresivo de la permeabilidad celular lo que permite que las bacterias entren en el espacio pleural. El líquido pleural es mucho más denso, formado por numerosos leucocitos polimorfonucleares, bacterias y otras células. El pH pleural y la glucosa presentan un progresivo descenso. La fibrina va formando una fina película que recubre la pleura visceral y la pleura parietal con adherencias entre las dos capas pleurales lo que producirá la aparición de loculaciones, que si bien impiden la extensión de la infección dificultan su drenaje.

La activación de los factores de la coagulación con depósito de fibrina y la proliferación de los fibroblastos formarán unas membranas inelásticas pleurales, a modo de coraza, en el estadio final organizativo.

TABLA 1. EVOLUCIÓN DEL DERRAME PLEURAL PARANEUMÓNICO



Desde un punto de vista clínico, el estudio del paciente con derrame pleural ha estado siempre encaminado a establecer tanto el diagnóstico etiológico del líquido pleural como predecir las complicaciones que pueden aparecer en los derrames pleurales infecciosos <sup>1,32-50</sup>.

De forma clásica los derrames bacterianos se han clasificado como derrames paraneumónicos cuando son

secundarios a una infección del pulmón y empiema cuando el líquido pleural es purulento. A pesar de que la mayoría de los empiemas tienen su origen en un derrame paraneumónico no es infrecuente que el foco infeccioso sea extrapulmonar.

Desde un punto de vista de manejo terapéutico se han clasificado como paraneumónicos no complicados aquellos derrames que se resuelven con tratamiento antibiótico sistémico, y paraneumónico complicado y empiema aquellos que precisarían de la colocación de un tubo de drenaje pleural, instilación de fibrinolíticos, rotura de las adherencias de fibrina por toracoscopia e incluso en ocasiones decorticación pleural para su resolución.

Se han publicado numerosos trabajos que han intentado definir aquellos pacientes que además de un correcto manejo antibiótico precisarían de la colocación de un drenaje pleural asociado o no al uso de fibrinolíticos intrapleurales <sup>1,32,34,37</sup>.

De esta manera la combinación de técnicas radiológicas y el análisis bioquímico y microbiológico del líquido pleural intentan detectar aquellos derrames que evolucionaran hacia una fase fibrinopurulenta y posteriormente organizativa pese a la instauración de tratamiento antibiótico sistémico, para adecuar las medidas

terapéuticas de forma precoz.

En los estudios radiológicos, la radiografía convencional de tórax es la exploración que más habitualmente se emplea tanto para detectar la presencia de líquido pleural como para detectar la aparición de complicaciones posteriores a la realización de una toracocentesis <sup>1,51-58</sup>.

La imagen radiológica de encapsulamiento y loculación sugestiva de complicación del líquido pleural es característica de aquellos derrames pleurales infecciosos con una intensa respuesta inflamatoria local que presentan múltiples adherencias entre ambas capas pleurales.

A pesar de que la radiología simple de tórax permite distinguir los derrames encapsulados en la mayoría de ocasiones, la ecografía torácica que detecta la presencia y apariencia de los septos pleurales característicos de los derrames pleurales infecciosos es una técnica muy útil para detectar estas complicaciones y resulta necesaria para localizar el punto más apropiado para la punción pleural en los pacientes con escasa cantidad de líquido o con loculaciones pleurales <sup>59-68</sup>.

La Tomografía Axial Computerizada es especialmente útil en el diagnóstico diferencial entre los empiemas con

niveles hidroaéreos y los abscesos pulmonares, así como también aporta información del resto del parénquima pulmonar <sup>69-71</sup>.

Dentro de los estudios bioquímicos del líquido pleural, la cifra disminuida de pH en líquido pleural, aunque se puede asociar a otras patologías como las neoplasias con invasión masiva pleural que van a presentar mala respuesta a la pleurodesis y una mortalidad precoz muy alta, es un parámetro útil en la diferenciación entre los derrames paraneumónicos complicados y no complicados <sup>72-79</sup>.

Así, en general existe consenso a la hora de definir que un derrame pleural paraneumónico no está complicado si tiene un pH superior a 7.2 y una glucosa por encima de 60 mg/dl <sup>1</sup>.

Sin embargo, con los derrames paraneumónicos complicados y empiemas con un pH inferior a 7.2 y glucosa menor a 60 mg/dl, se han propuesto varias clasificaciones para definir una actitud terapéutica precoz así como se siguen buscado nuevos marcadores que permitan predecir aquellos líquidos que se van a complicar <sup>1,32,34,36,37,80</sup>.

Así, un metanálisis de Heffner que revisaba los últimos estudios, valoró el pH como el marcador más útil en la indicación de drenaje pleural en los derrames

paraneumónicos complicados con un mejor punto de corte de 7.2 <sup>81</sup>.

Posteriormente un estudio del mismo autor establece que los criterios para la colocación de un tubo de drenaje pleural en un empiema o un derrame paraneumónico son la presencia de pus o alguno de los siguientes criterios, pH menor a 7.1, glucosa menor a 40 mg/dl, LDH mayor a 1000 o tinción de Gram positiva en una muestra de líquido pleural <sup>34</sup>.

Sahn recomienda el tratamiento antibiótico cuando el líquido pleural es libre y tiene un pH superior a 7.3 con una glucosa superior a 60 mg/dl, mientras que si el derrame tiene un pH inferior a 7.1 y una glucosa inferior a 40 mg/dl asocia la colocación de un drenaje pleural precoz. Aquellos derrames con un pH entre 7.1 y 7.3 son tributarios de tratamiento antibióticos y control analítico para determinar la evolución <sup>37</sup>.

La última clasificación de Light (Tabla 2) <sup>36</sup> adecua la conducta terapéutica inicial a los distintos subtipos de derrame pleural paraneumónico y empiema, evidenciando respecto a la previa un modelo diagnóstico y terapéutico más amplio <sup>1</sup>.

TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE LIGHT DE LOS DERRAMES PLEURALES BACTERIANOS

CLASE 1 DERRAME PARANEUMÓNICO NO SIGNIFICATIVO	Pequeño < 10 mm de grosor en Rx tórax decúbite Toracocentesis improductiva
CLASE 2 DERRAME PARANEUMÓNICO TÍPICO	> 10 mm de grosor Glucosa > 40 mg/dl y pH > 7,2 Tinción de Gram y cultivo negativos
CLASE 3 DERRAME PARANEUMÓNICO COMPLICADO BORDERLINE	pH 7 - 7,2 y/o LDH > 1000 y glucosa > 40 mg/dl Tinción de Gram y cultivo negativos
CLASE 4 DERRAME PARANEUMÓNICO COMPLICADO SIMPLE	pH < 7 y/o glucosa < 40 mg/dl y/o Tinción de Gram o cultivo positivos No loculaciones ni aspecto purulento
CLASE 5 DERRAME PARANEUMÓNICO COMPLICADO COMPLEJO	pH < 7 y/o glucosa < 40 mg/dl y/o Tinción de Gram o cultivo positivos Multiloculado
CLASE 6 EMPIEMA SIMPLE	Presencia franca de pus Loculación única
CLASE 7 EMPIEMA COMPLEJO	Presencia franca de pus Múltiples loculaciones

Así, los tipos 1 y 2 serían los derrames paraneumónicos no complicados.

En los pacientes con un grosor de líquido menor a 10

mm no es necesaria la toracocentesis dado que la mayoría de veces existe una resolución completa al iniciar el tratamiento antibiótico, realizándose únicamente la punción pleural si el derrame aumenta de tamaño durante el tratamiento.

Los pacientes con derrame paraneumónico típico suelen evolucionar de forma correcta con tratamiento antibiótico.

La mayoría de los derrames pleurales paraneumónicos borderline evolucionan de forma correcta con tratamiento antibiótico solamente, pero dado que un porcentaje no despreciable precisarán de la colocación de un drenaje pleural se recomienda la practica de una toracocentesis evacuadora diaria mientras persista el líquido pleural y si las características bioquímicas evolucionan hacia un descenso del pH por debajo de 7 o de la glucosa por debajo de 40 mg/dl se procederá a la instilación de un drenaje pleural.

Los pacientes con derrames paraneumónicos complicados simples precisan la colocación de un drenaje pleural, pero al no estar loculados la respuesta a los tubos de drenaje de pequeño calibre y antibióticos suele ser correcta.

Sin embargo el manejo de los derrames pleurales paraneumónicos complicados complejos debe asociar el empleo



de fibrinolíticos intrapleurales que disuelvan las adherencias pleurales de fibrina y facilitar así el drenaje del líquido. Cuando a pesar de la utilización de fibrinolíticos el drenaje resulta improductivo la actitud terapéutica debería valorar la realización de una pleuroscopia con ruptura de las adherencias pleurales o decorticación pleural.

El empiema simple precisa de la colocación de un tubo de drenaje pleural grande ya que el pus suele obstruir los drenajes pequeños. Si no se consigue una reducción del tamaño del empiema a los 7 días de iniciar el tratamiento debería valorarse la decorticación pleural.

La respuesta del empiema complejo al tratamiento médico que también consiste en drenaje pleural y fibrinolíticos es escasa precisando la mayoría de los pacientes decorticación pleural.

### **3. LOS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN PLEURAL**

En los derrames pleurales infecciosos se liberan de forma precoz las citoquinas proinflamatorias que son la interleuquina 1 (IL-1), la interleuquina 6 (IL-6), la interleuquina 8 (IL-8) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )<sup>5</sup>.

Entre estas citoquinas, que intervienen en la quimiotaxis de los neutrófilos al espacio pleural y liberación de las proteasas que hay en los gránulos de los neutrófilos como la elastasa polimorfonuclear destacan la IL-8 y el TNF- $\alpha$ <sup>25-28,82-86</sup>.

La IL-8 es una proteína de 8,3 KDa que pertenece a la superfamilia de citoquinas quimiotácticas C-X-C, producida por varios tipos celulares, entre ellas las células mesoteliales pleurales, como respuesta a diversos estímulos inflamatorios tales como las endotoxinas bacterianas, la IL-1 $\beta$  y el TNF- $\alpha$ <sup>87-91</sup>.

El acumulo de IL-8 en el espacio pleural es secundario a la producción local de esta citoquina y no al aumento de la permeabilidad vascular, y así los derrames pleurales exudados tienen en el líquido pleural cifras significativamente superiores de IL-8 que los trasudados

26,92 .

Así mismo, al igual que la mayoría de los resultados de otros grupos investigadores publicados hasta la actualidad <sup>24,25,27,28,93-95</sup>, estudios previos realizados por nuestro grupo han demostrado que dentro del grupo de derrames exudados, los líquidos pleurales infecciosos muestran los niveles más altos de IL-8 al compararlos con los no infecciosos y dentro del grupo de derrames pleurales infecciosos losempiemas evidenciaron cifras significativamente superiores al resto <sup>26</sup>.

Respecto a la cifra de IL-8 en los derrames tuberculosos y paraneumónicos no complicados los resultados son diversos, así Antony et al obtuvieron niveles de IL-8 significativamente superiores en los derrames paraneumónicos no complicados que en los tuberculosos <sup>25</sup>, Segura et al no evidenciaron diferencias significativas <sup>26</sup>, y Dlugovitzky et al observaron cifras superiores en los derrames tuberculosos <sup>27</sup>.

La existencia de niveles elevados de IL-8 en los derrames tuberculosos se explicaría por el hecho de que la fagocitosis del *Mycobacterium tuberculosis* por los monocitos/macrófagos induce la liberación de grandes cantidades de IL-8 <sup>96</sup>.

La principal función biológica de la IL-8 es la quimiotaxis sobre los leucocitos polimorfonucleares <sup>82,89-91</sup>.

Así, en estudios experimentales se ha evidenciado que aquellos líquidos pleurales que son tratados con anticuerpos anti-IL-8 muestran una supresión importante de la función quimiotáctica sobre los neutrófilos que oscila entre el 32.3 % y el 65 % <sup>25,28</sup>.

Otros estudios en los que se evalúa la respuesta inflamatoria local en líquido pleural tras la administración de tetraciclinas o talco para inducir la pleurodesis química, evidencian una correlación importante entre la IL-8 y el número de neutrófilos. Esta correlación que ocurre entre la IL-8 y el número de neutrófilos en las primeras 24 horas, se mantiene a las 72 horas de la pleurodesis, momento en el que se evidencia un descenso de la IL-8 y una disminución posterior del número de neutrófilos <sup>97-100</sup>.

Sin embargo, el hecho de que la mayoría de estudios no muestran una reducción completa en el porcentaje de neutrófilos tras administrar los anticuerpos anti-IL-8, así como la ausencia de correlación evidenciada en algunos trabajos entre la IL-8 y la cifra de neutrófilos en el líquido pleural, sugiere que aunque la quimiotaxis de la

IL-8 sobre los neutrófilos es relevante, existirían otros factores entre los cuales están otras citoquinas que contribuyen también a esta función <sup>25</sup>.

Así, en varios trabajos publicados previamente se ha visto que a través de las células mesoteliales que producen IL-8 y otras citoquinas como IL-6 y TNF- $\alpha$  se regula secuencialmente el reclutamiento de los leucocitos polimorfonucleares en el foco inflamatorio que se produce al instilar un agente esclerosante en el espacio pleural <sup>99</sup>.

Los leucocitos polimorfonucleares tienen un papel clave en la respuesta inmediata del organismo ante la agresión bacteriana <sup>101-103</sup>. La actividad microbicida de los neutrófilos tiene lugar a través de mecanismos dependientes e independientes del oxígeno <sup>104,105</sup>.

En los mecanismos dependientes del oxígeno que actúan a través de metabolitos oxigenados, principalmente los aniones superóxidos y los peroxidohidrogenados, participan fundamentalmente el complejo NADPH oxidasa y la mieloperoxidasa que es una proteína que forma parte de los gránulos azurófilos del neutrófilo, con actividad bactericida y de gran importancia en la respuesta inflamatoria aguda <sup>106-114</sup>.

Entre los mecanismos independientes del oxígeno a

expensas de diferentes polipéptidos con actividad antimicrobiana, el sistema de las proteasas neutras es uno de los más importantes y especialmente el de la elastasa polimorfonuclear, que llevará a cabo una proteólisis inespecífica <sup>115-121</sup>.

En estudios realizados por nuestro grupo, tanto la elastasa polimorfonuclear como la mieloperoxidasa pleural mostraron eficacia en la diferenciación entre los derrames pleurales infecciosos y neoplásicos, lo cual es indicativo del severo componente inflamatorio de los derrames pleurales infecciosos <sup>120</sup>.

Así mismo, la cifra de elastasa polimorfonuclear ha resultado ser un parámetro útil en el diagnóstico diferencial de los derrames paraneumónicos complicados respecto de los no complicados, detectando de forma precoz en una serie de 125 derrames bacterianos 13 de 18 derrames paraneumónicos que en la práctica clínica se diagnosticaron como complicados de forma tardía cuando los resultados microbiológicos mostraron crecimiento bacteriano.

Dichos estudios han evidenciado así mismo una correlación significativa en el líquido pleural entre la cifra de IL-8 con la de elastasa y mieloperoxidasa fundamentalmente en los empiemas, sugiriendo un papel

importante de la IL-8 en la liberación de elastasa polimorfonuclear y mieloperoxidasa. Así mismo, y dadas las diferencias en los niveles pleurales y plasmáticos de estas citoquinas, se ha sugerido una producción local de mediadores de la inflamación como respuesta a la infección pleural <sup>26,120</sup>.

El TNF- $\alpha$  es una citoquina proinflamatoria pluripotencial con una masa molecular de 17 Kda. Las principales fuentes celulares de TNF- $\alpha$  son los monocitos sanguíneos y los macrófagos tisulares, aunque una gran variedad de otros tipos celulares pueden sintetizar esta citoquina, destacando durante las infecciones del espacio pleural las células mesoteliales que iniciarán y propagarán la respuesta inflamatoria local <sup>5,29,122</sup>.

Los estudios experimentales que analizan diferentes citoquinas tras la infusión de bacterias o endotoxinas muestran como el TNF- $\alpha$  es la primera citoquina que se detecta apareciendo posteriormente la IL-1, la IL-6 y la IL-8 <sup>123</sup>.

El TNF- $\alpha$  es una proteína que tiene efecto sobre células de diferentes clases <sup>99</sup>.

Durante los procesos infecciosos su actividad biológica más importante como respuesta al estímulo inflamatorio es la

activación de los linfocitos T, principalmente los CD4, la activación de los neutrófilos y otras células inflamatorias, así como inducir la producción de IL-1, IL-6 e IL-8 <sup>23,24,124</sup>.

Además de la respuesta contra las infecciones también se ha descrito actividad contra el crecimiento tumoral, estimulación de la proliferación de los fibroblastos, estimulación de la producción de prostaglandina E<sub>2</sub> y colagenasas y actividad procoagulante <sup>99,125</sup>.

Las cifras de TNF- $\alpha$  son significativamente superiores en los exudados que en los trasudados lo cual es indicativo de un aumento en la producción local como respuesta a un estímulo inflamatorio <sup>92</sup>.

Aunque se han evidenciado cifras altas de TNF- $\alpha$  en varios grupos de derrame pleural la mayoría de estudios, al igual que han evidenciado nuestros resultados previos <sup>76</sup>, han mostrado las cifras más altas de TNF- $\alpha$  en los derrames pleurales tuberculosos y en los empiemas, resultando un parámetro discriminante entre los exudados linfocitarios neoplásicos y tuberculosos <sup>126-130</sup>.

Así mismo, los trabajos que han estudiado la respuesta inflamatoria a la instilación de una sustancia esclerosante en la cavidad pleural han mostrado también un aumento transitorio en la producción y liberación de TNF- $\alpha$ , que



probablemente desencadenaría la secuencia inflamatoria posterior <sup>99</sup>.

IL-1 es el término para dos polipéptidos (IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) con un amplio espectro de propiedades inmunológicas, metabólicas, hematopoyéticas e inflamatorias. Aunque ambas formas tienen orígenes diferentes reconocen los mismos receptores celulares de superficie y comparten varias actividades biológicas <sup>131-134</sup>.

IL-1 $\alpha$  está presente fundamentalmente en las membranas celulares, mientras que la IL-1 $\beta$  se encuentra principalmente en una forma libre, por ejemplo en la circulación o en los líquidos orgánicos <sup>135</sup>.

Fisiológicamente solamente se observan cantidades importantes de IL-1 en los queratinocitos y en algunas células epiteliales y del sistema nervioso central, sin embargo existe un aumento importante en su producción como respuesta a las toxinas bacterianas y agentes inflamatorios <sup>134</sup>.

La principal actividad biológica de la IL-1 sería la de citoquina inmunomoduladora y mediador proinflamatorio, por sí misma o actuando sobre otras citoquinas y mediadores de la inflamación, con un importante papel en la respuesta inflamatoria de los empiemas, mostrando estos derrames las

cifras más elevadas de forma significativa <sup>136,137</sup>.

No se ha demostrado que la IL-1 tuviera ningún papel en la respuesta inflamatoria de los derrames pleurales de otras etiologías ni se ha evidenciado correlación con otras citoquinas en el líquido pleural de estos derrames <sup>137</sup>.

Además se ha visto que induce la expresión genética de algunas citoquinas fundamentalmente IL-6 e IL-8, promueve la proliferación de linfocitos B y T de forma sinérgica con el TNF- $\alpha$  y la IL-6, aumenta la proliferación celular, inicia o suprime la expresión de determinadas proteínas, activa las células natural Killer y las células endoteliales, aumenta la expresión de los receptores para la IL-2 y actúa como pirógeno endógeno llegando a constituirse como uno de los inductores más importantes de la respuesta inflamatoria en la fase aguda <sup>134</sup>.

La IL-6 también es una de las citoquinas proinflamatorias liberadas precozmente en el curso de las infecciones tanto en líquido pleural como a nivel sistémico <sup>5,123</sup>.

La IL-6 es una citoquina secretada por varias estirpes celulares entre ellas las células mesoteliales. Comparte con el TNF- $\alpha$  y la IL-1 la habilidad para estimular los linfocitos B y T, aumentar la proliferación celular e

iniciar o suprimir la expresión de determinadas proteínas.

Otras funciones que se la han detectado serían la estimulación en la maduración de los megacariocitos y la producción de plaquetas, estimula la producción de proteínas de fase aguda por los hepatocitos y actúa como pirógeno endógeno <sup>138</sup>.

En el espacio pleural la IL-6 es superior en los exudados que en los trasudados <sup>92</sup>. Así mismo se ha detectado un aumento en su producción tras la liberación de TNF- $\alpha$  como respuesta a una toxina bacteriana, o de forma similar a las otras citoquinas proinflamatorias tras la pleurodesis en la fase inflamatoria precoz tras la instilación del agente esclerosante <sup>99</sup>.

Sin embargo la producción de IL-6 está relacionada tanto con los procesos inflamatorios infecciosos como con los tumorales, y así el líquido pleural de los diferentes exudados no ha mostrado diferencias significativas entre las distintas causas de derrame.

El incremento de IL-6 en los derrames malignos es debido a que algunas células tumorales, fundamentalmente de neoplasias pulmonares, renales, ováricas y también los mesoteliomas la producen por sí mismas <sup>139,140</sup>.

#### **4. EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN EL LÍQUIDO PLEURAL**

Los derrames pleurales bacterianos complicados se caracterizan por el depósito de una densa capa de fibrina en el espacio pleural que se extiende desde la pleura visceral hacia la pleura parietal.

Esta capa de fibrina promueve la proliferación de los fibroblastos así como el depósito de colágeno, lo que condicionará la loculación del líquido pleural y posterior aparición de otras complicaciones pleurales <sup>1,5</sup>.

Aunque el depósito de fibrina en el espacio pleural se ha implicado de forma importante en la patogénesis de las enfermedades pleurales, la regulación del depósito de fibrina en el espacio pleural todavía está poco estudiado <sup>141,142</sup>.

El depósito de fibrina depende tanto de los factores del sistema de la coagulación que a través de la generación de trombina convierten el fibrinógeno en un polímero de fibrina, como del sistema de la fibrinólisis pleural <sup>142</sup>.

El sistema de la fibrinólisis es el sistema que se encarga de regular la degradación de la fibrina <sup>143</sup>.

El sistema de la fibrinólisis está regulado por un

preciso sistema de activadores e inhibidores, responsables del balance de la lisis de la fibrina (Fig 2).

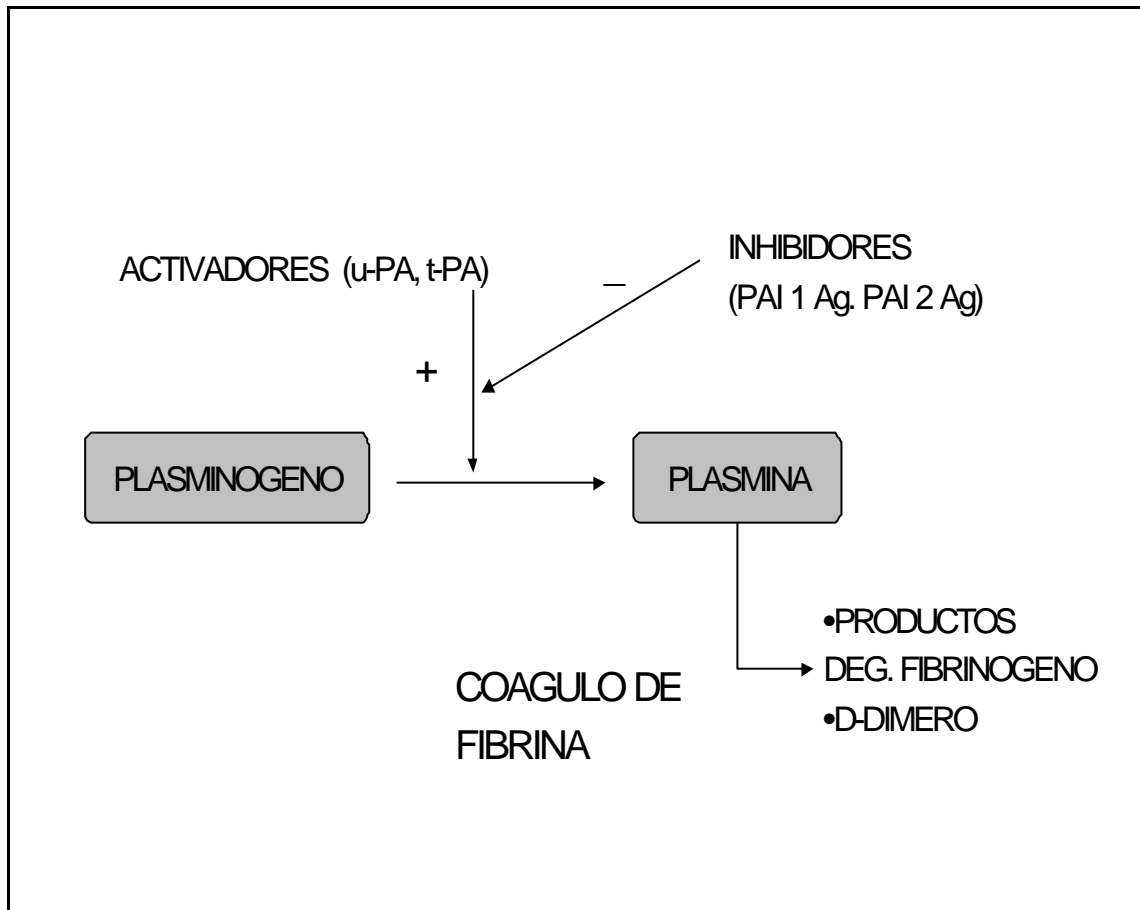
Los activadores del plasminógeno, el activador tisular del plasminógeno (t-PA) y la urocinasa activador del plasminógeno (u-PA) juegan un importante papel modulando la activación del precursor inactivo plasminógeno en plasmina, que es un enzima activo.

La plasmina una vez activada es la encargada de degradar el polímero de fibrina en fragmentos de bajo peso molecular, lo cual resulta en los productos de degradación de la fibrina.

Los inhibidores de los activadores del plasminógeno de tipo 1 y 2 (PAI 1 y PAI 2 respectivamente) actúan fundamentalmente bloqueando la acción de los activadores del plasminógeno.

Este equilibrio en el sistema de la fibrinolisis se rompe en determinadas patologías, detectándose entonces en el líquido pleural un predominio en la actividad de algunos de los factores hemostáticos que condicionará un bloqueo en la degradación de la fibrina o bien un aumento en la fibrinolisis pleural, y que dependerá de la etiología del derrame pleural <sup>141,142</sup>.

FIGURA 2. ESQUEMA DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS



Se ha visto que las células mesoteliales son capaces de acelerar o retrasar la fibrinólisis pleural secretando los inhibidores de los activadores del plasminógeno en

cantidades variables <sup>141</sup>.

Así, en aquellas patologías pleurales con niveles aumentados de los activadores del plasminógeno existe una hiperfibrinólisis que permitirá la degradación de la fibrina, detectándose también cifras elevadas de los productos de degradación de la fibrina <sup>144-148</sup>.

Sin embargo aquellos derrames pleurales en los que se detecta una excesiva concentración de los inhibidores de los activadores del plasminógeno presentan una disminución de la fibrinólisis o hipofibrinólisis pleural, evidenciándose un acumulo de fibrina, secundario al bloqueo en su degradación <sup>141,142</sup>.

Existen pocos estudios que analizan las vías de degradación de la fibrina en los derrames pleurales.

Estos trabajos aunque estudian varios grupos de exudados, analizan fundamentalmente derrames pleurales neoplásicos valorando el comportamiento del sistema de la fibrinólisis en el líquido pleural con invasión maligna, así como su respuesta a la aplicación local de un estímulo inflamatorio como sería la práctica de una pleurodesis química en el espacio pleural <sup>149-151</sup>.

Los derrames pleurales de origen maligno presentan un líquido pleural libre en el espacio pleural sin signos

inflamatorios, e incluso los derrames serohemáticos muestran escaso o ningún depósito de fibrina.

Así, se ha descrito que los derrames pleurales neoplásicos tienen la vía de la fibrinolisis activada, lo cual se ha puesto de manifiesto tanto por niveles altos del activador tisular del plasminógeno como por la presencia de productos de degradación de la fibrina en cantidades significativas, mientras que los niveles de PAIs son relativamente bajos.

En estos derrames pleurales malignos la instilación de sustancias irritantes intrapleurales como quinacrina, talco o tetraciclinas que se utilizan como tratamiento de pleurodesis ocasionan una intensa inflamación en el espacio pleural. Esto produce daño local en las células mesoteliales, lo cual se acompaña de un rápido depósito de fibrina a dicho nivel que sirve posteriormente de armazón a los fibroblastos en la fibrosis del compartimento pleural.

Cuando la pleurodesis química es eficaz se observa la aparición de densas bandas de fibrina entre ambas capas pleurales lo cual resultará en una rápida adhesión de las pleuras visceral y parietal.

El análisis de los parámetros del sistema de la fibrinolisis cuando la pleurodesis química es eficaz



muestra una disminución en los productos de degradación de la fibrina mientras que los niveles de los PAIs aumentan de forma muy marcada.

Sin embargo aquellos pacientes en los cuales la pleurodesis química es ineficaz muestran unos valores altos de los productos de degradación de la fibrina a pesar del aumento en la cifra de PAIs, lo cual indicaría que persiste una importante fibrinólisis pleural <sup>151</sup>.

Se han observado varios mecanismos por los cuales la instilación de sustancias esclerosantes en el espacio pleural podría desencadenar esta rápida adhesión de las dos membranas pleurales.

Así, aunque inicialmente se había descrito el papel fundamental de los fibroblastos en la pleurodesis, estudios más recientes implican también la participación de las células mesoteliales <sup>97,152</sup>.

Se ha evidenciado que la instilación del tubo de drenaje pleural ocasiona una respuesta inflamatoria mínima por parte de las células mesoteliales pleurales sin desencadenar la aparición de fibrosis pleural por sí mismo.

Sin embargo, estos estudios han demostrado que la instilación a través del tubo de drenaje pleural de tetraciclinas tanto in vivo como in vitro desencadena la

proliferación de los fibroblastos <sup>97,153</sup>.

El papel que juegan los fibroblastos en la posterior aparición de la fibrosis pleural sin embargo no está en conflicto con la teoría que implica a las células mesoteliales.

Las células mesoteliales son la primera capa celular en entrar en contacto con la sustancia esclerosante instilada.

Así, se ha evidenciado que las tetraciclinas pueden estimular a las células mesoteliales para que liberen factores con actividad para el desarrollo de fibroblastos, lo cual también podría jugar un papel importante en la fibrosis pleural <sup>97,154,155</sup>.

Así, tanto en estos trabajos con tetraciclinas intrapleurales que han evaluado la acción de los fibroblastos en la fibrosis pleural como en otros estudios posteriores de pleurodesis química, se ha evidenciado el papel de las células mesoteliales para iniciar y propagar una respuesta inflamatoria aguda que posteriormente desencadenará el depósito de fibrina, lo cual contribuirá al proceso de fibrosis pleural <sup>89,95,97</sup>.

Hay escasos trabajos en la literatura que hayan evaluado la actuación del sistema de la fibrinolisis

intrapleural en los exudados inflamatorios <sup>141,142,156,157</sup>.

Así se ha evidenciado que estos derrames pleurales inflamatorios, fundamentalmente los derrames infecciosos, tienen unas cifras muy elevadas de PAIs <sup>156</sup>.

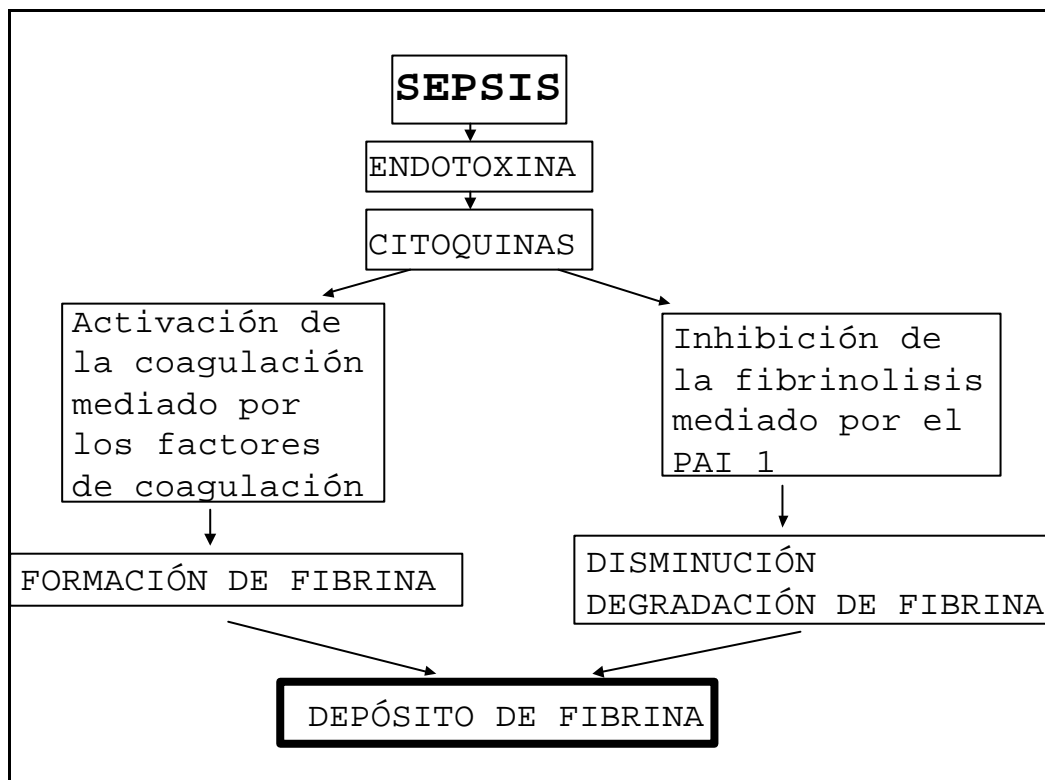
## **5. ASOCIACIÓN DE LOS MARCADORES DE INFLAMACIÓN AL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS**

En los últimos años, la asociación entre los mediadores de actividad inflamatoria y el sistema de la coagulación y de la fibrinólisis se ha evaluado de forma amplia a nivel sistémico, tanto en pacientes con sepsis como en estudios experimentales realizados en humanos y en otras especies animales, fundamentalmente en primates<sup>123,158-170</sup>.

Sin embargo la respuesta del sistema de la fibrinólisis pleural a los marcadores inflamatorios con actividad neutrofílica tanto en el líquido pleural como en otros líquidos biológicos, ha sido poco estudiada hasta la actualidad<sup>156,157</sup>.

En los estudios realizados a nivel sistémico se ha evidenciado que, aunque las alteraciones en la cascada de la coagulación son desencadenadas por los microorganismos y sus productos, las citoquinas que son producidas y liberadas por el huésped en respuesta a dichos agentes, juegan también un papel muy importante en el desarrollo de estas alteraciones (Fig 3).

FIGURA 3. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LAS VÍAS FISIOPATOLÓGICAS DE ACTUACIÓN DE LAS CITOQUINAS EN LOS PACIENTES CON SEPSIS.



Así, se han realizado diversos estudios en pacientes con sepsis, detectándose tanto en los tejidos como en el suero de estos pacientes cantidades muy elevadas de un gran número de estas citoquinas, que han sido etiquetadas como citoquinas proinflamatorias, lo que indica un papel

potencial como mediador para cada una de estas citoquinas<sup>123</sup>.

Más recientemente, para intentar determinar que citoquinas pueden ser más importantes en las alteraciones del sistema de la fibrinólisis se han analizado modelos experimentales.

Estos estudios experimentales realizados en sujetos sanos, enfermos de cáncer o primates evalúan individualmente los efectos de las citoquinas proinflamatorias sobre el sistema de la fibrinólisis al administrar cada citoquina por separado o bien anticuerpos monoclonales que bloquean específicamente cada una de estas.

El TNF- $\alpha$  es la primera citoquina que se detecta en el suero de los pacientes con sepsis, detectándose posteriormente la IL-1, la IL8 y la IL-6. Al ser la primera citoquina en detectarse, y dado que varios estudios previos in vitro han demostrado actividad procoagulante a expensas tanto de inhibir mecanismos anticoagulantes, fundamentalmente las proteínas C y S, como de aumentar la síntesis de PAI 1 por las células endoteliales, se han realizado múltiples estudios que evalúan la acción del TNF- $\alpha$  sobre la cascada de la coagulación<sup>163,164</sup>.

Estos estudios a nivel sistémico acerca de la influencia del TNF- $\alpha$  sobre el sistema de la fibrinólisis muestran resultados discordantes.

Así, en algunos trabajos la inyección de un anticuerpo monoclonal contra el TNF- $\alpha$  evita la liberación del TNF- $\alpha$  tras el estímulo de una endotoxina mientras que la actuación de la cascada de la coagulación con inhibición del sistema de la fibrinólisis se mantiene invariable. Estos resultados por tanto sugieren la necesidad de actuación de otros mediadores de la inflamación además del TNF- $\alpha$  <sup>164,171-176</sup>.

Sin embargo, otros estudios in vitro que también analizan la respuesta del sistema de la fibrinólisis cuando tras la inyección de anticuerpos dirigidos contra el TNF- $\alpha$  se administran endotoxinas, han demostrado que tanto la producción y liberación de TNF- $\alpha$ , como la respuesta del sistema de la fibrinólisis están completamente abolidas <sup>160-163</sup>.

En subsiguientes estudios a nivel sistémico, el papel del resto de citoquinas proinflamatorias también se ha evaluado.

La IL-1 y la IL-6 tendrían también una acción procoagulante. Así, los mecanismos de acción de ambas

citoquinas serían por una parte estimular al endotelio para producir factores de coagulación que activarían la vía extrínseca de la coagulación y, por otra parte actuar sobre el sistema de la fibrinólisis aumentando la síntesis del PAI 1 disminuyendo por tanto la actividad fibrinolítica <sup>134,160</sup>.

Estudios experimentales han mostrado una disminución en la respuesta del sistema de la fibrinólisis tras la infusión de anticuerpos que bloquean la IL-6 en los chimpancés a los que se administra posteriormente endotoxinas <sup>177-179</sup>.

Trabajos experimentales en cerdos también han demostrado una atenuación de la respuesta del sistema de la fibrinólisis al bloquear la IL-1 con anticuerpos monoclonales <sup>180-182</sup>.

Sin embargo, los trabajos a nivel sistémico con la IL-8 y los anticuerpos monoclonales que bloquean su acción no han mostrado actividad sobre la cascada de la coagulación <sup>162</sup>.

La interacción de los neutrófilos y la fibrina puede tener importancia en el balance del depósito de fibrina en el foco inflamatorio <sup>183-185</sup>.

Los estudios que se han realizado evaluando la



actividad de la elastasa polimorfonuclear sobre el sistema de la fibrinólisis han mostrado resultados diversos. Así, se ha visto que la elastasa aumentaría la actividad fibrinolítica a expensas tanto de la digestión directa de la fibrina por un mecanismo de proteólisis, como inactivando a los inhibidores de los activadores del plasminógeno <sup>186</sup>.

Sin embargo, experimentalmente también se ha demostrado una acción opuesta de la elastasa sobre el sistema de la fibrinólisis. Así, este trabajo analiza la acción de la propia fibrina sobre el sistema de la fibrinólisis, evidenciando que la fibrina por sí misma es capaz de estimular el proceso de la fibrinólisis activando el plasminógeno a partir del t-PA, pero que sin embargo tras la incubación de la fibrina con elastasa polimorfonuclear se reduce progresivamente la activación del plasminógeno a la proteasa activa plasmina, disminuyendo su actividad hasta en un 92 % a las 24 horas de la incubación <sup>187</sup>.

El papel de las citoquinas proinflamatorias sobre el sistema de la fibrinólisis en los líquidos biológicos humanos ha sido poco estudiado hasta la actualidad.

Así existen todavía escasos trabajos que analicen la

respuesta del sistema de la fibrinólisis en el líquido articular, peritoneal y en el espacio pleural.

En el espacio peritoneal se ha evidenciado que las células mesoteliales juegan un papel muy importante en los procesos de reparación tras la agresión quirúrgica a la serosa o bien durante los procesos infecciosos peritoneales, produciendo en ocasiones complicaciones locales secundariamente a la aparición de adhesiones peritoneales <sup>188-191</sup>.

La respuesta inflamatoria inicial consiste en un aumento de la vía de inhibición de la fibrinólisis y una disminución de los activadores del plasminógeno, lo cual conduce a un bloqueo en la degradación de la fibrina que resultará en la formación de adherencias.

Estos estudios en el espacio peritoneal han mostrado que este efecto antifibrinolítico de las células mesoteliales es secundario a la actuación del TNF- $\alpha$ .

Así mismo estos trabajos han evidenciado que la administración preoperatoria de anticuerpos dirigidos contra el TNF- $\alpha$  consigue suprimir la formación de adhesiones intraperitoneales.

En el líquido sinovial de los derrames articulares secundarios a artritis reumatoide se han evidenciado cifras

más elevadas en los inhibidores de los activadores del plasminógeno y cifras significativamente inferiores de los activadores del plasminógeno que en los derrames articulares por artropatía degenerativa, lo cual expresa un bloqueo en la degradación de la fibrina en los pacientes con artritis reumatoide <sup>192-198</sup>.

Esta elevación de los inhibidores de los activadores del plasminógeno se asocia al daño articular mucho más frecuente en los pacientes con artritis reumatoide, lo cual indicaría que la activación de los enzimas de la fibrinolisis juega un papel importante en la destrucción articular.

Estas alteraciones en el sistema de la fibrinolisis se han descrito asociadas a niveles elevados de TNF- $\alpha$ .

El papel fisiopatológico que presentan las citoquinas proinflamatorias en el espacio pleural en el contexto de un proceso infeccioso bacteriano no ha sido evaluado hasta la actualidad.

Así, se han publicado escasos estudios que analicen la respuesta del sistema de la fibrinolisis pleural a la acción de las citoquinas.

Estos estudios incluyen fundamentalmente un trabajo experimental en pleura, en que Idell et al analizan la

respuesta del sistema de la fibrinólisis al TNF- $\alpha$  <sup>157</sup>, y muy recientemente Hua et al estudian la respuesta del sistema fibrinolítico al TNF- $\alpha$  y a la IL-1 en un grupo de derrames pleurales tuberculosos y neoplásicos <sup>156</sup>.

**JUSTIFICACIÓN**

**Y OBJETIVOS**

El estudio de los derrames pleurales exudados constituye una práctica habitual dentro de la clínica diaria.

Dentro de los derrames exudados, los derrames pleurales infecciosos constituyen un grupo muy importante debido a la morbilidad que siguen presentando las complicaciones locales en estos pacientes. La principal complicación de los derrames infecciosos, fundamentalmente de los paraneumónicos y los empiemas deriva del acumulo de fibrina que llevará progresivamente a la aparición de loculaciones, adherencias entre las dos membranas serosas y finalmente fibrosis pleural.

El líquido pleural de los derrames neoplásicos sin embargo se encuentra libre, sin septos ni adherencias pleurales.

El sistema de la fibrinolisis, responsable del balance de la fibrina, está regulado por un preciso sistema de activadores e inhibidores.

Los activadores del plasminógeno regularían el paso de plasminógeno a plasmina que es una proteasa activa que lisaría la fibrina, mientras que los inhibidores modularían la actividad de los activadores bloqueando por tanto la actividad fibrinolítica.

La capa de células mesoteliales sería la primera que

anatómicamente entraría en contacto con el agente agresor en los derrames infecciosos, pero además fisiopatológicamente sería capaz de desencadenar toda la respuesta inflamatoria posterior.

Así, tras la agresión bacteriana estas células mesoteliales aumentan la producción y liberación de citoquinas proinflamatorias con una importante acción quimiotáctica, que ocasionarán cambios en la permeabilidad celular y permitirán el paso de células inflamatorias al espacio pleural que perpetuarán y amplificarán la respuesta inflamatoria. Los neutrófilos en el espacio pleural pueden así mismo liberar proteasas como la elastasa polimorfonuclear.

Partiendo de estos hechos y dado que es conocido que en los derrames pleurales infecciosos existe una importante actividad inflamatoria que se relaciona con las complicaciones pleurales que pueden conllevar a una disminución del funcionalismo pulmonar y por otro lado el hecho de que en los derrames neoplásicos por el contrario sea necesario provocar una respuesta inflamatoria (pleurodesis química) para el control de los mismos, nos propusimos estudiar el papel del equilibrio entre los activadores e inhibidores de la fibrinólisis en la patogénesis de los derrames pleurales exudados y su

asociación con los mediadores de activación neutrofílica.

#### HIPÓTESIS

En los derrames pleurales bacterianos las citoquinas proinflamatorias inducen un aumento de los inhibidores de los activadores del plasminógeno o una disminución de los activadores del plasminógeno. Dichas modificaciones en los parámetros de la fibrinólisis, alteran el equilibrio existente, favoreciendo el depósito de fibrina en el espacio pleural, lo cual va a condicionar la aparición de complicaciones pleurales en forma de paquipleuritis y loculaciones pleurales. En los derrames neoplásicos existiría un aumento de los activadores del plasminógeno con la consiguiente lisis de la fibrina. Estas diferencias entre los niveles de los activadores e inhibidores de la fibrinólisis son debidas al efecto local de diversos mediadores y no a diferencias entre sus respectivos niveles en plasma.

1. Los niveles pleurales de los inhibidores de los activadores del plasminógeno (PAI 1 y PAI 2) serían más altos en los derrames pleurales infecciosos.
2. Los niveles pleurales de los activadores del



plasminógeno (t-PA y u-PA) serían más altos en los derrames pleurales neoplásicos.

3. Los niveles pleurales de las citoquinas proinflamatorias y elastasa polimorfonuclear serían superiores en los derrames pleurales con niveles de PAIs más altos.
4. El riesgo de complicaciones pleurales sería superior en los derrames pleurales con niveles de PAIs más elevados.

A la vista de estas consideraciones y partiendo de tales hipótesis nos hemos planteado los siguientes objetivos:

- 1- Estimar la diferencia entre los niveles pleurales de PAIs en los diversos tipos de derrame pleural exudado.
- 2- Estimar las diferencias entre los niveles pleurales de los activadores del plasminógeno en los diversos tipos de derrame pleural exudado.
- 3- Estimar la asociación entre los niveles de los activadores e inhibidores de la fibrinólisis en plasma y líquido pleural en los derrames pleurales.
- 4- Estimar la asociación entre los activadores e inhibidores de la fibrinólisis (PAIs, t-PA, u-PA) con

los marcadores de actividad neutrofílica (elastasa, IL-8, TNF- $\alpha$ ) en los derrames pleurales exudados.

**PACIENTES ,**

**MATERIAL Y**

**MÉTODO**

## **1. PACIENTES**

Desde junio de 1997 hasta diciembre de 1998 se analizaron 100 pacientes consecutivos hospitalizados por derrame pleural secundario a empiema o derrame paraneumónico complicado, tuberculosis, neoplasia o insuficiencia cardiaca en el Hospital General Universitario Vall d'Hebron de Barcelona.

Se analizan 25 empiemas, 22 derrames tuberculosos, 28 derrames neoplásicos y 25 trasudados.

A todos los pacientes se les realizó una historia clínica, exploración física, una radiografía de tórax de frente y perfil, pruebas analíticas en sangre y líquido pleural.

La toracocentesis se realizó siempre de forma aséptica y bajo anestesia local (Scandinibsa<sup>R</sup>) que fue administrado con jeringa y aguja intramuscular (8x40 mm) o un abbocath del n° 18 o n° 16.

El líquido pleural extraído era procesado de forma inmediata analizándose datos de laboratorio, microbiológicos y citológicos.

Para cada grupo etiológico se analizaron en suero marcadores bioquímicos (pH, glucosa, lactodeshidrogenasa

(LDH) y proteínas) y mediadores de la inflamación (elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$ ), en plasma se determinan los parámetros del sistema de la fibrinólisis (D-dímero, plasminógeno, t-PA, u-PA, PAI 1 Ag (antígeno del inhibidor del activador del plasminógeno 1), PAI 2 Ag (antígeno del inhibidor del activador del plasminógeno 2) y PAI 1 Act (actividad del inhibidor del activador del plasminógeno 1), en sangre periférica la celularidad y el recuento diferencial de leucocitos y en líquido pleural se analizaron los marcadores bioquímicos (pH, glucosa, proteínas, adenosindeaminasa (ADA) y LDH), el recuento celular, los mediadores de la inflamación (elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$ ) y los marcadores del sistema de la fibrinólisis (D-dímero, plasminógeno, t-PA, u-PA, PAI 1 Ag, PAI 2 Ag y PAI 1 Act).

Así mismo se practicaron otras técnicas exploratorias a aquellos pacientes que lo requirieron para completar el estudio clínico - terapéutico del derrame pleural.

Todos los datos obtenidos fueron recogidos en un protocolo, previamente diseñado y posteriormente fueron introducidos en una base de datos (Visual-dbase 5.5)

El estudio estadístico se ha realizado por medio del paquete estadístico SPSS <sup>199</sup>.

## DEFINICION DE LOS PACIENTES

### A. GRUPO DE ESTUDIO.

Se han incluido 75 pacientes de ambos sexos de acuerdo con los siguientes criterios:

1. Veinticinco pacientes con empiema pleural o derrame paraneumónico complicado definido por:

- Presencia franca de pus en líquido pleural.
- Presencia de microorganismos en el Gram o cultivo del líquido pleural
- Líquido pleural con pH < 7.2 o glucosa < 60 mg/dl en pacientes con una condensación clínico - radiológica.

2. Veintidós pacientes con derrame pleural tuberculoso definido por <sup>200</sup>:

- Cultivo en medio Löwenstein - Jensen positivo del líquido pleural o de una muestra de biopsia pleural.
- Tinción de Ziehl - Neelsen positiva del líquido pleural o de una muestra de biopsia pleural.
- Determinación de ADA en el líquido pleural mayor a

43 U/L en un derrame de predominio linfocitario y en un contexto clínico apropiado.

3. Veinticinco pacientes con derrame pleural maligno definido por invasión neoplásica de la pleura demostrada por citología o estudio anatomopatológico de una muestra de biopsia pleural <sup>201-207</sup>.

B. Grupo Control.

1. Constituido por veinticinco pacientes con derrame pleural trasudado definido según los criterios de Light cuando se cumplen los tres criterios <sup>208-209</sup>:

- cociente de proteínas entre líquido pleural y suero menor a 0,5
- cociente de LDH entre líquido pleural y suero menor a 0,6
- LDH en líquido pleural menor a 2/3 del límite superior de la normalidad de la LDH en suero

## **2. MATERIAL Y MÉTODO**

### **DETERMINACIONES DEL LABORATORIO**

Las muestras obtenidas de suero y líquido pleural, se centrifugaron a 2000 r.p.m. durante 30 minutos y a 4°C y el sobrenadante se conservó a -70°C, hasta su determinación.

#### **ELASTASA POLIMORFONUCLEAR.**

Se ha realizado mediante un enzimoimmunoanálisis homogéneo que valora tanto la elastasa libre como la ligada a la alfa-1-inhibidor de proteasas (Método de inmunoactivación, Merck, Darmstad, Alemania).

#### **TNF- $\alpha$**

La cuantificación de TNF-alfa se efectuó con reactivos producidos por Innogenetics (Bélgica) y suministrados por Chromogenix (Movaco, España). Los patrones utilizados son TNF-alfa humano recombinante estandarizado frente a la preparación de referencia 87/560 del National Biological Standard Board (NBSB). Para este método se han establecido



en nuestro laboratorio el límite inferior de referencia (6 pg/mL) y la imprecisión interanálisis (CV= 12% para un valor medio de 47 pg/mL).

#### IL-8

Para la detección de IL-8 se utilizaron reactivos de Bender Medsystems, Viena, Austria, suministrados por Ingelheim Diagnóstica. En nuestro laboratorio dicho método posee un límite inferior de detección de 15 pg/mL y un CV interanálisis del 13% para un nivel medio de 536 pg/ml.

#### DETERMINACION DE ELEMENTOS DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS.

El PAI 1 Ag, el PAI 2 Ag, el u-PA y el t-PA se determinaron por ELISA (ELISA Biopool-Suecia).

La actividad del PAI-1 se obtuvo con los (Substratos Cromogénicos Chromogenix-Suecia).

La determinación del plasminógeno se realizó con los (Substratos Cromogénicos Instituto Behring-Alemania).

En nuestro laboratorio los límites de detección de u-PA, PAI 2 Ag y PAI 1 Act fueron 0.1 ng/mL, 0.6 ng/mL y 0.5 U/mL respectivamente. Las concentraciones de u-PA, PAI 2 Ag

y PAI 1 Act por debajo del límite de detección del método fueron igualadas a 0.1 para el estudio estadístico.

Así mismo para cada grupo etiológico se analizaron en suero marcadores bioquímicos: pH, glucosa, proteínas y LDH, y en líquido pleural se analizaron los marcadores bioquímicos: pH, glucosa, proteínas, LDH y ADA.

Se obtuvo el número total de células mediante el contador Coulter<sup>R</sup> S-Plus IV y todas las muestras se concentraron con una citocentrífuga (Cytospin<sup>R</sup>) a 2000 r.p.m. durante 8 minutos. A continuación se realizó una tinción de May - Crunwald - Giemsa y se procedió al conteo manual porcentual de leucocitos.

## DATOS BACTERIOLÓGICOS

Se realizaron las toracocentesis en las máximas condiciones de asepsia.

Todos los estudios microbiológicos se realizaron en el Servicio de Microbiología del Hospital Vall d'Hebron.

El líquido pleural extraído tras la toracocentesis se inoculaba inmediatamente en dos viales de hemocultivo (aerobio y anaerobio) del sistema BACTEC NR 660 (Becton Dickinson, Cockeysvill, EEUU) y en un tubo estéril para la práctica de un Gram y del estudio de micobacterias.

Los viales de hemocultivo aerobio y anaerobio se incubaron a 37 °C, con lectura diaria durante 5 días y una última lectura a los 15 días, realizándose una nueva siembra en caso de positividad en los medios habituales.

Para la investigación de micobacterias se utilizó la tinción de auramina y la de Ziehl - Neelsen; el cultivo se realizó en medio de Löwenstein - Jensen, incubándose las muestras durante 2 meses.

DATOS CITOLÓGICOS

El líquido pleural fue inoculado en un tubo estéril con EDTAK<sup>3</sup>.

Todas las muestras fueron procesadas por el Servicio de anatomía patológica del Hospital Vall d'Hebron.

### **3. ANALISIS ESTADÍSTICO**

En la fase del análisis exploratorio de los datos se ha estudiado, para cada variable, si su distribución se ajusta a la distribución normal (a partir de la inspección del normal probability plot) y si puede asumirse la igualdad de varianzas en cada uno de los grupos de análisis (se ha utilizado la prueba de Levene para la homogeneidad de la varianza). En caso contrario se ha realizado una transformación logarítmica de la variable para ajustarla más a las condiciones anteriores.

1- La estadística descriptiva de los parámetros del sistema de la fibrinólisis se expresan en diferentes tablas según la etiología del derrame pleural al que pertenecen. Para cada grupo etiológico se analizan en plasma y en líquido pleural D-dímero, plasminógeno, t-PA, u-PA, PAI 1 Ag, PAI 2 Ag y PAI 1 Act.

2- Para comparar la distribución de los parámetros del sistema de la fibrinólisis entre los distintos subtipos de derrame pleural se ha utilizado el análisis U de Mann-

Whitney: exudados *versus* trasudados, infecciosos *versus* no infecciosos, empiemas *versus* tuberculosos, empiemas *versus* neoplásicos y tuberculosos *versus* neoplásicos. Para comparar la distribución de los parámetros del sistema de la fibrinólisis entre plasma y líquido pleural se ha utilizado la prueba no paramétrica de Wilcoxon.

3- La estadística descriptiva de los marcadores de actividad neutrofílica se muestran en diferentes tablas según la etiología del derrame pleural al que pertenecen. Para cada grupo etiológico se analizan en suero y líquido pleural elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$

4- Para comparar la distribución de los mediadores de la inflamación entre los distintos subtipos de derrame pleural se ha utilizado el análisis U de Mann-Whitney: exudados *versus* trasudados, infecciosos *versus* no infecciosos, empiemas *versus* tuberculosos, empiemas *versus* neoplásicos y tuberculosos *versus* neoplásicos.

5- Para estudiar la asociación entre los parámetros del sistema de la fibrinólisis y las citoquinas y la elastasa, se ha estimado el coeficiente de correlación de Spearman

entre cada parámetro del sistema de la fibrinólisis y cada mediador de inflamación.

6- Se realiza la transformación logarítmica de los parámetros del sistema de la fibrinólisis para que sigan una distribución normal en los siguientes análisis. Para describir de forma sintética la distribución de los distintos parámetros de la fibrinólisis se ha utilizado el análisis factorial o de componentes principales; se han seleccionado los componentes con un autovalor superior o igual a 1 y se ha calculado su valor en cada paciente. Para comparar la distribución de estos índices entre los distintos tipos y subtipos de derrame pleural se ha utilizado el análisis de U de Mann-Whitney; se han definido los mismos contrastes que para las variables originales.

7- Para estudiar la asociación entre los componentes principales del sistema de la fibrinólisis y las citoquinas y la elastasa, se ha estimado el coeficiente de correlación de Pearson entre cada componente principal del sistema de la fibrinólisis y cada mediador de inflamación.

8- Para estudiar la distribución de los componentes

principales del sistema de la fibrinólisis entre los distintos subtipos de derrame pleural se ha utilizado el análisis de la varianza. Para investigar si las diferencias en los parámetros de la fibrinólisis entre los distintos tipos y subtipos de derrame son explicables por las diferencias en los niveles de citoquinas se ha utilizado el análisis de la covarianza.

El análisis se ha realizado fundamentalmente, con el programa estadístico SPSS.



# **RESULTADOS**

---

## **1. ANALISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESULTADOS.**

### **COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE LOS DIFERENTES**

### **GRUPOS DE DERRAME PLEURAL**

Los resultados de los parámetros a estudio se expresan en diferentes tablas según la etiología del derrame pleural al que pertenecen.

Para cada grupo etiológico se analizan en suero marcadores bioquímicos (pH, glucosa, proteínas y LDH) y marcadores de actividad neutrofílica (elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$ ), en plasma se determinan los parámetros del sistema de la fibrinólisis ( D-dímero, plasminógeno, t-PA, u-PA, PAI 1 Ag, PAI 2 Ag y PAI 1 Act), en sangre periférica la celularidad y el recuento diferencial de leucocitos, y en líquido pleural se analizan los marcadores bioquímicos (pH, glucosa, proteínas, LDH y ADA), el recuento celular, los parámetros de actividad neutrofílica (elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$ ) y los marcadores del sistema de la fibrinólisis (D-dímero, plasminógeno, t-PA, u-PA, PAI 1 Ag, PAI 2 Ag y PAI 1 Act).

En las tablas quedan reflejados la mediana, los percentiles 25 - 50 y los valores mínimo - máximo en

primera, segunda y tercera línea respectivamente.

Se utilizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para estudiar las diferencias en los parámetros estudiados en suero, plasma, sangre periférica y líquido pleural entre los distintos tipos de derrame pleural.

Se analizan las diferencias entre los derrames pleurales exudados y los trasudados y posteriormente las diferencias que se establecen dentro de los exudados, comparando cada grupo etiológico por separado.

Para estudiar las diferencias entre los niveles plasmáticos y pleurales del sistema de la fibrinólisis se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon.

### **1.1. RESULTADOS EN SANGRE**

#### **MARCADORES BIOQUÍMICOS EN SUERO** (Tabla 3)

En todos los pacientes el pH fue normal, oscilando entre 7.35 y 7.45.

Los resultados de las medianas de glucemia oscilaron entre 88.5 mg/dl en los pacientes con derrame pleural tuberculoso y 107 mg/dl en los empiemas. Así, las cifras de glucemia en suero son inferiores en los pacientes con derrame pleural tuberculoso respecto a los empiemas y neoplásicos ( $p = 0.03$  y  $p = 0.01$ ).

La mediana de las proteínas fue superior con significación estadística en los pacientes con derrame tuberculoso respecto al resto de grupos ( $p < 0.001$ ), mientras que las medianas de la LDH oscilaron entre 289 U/l en los pacientes con empiema y 420 U/l en los trasudados, evidenciándose diferencias entre los trasudados y los exudados ( $p = 0.01$ ) y dentro de los exudados los derrames pleurales neoplásicos presentaron un nivel de LDH superior al tuberculoso ( $p = 0.04$ ).

TABLA 3. MARCADORES BIOQUÍMICOS EN SUERO

		<b>EMPIEMA</b>	<b>TUBERCULOSIS</b>	<b>NEOPLÁSICO</b>	<b>TRASUDADO</b>
<b>GLUCOSA</b>	Med	107	88.5	104	98
	Per 25-75	95 - 141	77 - 104.8	85.3 - 133.5	83.5 - 135
	Rango	76 - 349	62 - 137	59 - 349	49 - 427
<b>PROTEÍNAS</b>	Med	6.1	7	6.4	6.4
	Per 25-75	5.6 - 6.45	6.6 - 7.8	5.8 - 6.6	5.3 - 6.9
	Rango	5.2 - 7.9	5.6 - 8.8	4.5 - 7.3	4.8 - 8.7
<b>LDH</b>	Med	289	302	354	420
	Per 25-75	282 - 357	269 - 332.3	283.5 - 419	331 - 458
	Rango	117 - 835	206 - 641	216 - 841	199 - 568

---

RECuento CELULAR EN SANGRE PERIFÉRICA (Tabla 4)

No se evidencian diferencias significativas en el número de leucocitos ni en el recuento diferencial entre los trasudados y los exudados.

Los pacientes con empiema mostraron cifras más elevadas de leucocitos, siendo la mediana de 13300 leucocitos/mm<sup>3</sup>, evidenciando en el recuento diferencial predominio en los leucocitos polimorfonucleares con diferencias significativas respecto a los derrames tuberculoso y neoplásico ( $p < 0.001$  y  $p = 0.001$ ).

El resto de grupos etiológicos mostró cifras similares en el recuento celular, oscilando entre 7000 leucocitos/mm<sup>3</sup> en el trasudado y 7800 leucocitos /mm<sup>3</sup> en los pacientes con derrame pleural neoplásico.

TABLA 4. RECUENTO CELULAR EN SANGRE PERIFÉRICA

		EMPIEMA	TUBERCULOSIS	NEOPLÁSICO	TRASUDADO
LEUCOCITOS	Med	13300	7150	7800	7000
	Per 25-75	9600 - 17650	6175 - 8225	6225 - 10600	5100 - 9700
	Rango	1300 - 29600	1500 - 12900	3100 - 23000	800 - 21800
GRANULOCITOS	Med	11288	4872	5946	4636
	Per 25-75	6669 - 14988	3630 - 5674	3573 - 7458.3	3122 - 8330
	Rango	455 - 24864	660 - 9280	1209 - 19320	500 - 20492
LINFOCITOS	Med	960	1005	1207	840
	Per 25-75	834 - 1922	721 - 1840	906.3 - 1563.8	571 - 1615
	Rango	468 - 4914	330 - 2300	310 - 6435	100 - 2430

MEDIADORES DE LA INFLAMACION EN SUERO (Tabla 5)

La elastasa mostró las mayores cifras en los empiemas con una mediana de 131  $\mu\text{g/l}$  con diferencias significativas con el resto de grupos ( $p < 0.001$ ).

Las medianas de IL-8 y TNF- $\alpha$  en suero mostraron valores muy similares en los diferentes tipos de derrame pleural, oscilando la IL-8 entre 1 pg/ml y 2 pg/ml, y el TNF- $\alpha$  entre 7.5 pg/ml y 13 pg/ml.

TABLA 5. MARCADORES DE ACTIVIDAD NEUTROFÍLICA EN SUERO

		<b>EMPIEMA</b>	<b>TUBERCULOSIS</b>	<b>NEOPLÁSICO</b>	<b>TRASUDADO</b>
<b>ELASTASA</b>	Med	131	68	53	71
	Per 25-75	86 - 203	48 - 110.8	31 - 95.5	47 - 117.5
	Rango	53 - 320	26 - 256	3 - 160	4 - 617
<b>IL - 8</b>	Med	2	1.5	1	1
	Per 25-75	1 - 42.5	1 - 27.5	1 - 12.8	1 - 1
	Rango	1 - 174	1 - 354	1 - 690	1 - 26
<b>TNF - <math>\alpha</math></b>	Med	13	8	7.5	11
	Per 25-75	5 - 17.5	1 - 15	6 - 11	8 - 16
	Rango	1 - 33	2 - 75	3 - 22	3 - 23



---

SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN PLASMA (Tabla 6)

Las medianas de los valores de D-dímero oscilaron desde 1.8 mg/ml en los derrames pleurales neoplásicos a 3.8 mg/ml en los trasudados, aunque el valor máximo lo presentó un paciente con derrame pleural neoplásico.

Los trasudados mostraron los resultados inferiores en las medianas de plasminógeno ( $p < 0.001$ ), mientras que dentro de los exudados los pacientes con empiema presentan niveles menores en el plasminógeno que los pacientes con tuberculosis pleural ( $p = 0.03$ ) y neoplasia ( $p = 0.04$ ).

Las medianas de t-PA oscilaron desde 5 ng/ml en los derrames tuberculosos hasta 15.5 ng/ml en los trasudados, mostrando diferencias significativas entre los exudados y los trasudados ( $p < 0.001$ ), y dentro de los exudados los derrames tuberculosos presentan niveles inferiores al empiema ( $p = 0.001$ ) y neoplásico ( $p = 0.004$ ) respectivamente

Las medianas de u-PA fueron muy similares en los diferentes tipos de derrame pleural.

Los derrames trasudados presentaron las medianas inferiores de PAI 1 Ag con valores de 37.4 ng/ml, mientras que la mediana más alta la mostraron los pacientes con

empiema.

Los neoplásicos presentan niveles más bajos de PAI 2 Ag que los empiemas y los tuberculosos ( $p < 0.001$  y  $p = 0.04$  respectivamente).

Las medianas de PAI 1 Act oscilaron desde 0.1 U/ml en los tuberculosos y trasudados hasta 5.4 U/ml en los pacientes con derrame pleural neoplásico. Los pacientes con derrame pleural tuberculoso y los trasudados presentan niveles inferiores de PAI 1 Act respecto al empiema y neoplásico ( $p < 0.001$ ).

TABLA 6. SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN PLASMA

		EMPIEMA	TUBERCULOSIS	NEOPLÁSICO	TRASUDADO
<b>D-DIMERO</b>	Med	1.9	2.2	1.8	3.8
	Per 25-75	1.3 - 3.9	1.5 - 4.2	1.1 - 3.7	1.7 - 12.3
	Rango	0.6 - 9.1	1.2 - 17	0.3 - 46	1.2 - 33.8
<b>PLASMINOGENO</b>	Med	113.9	141.6	124.5	81.7
	Per 25-75	101 - 135.3	115.4 - 160	114.9 - 144.5	62.3 - 109.7
	Rango	63.2 - 186.4	82.3 - 238.8	59 - 1004	39.2 - 133.3
<b>t-PA</b>	Med	10.5	5	8.2	15.5
	Per 25-75	7.3 - 17.1	3.9 - 7.1	4.8 - 12.1	10.3 - 25.5
	Rango	2.9 - 26.4	2.7 - 56.6	1.2 - 18.6	2 - 50.9
<b>u-PA</b>	Med	0.3	0.3	0.3	0.4
	Per 25-75	0.2 - 0.35	0.2 - 0.35	0.2 - 0.5	0.2 - 0.8
	Rango	0.1 - 0.5	0.1 - 0.7	0.1 - 1.2	0.1 - 1.4
<b>PAI 1 Ag</b>	Med	55.5	38.9	45	37.4
	Per 25-75	40 - 82.7	29.8 - 70.7	27.4 - 71.8	28.6 - 60.6
	Rango	14.8 - 172.8	14 - 2166	10.9 - 186.8	18.9 - 85.9
<b>PAI 2 Ag</b>	Med	2.2	1.4	0.9	1.9
	Per 25-75	1.5 - 3.1	0.6 - 2.5	0.1 - 1.4	1.1- 3.9
	Rango	0.1 - 6.1	0.1 - 36.3	0.1 - 4.1	0.1 - 7.2
<b>PAI 1 Act</b>	Med	4.3	0.1	5.4	0.1
	Per 25-75	0.1 - 16.3	0.1 - 0.1	0.1 - 9.5	0.1 - 0.1
	Rango	0.1 -43	0.1 - 16	0.1 - 28	0.1 - 14

## **1.2. RESULTADOS EN PLEURA**

### **MARCADORES BIOQUÍMICOS EN LÍQUIDO PLEURAL** (Tabla 7)

Los empiemas presentaron la mediana inferior del pH ( $p < 0.001$ ) con un valor de 6.98 mientras que en el resto de grupos etiológicos oscilaron de 7.37 a 7.47. Además de los empiemas, solamente un paciente con derrame pleural tuberculoso presentó una cifra de pH inferior a 7.

La mediana de la glucosa también fue inferior de forma significativa ( $p < 0.001$ ) en los empiemas con un valor de 21 mg/dl, mientras que en el resto de grupos osciló desde los 67.5 mg/dl del tuberculoso hasta 133 mg/ml en el trasudado.

Las medianas de proteínas en líquido pleural oscilaron desde 1.5 g/dl en el trasudado hasta 5.5 g/dl en el grupo tuberculoso. Las proteínas en los derrames tuberculosos mostraron diferencias significativas con el resto de derrames pleurales.

El derrame pleural tuberculoso mostró la mediana y valor máximo superiores en la determinación del ADA, siendo de 81 U/l y 144 U/l respectivamente, evidenciándose diferencias significativas con el resto de grupos etiológicos ( $p < 0.001$ ).

Los empiemas mostraron la mediana superior significativamente ( $p < 0.001$ ) de LDH con una cifra de 2177 U/l mientras que en el resto de derrames pleurales osciló desde 126 U/l en el trasudado hasta 850 U/l en el tuberculoso. El valor máximo de 18876 U/l también lo presentó un paciente con empiema.

TABLA 7. MARCADORES BIOQUÍMICOS EN LÍQUIDO PLEURAL

		<b>EMPIEMA</b>	<b>TUBERCULOSIS</b>	<b>NEOPLÁSICO</b>	<b>TRASUDADO</b>
<b>PH</b>	Med	6.98	7.37	7.41	7.47
	Per 25-75	6.83 - 7.15	7.32 - 7.41	7.38 - 7.44	7.42 - 7.5
	Rango	6.3 - 7.4	6.96 - 7.6	7.12 - 7.59	7.39 - 7.7
<b>GLUCOSA</b>	Med	21	67.5	114	133
	Per 25-75	10 - 77.5	58.7 - 96.7	90.2 - 132	116 - 160.5
	Rango	1 - 173	9 - 135	10 - 377	96 - 337
<b>PROTEÍNAS</b>	Med	4.8	5.5	4.4	1.5
	Per 25-75	3.4 - 5.2	5 - 5.8	3.9 - 4.6	0.1 - 1.9
	Rango	0.8 - 6	4 - 6.1	3.4 - 5.9	0.5 - 3
<b>ADA</b>	Med	27	81	13.5	7
	Per 25-75	17 - 46	68 - 93.5	10.2 - 19	5 - 12.5
	Rango	11 - 139	38 - 144	5 - 30	3 - 21
<b>LDH</b>	Med	2177	850	528.5	126
	Per 25-75	1602 - 4345	619 - 1154	368.7 - 797	86.5 - 181
	Rango	121 - 18876	277 - 2013	107 - 3670	54 - 255

---

RECuento CELULAR EN LÍQUIDO PLEURAL (Tabla 8)

El número de leucocitos y el recuento diferencial mostró diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) entre los exudados y los trasudados, siendo más elevados en los exudados.

Los pacientes con empiema mostraron la cifra de leucocitos más alta ( $p < 0.001$ ) con una mediana de 10000 leucocitos/mm<sup>3</sup> y un valor máximo de 97100 leucocitos/mm<sup>3</sup> así como un predominio de neutrófilos en el recuento diferencial con una mediana de 7560 neutrófilos/mm<sup>3</sup> y un valor máximo de 93216 neutrófilos/mm<sup>3</sup>.

En el resto de grupos etiológicos las medianas oscilaron desde 600 a 2100 leucocitos/mm<sup>3</sup> con predominio linfocitario.

TABLA 8. RECUENTO CELULAR EN LÍQUIDO PLEURAL

		<b>EMPIEMA</b>	<b>TUBERCULOSIS</b>	<b>NEOPLÁSICO</b>	<b>TRASUDADO</b>
<b>LEUCOCITOS</b>	Med	10000	2100	1400	600
	Per 25-75	2150 - 52800	830 - 5325	950 - 3300	250 - 925
	Rango	100 - 97100	200 - 14700	240 - 12400	100 - 1400
<b>GRANULOCITOS</b>	Med	7560	247	154	36
	Per 25-75	1712 - 44918	95.7 - 957	60 - 365	6 - 205
	Rango	90 - 93216	2 - 2160	12 - 1730	2 - 1050
<b>LINFOCITOS</b>	Med	700	1425	940	290
	Per 25-75	85 - 1333	568.5 - 3350	465 - 2075	180 - 543
	Rango	2 - 3648	100 - 11466	198 - 9920	60 - 1100

---

MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN EN LÍQUIDO PLEURAL (Tabla 9)

Los exudados mostraron niveles de elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$  significativamente superiores a los trasudados ( $p < 0.001$ ).

Los pacientes con empiema presentaron las medianas y los valores máximos más altos de elastasa e IL-8 de forma significativa ( $p < 0.001$ ).

No se evidenciaron diferencias en la IL-8 entre los derrames tuberculosos y los neoplásicos. Los derrames tuberculosos mostraron cifras intermedias entre los empiemas y los neoplásicos en la determinación de elastasa.

El TNF- $\alpha$  mostró la mediana más elevada en los derrames tuberculosos de forma significativa con un valor de 142 pg/ml, el empiema presentó una cifra intermedia de 54 pg/ml mientras que el trasudado y el neoplásico evidenciaron los valores inferiores de 7 y 13.5 pg/ml respectivamente.



TABLA 9. MARCADORES DE ACTIVIDAD NEUTROFÍLICA EN LÍQUIDO PLEURAL

		EMPIEMA	TUBERCULOSIS	NEOPLÁSICO	TRASUDADO
<b>ELASTASA</b>	Med	6258	242	18	10
	Per 25-75	2464 - 12561	104.2 - 490.1	10.2 - 44	5.5 - 71.5
	Rango	142 - 45380	11 - 795	2 - 212	1 - 263
<b>IL - 8</b>	Med	22090	106.5	105	10
	Per 25-75	991 - 57790	59.2 - 338	20.7 - 246.2	1 - 12
	Rango	30 - 490240	7 - 2800	1 - 3817	1 - 34
<b>TNF - <math>\alpha</math></b>	Med	54	142	13.5	7
	Per 25-75	15 - 232	81 - 239	8.2 - 23	2 - 10.5
	Rango	2 - 1675	34 - 497	1 - 103	1 - 38

---

SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LÍQUIDO PLEURAL (Tabla 10)

El derrame pleural tuberculoso mostró de forma significativa las medianas más altas en la determinación de D-dímero con una cifra de 542.6 mg/ml sin evidenciarse diferencias entre los empiemas y los derrames neoplásicos.

Los valores más altos de plasminógeno los presentaron los derrames tuberculosos, los empiemas y los neoplásicos mostraron cifras intermedias y los trasudados las inferiores, pero solamente se evidenciaron diferencias significativas entre los exudados y los trasudados y dentro de los exudados entre los tuberculosos y los neoplásicos.

El t-PA mostró los valores más altos en los derrames neoplásicos con una mediana de 19.8 ng/ml, mientras que los pacientes con empiema presentaron la mediana más baja de 4.9 ng/ml y los tuberculosos valores intermedios de 10.1 ng/ml, evidenciándose diferencias significativas entre los derrames infecciosos y los neoplásicos.

Los empiemas presentan los niveles más altos de u-PA, pero no se evidencian diferencias significativas entre los diferentes grupos etiológicos.

Los derrames pleurales de causa infecciosa presentan valores más elevados de PAI 1 Ag, PAI 2 Ag y PAI 1 Act que

los exudados neoplásicos. Así mismo, dentro del grupo de derrames infecciosos los empiemas tienen cifras más altas de PAI 2 Ag que los tuberculosos, pero no existen diferencias en el PAI 1 Ag ni en la actividad del PAI.

TABLA 10. SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LÍQUIDO PLEURAL

		<b>EMPIEMA</b>	<b>TUBERCULOSIS</b>	<b>NEOPLÁSICO</b>	<b>TRASUDADO</b>
<b>D-DIMERO</b>	Med	236.5	542.6	321.8	87
	Per 25-75	78.9 - 426.2	409 - 597.3	197 - 475	41.2 - 114
	Rango	0.8 - 691.8	32.3 - 658	18.9 - 625	13.6 - 522
<b>PLASMINOGENO</b>	Med	72.4	91.1	44.5	12.2
	Per 25-75	15.5 - 105.4	68.4 - 107	21.7 - 59	9.4 - 20.7
	Rango	0 - 120	24.3 - 133	6.8 - 92.7	4.2 - 32.1
<b>t-PA</b>	Med	4.9	10.1	19.8	9.8
	Per 25-75	2.1 - 17.9	7.7 - 24.1	12.2 - 28	7.2 - 12.7
	Rango	0.9 - 321.2	3 - 37	2.3 - 178	2.8 - 25
<b>u-PA</b>	Med	2.5	1.7	1.9	0.3
	Per 25-75	1.5 - 5.1	1.2 - 2.6	0.9 - 5.9	0.2 - 0.5
	Rango	0.3 - 11.4	0.2 - 3.2	0.5 - 44.8	0.1 - 1.1
<b>PAI 1 Ag</b>	Med	1767.8	1553.3	213	15.6
	Per 25-75	1075 - 1921	1095 - 1868	54.4 - 609	12.6 - 29
	Rango	100 - 2772	40 - 2688	11 - 1355	6.8 - 543
<b>PAI 2 Ag</b>	Med	74.2	36.7	26.7	6.5
	Per 25-75	44.2 - 121.9	14.1 - 78.5	9.4 - 34.1	3.9 - 15.1
	Rango	14.8 - 297.4	0.6 - 99	1 - 272	1.1 - 157
<b>PAI 1 Act</b>	Med	34.7	26.6	1.4	0.1
	Per 25-75	11.7 - 43.5	12.9 - 34.8	0.1 - 10.9	0.1 - 0.1
	Rango	0.1 - 48.5	0.1 - 48.5	0.1 - 37.8	0.1 - 3.2

### **1.3. COMPARACIÓN DE MEDIAS: PLASMA - LÍQUIDO PLEURAL**

Se han detectado diferencias significativas entre los niveles pleurales y plasmáticos en los derrames pleurales exudados con cifras superiores en líquido pleural de todos los parámetros del sistema de la fibrinólisis excepto el plasminógeno en todos los derrames, el t-PA en los empiemas y la actividad del PAI 1 en los derrames neoplásicos (Tabla 11). Estas diferencias sin embargo muchas veces no existen en los derrames trasudados, y cuando existen son menores que en los exudados.

Así mismo, tampoco se ha detectado correlación entre los niveles pleurales y plasmáticos en la mayoría de los parámetros del sistema de la fibrinólisis de los derrames exudados.

TABLA 11. PLASMA Y LÍQUIDO PLEURAL SEGÚN EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO.

	<b>Empiema</b> N=25	<b>Tuberculosis</b> N=22	<b>Neoplásico</b> N=28	<b>Trasudado</b> N=25
<b>Pleura/plasma D-dimero</b>	236.5 / 1.9 p < 0.001	542.6 / 2.2 p < 0.001	321.8 / 1.8 p < 0.001	87 / 3.8 p < 0.001
<b>Pleura/plasma Plasminógeno</b>	72.4 / 113.9 p = 1	91.1 / 141.6 p = 1	44.5 / 124.5 p = 1	12.2 / 81.7 p = 1
<b>Pleura/plasma t-PA</b>	4.9 / 10.5 p = 1	10.1 / 5 p = 0.01	19.8 / 8.2 p < 0.001	9.8 / 15.5 p = 1
<b>Pleura/plasma u-PA</b>	2.5 / 0.3 p < 0.001	1.7 / 0.3 p < 0.001	1.9 / 0.3 p < 0.001	0.3 / 0.4 p = 1
<b>Pleura/plasma PAI 1 Ag</b>	1767.8 / 55.5 p < 0.001	1553.3 / 38.9 p < 0.001	213 / 45 p < 0.001	15.6 / 37.4 p = 1
<b>Pleura/plasma PAI 2 Ag</b>	74.2 / 2.2 p < 0.001	36.7 / 1.4 p < 0.001	26.7 / 0.9 p < 0.001	6.5 / 1.9 p < 0.001
<b>Pleura/plasma PAI 1 Act</b>	34.7 / 4.3 p < 0.001	26.6 / 0.1 p < 0.001	1.4 / 5.4 p = 1	0.1 / 0.1 p = 0.1

TABLA 12. CORRELACIÓN PLASMA Y LÍQUIDO PLEURAL SEGÚN EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO.

		<b>Empiema</b> N=25	<b>Tuberculosis</b> N=22	<b>Neoplásico</b> N=28	<b>Trasudado</b> N=25
<b>Pleura/plasma</b> <b>D-dimero</b>	r	0.304	0.425	0.159	0.292
	p	0.1	0.049	0.4	0.1
<b>Pleura/plasma</b> <b>Plasminógeno</b>	r	0.430	0.510	0.246	0.626
	p	0.03	0.15	0.2	0.001
<b>Pleura/plasma</b> <b>t-PA</b>	r	- 0.178	- 0.143	- 0.133	- 0.082
	p	0.4	0.5	0.5	0.6
<b>Pleura/plasma</b> <b>u-PA</b>	r	- 0.250	- 0.165	0.278	- 0.219
	p	0.2	0.4	0.1	0.2
<b>Pleura/plasma</b> <b>PAI 1 Ag</b>	r	- 0.06	- 0.207	0.237	- 0.106
	p	0.7	0.3	0.2	0.6
<b>Pleura/plasma</b> <b>PAI 2 Ag</b>	r	0.446	0.494	0.195	0.445
	p	0.02	0.02	0.3	0.02
<b>Pleura/plasma</b> <b>PAI 1 Act</b>	r	0.043	0.104	- 0.202	-0.101
	p	0.8	0.6	0.3	0.6

## **2. CORRELACION**

Para estudiar la existencia y el grado de asociación entre los marcadores de actividad neutrofílica con los del sistema de la fibrinólisis en líquido pleural se ha realizado la correlación de Spearman.

La correlación de Spearman se establece de forma global en todos los grupos etiológicos, en los derrames pleurales infecciosos y finalmente en cada grupo etiológico.



## 2.1. CORRELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE ACTIVIDAD NEUTROFÍLICA Y EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES PLEURALES EXUDADOS

IL-8, TNF- $\alpha$  y elastasa se correlacionan de forma positiva con D-dímero, plasminógeno, u - PA y los PAIs.

IL-8 muestra una correlación negativa con t - PA.

TABLA 13. CORRELACIÓN ENTRE IL-8, TNF- $\alpha$  Y ELASTASA CON LOS MARCADORES DE FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES EXUDADOS

		D-DIMERO	PG	TPA	UPA	PAI 1 AG	PAI 2 AG	PAI 1 ACT
IL - 8	r	0.277	0.337	- 0.276	0.695	0.659	0.497	0.545
	p	0.005	0.001	0.005	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
TNF - $\alpha$	r	0.507	0.548	- 0.005	0.496	0.675	0.455	0.614
	p	< 0.001	< 0.001	0.9	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
ELASTASA	r	0.220	0.405	- 0.195	0.4771	0.704	0.625	0.599
	p	0.02	< 0.001	0.051	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

## 2.2. CORRELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE ACTIVIDAD NEUTROFÍLICA Y EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES PLEURALES INFECCIOSOS

IL-8 y elastasa se asocian de forma positiva con u-PA, y negativamente con D-dímero y t-PA. La elastasa se asocia también con PAI 2 Ag.

El TNF- $\alpha$  se correlaciona de forma positiva con el PAI 1 Ag.

TABLA 14. CORRELACIÓN ENTRE IL-8, TNF- $\alpha$  Y ELASTASA CON LOS MARCADORES DE FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES PLEURALES INFECCIOSOS

		D-DIMERO	Pg	TPA	UPA	PAI 1 Ag	PAI 2 Ag	PAI 1 Act
IL - 8	r	- 0.486	- 0.175	- 0.584	0.438	0.229	0.123	0.165
	p	0.001	0.2	< 0.001	0.002	0.1	0.4	0.2
TNF - $\alpha$	r	0.216	0.173	0.256	0.169	0.319	0.100	0.181
	p	0.1	0.2	0.08	0.2	0.02	0.5	0.2
ELASTASA	R	- 0.557	- 0.177	- 0.405	0.541	0.075	0.496	0.106
	P	< 0.001	0.2	0.005	< 0.001	0.6	< 0.001	0.4

### 2.3. CORRELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE ACTIVIDAD NEUTROFÍLICA Y EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS EMPIEMAS

IL-8 y elastasa se comportan igual asociándose de forma positiva a u - PA y negativamente a t - PA.

No se evidencian asociaciones significativas con el TNF- $\alpha$ .

TABLA 15. CORRELACIÓN ENTRE IL-8, TNF- $\alpha$  Y ELASTASA CON LOS MARCADORES DE FIBRINOLISIS EN LOS EMPIEMAS

		D-DIMERO	Pg	TPA	UPA	PAI 1 Ag	PAI 2 Ag	PAI 1 Act
IL - 8	r	- 0.111	0.025	- 0.552	0.552	0.120	- 0.250	- 0.103
	p	0.5	0.9	0.004	0.004	0.5	0.2	0.6
TNF - $\alpha$	r	0.191	0.108	0.388	0.350	0.278	0.248	0.149
	p	0.3	0.6	0.055	0.08	0.1	0.2	0.4
ELASTASA	r	- 0.198	- 0.106	- 0.677	0.697	0.161	0.265	- 0.188
	p	0.3	0.6	< 0.001	< 0.001	0.4	0.2	0.3

## 2.4. CORRELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE ACTIVIDAD NEUTROFÍLICA Y EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES TUBERCULOSOS

IL-8 se correlaciona de forma negativa a t-PA, mientras que TNF- $\alpha$  lo hace de forma positiva con PAI 1 Act.

TABLA 16. CORRELACIÓN ENTRE IL-8, TNF- $\alpha$  Y ELASTASA CON LOS MARCADORES DE FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES TUBERCULOSOS

		D-DIMERO	Pg	TPA	UPA	PAI 1 Ag	PAI 2 Ag	PAI 1 Act
IL - 8	r	- 0.166	0.062	- 0.496	0.052	0.395	- 0.220	0.278
	p	0.4	0.7	0.01	0.8	0.06	0.3	0.26
TNF - $\alpha$	r	- 0.032	0.194	- 0.293	0.037	0.416	0.119	0.449
	p	0.8	0.3	0.1	0.8	0.054	0.5	0.03
ELASTASA	r	- 0.224	0.305	0.399	0.247	- 0.209	0.342	0.236
	p	0.3	0.1	0.06	0.2	0.3	0.1	0.2

## 2.5. CORRELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE ACTIVIDAD NEUTROFÍLICA Y EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES NEOPLÁSICOS

Los niveles de elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$  se asocian a los de D-dímero. La IL-8 también se asocia al u-PA y los niveles de elastasa con PAI 2 Ag.

TABLA 17. CORRELACIÓN ENTRE IL-8, TNF- $\alpha$  Y ELASTASA CON LOS MARCADORES DE FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES NEOPLÁSICOS

		D-DIMERO	Pg	TPA	UPA	PAI 1 Ag	PAI 2 Ag	PAI 1 Act
IL - 8	r	0.526	- 0.170	- 0.020	0.727	0.184	0.220	0.057
	p	0.003	0.3	0.9	< 0.001	0.3	0.2	0.7
TNF - $\alpha$	r	0.546	- 0.021	0.059	0.329	0.123	0.366	0.212
	p	0.003	0.9	0.7	0.08	0.5	0.055	0.2
ELASTASA	r	0.639	- 0.037	0.276	0.217	0.180	0.453	0.338
	p	< 0.001	0.8	0.1	0.2	0.3	0.01	0.07

---

### **3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS**

Tras realizar un estudio de correlación para evidenciar el grado de asociación que muestran los diferentes parámetros del sistema de fibrinólisis entre sí (tabla 18), se ha aplicado el análisis factorial o de componentes principales a estos marcadores del sistema de la fibrinólisis, evidenciándose que todos los parámetros se resumen en dos factores:

- **Factor 1, de hipofibrinólisis o de depósito de fibrina:**

Las variables más representadas son PAI 1 Ag, PAI 1 Act, Plasminógeno, PAI 2 Ag y u-PA (tabla 19 y figura 4). Las variables más representadas del factor 1 son marcadores de la inhibición de la degradación de la fibrina.

- **Factor 2, de hiperfibrinólisis o de degradación de la fibrina:**

Estaría representado por t-PA y D-dímero fundamentalmente (tabla 19 y figura 4). Las variables más representadas del factor 2 serían marcadores de la degradación de la fibrina.

TABLA 18. CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DEL SISTEMA DE FIBRINOLISIS EN LÍQUIDO PLEURAL

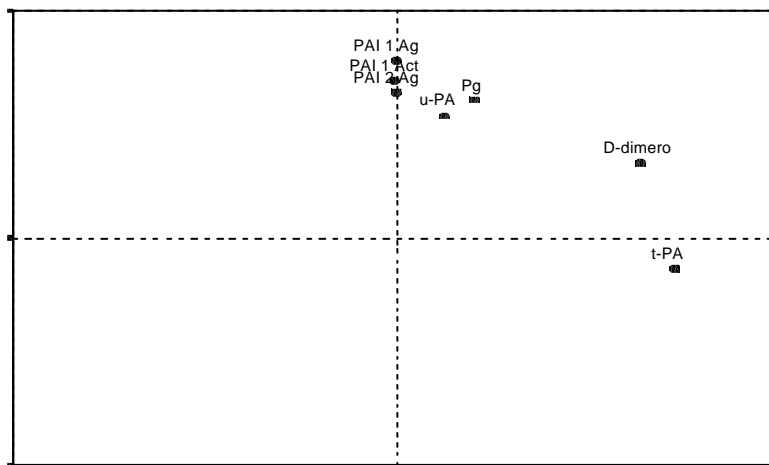
CORRELACIÓN		D-DIMERO	Pg	t-PA	u-PA	PAI 1 Ag	PAI 2 Ag	PAI 1 Act
D-DIMERO	r	1	0.408	0.389	0.369	0.376	0.260	0.202
	p		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.009	0.04
Pg	r	0.408	1	0.073	0.320	0.635	0.367	0.630
	p	< 0.001		0.4	0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
t-PA	r	0.389	0.073	1	- 0.031	- 0.148	- 0.028	- 0.074
	p	< 0.001	0.4		0.7	0.1	0.7	0.4
u-PA	r	0.369	0.320	- 0.031	1	0.547	0.448	0.348
	p	< 0.001	0.001	0.7		< 0.001	< 0.001	< 0.001
PAI 1 Ag	r	0.376	0.635	- 0.148	0.547	1	0.692	0.724
	p	< 0.001	< 0.001	0.1	< 0.001		< 0.001	< 0.001
PAI 2 Ag	r	0.260	0.367	- 0.028	0.448	0.692	1	0.549
	p	0.009	< 0.001	0.7	< 0.001	< 0.001		< 0.001
PAI 1 Act	r	0.202	0.630	-0.074	0.348	0.724	0.549	1
	p	0.04	< 0.001	0.4	< 0.001	< 0.001	< 0.001	



TABLA 19. PARÁMETROS DEL FACTOR 1 Y 2 DEL ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

MARCADORES LÍQUIDO PLEURAL	FACTOR HIPOFIBRINOLISIS	FACTOR HIPERFIBRINOLISIS
PAI 1 Ag	0.912	0.002
PAI 1 Act	0.844	- 0.045
Plasminógeno	0.801	0.258
PAI 2 Ag	0.705	0.001
u-PA	0.577	0.145
t-PA	- 0.174	0.872
D-dímero	0.374	0.766

FIGURA 4. VIAS PRINCIPALES DE LOS PARÁMETROS DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS



FACTOR HIPERFIBRINOLISIS

Al analizar los factores atendiendo a la etiología de cada grupo de derrame pleural se evidencian diferencias significativas:

- En los derrames exudados, se evidencian diferencias entre los neoplásicos y los infecciosos, mostrando los infecciosos valores superiores ( $p < 0.001$ ) del factor 1 o asociado a inhibidores (figura 5) e inferiores ( $p = 0.002$ ) del factor 2 o asociado a los activadores de la fibrinólisis (figura 6).
- En los derrames infecciosos se evidencian diferencias entre los empiemas y tuberculosos en el factor de los activadores, mostrando los empiemas los valores más bajos ( $p = 0.002$ ) en el factor asociado a la activación (figura 7). No se detectan diferencias significativas en el factor de los inhibidores de la fibrinólisis entre los derrames infecciosos.

FIGURA 5. DIFERENCIAS EN EL FACTOR DE HIPOFIBRINOLISIS ENTRE LOS DERRAMES INFECCIOSOS Y NEOPLÁSICOS.

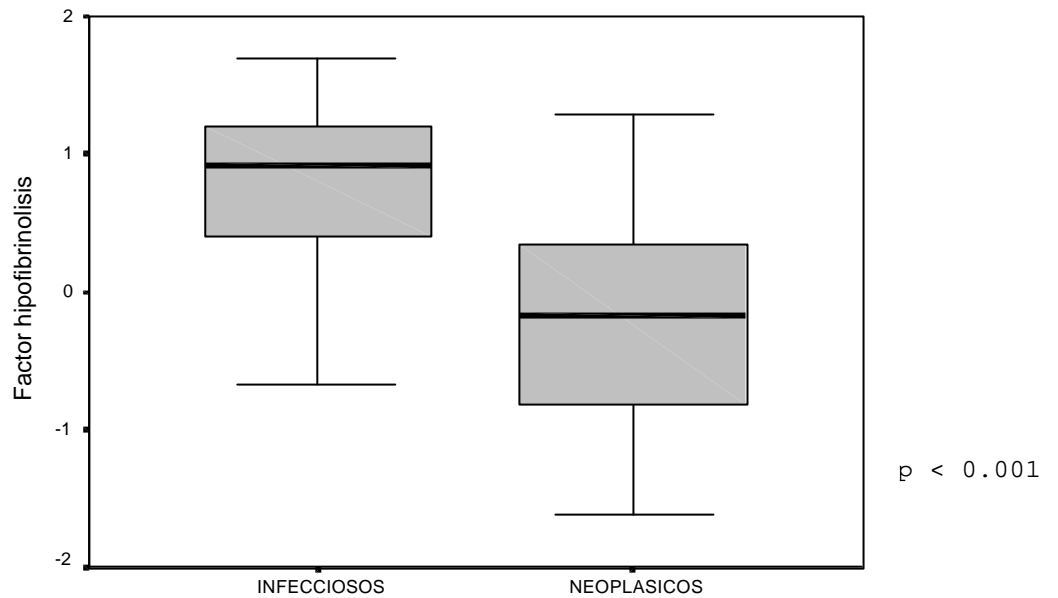


FIGURA 6. DIFERENCIAS EN EL FACTOR DE HIPERFIBRINOLISIS ENTRE LOS DERRAMES INFECCIOSOS Y NEOPLÁSICOS.

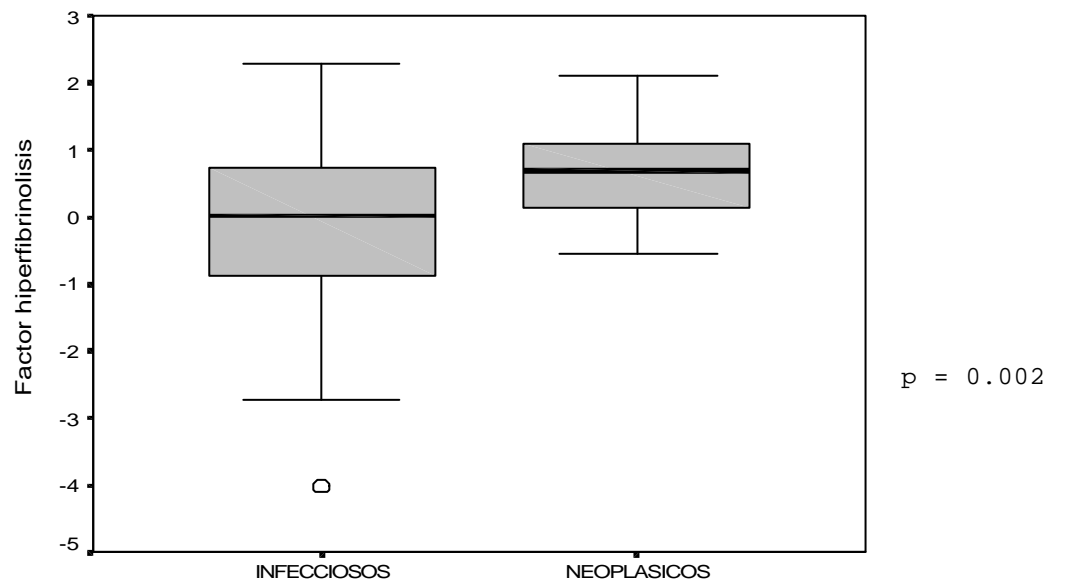
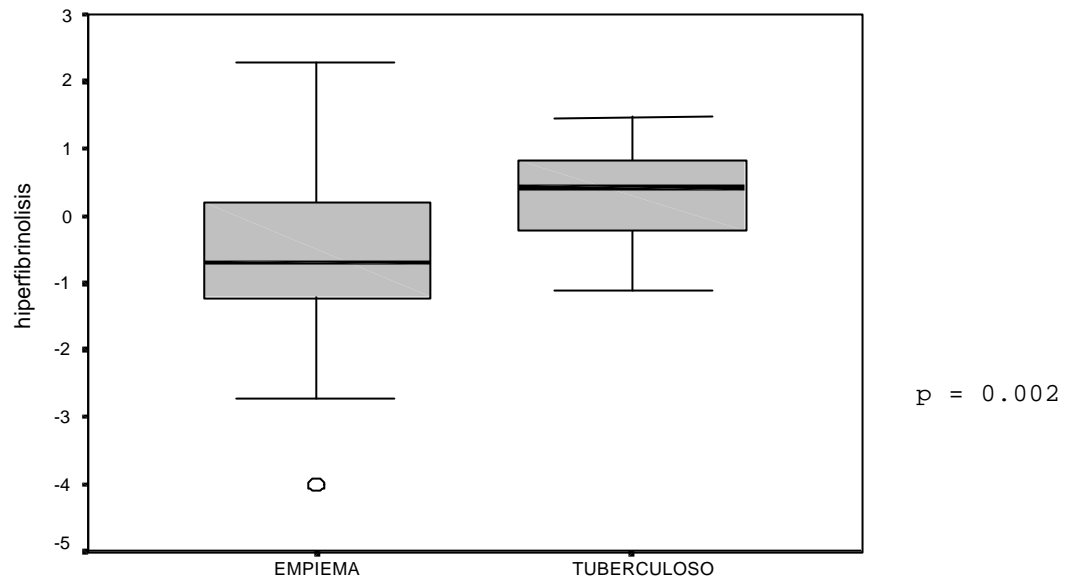


FIGURA 7. DIFERENCIAS EN EL FACTOR DE HIPERFIBRINOLISIS ENTRE LOS EMPIEMAS Y LOS DERRAMES TUBERCULOSOS.



#### **4. CORRELACION**

Para estudiar la asociación de los factores del sistema de la fibrinólisis con los mediadores de la inflamación, y porque después de la transformación logarítmica siguen una distribución normal, se estima el coeficiente de correlación de Pearson.

La correlación de Pearson se establece en todos los grupos etiológicos de forma global.

#### 4.1. CORRELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE ACTIVIDAD NEUTROFÍLICA Y LOS COMPONENTES PRINCIPALES DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES EXUDADOS

El factor hipofibrinolítico se asocia de forma positiva con las elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$ .

El factor de hiperfibrinólisis se asocia de forma negativa con la cifra de elastasa e IL-8.

TABLA 20. CORRELACIÓN ENTRE IL-8, TNF- $\alpha$  Y ELASTASA CON LOS MARCADORES DE FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES EXUDADOS

		FACTOR HIPOFIBRINOLISIS	FACTOR HIPERFIBRINOLISIS
<b>IL - 8</b>	r	0.587	- 0.223
	p	0.001	0.02
<b>TNF - <math>\alpha</math></b>	r	0.651	0.160
	p	< 0.001	0.1
<b>ELASTASA</b>	r	0.646	- 0.305
	p	< 0.01	0.002

---

## **5. ANALISIS DE LA VARIANZA Y COVARIANZA**

El análisis de la varianza y covarianza analizan el Factor 1 (que comprende los marcadores de inhibición) y Factor 2 (que comprende los marcadores de activación).

Dado que existen diferencias significativas entre los derrames exudados infecciosos y los neoplásicos tanto en el factor de hipofibrinólisis como en el factor de hiperfibrinólisis, y entre los empiemas y los derrames pleurales tuberculosos en el factor de hiperfibrinólisis, el análisis se establece en una primera fase entre los derrames pleurales exudados (infecciosos-neoplásicos) y en una segunda fase entre los derrames pleurales infecciosos (empiemas-tuberculosos).

### 5.1.COMPARACIÓN ENTRE INFECCIOSOS Y NEOPLÁSICOS

Tal y como puede observarse en las figuras 8 y 9 el factor de hipofibrinólisis es superior en los exudados infecciosos que en los neoplásicos ( $F = 36.147$ ;  $p < 0.001$ ), pero estas diferencias se redujeron al ajustar por el  $TNF-\alpha$  ( $F = 12.774$ ;  $p = 0.001$ ) y la elastasa ( $F = 5.226$ ;  $p = 0.02$ ), y no se detectaron diferencias significativas al ajustar por ambas variables ( $F = 0.567$ ;  $p = 0.4$ ).

Tal y como puede observarse en las figuras 10 y 11, el factor de hiperfibrinólisis fue inferior en los derrames infecciosos que en los neoplásicos ( $F = 10.004$ ;  $p = 0.002$ ). Estas diferencias desaparecieron tanto al ajustar por la IL-8 ( $F = 2.045$ ;  $p = 0.1$ ) como por la elastasa ( $F = 0.270$ ;  $p = 0.6$ ).



FIGURA 8. DISTRIBUCIÓN DE LOS DERRAMES PLEURALES INFECCIOSOS Y NEOPLÁSICOS SEGÚN MARCADORES DE INHIBICIÓN Y TNF -  $\alpha$ .

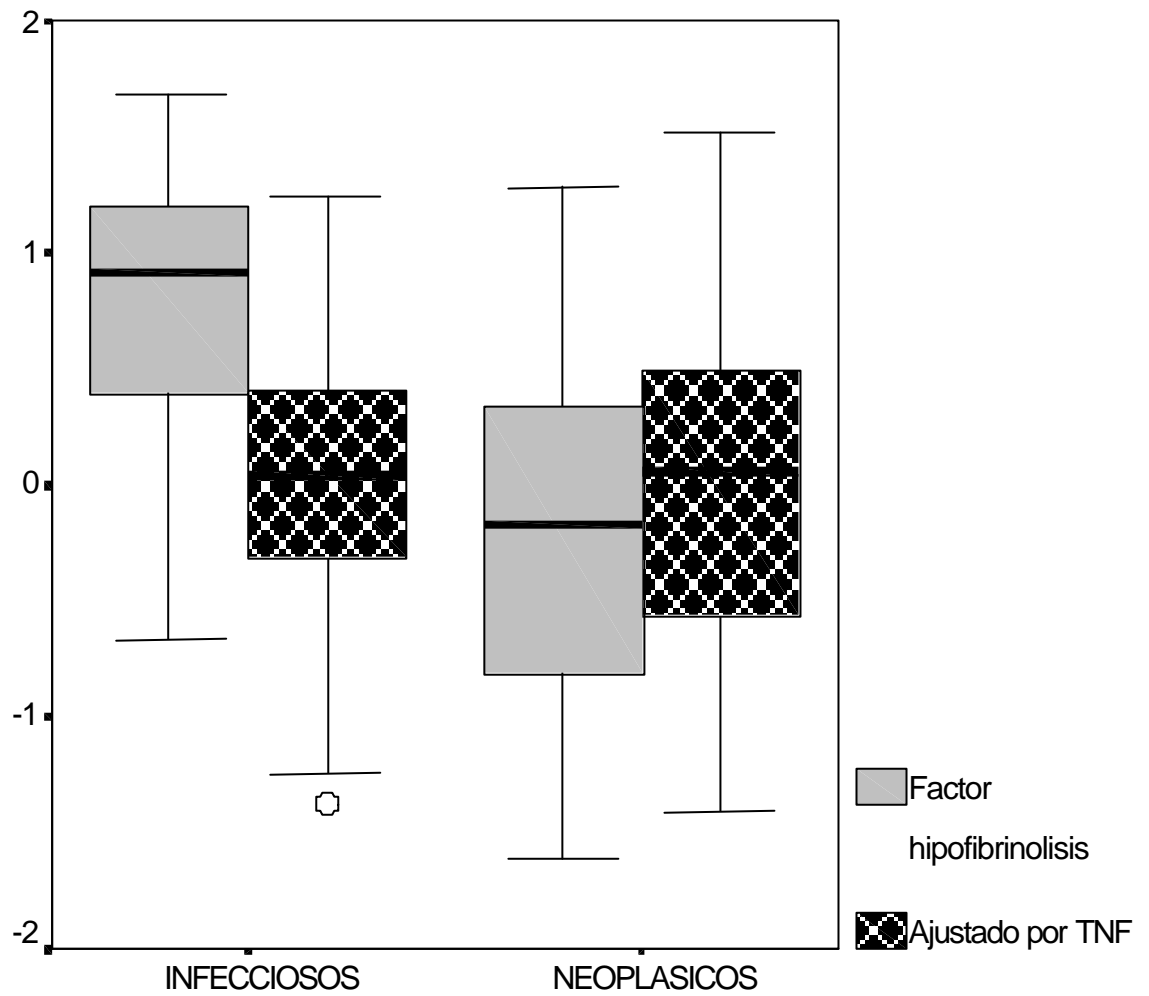


FIGURA 9. DISTRIBUCIÓN DE LOS DERRAMES PLEURALES INFECCIOSOS Y NEOPLÁSICOS SEGÚN MARCADORES DE INHIBICIÓN Y ELASTASA.

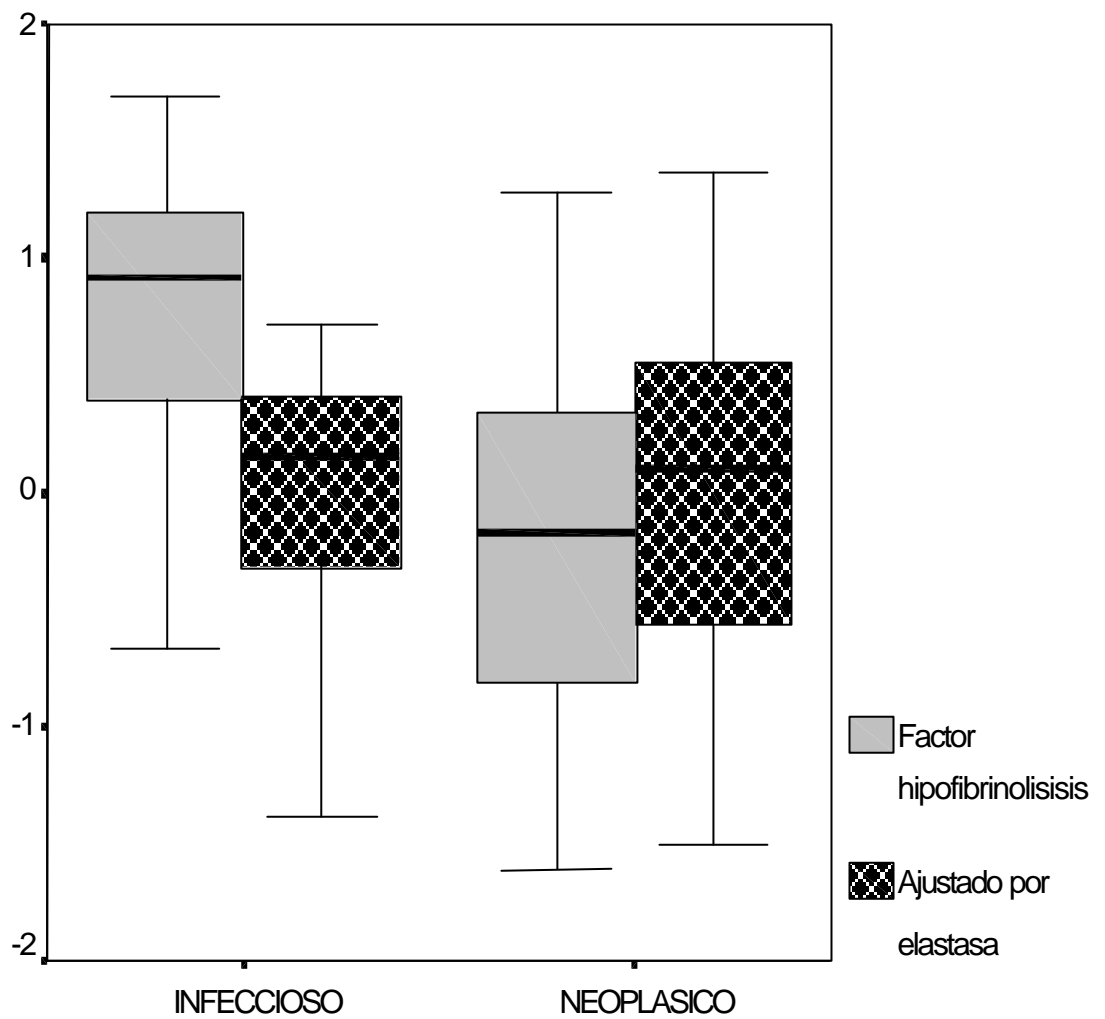


FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN DE LOS DERRAMES PLEURALES INFECCIOSOS Y NEOPLÁSICOS SEGÚN MARCADORES DE ACTIVACIÓN E IL-8.

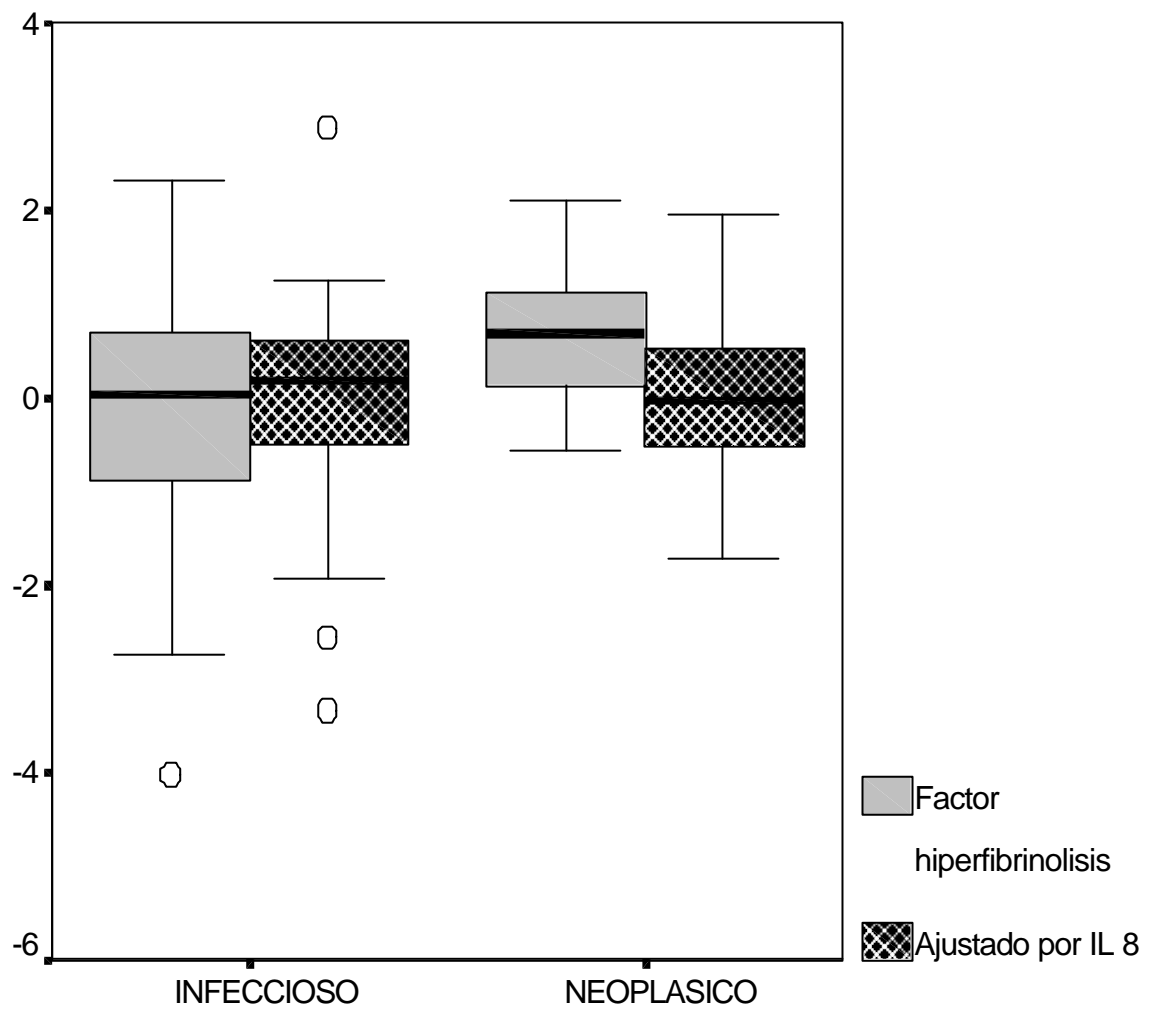
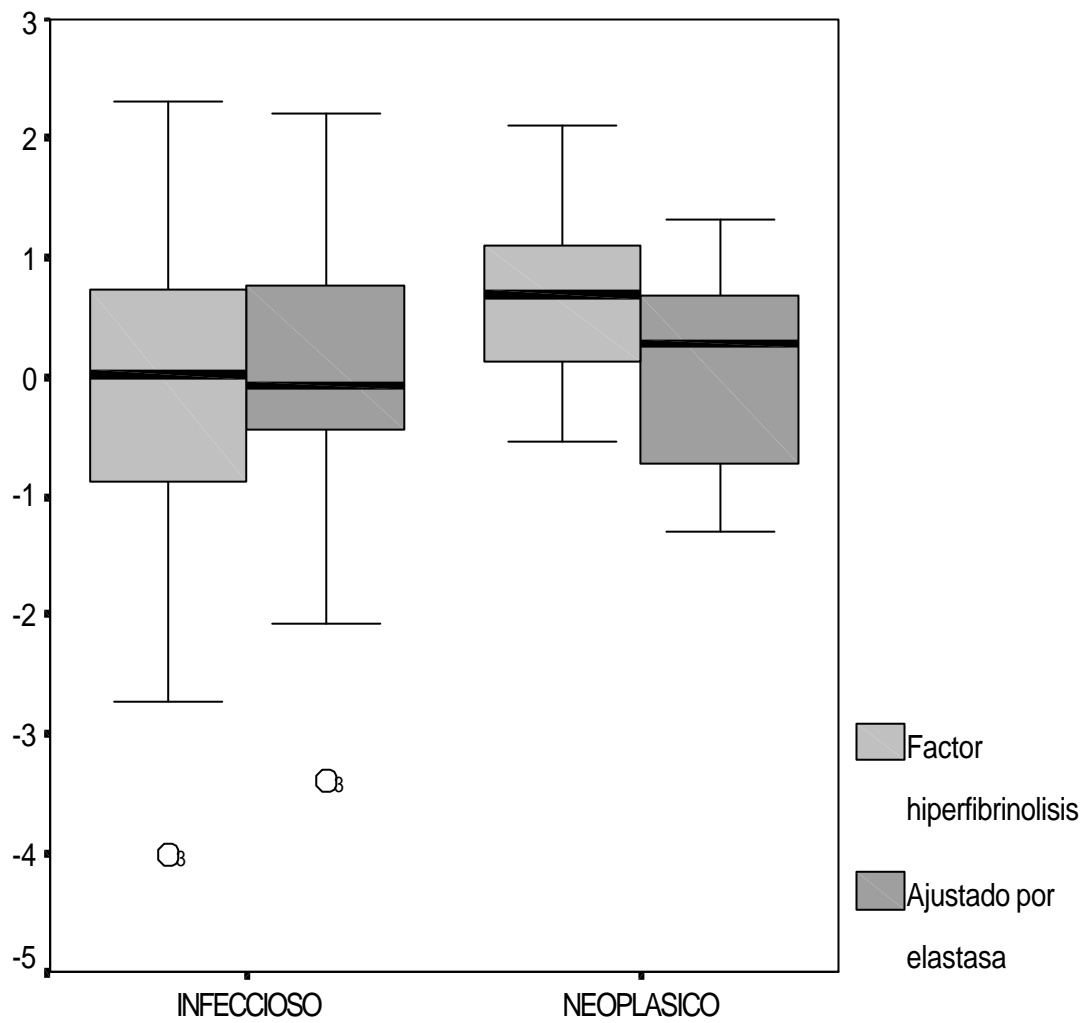


FIGURA 11. DISTRIBUCIÓN DE LOS DERRAMES PLEURALES INFECCIOSOS Y NEOPLÁSICOS SEGÚN MARCADORES DE ACTIVACIÓN Y ELASTASA.



## 5.2.COMPARACIÓN ENTRE EMPIEMAS Y TUBERCULOSOS

No existen diferencias significativas en el factor de los inhibidores o hipofibrinólisis entre los empiemas y los derrames pleurales tuberculosos.

Tal y como puede observarse en las figuras 12 a 14 el factor de hiperfibrinólisis fue inferior en los empiemas que en los derrames tuberculosos ( $F = 10.374$ ;  $p = 0.002$ ), pero estas diferencias se redujeron al ajustar con  $TNF-\alpha$  ( $F = 6.373$ ;  $p = 0.015$ ) y desaparecieron tanto al ajustar por IL-8 ( $F = 0.548$ ;  $p = 0.4$ ) como por elastasa ( $F = 0.018$ ;  $p = 0.8$ ).

FIGURA 12. DISTRIBUCIÓN DE LOS EMPIEMAS Y DERRAMES PLEURALES TUBERCULOSOS SEGÚN MARCADORES DE ACTIVACIÓN Y TNF  $-\alpha$ .

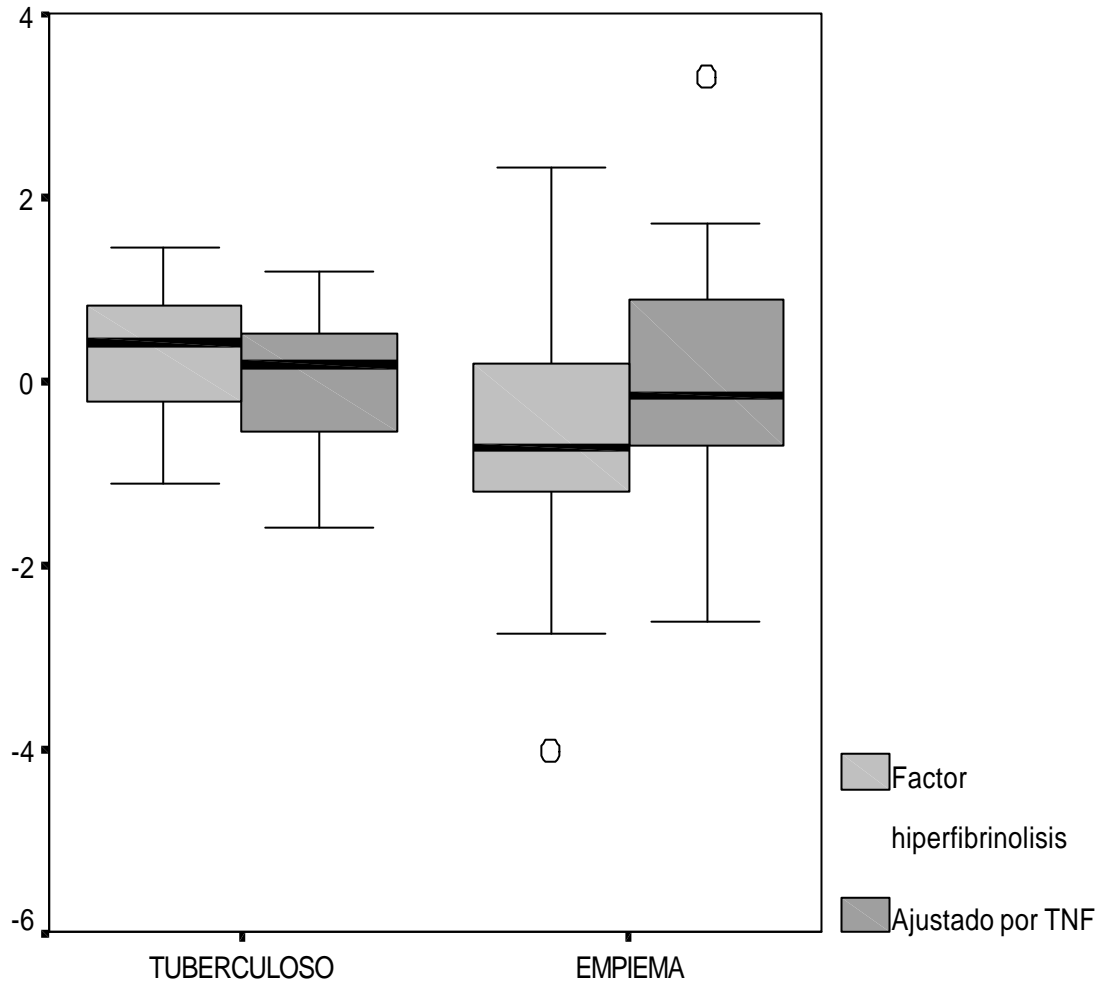


FIGURA 13. DISTRIBUCIÓN DE LOS EMPIEMAS Y DERRAMES PLEURALES TUBERCULOSOS SEGÚN MARCADORES DE ACTIVACIÓN E IL-8.

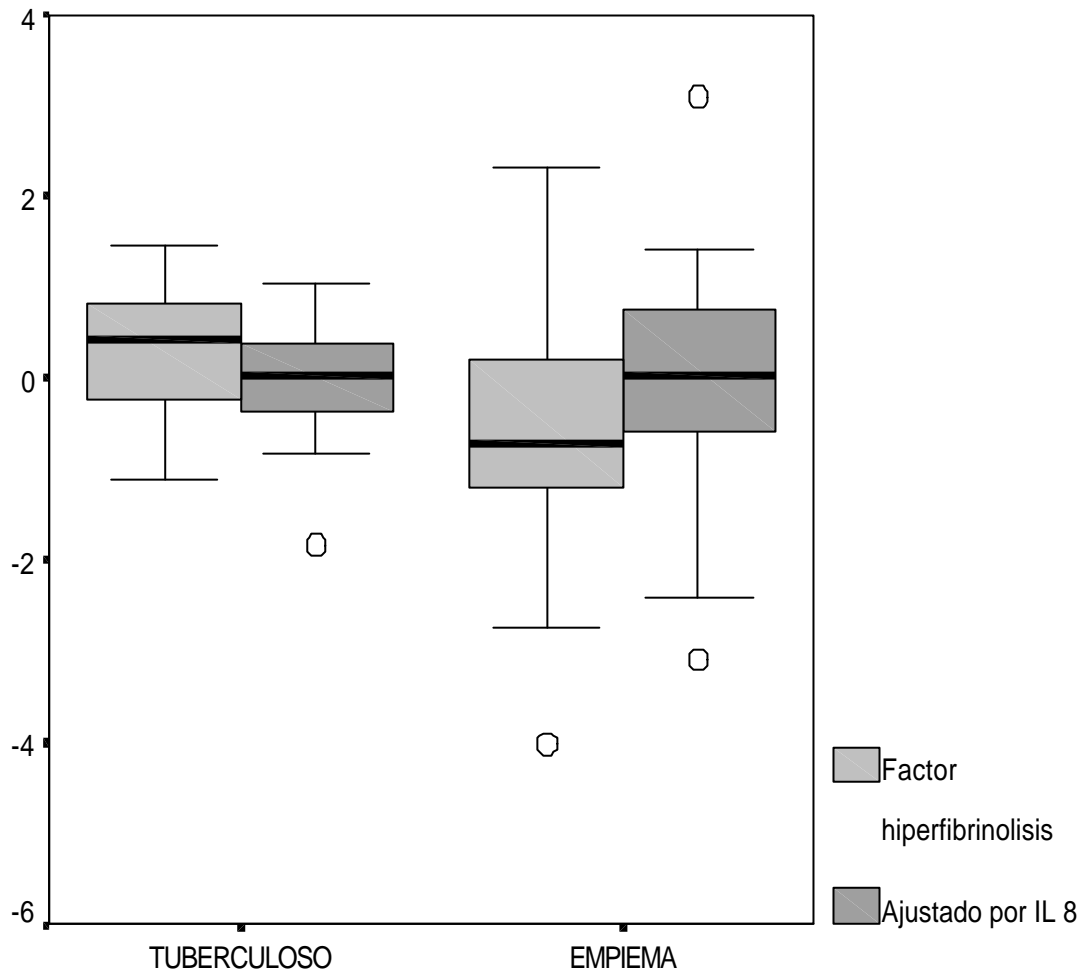
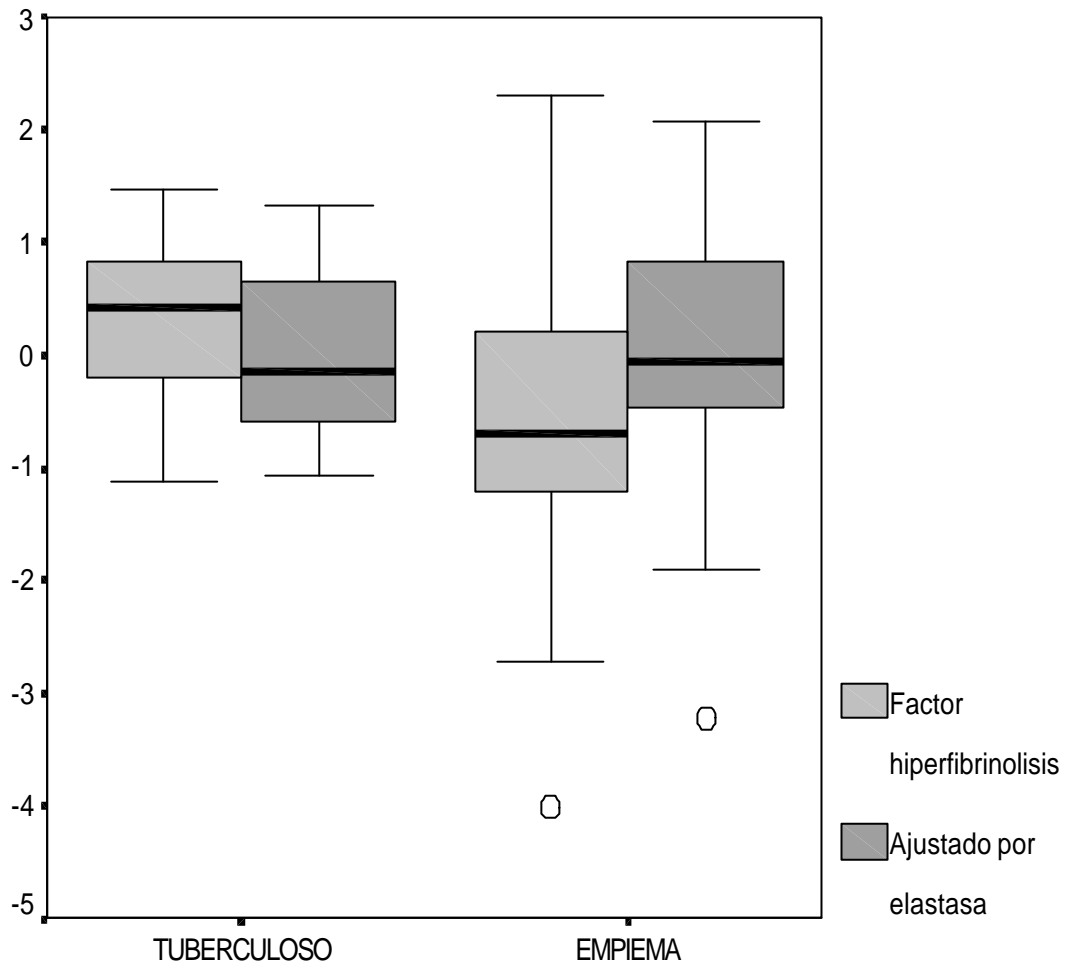


FIGURA 14. DISTRIBUCIÓN DE LOS EMPIEMAS Y DERRAMES PLEURALES TUBERCULOSOS SEGÚN MARCADORES DE ACTIVACIÓN Y ELASTASA.





# **DISCUSSION**

## **1.EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS PLEURAL**

Las complicaciones locales que se detectan en los derrames pleurales de etiología infecciosa se producen cuando existe un depósito importante de fibrina en el espacio pleural.

Este depósito de fibrina provoca adherencias que se extienden desde la pleura visceral a la pleural parietal, apareciendo como consecuencia septos y loculaciones pleurales, que en un estadio final desarrollarán unas membranas inelásticas pleurales que actuarán a modo de coraza <sup>1,5</sup>.

En estos derrames pleurales, la existencia de un desequilibrio entre la activación - inhibición del sistema de la fibrinólisis pleural, podría condicionar el bloqueo en la degradación de la fibrina, resultando como consecuencia su depósito en el espacio pleural.

Sin embargo, hay escasos trabajos en la literatura que analicen los diferentes componentes de la vía de degradación de la fibrina en el líquido pleural <sup>141,142</sup>.

---

## INHIBIDORES DE LOS ACTIVADORES DEL PLASMINÓGENO EN EL LÍQUIDO PLEURAL EXUDADO

Estudios realizados en los últimos años han evidenciado que existe una inhibición de la fibrinólisis pleural asociado a elevadas concentraciones de los inhibidores de la fibrinólisis en los derrames de etiología infecciosa o inflamatoria <sup>141,142</sup>.

Recientemente un trabajo realizado en una serie de derrames pleurales tuberculosos estudia la asociación entre los parámetros analíticos del sistema de la fibrinólisis pleural y los datos clínico-radiológicos que se evalúan en el seguimiento del derrame pleural tuberculoso a los seis meses de haber completado el tratamiento médico adecuado <sup>156</sup>.

En este trabajo se pone de manifiesto que aquellos derrames que tienen las cifras más elevadas de PAI 1 presentan una mayor incidencia de engrosamiento pleural radiológico residual tras haber finalizado el tratamiento médico.

Así pues, en estos derrames tuberculosos se pone de manifiesto la asociación que existe entre la aparición de complicaciones locales pleurales y la cifra de los inhibidores del sistema de la fibrinólisis en el líquido

pleural.

En nuestros pacientes los derrames infecciosos, tanto los tuberculosos como los empiemas, presentaron cifras de los inhibidores de los activadores del plasminógeno significativamente superiores cuando se compararon con los pacientes con exudados de origen neoplásico.

Esta elevación de los inhibidores del plasminógeno en los derrames infecciosos, justifica el bloqueo en la degradación de la fibrina que se produce en estos derrames.

Dentro del grupo de derrames infecciosos, en el presente estudio no se han evidenciado diferencias en los valores de PAI 1 Ag entre los empiemas y los derrames pleurales tuberculosos, sin embargo si que se ha objetivado que los niveles de PAI 2 Ag, así como la actividad del PAI 1 fueron significativamente superiores en los empiemas.

La elevación del PAI 2 Ag y PAI 1 Act que se detecta en estos derrames bacterianos podría contribuir a la aparición de complicaciones locales en forma de loculaciones, secundarias al depósito de fibrina en el espacio pleural, mayores en el empiema que en el derrame pleural tuberculoso<sup>32,35,210</sup>.

El PAI 2 Ag, que puede ser secretado a nivel pleural por las células mesoteliales como respuesta a diferentes estímulos, se ha visto que puede también ser producido y

liberado por los leucocitos polimorfonucleares. Esta secreción por parte de los neutrófilos podría justificar el aumento que hemos detectado en los empiemas con respecto a los derrames tuberculosos <sup>157</sup>.

---

## ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINÓGENO EN EL LÍQUIDO PLEURAL EXUDADO

La actividad del t-PA ha mostrado resultados diversos en los diferentes estudios realizados hasta la actualidad.

Así, algunos estudios previos han descrito que existe una hiperfibrinólisis pleural en los líquidos pleurales neoplásicos, secundaria principalmente a excesivas concentraciones de t-PA<sup>142,148</sup>. Sin embargo, otros trabajos realizados en varios grupos etiológicos de derrame pleural exudado, no han mostrado diferencias en los valores pleurales de t-PA entre los líquidos pleurales benignos y los neoplásicos<sup>145</sup>.

En nuestra serie se han evidenciado diferencias significativas entre los exudados de etiología infecciosa y los secundarios a invasión neoplásica, objetivándose las cifras más elevadas de t-PA en los derrames de origen neoplásico.

Se pone de manifiesto que los pacientes con derrame pleural neoplásico, presentan una actividad fibrinolítica aumentada con cifras altas de t-PA y una disminución en los parámetros de inhibición de la fibrinólisis pleural.

Esta actividad hiperfibrinolítica permitiría la degradación de la fibrina, lo cual justificaría la ausencia

de complicaciones locales en relación con el depósito de fibrina. Estos pacientes característicamente presentan un líquido pleural libre, que no se encuentra septado radiologicamente.

Nuestro estudio, ha mostrado también los valores inferiores de t-PA en el líquido pleural de los derrames infecciosos.

La disminución de los activadores provoca una disminución de la fibrinólisis al bloquear el paso de plasminógeno a plasmina en el espacio pleural, lo cual también favorecerá el depósito de fibrina en el espacio pleural.

Así mismo, dentro de los derrames de etiología infecciosa, se han detectado diferencias que son significativas entre los empiemas y los derrames pleurales tuberculosos.

En los empiemas se han constatado los valores más bajos de t-PA, mientras que los líquidos de origen tuberculoso han presentado cifras intermedias entre los empiemas y los derrames neoplásicos.

Así, en los derrames pleurales infecciosos la regulación del balance de fibrina también será diferente dependiendo fundamentalmente de la etiología del derrame pleural.

Estas diferencias en los componentes del sistema de fibrinolisis detectadas entre los empiemas y los derrames pleurales tuberculosos, podrían justificar la aparición posterior de septos de fibrina, con adherencias pleurales y loculaciones.

Así pues, en los empiemas se evidencia que el bloqueo en la degradación de la fibrina es mayor, detectándose tanto niveles más elevados de algunos de los inhibidores, como una supresión más marcada de la actividad hiperfibrinolítica con cifras más bajas de t-PA.

Los derrames tuberculosos, presentan también los parámetros de inhibición o hipofibrinolisis elevados, fundamentalmente el PAI 1 Ag que no muestra diferencias con el empiema, pero evidencian resultados intermedios entre los empiemas y los derrames neoplásicos en el PAI 2 Ag y la actividad del PAI 1, así como un menor bloqueo del t-PA que los empiemas, con una supresión parcial de la actividad hiperfibrinolítica.



---

## UROCINASA ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO EN EL LÍQUIDO PLEURAL EXUDADO

La determinación de los niveles del u-PA en los diferentes tipos de derrame pleural exudado es discutida.

Así, estudios previos han demostrado su relevancia en los derrames neoplásicos, evidenciando niveles de u-PA elevados en algunos tipos de neoplasias metastatizadas a pleura y en los mesoteliomas pleurales <sup>147,148</sup>.

Sin embargo, estudios recientes han mostrado incremento del u-PA en relación con procesos inflamatorios o infecciosos <sup>211-216</sup>.

Estos estudios, que analizan tanto los niveles de u-PA como su respuesta a los diferentes mediadores de la inflamación, se han realizado principalmente en procesos abdominales y también a nivel de serosa sinovial <sup>217,218</sup>.

Así, se han descrito cifras elevadas de u-PA en relación con la enfermedad inflamatoria intestinal, apendicitis u osteoartritis. Sin embargo su asociación con los derrames pleurales de etiología inflamatoria o infecciosa no ha sido reportada hasta la actualidad.

Si bien los empiemas presentaban las cifras más altas de u-PA, nuestros resultados no han obtenido diferenciación estadística significativa con el resto de grupos etiológicos

de derrame pleural exudado.

Tras realizar un estudio de correlación con los demás componentes del sistema de la fibrinólisis se objetiva que, además de que los derrames infecciosos tienen, aunque no lleguen a ser significativos, los niveles más altos de u-PA, este se asocia de forma significativa con los inhibidores de los activadores del plasminógeno y con el plasminógeno que tienen también las cifras más elevadas en los derrames infecciosos.

---

## VÍAS PRINCIPALES DEL SISTEMA DE FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES PLEURALES EXUDADOS

Así, en el presente estudio el análisis de componentes principales tras la correlación entre sí de los diferentes parámetros del sistema de la fibrinólisis pleural, ha evidenciado que todos los componentes del sistema de la fibrinólisis se distribuyen en dos únicos factores.

Estos dos factores estadísticos representarían dos vías principales del sistema de la fibrinólisis en los líquidos pleurales con una actuación claramente diferenciada, que expresarían la inhibición y la activación del sistema de la fibrinólisis pleural.

Los inhibidores de los activadores del plasminógeno, el plasminógeno y el u-PA mostrarían un alto grado de correlación, siendo los constituyentes principales de uno de los factores. Este factor que está significativamente aumentado en los derrames infecciosos respecto a los neoplásicos, expresaría el factor de inhibición de la fibrinólisis con una actuación predominante en estos derrames infecciosos.

Sin embargo, no se han detectado diferencias estadísticamente significativas en el factor de inhibición de la fibrinólisis entre los empiemas y los derrames

pleurales tuberculosos.

El t-PA y el D-dímero han mostrado un elevado grado de correlación constituyendo fundamentalmente el segundo factor que expresaría el factor de activación del sistema de la fibrinólisis.

El factor de activación del sistema de fibrinólisis en el líquido pleural muestra diferencias dentro del grupo de derrames exudados, con cifras significativamente elevadas en los líquidos neoplásicos respecto a los infecciosos.

Estos resultados expresarían por tanto, el aumento en la vía de degradación de la fibrina que se evidencia en los derrames neoplásicos y el bloqueo de la misma que se detecta en los derrames infecciosos.

Así mismo, dentro del grupo de derrames infecciosos, se evidencian diferencias significativas en el factor de activación de la fibrinólisis entre los empiemas y los líquidos tuberculosos, mostrando los empiemas cifras inferiores respecto a los derrames tuberculosos.

Así pues, el bloqueo de la vía de degradación de la fibrina sería superior en los derrames infecciosos que en los derrames de origen neoplásico, y dentro de los líquidos infecciosos, los empiemas mostrarían una mayor supresión del factor de hiperfibrinólisis que los derrames tuberculosos.

---

## **2. SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN PLASMA Y LÍQUIDO PLEURAL**

En el presente estudio se evidencia que los pacientes con derrame pleural exudado, presentan diferencias significativas entre los niveles pleurales y plasmáticos de los parámetros del sistema de la fibrinólisis.

Así, aunque estudios previos han mostrado que el nivel pleural de los componentes del sistema de la fibrinólisis es superior que el plasmático, esta relación ha sido poco analizada <sup>142,145,147</sup>.

Los componentes del sistema de la fibrinólisis son principalmente secretados por las células del endotelio vascular fundamentalmente como respuesta a estímulos del sistema hemostático, pero también como respuesta a otros estímulos entre los cuales destacan los procesos infecciosos sistémicos a través de mediadores de la inflamación <sup>156,157</sup>.

Así mismo, al igual que nuestra serie, otros estudios previos han demostrado diferencias significativas entre los derrames exudados y los trasudados en los niveles pleurales de los activadores y los inhibidores del plasminógeno <sup>142,145</sup>.

Dado que son los derrames pleurales exudados los que fundamentalmente muestran diferencias significativas en el sistema de la fibrinólisis entre plasma y pleura, nuestros resultados sugieren, a diferencia de lo que sucede en los trasudados, la existencia de una vía de producción y liberación local como respuesta a un estímulo inflamatorio local y no al trasiego de proteínas secundario a las variaciones de la presión hidrostática.

Estas diferencias entre los valores plasmáticos y pleurales en los procesos infecciosos pleurales, así como las cifras más elevadas en el líquido pleural exudado respecto a los trasudados de los componentes del sistema de la fibrinólisis que oscilan entre 80 a 4000 veces más que la mediana de los PAIs en los trasudados, sugieren la existencia de una secreción local pleural de estos factores.

Así, aunque la fuente principal de producción de PAIs son las células endoteliales estudios recientes han evidenciado que también existe producción local por las células mesoteliales pleurales <sup>157</sup>.

Esta secreción local se ha puesto de manifiesto en un trabajo experimental que ha evidenciado que los cultivos de células mesoteliales secretan factores del sistema de la

fibrinólisis como respuesta al  $\text{TNF-}\alpha$ . En este estudio se ha visto que las células mesoteliales son capaces de acelerar o retrasar la fibrinólisis pleural secretando los inhibidores de los activadores del plasminógeno en cantidades variables<sup>157</sup>.

Así mismo, también se ha evidenciado que algunas células inflamatorias como los neutrófilos son capaces de secretar algunos de los factores del sistema de la fibrinólisis como el PAI 2, lo que justificaría su elevación a nivel local en el foco inflamatorio o infeccioso, principalmente en los empiemas.

### **3. ASOCIACIÓN DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS** **Y LOS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN**

Durante los procesos infecciosos bacterianos a nivel pleural, el aumento en la permeabilidad de las células mesoteliales y la liberación local de mediadores de la inflamación resultan en una reacción local en la cavidad pleural que desemboca en la formación de líquido pleural con un elevado contenido de células inflamatorias <sup>5</sup>.

El TNF- $\alpha$  y la IL-8 son potentes mediadores de la inflamación con un papel importante en la patogénesis de los derrames pleurales infecciosos <sup>25-28,82-84</sup>.

Su secreción y liberación por parte de las células mesoteliales, que actuarían como la primera barrera anatómica frente a los estímulos exógenos infecciosos, constituye el primer mecanismo de la respuesta inflamatoria <sup>5</sup>.

Estudios previos realizados en el líquido pleural han evidenciado niveles elevados de estas citoquinas en los líquidos pleurales infecciosos <sup>26</sup>.

En nuestro estudio como en previos los mediadores de inflamación tienen valores más altos en los derrames



infecciosos que en los neoplásicos.

Así, la elastasa polimorfonuclear y la IL-8 están elevadas fundamentalmente en los empiemas, mientras que el TNF- $\alpha$  está aumentado principalmente en los derrames tuberculosos.

En los derrames pleurales infecciosos la producción y liberación local de estos mediadores de inflamación representa la primera fase dentro de la respuesta inflamatoria. Estas citoquinas se comportarán como agentes quimiotácticos actuando fundamentalmente sobre los leucocitos polimorfonucleares, pero también sobre otras células inflamatorias, que desde el foco infeccioso se encargarán de mantener y amplificar la respuesta inflamatoria <sup>5,25-28,82-84</sup>.

Sin embargo, en los derrames neoplásicos, que presentan líquido pleural libre sin detectarse fibrina y con escaso componente inflamatorio, se ha evidenciado que los niveles de los marcadores de actividad neutrofílica pleural son muy bajos <sup>25-28,126</sup>.

En estos derrames pleurales la aplicación de un agente esclerosante como las tetraciclinas, la bleomicina o el talco, se comporta como un estímulo inflamatorio capaz de desencadenar toda la respuesta inflamatoria local

---

97-100 .

Así, tras la instilación de un agente esclerosante en el espacio pleural se ha evidenciado aumentos transitorios de las IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$  durante las primeras 24 horas para ir disminuyendo posteriormente hasta llegar a las cifras basales a las 72 horas. Durante la fase inflamatoria aguda que sucede en las primeras 24 horas se evidencia que tras la producción y liberación de las citoquinas proinflamatorias se produce un efecto quimiotáctico sobre los neutrófilos hacia el espacio pleural <sup>100</sup>.

Los neutrófilos reclutados liberarán proteasas del tipo de la elastasa que dañarán las células mesoteliales, lo cual mantendrá y amplificará la respuesta inflamatoria con liberación de nuevos mediadores de la inflamación lo cual inducirá el depósito de fibrina en el espacio pleural con loculación y progresivo depósito de colágeno dentro de las adherencias pleurales hasta llegar a una fase de fibrosis pleural que queda ya completamente establecida a partir de las 72 horas cuando los mediadores de la fase aguda de la inflamación han disminuido hasta las cifras basales <sup>97,98</sup>.

Esta inflamación producida durante la pleurodesis

disminuye la actividad fibrinolítica, ya que se ha detectado una disminución en las cifras de D-dímero, así como aumenta la inhibición de la fibrinólisis, objetivándose un aumento en los valores de los PAIs <sup>150,151</sup>.

Sin embargo la respuesta del sistema de la fibrinólisis en los derrames pleurales infecciosos está poco estudiada, ya que solamente se ha publicado un trabajo que analiza el TNF- $\alpha$  en un grupo de derrames pleurales tuberculosos <sup>156</sup> y hasta la actualidad no se ha publicado ningún estudio que evalúe los derrames infecciosos bacterianos.

---

ASOCIACIÓN DE LOS INHIBIDORES Y LOS ACTIVADORES DEL  
PLASMINÓGENO Y LOS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN EL LÍQUIDO  
PLEURAL EXUDADO

El papel de la IL-8 sobre el sistema de la fibrinólisis pleural en los derrames inflamatorios no ha sido analizado previamente.

En nuestra serie la IL-8 se correlaciona de forma positiva en los exudados con el PAI 1 Ag, PAI 2 Ag y PAI 1 Act, aunque esta asociación no se mantiene en los derrames infecciosos.

Así mismo en los exudados la IL-8 también se correlaciona con carácter negativo con el t-PA, y esta asociación es más intensa y adquiere mayor significación estadística en los derrames infecciosos, fundamentalmente en los empiemas.

La IL-8 es una citoquina con un papel importante en la quimiotaxis de los neutrófilos que activa la liberación de elastasa polimorfonuclear <sup>25-28</sup>.

Estudios previos experimentales en líquido pleural han objetivado que la elastasa puede actuar sobre el t-PA inhibiendo la fibrinólisis, pero también puede inactivar el PAI 1 actuando de forma contraria aumentando la fibrinólisis. El papel de la elastasa en el líquido

pleural sin embargo, tampoco ha sido estudiado <sup>183-185</sup>.

Nuestros resultados han evidenciado, tal como sucede con la IL-8, una correlación positiva de la elastasa con los PAIS en los derrames exudados, que mantiene la significación estadística con el PAI 2 Ag en los derrames infecciosos y una correlación negativa con el t-PA que se mantiene en los derrames infecciosos y que muestra el mayor grado de asociación en los empiemas.

En un trabajo reciente de Hua et al se estudian 33 pacientes con derrame pleural tuberculoso y 30 pacientes con derrame pleural neoplásico <sup>156</sup>.

En este trabajo se analizan parámetros del sistema de la fibrinólisis (PAI 1 y t-PA) y mediadores de la inflamación (IL-1 y TNF- $\alpha$ ).

Así mismo se evalúa la presencia de engrosamiento pleural residual tras completar el tratamiento antituberculoso.

El TNF- $\alpha$  y la IL-1 muestran una correlación positiva con el PAI 1 en todos los derrames y una correlación negativa con el t-PA en los derrames malignos.

En 9 pacientes con derrame pleural tuberculoso se detectó la aparición de engrosamiento pleural residual, lo cual se asoció a los niveles más elevados en líquido

pleural de TNF- $\alpha$ , IL-1 y PAI 1 y con los niveles más bajos de t-PA.

Idell et al analizan también en un estudio experimental la respuesta de cultivos de células mesoteliales al TNF- $\alpha$ , evidenciando la capacidad de producción y liberación de PAIs por parte de las células mesoteliales <sup>157</sup>.

El TNF- $\alpha$  en nuestra serie se correlaciona con el PAI 1 Ag, PAI 2 Ag y la actividad del PAI 1 en los derrames exudados y esta asociación se mantiene con el PAI 1 Ag en los derrames infecciosos.

Estos resultados indicarían que existe un bloqueo en la degradación de la fibrina por la acción de la IL-8, el TNF- $\alpha$  y la elastasa a expensas de aumentar los PAIs e inhibir el t-PA en los derrames infecciosos.

## ASOCIACION DE LA UROKINASA ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO Y LOS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN EL LÍQUIDO PLEURAL EXUDADO

El papel del u-PA en los diferentes tipos de derrame pleural exudado es discutido. Así, estudios previos han evidenciando niveles de u-PA elevados en algunos tipos de neoplasias metastatizadas a pleura y en los mesoteliomas pleurales, sin embargo, estudios recientes han mostrado su actividad en relación con procesos inflamatorios o infecciosos <sup>211-216</sup>, así como su respuesta a los diferentes mediadores de la inflamación en procesos abdominales y en serosa sinovial <sup>217,219</sup>.

Sin embargo su asociación con los derrames pleurales de etiología inflamatoria no ha sido reportada hasta la actualidad.

Nuestros resultados, aunque sin alcanzar diferenciación significativa con el resto de grupos muestran los valores más altos de u-PA en los empiemas, así como se evidencia que existe una correlación significativa con el TNF- $\alpha$ , la IL-8 y la elastasa en los exudados que se mantiene con la IL-8 y la elastasa en los empiemas.

---

## VÍAS DE LA FIBRINOLISIS Y LOS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN

En los exudados, el factor de hipofibrinólisis o de los inhibidores de la fibrinólisis se correlaciona de forma positiva con el TNF- $\alpha$ , la IL-8 y la elastasa.

El factor de hipofibrinólisis es superior en los derrames infecciosos que en los derrames neoplásicos, pero estas diferencias se reducen de forma significativa tras ajustar con el TNF- $\alpha$  y la elastasa.

De esta manera tras ajustar con estas dos variables desaparecen las diferencias que existían entre los derrames neoplásicos y los infecciosos, lo cual sugiere que los niveles más elevados del factor de hipofibrinólisis en los derrames neoplásicos pueden ser debidos a la acción de la elastasa y el TNF- $\alpha$  en estos derrames.

El factor de hiperfibrinólisis en los líquidos infecciosos se correlaciona de forma negativa con la IL-8 y la elastasa y de forma positiva con el TNF- $\alpha$ . Esta asociación se mantiene en losempiemas.

Las diferencias que existen en el factor de hiperfibrinólisis entre los derrames infecciosos y los neoplásicos desaparecen tras ajustar con la IL-8 y la



elastasa.

Así pues, el bloqueo en la degradación de la fibrina que existe en los derrames infecciosos respecto los neoplásicos, sería secundario por una parte a un aumento en el factor de los inhibidores que estaría regulado de forma positiva por el TNF- $\alpha$  y la elastasa, y por otra parte a una disminución del factor de hiperfibrinólisis que estaría modulado de forma negativa por la IL-8 y la elastasa.

En los derrames infecciosos se detectan diferencias en el factor de hiperfibrinólisis, que es menor en los empiemas respecto a los líquidos tuberculosos. Sin embargo, no se detectan diferencias en el factor de hipofibrinólisis pleural.

Así la vía de la hiperfibrinólisis que estaría muy aumentada en los derrames neoplásicos, esta bloqueada en los derrames infecciosos, fundamentalmente los empiemas, mientras que los tuberculosos tienen cifras intermedias.

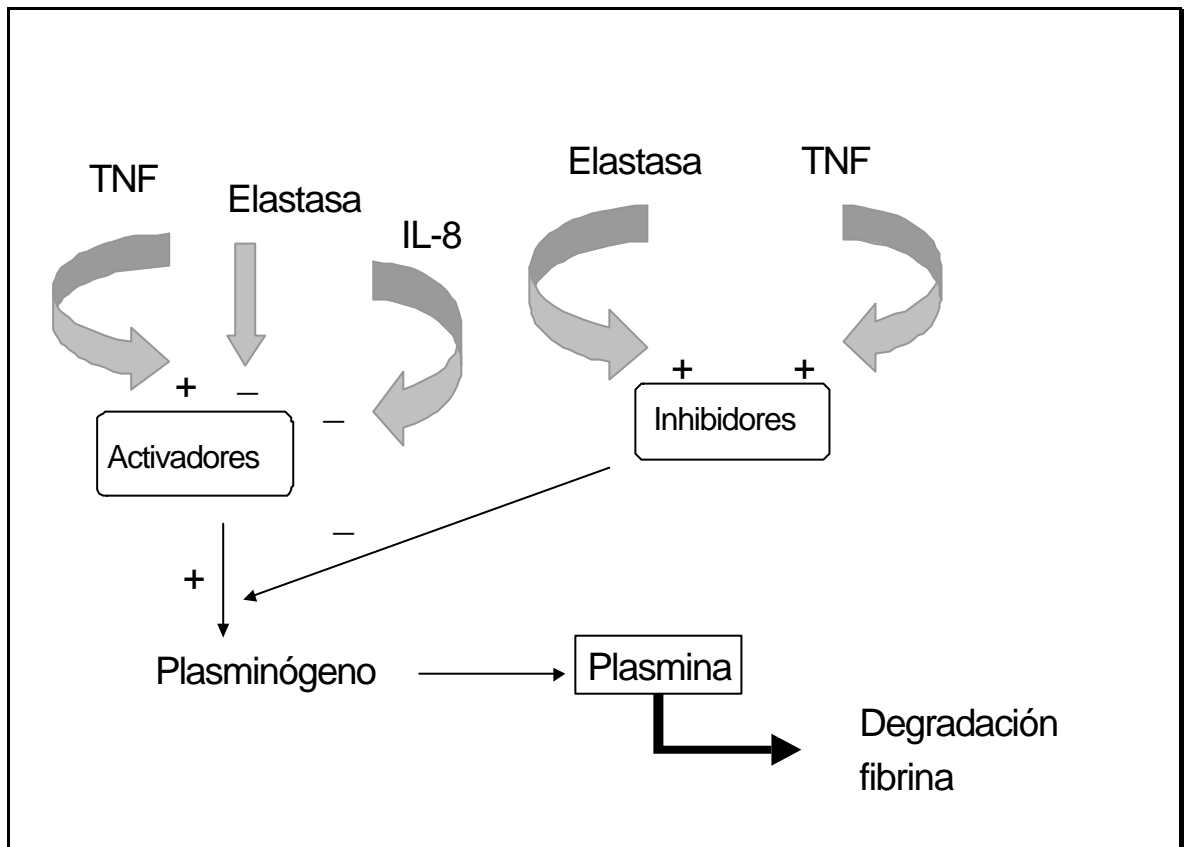
Las diferencias entre los empiemas y los líquidos tuberculosos desaparecen cuando se ajustan con el TNF- $\alpha$ , la IL-8 y la elastasa.

Así pues, las cifras más elevadas de TNF- $\alpha$  en los derrames tuberculosos que modularían con carácter positivo

el factor de hiperfibrinólisis y los mayores niveles de IL-8 y elastasa en losempiemas que lo regularían de forma negativa, explicarían el mayor bloqueo en la degradación de la fibrina que existe en losempiemas, lo cual podría justificar la posterior aparición de complicaciones.

En resumen, el depósito de fibrina que se produce en el espacio pleural de los derrames pleurales de causa infecciosa sería consecuencia de la acción de los marcadores de actividad neutrofílica sobre las vías de degradación de la fibrina. El TNF- $\alpha$  y la elastasa polimorfonuclear modularían la vía de la hipofibrinólisis que está aumentada en los líquidos infecciosos, mientras que la IL-8, el TNF- $\alpha$  y la elastasa regularían la supresión de la vía de la hiperfibrinólisis que sucede tanto en los derrames tuberculosos como en losempiemas, pero que está suprimida de forma más marcada en losempiemas (Figura 12).

FIGURA 12. ASOCIACIÓN DE LOS MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN Y EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN EL LÍQUIDO PLEURAL



# **CONCLUSIONES**

1. Los niveles pleurales de los inhibidores de los activadores del plasminógeno son superiores en los derrames infecciosos, mientras que los niveles del activador tisular del plasminógeno son más altos en los líquidos neoplásicos.
2. Los derrames pleurales exudados tienen niveles superiores de los parámetros del sistema de la fibrinólisis en el líquido pleural respecto al plasma. Estas diferencias que sin embargo no se observan en los trasudados, sugieren una actividad compartimentalizada en el espacio pleural.
3. Existen dos vías de actuación del sistema de fibrinólisis pleural, una de ellas que predominaría en los derrames infecciosos estaría constituida por PAI 1 Ag, PAI 2 Ag, PAI 1 Act, u-PA, y plasminógeno y representaría una vía de hipofibrinólisis o de inhibición de la fibrinólisis, mientras que la otra vía de actuación que estaría aumentada en los derrames neoplásicos y estaría bloqueada en los infecciosos, estaría formada por t-PA y D-dímero y representaría una vía de hiperfibrinólisis.

4. El sistema de la fibrinólisis en los derrames infecciosos está modulado en parte por los marcadores de actividad inflamatoria. El TNF- $\alpha$  y la elastasa polimorfonuclear regulan la vía de la hipofibrinólisis, mientras que la IL-8, el TNF- $\alpha$  y la elastasa modularían la supresión de la vía de la hiperfibrinólisis.

# **RESUMEN**

## INTRODUCCIÓN

Los derrames pleurales infecciosos son una patología frecuente en la práctica médica.

En la respuesta inflamatoria aguda participa de forma inicial la capa de células mesoteliales que liberará mediadores de la inflamación que actuarán como factores quimiotácticos para diversas células inflamatorias, fundamentalmente los neutrófilos. En esta fase inicial se produce un aumento de la permeabilidad con acumulo de células inflamatorias en el espacio pleural y paso de líquido pleural estéril al espacio pleural. Las células inflamatorias en el espacio pleural se encargan de mantener la respuesta inflamatoria, con un aumento progresivo de la permeabilidad celular lo que permite que las bacterias entren en el espacio pleural. El líquido pleural es mucho más denso, formado por numerosos leucocitos polimorfonucleares, bacterias y otras células. La fibrina va formando una fina película que recubre la pleura visceral y la pleura parietal con adherencias entre las dos capas pleurales lo que producirá la aparición de complicaciones locales en forma de loculaciones.



## OBJETIVOS

Dado que en los derrames infecciosos, que son aquellos que presentan una intensa respuesta inflamatoria, se produce un depósito de fibrina que se asocia con la aparición de diversas complicaciones, nos hemos propuesto los siguientes objetivos:

1. Analizar los parámetros del sistema de la fibrinólisis en los derrames pleurales infecciosos.
2. Establecer los niveles de los parámetros del sistema de la fibrinólisis en plasma y líquido pleural, para valorar su secreción local como respuesta al estímulo inflamatorio.
3. Valorar la asociación entre los niveles de los activadores y los inhibidores del sistema de la fibrinólisis con los marcadores de actividad neutrofílica (elastasa, IL-8, TNF- $\alpha$ ) en los derrames pleurales exudados.

## PACIENTES Y MÉTODO

Se incluyen 100 pacientes con derrame pleural de varias etiologías: 25 empiemas, 22 tuberculosos, 28 neoplásicos y 25 trasudados.

Se determinan en sangre y líquido pleural los parámetros de actividad neutrofílica: TNF- $\alpha$ , IL-8 y elastasa, y los componentes del sistema de la fibrinólisis: D-dímero, t-PA, u-PA, plasminógeno, PAI 1 Ag, PAI 2 Ag y PAI 1 Act.

Se estudia la distribución de los parámetros de la fibrinólisis y los marcadores de actividad neutrofílica en cada grupo etiológico y comparándolos entre sí.

Se utiliza el coeficiente de correlación de Pearson para establecer la relación entre los parámetros de la fibrinólisis y los mediadores de inflamación.

Se realiza un análisis de componentes principales para resumir las asociaciones entre los parámetros del sistema de la fibrinólisis.

Se realiza el análisis de la varianza para comparar la distribución entre los diferentes grupos etiológicos, y se ajustan estas diferencias con el análisis de covarianza.

## RESULTADOS

Se detectan diferencias entre los valores plasmáticos y pleurales del sistema de la fibrinólisis confirmando actividad local.

El plasminógeno y los PAI son más altos en los derrames infecciosos, mientras que el t-PA es superior en los neoplásicos.

Tras el análisis factorial todos los componentes del sistema de la fibrinólisis se distribuyen en dos factores, el factor que incluye los PAIs, el plasminógeno y el u-PA que expresaría la actividad hipofibrinolítica y el factor que incluye el t-PA y el D-dímero que representaría la actividad hiperfibrinolítica.

El factor de los inhibidores es más alto en los infecciosos que en los derrames neoplásicos, pero las diferencias que existen se corrigen al ajustar con TNF- $\alpha$  y elastasa.

El factor de hiperfibrinólisis es mayor en los derrames neoplásicos, pero sus diferencias se corrigen al ajustar con elastasa, IL-8 y TNF- $\alpha$ .

## CONCLUSIONES

1. Los inhibidores de los activadores del plasminógeno son superiores en los derrames infecciosos, mientras que los niveles de t-PA que son más altos en los líquidos neoplásicos.
2. Los exudados tienen niveles superiores de los parámetros del sistema de la fibrinólisis en el líquido pleural respecto al plasma. Estas diferencias que sin embargo no se observan en los trasudados, confirman una actividad local en la pleura.
3. Tras el análisis factorial se objetivan dos vías de actuación del sistema de fibrinólisis pleural, una de ellas que predominaría en los derrames infecciosos estaría constituida por PAI 1 Ag, PAI 2 Ag, PAI 1 Act, u-PA, y plasminógeno y representaría una vía de hipofibrinólisis o de inhibición de la fibrinólisis, mientras que la otra vía de actuación que estaría aumentada en los derrames neoplásicos y estaría bloqueada en los

infecciosos, estaría formada por t-PA y D-dímero y representaría una vía de hiperfibrinólisis.

4. El sistema de la fibrinólisis en los derrames infecciosos está modulado por los marcadores de actividad neutrofílica. El TNF- $\alpha$  y la elastasa polimorfonuclear regulan la vía de la hipofibrinólisis, mientras que la IL-8, el TNF- $\alpha$  y la elastasa modularían la supresión de la vía de la hiperfibrinólisis.

# **BIBLIOGRAFÍA**

- 1.-Light RW. Pleural diseases. 3rd ed. Baltimore. Williams & Wilkins, 1995.
- 2.-Sahn SA. The pleura. Am Rev Respir Dis 1988;138:184-234.
- 3.-Stauffer JL, Potts DE, Sahn SA. Cellular content of the normal rabbit pleural space. Acta Cytol 1978;22:570-74.
- 4.-Miserocchi G. Physiology and pathophysiology of pleural fluid turn-over. Eur Respir J 1997;10:219-225.
- 5.-Antony V, Mohammed K. Pathophysiology of pleural space infections. Semin Respir Infect 1999;14:9-17.
- 6.-Peng M, Wang N, Vargas F, Light RW. Subclinical surface alterations of human pleura. Chest 1994;106:351-353.
- 7.-Kroegel C, Antony VB. Immunobiology of pleural inflammation: potential implications for pathogenesis, diagnosis and therapy. Eur Respir J 1997;10:2411-2418.
- 8.-Broaddus VA and Light RW. What is the origin of pleural transudates and exudates. Chest 1992;102:658.
- 9.-Willis T. The London practice of physics in classics of Medicine Library. New York, NY, Gryphon 1992,12-120.
- 10.-Jurado G, Jimenez L, Calderon de la Barca JM, Montero FJ and Cosano A. Derrame pleural paraneumónico. Rev Clin Esp 1995;195:315.

- 11.-Martinez-Berganza A, Garces C, Carcelle MJ. Patología pleural. Estudio de su frecuencia según etiología, edad, sexo y localización, Rev Clin Esp 1984;172:319-324.
- 12.-Martinez-Berganza A, Cia P. Epidemiología de las enfermedades de la pleura. A proposito de 562 casos, Med Clin (Barc) 1988;90:311-315.
- 13.-Jurado B. Neumonía y derrame pleural. Manejo terapéutico. An Med Interna 1997;14:419-424.
- 14.-Mandell, Douglas and Bennett's. Principles and practice of infectious diseases. 5ª Ed. Churchill Livingstone 2000.
- 15.-Light RW, Girard WM, Jenkinson SG, George RB. Parapneumonic effusions. Am J Med 1980;69:985-986.
- 16.-Sobradillo V, Zalacain R, Galdiz B et al. Derrames paraneumónicos: evolucion a 12 meses. Med Clin (Barc) 1984;83:317-320.
- 17.-Glauser M. The inflammatory cytokines. New developments in the pathophysiology and treatment of septic shock. Drugs 1996;52Suppl:9-17.
- 18.-Bittleman DB, Erger RA, Casale TB. Cytokines induce selective granulocyte chemotactic responses. Inflamm Res 1996;45:89-95.



- 19.-Matsuwaka A, Yoshinaga M. Sequential generation of cytokines during the initiative phase of inflammation with reference to neutrophils. *Inflamm Res* 1998;47(Suppl):137-144.
- 20.-Liles WC, Van Voortis WC. Review: Nomenclature and biologic significance of cytokines involved in inflammation and the host immune response. *J Infect Dis* 1995;172:1573-80.
- 21.-Arai K, Lee F, Mlyajima A et al. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu Rev Biochem* 1990 ;59:783-836.
- 22.-Gallin JI, Goldstein IM, Snyderman R. *Inflammation: Basic principles and clinical correlates*. 2° Ed. Raven Press Ltd. New York, 1992.
- 23.-Strieter RMI, Lukacs NW, Standiford TJ, Kunkel SL. Cytokines and lung inflammation mechanisms of neutrophil recruitment to the lung. *Thorax* 1993;48:765-769.
- 24.-Le J, Vilcer J. Tumor necrosis factor and interteukin-1. Cytokines with multiple overlapping biological activities. *Laboratory Investigation* 1987;56:234-245.
- 25.-Antony VA, Godbey SW, Kunket SL et al. Recruitment of inflammatory cells to the pleural space: Chemotactic cytokines, IL-8 and monocyte chemotactic peptide-1 in human pleural fluids. *J Immunol* 1993;151:7216-7223.

- 26.-Segura RM, Alegre J, Varela E et al. Interleukin-8 and markers of neutrophil degranulation in pleural effusion. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1565-1572.
- 27.-Dlugovitzky D, Ratetii L, Torres-Morales A et al. Levels of interleukin-8 in tuberculous pleurisy and the profile of immunocompetent cells in pleural and peripheral compartments. *Immunology letters* 1997; 55:35-39.
- 28.-Broaddus VC, Hébert CA, Vitangcol RV et al. Interleukin-8 is a major neutrophil chemotactic factor in pleural fluid of patients with empyema. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:825-830.
- 29.-Marie C, Losser M, Fitting C, Kermarrec N, Payen D, Cavaillon J. Cytokines and soluble cytokine receptors in pleural effusions from septic and nonseptic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1515-1522.
- 30.-Pace E, Gjomarkaj M, Melis M et al. Interleukin-8 induces lymphocyte chemotaxis into the pleural space. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1592-1599.
- 31.-Goodman RB, Wood RG, Martin TR et al. Cytokine-stimulated human mesothelial cells produce chemotactic activity for neutrophils including NAP-I/IL-8. *J Immunol* 1992;148:457-465

- 32.-Hamm H, Light RW. Parapneumonic effusion and empyema. Eur Respir J 1997;10:1150-1156.
- 33.-Pothula V, Krellensteirl DJ. Early aggressive surgical management of parapneumonic empyemas. Chest 1994;105:832-36.
- 34.-Heffner JE, MacDonald J, Barbieri C, Klein J. Management of parapneumonic effusions. Arch Surg 1995;130:433-438.
- 35.-Bryant R, Salmon C. Pleural empyema. Clin Infect Dis 1996;22:747-764.
- 36.-Light RW. A new classification of parapneumonic effusions and empyema Chest 1995,108:299-301.
- 37.-Sahn S. Management of complicated parapneumonic effusions. Am Rev Respir Dis 1993;148:813-817.
- 38.- Light RW. Diagnostic principles in pleural disease. Eur Respir J 1997;10:476-481.
- 39.-Van De Walter JM. The treatment of pleural effusion complicating pneumonia.Chest 1970;57:259-262.
- 40.-Esteban J, Pontes J, Izquierdo JL. Utilizacion de fibrinolíticos en los derrames pleurales paraneumónicos complicados. An Med Interna 1994;11:315-317.
- 41.-Henke CA, Leatherman JW. Intrapleurally administered streptokinase in the treatment of acute loculated

nonpurulent parapneumonic effusions. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:680-684.

42.-Bouros D, Schiza S, Panagou P et al. Role of streptokinase in the treatment of acute loculated parapneumonic pleural effusions and empyema. *Thorax* 1994;49:852-5.

43.-Pollak JS, Passik CS. Intrapleural urokinase in the treatment of loculated pleural effusions. *Chest* 1994;105:868-73.

44.-Light RW. Management of parapneumonic effusions. *Arch Intern Med* 1981;141:1339-44.

45.-Heffner JE, Brown K, Barbieri C, DeLeo JM. Pleural fluid chemical analysis in parapneumonic effusions. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1700-1708.

46.-Bouros D, Schiza S, Tzanakis N et al. Intrapleural urokinase in the treatment of complicated parapneumonic pleural effusions and empyema. *Eur J Respir* 1996;8:1656-1659.

47.-Poe RH, Marin MG, Israel RH, Kallay MC. Utility of pleural fluid analysis in predicting tube thoracostomy /decortication in parapneumonic effusions. *Chest* 1991;100:963-967.

- 48.-Marel M, Stastny B, Melinová L, Svandová E, Light R. Diagnosis of pleural effusions. Experience with clinical studies, 1986 to 1990. *Chest* 1995;107:1598-1603.
- 49.-Peterman TA, Speicher CE, Evaluating pleural effusions. *JAMA* 1984;252:1051-53.
- 50.-Heffner J. Indications for draining a parapneumonic effusion: an evidence-based approach. *Sem Respir Infec* 1999;14:48-58.
- 51.-Alemán C, Alegre J, Armadans Ll et al. Value of chest roentgenography in the diagnosis of pneumothorax after thoracentesis. *Am J Med* 1999;107:340-343.
- 52.-Doyle J, Hnatiuk O, Torrington K, Slade A, Howard R. Necessity of routine chest roentgenography after thoracentesis. *Ann Intern Med* 1996;124:816-820.
- 53.-Grogan DR, Irwin RS, Channick R et al. Complications associated with thoracocentesis. *Arch Intern Med* 1990;150:873-877.
- 54.-Swiburner AJ, Bixby K, Lee D, Wahl GW. Pneumothorax after thoracocentesis. *Arch Intern Med* 1991;151:2095-2096.
- 55.-Roth BJ, Hal Cragun W, Grathwohl KW. Complications associated with thoracocentesis. *Arch Intern Med* 1991;151:2095-96.

- 56.-Seneff MG, Corwin W, Gold LH et al. Complications associated with thoracocentesis. *Chest* 1986;90:97-99.
- 57.-Bartter T, Mayo PD, Pratter MD et al. Lower risk and higher yield for thoracocentesis when performed by experienced operators. *Chest* 1993; 103:1873-1876.
- 58.-Collins JD, Burwell D, Furmanski S, Lober P and Steckel RJ. Minimal detectable pleural effusions. *Radiology* 1972;105:51-53.
- 59.-Alemán C, Alegre J, Segura R, Andreu J, Armadans L, Fernández de Sevilla T. Chest sonography and polimorphonuclear elastase in the diagnosis of infectious pleural effusions. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159;3:A383.
- 60.-Ruíz E, Alegre J, Alemán C et al. Engrosamiento pleural residual en la pleuritis tuberculosa. Factores asociados. *Arch Bronconeumol* 2000 (en prensa).
- 61.-Wu RG, Yuan A, Liaw YS et al, Image comparison of real-time gray-scale ultrasound and color doppler ultrasound for use in diagnosis of minimal pleural effusion. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:510-4.
- 62.-Mc Loud TC, Flower CDR. Imaging the pleura: sonography, CT, and MR imaging. *AJR* 1991;156:1145-53.

- 63.-Weingardt JP, Guico RR, Nemcek et al. Ultrasound findings following failed, clinically directed thoracocentesis. J Clin Ultrasound 1994;22:419-426.
- 64.-O'Moore PV, Mueller PR, Simeone JF et al. Sonographic guidance in diagnostic and therapeutic interventions in the pleural space. AJR 1987;149:1-5.
- 65.-Yang PC. Value of sonography in determining the nature of pleural efusion;analysis of 320 cases. AJR 1992;159:29-33.
- 66.-Klein JS, Shultz S, Heffner JE. Interventional radiology of the chest: image-guided percutaneous drainage of pleural effusions, lung abcess, and pneumotorax. AJR 1995;164:581-588.
- 67.-Moulton JS, Benkei-t RE, Weisiger KH, Chambers JA. Treatment of complicated pleural fluid collections with image-guided drainage and intracavitary urokinase. Chest 1995;108:1252-9.
- 68.-Matsumoto AH. Image-guided drainage of complicated pleural effusions and adjunctive use of intrapleural urokinase. Chest 1995;108:1190-91.
- 69.-Pugatch RD, Faling LJ, Robbins AH, Snider GL. Differentiation of pleural and pulmonary lesions using computed tomography. J Comput Assist Tomogr 1978;2:601-606.

- 70.-Kreel L. Computed tomography of the lung and pleura. Semin Roentgenol 1978;13:213-225.
- 71.-Leung AN, Müller NL and Miller RR. CT in differential diagnosis of diffuse pleural disease, AJR 1990;154:487-492.
- 72.-Houston MC. Pleural fluid pH: Diagnostic, therapeutic and prognostic value. Am J Surgery 1987;154:333-337.
- 73.-Sahn SA and Good JT. Pleural fluid pH in malignant effusions. Ann Intern Med 1988;108:345-349.
- 74.-Rodriguez-Panadero F, Lopez Mejias J. Low glucose and pH level in malignant pleural effusions. Am Rev Respir Dis 1989;139:663-667.
- 75.-Good JT, Taryle DA and Sahn SA. The pathogenesis of low glucose, low pH in malignant effusions. Am Rev Respir Dis 1985;131:737-741.
- 76.-Rodriguez-Panadero F, Mejias J. Survival time of patients with pleural metastatic carcinoma predicted by glucose and pH studies. Chest 1989;95:320-24.
- 77.-Sahn SA, Barth L, Taryle, Antony VB and Good JT, The contribution of leukocytes and bacteria to the low pH of empyema fluid. Am Rev Respir Dis 1983;128:811-815.
- 78.-Sanchez A, Rodríguez-Panadero F. Survival and talc pleurodesis in metastatic pleural carcinoma, revisited. Report of 125 cases. Chest 1993;104:1482-1485.



- 79.-Rodriguez-Panadero F, Antony V. Pleurodesis: state of the art. *Eur Respir J* 1997;10:1648-1654.
- 80.-Ligh RW. Management of parapneumonic effusions. *Chest* 1991;4:892-93.
- 81.-Heffner JE, Brown LK, Barbieri C, De Leo JM. Pleural fluid chemical analysis in parapneumonic effusions. *Am Respir J Crit Care Med* 1995;151:1700-1708.
- 82.-Baggiolini M, Walz A and Kunkel L. Neutrophil-activating peptide-I/interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest* 1989;84:1045-1049.
- 83.-Rot A, Hub E, Middleton J et al. Some aspects of IL-8 pathophysiology. III: chemokine interaction with endothelial cells. *J Leukoc Biol* 1996;59:39-44.
- 84.-Antony VB, Hott JW, Kunkel SL et al. Pleural mesothelial cell expression of C-C. Monocyte Chemotactid Peptide and C-X-C (Interleukin-8) chemokines. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;12:581-588.
- 85.-Bittleman DB and Casale TB. Interteukin-8 mediates interleukin-I-alfa-induced neutrophil transcellular migration. *Am J Repir Cell Mol Biol* 1995;13:323-324.
- 86.-Bittleman D, Erger R, Casale T. Cytokines induce selective granulocyte chemotactic responses. *Inflamm Res* 1996;45:89-95.

- 87.-Graves DT, Jian Y. Chemokines, a family of chemotactic cytokines, Crit Rev Oral Biol Med 1995;62:109-18.
- 88.-Alegre J, Segura R, Armadans L et al. Tumor necrosis factor (TNF-alfa) in tuberculous pleural effusions: relationship with markers of pleural inflammation. Am J Respir Crit Care 1999;159:A385.
- 89.-Miller EJ, Idell S. Interleukin-8 : An important chemotaxis in some cases of exudative pleural effusions. Exp Lung Res 1993 ;19:589-601.
- 90.-Adams D, Lloyd A. Chemokines: leukocyte recruitment and activation cytokines. Lancet 1997;349:490-495.
- 91.-Luster A. Mechanisms of disease: chemokines - chemotactic cytokines that mediate inflammation. N Engl J Med 1998;338:436-445.
- 92.-Alexandrakis, Coulocheri SA, Bouros D, Eliopoulos GD. Evaluation of ferritin, Interleukin-6, Interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha in the differentiation of exudates and trasudates in pleral effusions. AntiCancer Res 1999;19:3607-3612.
- 93.-Strieter RM, Koch AE, Antony VB et al. The immunopathology of chemotactic cytokines:The role of interteukin-8 and monocyte chemoattractant protein-I. J Lab Clin Med 1994;123:183-97.

- 94.-Bagci B, Ózguün S, Çelikel T et al. IL-8 in pleural effusion. *Respir Med* 1996;90:215-221.
- 95.-Heymann D, L'Her JM, Nguyen S et al. Leukaemia inhibitory factor (LIF) production in pleural effusions: comparison with production of IL-4, IL-8, IL-10 and macrophage-colony stimulating factor (M-CSF). *Cytokine* 1996;8:410-416.
- 96.-Zhang Y, Broser M, Cohen H et al. Enhanced Interleukin-8 release and gene expression in macrophages after exposure to *Mycobacterium tuberculosis* and its components. *J Clin Invest* 1995;149:586-592.
- 97.-Nasreen N, Hartman D, Mohammed K, Antony V. Talc-induced expression of C-C and C-X-C chemokines and intercellular adhesion molecule-1 in mesothelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:971-978.
- 98.-Van Der Heuvel M, Smit H, Barbierato S, Havenith C, Beelen R, Postmus. Talc-induced inflammation in the pleural cavity. *Eur Respir J* 1998;12:1419-1423.
- 99.-Lin CC, Liu CC, Lin CY. Changes in cell population and tumor necrosis factor, interleukin-6, and interleukin-8 in malignant pleural effusions after treatment with intrapleural tetracycline. *Am Rev Respir Dis* 1993,147:1503-1506.

- 100.-Miller EJ, Kajikawa O, Pueblitz, Light RW, Koenig K, Idell S. Chemokine involvement in tetracycline-induced pleuritis. *Eur Respir J* 1999;14:1387-1393.
- 101.-Malech ML, Gallis JI. Neutrophils in human diseases. *N Engl J Med* 1987; 317:687-694.
- 102.-Lebrer RI. UCLA conference moderator Neutrophils and host defense. *Ann Intern Med* 1988; 109:127-142
- 103.-Nourshargh S. Mechanisms of neutrophil and eosinophil accumulation in vivo. *Am Rev Respir Dis* 1993;148 (Suppl)1:S60-4.
- 104.-Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989;320:365-376.
- 105.-Cohen SM. Molecular events in the activation of human neutrophils for microbial killing. *Clin Infec Dis* 1994 18(Supl 2):170-9.
- 106.-Jufresa J. Estudio de la mieloperoxidasa, Interleukina-8 y factor de necrosis tumoral en los derrames pleurales exudados. Tesis Doctoral, Barcelona 1997.
- 107.-Borregaard N. The human neutrophil. Function and dysfunction. *Eur J Haematol* 1988;41:401-413.
- 108.-Halliwell B. Oxygen radicals and metal ions. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987;107:526-545.

- 109.-Olsson I, Venge P. Cationic proteins of human granulocytes. *Blood* 1974;44:235-246.
- 110.-Nauseff WM, Metcalf JA, Root RK. Role of myeloperoxidase in the respiratory burst of human neutrophils. *Blood* 1983;61:483-92.
- 111.-Borregaard N, Lollike K, Kjeldsen L et al. Human neutrophil granules and secretory vesicles. *Eur J Haematol* 1993;51:187-198.
- 112.-Matheson NR, Wong PS, Travis J. Isolation and properties of human neutrophil myeloperoxidase. *Biochemistry* 1981;20:325-330.
- 113.-Taylor KL, Guzman GS, Pohl J, Kinkade JM. Distinct chromatographic forms of human hemi-myeloperoxidase obtained by reductive cleavage of the dimeric enzyme. *J Biol Chem* 1990;265:1938-46.
- 114.-Spitznagel JK, Daliford FG, Leffell MS et al. Character of azurophil and specific granules purified from human polymorphonuclear leukocytes *Lab Invest* 1974;30:774-785.
- 115.-Suriñach JM. Estudio de los marcadores neutrofilicos y de inflamacion en el derrame pleural. Tesis doctoral. Barcelona 1996.

- 116.-Castaño JL, Amores C. Elastasa leucocitaria y proteina C reactiva en el diagnostico de derrame pleural de origen infeccioso. *Química Clinica* 1994;13:184-189.
- 117.-Doring G. The role of neutrophil elastase in chronic inflammation. *Am J Respir Crit Care* 1994;150 (Suppl):114-17.
- 118.-Klech H, Roma G, Knoth E et al. Neutrophil elastase alpha-proteinase inhibitor complexes in pleural effusions. *Kim Wochenschr.* 1988;66:346-350.
- 119.-Ottonello L, Dapíno P, Dallegri F. Inactivation of alpha-1-proteinase inhibitor by neutrophil metalloproteinases. *Respiration* 1993;60:32-37.
- 120.-Alegre J, Suriñach JM, Varela E et al. Diagnostic accuracy of pleural fluid polymorphonuclear elastase in the differentiation between pyogenic bacterial infectious and non-infectious effusions. *Respiration* 2000;67:426-432.
- 121.-Jenne DE. Structure of the azurocidin, proteinasa 3 and neutrophil elastase genes. *Am J Resp Crit Care Med* 1994;S147-154.
- 122.-Vilcek J, Lee T: Tumor necrosis factor: new insights into the molecular mechanism of its multiple actions. *J Biol Chem* 1991;266:7313-6.

- 123.-Salgado A, Bóveda JL, Monasterio J et al. Inflammatory mediators and their influence in haemostasis. *Haemostasis* 1994;24:132-138.
- 124.-Carswell EA, Old LJ, Kassel RL et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:3666.
- 125.-Sisson JH, Prescott SM, McIntyre TM, Zimmerman GA. Production of platelet activating factor by stimulated human polymorphonuclear leukocytes. Correlation of synthesis with release, functional events, and leukotriene B4 metabolism. *J Immunol* 1987;138:3918-26.
- 126.-Xirouchaki N, Boiirros D, Alexandrakis M et al. The role of cytokines in pleural effusion differentiation. *Eur Respir J* 1994;7(Suppl 18):471.
- 127.-Orphanidou D, Gaga M, Rasidakis A et al. Tumor necrosis factor, interleukin-1 and adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion. *Respir Med* 1996;90:95-98.
- 128.-Söderblom T, Nyberg P, Teppo M et al. Pleural fluid interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha in tuberculous and rheumatoid pleurisy. *Eur Respir J* 1996;9:1652-1655.

- 129.-Gürsel G, Gókcóra N, Elbeg S, Samurkasoglu B, Ekim N. Tumor necrosis factor alpha in pleural fluids. *Tuber Lung Dis* 1995;76:370-371.
- 130.-Ogawa K, Koga H, Hirakata Y, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. Differential diagnosis of tuberculous pleurisy by measurement of cytokine concentrations in pleural effusion. *Tuber Lung Dis* 1997;78:29-34.
- 131.-Platanias LC, Volgelzang NJ. Interleukin-1 :biology, pathophysiology and clinical propects. *Am J Med* 1990;89:621-629.
- 132.-Tiku K, Tiku NIL, Skosley JL. Interleukin-1 production by human polymorphonuclear neutrophils. *J Immunol* 1986;136:3677-3685.
- 133.-Dinarello CA. Interteukin-1. *Rev Infect Dis* 1984;6:51-94.
- 134.-Dinarello C. Interleukin-1 and Interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991;77:1627-1652.
- 135.-Agrenius V, Ukale V, Widström O, Källenius G, Svenson S. Quinacrine-induced pleural inflammation in malignant pleurisy:relation between drainage time of pleural fluid and local interleukin-1 $\beta$  levels. *Respiration* 1993;60:366-372.



- 136.-Yanagawa H, Yano S, Haku T, Ohmoto Y, Sone S. Interleukin-1 receptor antagonist in pleural effusions due to inflammatory and malignant lung disease. *Eur Res J* 1996;6:1211-1216
- 137.-Silva-Mejías C, Gamboa-Antiñolo F, López-Cortés L, Cruz-Ruíz M, Pachón. Interleukin-1 $\beta$  in pleural fluids of different etiologies. Its role as inflammatory mediator in empyema. *Chest* 1995;108:942-945.
- 138.-Vati Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol* 1990;8:253-78.
- 139.-Hoheisel G, Izbicki G, Roth M et al. Proinflammatory cytokine levels in patients with lung cancer and carcinomatous pleurisy. *Respiration* 1998;65:183-186.
- 140.-Nakano T, Chahinian AP, Shinjo M et al. Interleukin-6 and its relationship to clinical parameters in patients with malignant pleural mesothelioma. *Br J Cancer* 1998;77:907-912.
- 141.-Idell S, Girard W, Koenig K, McLarty J, Fair D. Abnormalities of pathways of fibrin turnover in the human pleural space. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:187-194.
- 142.-Philip-Joët F, Alessi MC, Philip Joët C et al. Fibrinolytic and inflammatory processes in pleural effusions. *Eur Resp J* 1995;8:1352-1356.

- 143.-Colman RW et al. Haemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. 3<sup>a</sup> ed. Philadelphia. Lippincot,1993.
- 144.-Idell S, Pueblitz S, Emri S et al. Regulation of fibrin deposition by malignant deposition. Am J Pathol 1995;147:1318-1329.
- 145.-Raja O, Casson F. Fibrinogen degradation products in pleural effusions. Br J Dis Chest 1980;74:164-168.
- 146.-Sato H, Kamma H, Ogata T, Hasegawa S. Local production of plasminogen activator inhibitor-1 in carcinomatous pleuritis. Acta Oncol 1994;33:710-711.
- 147.-Özdemir O, Emri S, Karakoca Y et al. Fibrinolytic system in plasma and pleural fluid in malignant pleural mesothelioma. Thromb Res 1996;84:121-128.
- 148.-Ishikawa H, Sato H, Hasegawa S et al. Urokinase-type plasminogen activator in carcinomatous pleural fluid. Eur Respir J 1997;10:1556-1571.
- 149.-Agrenius V, Chmielewska J, Widström O, Blombäck. Increased coagulation activity of the pleura after tube drainage and quinacrine instillation in malignant pleural effusion. Eur Respir J 1991;4:1135-1139.
- 150.-Agrenius V, Chmielewska J, Widström O, Blombäck M. Pleural fibrinolytic activity is decreased in inflammation

as demonstrated in quinacrine pleurodesis treatment of malignant pleural effusion. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1381-1385.

151.-Rodríguez Panadero F, Segado A, Martín J, Ayerbe R, Torres I, Castillo I. Failure of talc pleurodesis is associated with increased pleural fibrinolysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:785-790.

152.-Antony V, Repine JE, Sahn SA. Experimental models of inflammation in the pleural space. Biological response of the pleura in health and disease. In: Chretien J, ed. New York: Dekker, 1985; pp387-399.

153.-Antony VA, Rothfuss JK, Godbey SW et al. Mechanism of tetracycline-hydrochloride-induced pleurodesis. *Am Rev Respir Dis* 1992;148:1009-1013.

154.-Antony V, Owen CL, Sahn SA. Oxygen radical mediated pleural inflammation and fibrosis: an in vivo model. *Am Rev Respir Dis (Suppl)* 1984;129:A14.

155.-Antony V, Reller L, Good J, Sahn S. Cellular and biochemical changes in antibiotic treated and untreated experimental empyema. *Chest* 1981;80:355.

156.-Hua C, Chang L, Chen Y, Chang S. Proinflammatory cytokines and fibrinolytic enzymes in tuberculous and malignant pleural effusions. *Chest* 1999;116:1292-1296.

- 157.-Idell S, Zwieb C, Kumar A, Koenig K, Johnson A. Pathways of fibrin turnover of human pleural mesothelial cells in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;7:414-426.
- 158.-Baars J, De Boer J, Wagstaff J et al. Interleukin 2 induces activation of coagulation and fibrinolytic: resemblance to the changes seen during experimental endotoxaemia. *Br J Haematol* 1992;82:295-301.
- 159.-Hart P, Burguess D, Vitti G, Hamilton J. Interleukin 4 stimulates human monocytes to produce tissue type plasminogen activator. *Blood* 1989;74:1222-1225.
- 160.-Biemond B, Levi M, Ten Cate H et al. Plasminogen activator and plasminogen inhibitor I release during experimental endotoxaemia in chimpanzees: effect of interventions in the cytokine and coagulation cascades. *Clin Science* 1995;88:587-594.
- 161.-Massignon D, Lepape A, Bienvenu J, Barbier Y, Boileau C, Coeur P. Coagulation/fibrinolytic balance in septic shock related to cytokines and clinical state. *Haemost* 1994;24:36-48.
- 162.-Levi M, Van der Poll, Ten Cate H, Van Deventer S. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia. *Eur J Clin Invest* 1997;27:3-9.

163.-Van Hinsbergh V, Kooistra T, Van der Berg E, Princen H, Fiers W, Emeis J. Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo. Blood 1988;72:1467-1473

164.-Emeis J, Hoekzema R, De Vos A. Inhibiting Interleukin-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$  does not reduce induction of plasminogen activator inhibitor type-1 by endotoxin in rats in vivo. Blood 1995;85:115-120.

165.-Van Der Poll T, Levi M, Hack E et al. Elimination of Interleukin 6 attenuates coagulation activation in experimental endotoxemia in chimpanzees. J Exp Med 1994;179:1253-1259.

166.-Busso N, Nicodeme O, Chesne C, Guillouzo A, Belin D, Hyafil F. Urokinase and type I plasminogen activator inhibitor production by normal human hepatocytes: modulation by inflammatory agents. Hepatology 1994;20:186-190.

167.-Dinarello C, Jgelfand J, Wolff S. Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome. JAMA 1993;269:1829-1835.

- 168.-Dinarello C. Proinflammatory and antiinflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. Chest 1997 (Suppl);112:321-329.
- 169.-Grant P, Medcalf R. Hormonal regulation of haemostasis and the molecular biology of the fibrinolytic system. Clin Science 1990;78:3-11.
- 170.-Kawai Y, Matsumoto Y, Watanabe K et al. Hemodynamic forces modulate the effects of cytokines on fibrinolytic activity of endothelial cells. Blood 1996;87:2314-2321.
- 171.-Van der Poll T, Levi M, Van Deventer SJH et al. Differential effects of anti-tumor necrosis factor monoclonal antibodies on systemic inflammatory responses in experiemntal endotoxemia in chimpanzees. Blood 1994;83:446-451.
- 172.- Van der Poll T, Levi M, Ten Cate H et al. Effect of postponed treatment with anti-tumor necrosis F (AB')<sub>2</sub> fragment on endotoxin induced cytokine and neutrophil responses in chimpanzees. Clin Exp Immunol 1995;100:21-25
- 173.-Hinshaw LB, Tekamp-Olsom P, Chang ACK. Survival of primates in LD100 septic shock following therapy with antibody to tumor necrosis factor. Circ Shock 1990;30:279-292.

174.-Van der Poll T, Levi M, Buller H et al. Fibrinolytic response to tumor necrosis factor in healthy subjects. *J Exp Med* 1991;74:729-732.

175.-Schleef R, Bevilacqua M, Sawdey M, Gimbrone M, Loskutoff D. Cytokine activation of vascular endothelium. *J Biol Chem* 1998;263:5297-5803.

176.-Van der Berg EA, Sprengers ED, Jaye M, Burgess W, Maciag T, Van Hinsbergh VWM. Regulation of plasminogen activator inhibitor-1 mRNA in human endothelial cells. *Thromb Haemost* 1988;60:63-68.

177.-Ollivier V, Houssaye S, Ternisisen C et al. Endotoxin-induced tissue factor messenger RNA in human monocytes is negatively regulated by a cyclic AMP-dependent mechanism. *Blood* 1993;81:973-979.

178.-Stouthard J, Levi M, Hack E et al. Interleukin-6 stimulates coagulation, not fibrinolysis in humans. *Thromb Haemost* 1996;76:738-742.

179.-Creasey A, Chang A, Feigen L, Wun T, Taylor F, Hinshaw L. Tissue factor pathway inhibitor reduces mortality from *Escherichia coli* septic shock. *J Clin Invest* 1993;91:2850-2860.

180.-Bevilacqua M, Pober J, Majeau G, Cotran R, Gimbrone M. Interleukine-1 induces biosynthesis and cell surface

expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1984;160:618-623.

181.-Boermeester M, Van Leeuwen P, Coyle S, Wolbink G, Hack E, Lowry S. Interleukin-1 blockade attenuates mediator release and dysregulation of the hemostatic mechanism during human sepsis. *Arch Surg* 1995;130:739-748.

182.-Fisher E, Marano M, Van Zee K et al. Interleukin-1 receptor blockade improves survival and hemodynamic performance in *Escherichia coli* septic shock, but fails to alter host responses to sublethal endotoxemia. *J Clin Invest* 1992;89:1551-1557.

183.-Gillis S, Furie B, Furie B. Interactions of neutrophils and coagulation proteins. *Semin Haematol* 1997;34:336-342.

184.- Plow EF, Edginton TS. An alternative pathway for fibrinolysis. The cleavage of fibrinogen by leukocyte proteases at physiological pH. *J Clin Invest* 1975;56:30-38.

185.-Machovich R, Himer A, Owen WG. Neutrophil proteases in plasminogen activation. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 1990;1:273-277.

186.-Wu K, Urano T, Ihara H et al. The cleavage and inactivation of plasminogen activator inhibitor type I by neutrophil elastase: the evaluation of its physiologic relevance in fibrinolysis. *Blood* 1995;86:1056-1061.



- 187.-Bach-Gansmo ET, Halvorsen S, Godal H, Skjvisberg OH. Degradation of  $\alpha$ -chain of fibrin by human neutrophil elastase reduces the stimulating effect of fibrin on plasminogen activation. *Thromb Res* 1994;75:307-317.
- 188.-Tietze L, Elbrecht A, Schaurte C, et al. Modulation of pro- and antifibrinolytic properties of human peritoneal mesothelial cells by transforming growth factor  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), tumor necrosis factor (TNF- $\beta$ ) and Interleukin  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ). *Thromb Haemost* 1998;79:362-370.
- 189.-Holmdahl L, Eriksson E, Al Jabreen M, Risberg B. Fibrinolysis in human peritoneum during operation. *Surgery* 1996;119:701-705.
- 190.-Zeni F, Tardy B, Vindimian M et al. High levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in the ascitic fluid of cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Infect Dis* 1993;17:218-223.
- 191.-Shein M, Wittinann HD, Hoizheimer R and Condon RE. Hypothesis: Compartmentalization of cytokines in intrabdominal infection. *Surgery* 1996;119:694-700.
- 192.-Leizer T, Hamilton JA. Plasminogen activator and prostaglandin E2 levels in human synovial fibroblasts.

Differential stimulation by synovial activator and other cytokines. *J Immunol* 1989;143:971-978.

193.-Saxne T, Lecander I, Geborek. Plasminogen activators and plasminogen activator inhibitors in synovial fluid. Difference between inflammatory joint disorders and osteoarthritis. *J Rheumatol* 1993;20:91-96.

194.-Weinberg J, Pippen A, Greenberg C. Extravascular fibrin formation and dissolution in synovial tissue of patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatism* 1991;34:996-1005.

195.-Wallberg-Jonsson S, Rantapää-Dahlqvist S, Nordmark L, Ranby M. Mobilization of fibrinolytic enzymes in synovial fluid and plasma of rheumatoid arthritis and spondyloarthropathy and their relation to radiological destruction. *J Rheumatol* 1996;23:1704-1709.

196.-Belcher C, Fawthrop F, Bunning R, Doherty M. Plasminogen activators and their inhibitors in synovial fluids from normal, osteoarthritis and rheumatoid arthritis knees. *Ann Rheum Dis* 1996;55:230-236.

197.-Busso N, Peclat V, So A, Sappino A. Plasminogen activation in synovial tissues: differences between normal, osteoarthritis and rheumatoid joints. *Ann Rheum Dis* 1997;56:550-557.

- 198.-Hamilton JA, Hart PH, Leizer T, Vitti GF, Campbell IK. Regulation of plasminogen activator activity in arthritic joints. *J Rheumatol* 1991;(Suppl) 27:106-109.
- 199.-SPSS for Windows. Release 6.0. Chicago, IL:SPSS Inc. 1993.
- 200.-Ocaña I, Martinez Vazquez JM, Segura RM, Fernandez de Sevilla T, Capdevila JA. Adenosine deaminase in pleural fluids:test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 1983;84:51-53.
- 201.-Grunze H. The comparative diagnostic accuracy, efficiency and specificity of cytologic techniques used in the diagnosis of malignant neoplasm in serous effusions of the pleural and pericardial cavities. *Acta Cytol* 1964;8:150-164.
- 202.-Jarvi OH, Kunnas RJ, Laitio MT, Tyrkko JES. The accuracy and significance of cytologic cancer diagnosis of pleural effusions. *Acta Cytol* 1972;16:152-157.
- 203.-Sahn SA. Malignant pleural effusion. *Semin Respir Med* 1987;9:43-53.
- 204.-Menzles R, Chanbommeau M. Thoracoscopy for the diagnosis of pleural disease. *Ann Intern Med* 1991;1114:271-275.

- 205.-Robinson GR, Gleeson K. Diagnostic flexible fiberoptic pleuroscopy in suspected malignant pleural effusion. Chest 1995;107:424-29.
- 206.-Roth B. Examining the pleura. Chest 1995;107:299-300.
- 207.-Boutin C, Astout P, Seitz B. The role of thoracoscopy in the evaluation and management of pleural effusions. Lung 1990;(Suppl):1113-21.
- 208.-Light RW, MacGregor MI, Luchsinger PC, Ball WC. Pleural effusions:the diagnostic separation of transudates and exudates. Ann Intem Med 1972;77:507-513.
- 209.-Porcel JM, Vives M. Classic, abbreviated, and modified Light's criteria. The end of the story? Chest1999;116:1833-1834.
- 210.-Jébrak G, Pointet P, Pichot MH. Purulent pleurisy and empyema. With the exception of pleural tuberculosis. Presse Med 1998;37:1924-1931.
- 211.-De Bruin PA, Crama Bohbouth G, Vespaget HW, Verheijen JH, Dooijewaard G, Weterman IT, Lamers CB. Plasminogen activators in the intestine of the patients with inflammatory bowel disease. Thromb Haemost 1998;60:262-266.
- 212.-Brommer EJ, Dooijewaard G, Dijkmans BA, Breedveld FC. Depression of tissue-type plasminogen activator and enhancement of urokinase-type plasminogen activator as an

- expression of local inflammation. *Thromb Haemost* 1992;68:180-184
- 213.-Grandahl J, Kirkeby LT, Ralfkiaer E, Kristensen P, Lund LR, Dan K. Urokinase type plasminogen activator in endothelial cells during acute inflammation of the appendix. *Am J Pathol* 1989;:135:631-636.
- 214.-O'Rourke J, Wang W, Donnelly L, Wang E, Kreutzer D. Extravascular plasminogen activator and inhibitor activities detected at the site of a chronic mycobacterial induced inflammation. *Am J Pathol* 1987;126:334-342.
- 215.-Marshall B, Xu Q, Rao N, Brown B, Hoidal J. Pulmonary epithelial cell urokinase-type plasminogen activator. *J Biol Chem* 1992;267:11462-11469.
- 216.-Hamaguchi Y, Ohi M, Sakakura Y, Miyoshi Y. Purification and characterization of tissue-type plasminogen activator in maxillary mucosa with chronic inflammation. *Thromb Haemost* 1985;54:485-489.
- 217.-Hasegawa T, Sorensen L, Dohi M, Rao N, Hoidal J, Marshall B. Induction of urokinase-type plasminogen activator receptor by IL-1 $\beta$ . *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:683-692.

218.-Van Hinsbergh V, Van der Berg E, Fiers W, Dooijewaard G. Tumor necrosis factor induces the production of urokinase type plasminogen activator by human endothelial cells. Blood 1990;75:1991-1998.

219.- Niedbala MJ, Stein M. Tumor necrosis factor regulation of endothelial cell extracellular proteolysis.: the role of urokinase plasminogen activator. Biol Chem Hoppe Seyler 1992;373:555-566.