

**ASOCIACIÓN DE LAS METALOPROTEINASAS Y SUS
INHIBIDORES TISULARES CON EL SISTEMA DE LA
FIBRINOLISIS Y LOS MARCADORES DE ACTIVACIÓN
NEUTROFÍLICA EN LOS DERRAMES PLEURALES
PARANEUMÓNICOS**

Daniel Iglesias Sáenz
Barcelona, 2002

**DEPARTAMENT DE MEDICINA
FACULTAT DE MEDICINA
UNIVERSITAT AUTÓNOMA DE BARCELONA**

TESIS DOCTORAL

**ASOCIACIÓN DE LAS METALOPROTEINASAS Y SUS
INHIBIDORES TISULARES CON EL SISTEMA DE LA
FIBRINOLISIS Y LOS MARCADORES DE ACTIVACIÓN
NEUTROFÍLICA EN LOS DERRAMES PLEURALES
PARANEUMÓNICOS**

**Daniel Iglesias Sáenz
Barcelona, 2002**

**Directores de la Tesis Doctoral:
Dr. Tomás Fernández de Sevilla Ribosa
Dr. José alegre Martín**

A Núria

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Pepe Alegre, auténtica alma de este trabajo, por su inestimable ayuda en mi formación y por su amistad.
- Al Dr. Tomás Fernández de Sevilla, por sus sabios consejos y actitud docente.
- Al Dr. Jaume Guardia, pilar de la Medicina Interna.
- Al Dr. Vicenç Falcó, por su amistad y apoyo.
- Al Dr. Antonio Segura, por los años compartidos en mi residencia.
- A la Dra. Carmen Alemán, por su compañerismo y capacidad de trabajo, un ejemplo a seguir.
- A los Dres. Oscar Len y Jesús Recio, dos grandes compañeros.
- Al Dr. César Pérez, por su gran ayuda y por los momentos compartidos en nuestra residencia.
- A la Dra. Eva Ruíz y al Dr. Carlos Cervera, por su amistad y colaboración continua.
- A las Dras. Ana Vázquez, Eva Domingo, Teresa Soriano, y al Dr. Javier Sarrapio, continuadores de la "saga" de la pleura.
- A la Dra. Rosa Segura, por su capacidad de trabajo y gran colaboración.
- A las Dras. Ana Inglés y Jasone Monasterio, por su labor metódica en este trabajo.
- Al Dr. Lluís Armadans, por su ayuda en este trabajo.
- A la Dra. Adelaida Ferrer, por su colaboración en el estudio microbiológico.
- A mis compañeros de guardia, por los intensos momentos vividos juntos.
- A los Servicios de Medicina Interna, Hematología, Microbiología y Anatomía Patológica.
- A las enfermeras y Supervisora del Hospital de la Esperanza, por su afecto y ayuda.
- A las enfermeras, técnicos y auxiliares de los laboratorios de Bioquímica, Hematología, Hemostasia y Microbiología.
- Al Fondo de Investigación Sanitaria.
- A mis amigos y compañeros del Hospital de Terrassa.
- A mi familia, por su comprensión y apoyo.
- En especial, a todos y cada uno de los pacientes de este estudio.

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. LA PLEURA. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA PLEURAL.....	2
• Anatomía e histología de la pleura.....	2
• Fisiología de la formación de líquido pleural.....	4
2. LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS.....	7
• La infección pleural.....	7
• Diagnóstico y tratamiento de los derrames pleurales paraneumónicos.....	12
3. LA INFLAMACIÓN PLEURAL.....	24
• El papel del neutrófilo en los derrames pleurales bacterianos.....	24
• Las citoquinas proinflamatorias.....	29
• El sistema de la fibrinólisis en el líquido pleural. Asociación con los marcadores inflamatorios.....	34
• Las metaloproteinasas (MMPs) y sus inhibidores tisulares (TIMPs).....	39
• Asociación de las MMPs y TIMPs con el sistema de la fibrinólisis y los marcadores inflamatorios.....	49
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	51
PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODO	56
1. PACIENTES.....	57
• Definición de los pacientes.....	59

2. MATERIAL Y MÉTODO.....	62
2.1 Método bioquímico.....	62
• Determinación de proteínas, glucosa, pH, LDH y ADA.....	62
• Determinación de los marcadores de activación neutrofílica.....	63
• Determinación de los marcadores del sistema de la fibrinólisis.....	64
• Determinación de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares.....	64
2.2 Análisis del recuento leucocitario.....	65
2.3 Método microbiológico.....	66
2.4 Método citológico.....	67
2.5 Método radiológico.....	67
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	68
4. ANEXO 1. Protocolo de recogida de datos de los derrames pleurales.....	71

RESULTADOS.....76

1. Análisis descriptivo y comparación de medias entre los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.....	77
1.1 Resultados en sangre.....	77
• Marcadores bioquímicos de rutina en suero.....	77
• Recuento celular leucocitario en sangre.....	80
• Marcadores de activación neutrofílica en suero.....	82
• Marcadores del sistema de la fibrinólisis en plasma.....	84
• Metaloproteinasas e inhibidores tisulares de metaloproteinasas en plasma.....	86
1.2 Resultados en líquido pleural.....	89
• Marcadores bioquímicos de rutina.....	89
• Recuento celular leucocitario.....	92
• Marcadores de activación neutrofílica.....	94
• Marcadores del sistema de la fibrinólisis.....	99
• Metaloproteinasas e inhibidores tisulares de metaloproteinasas.....	106
1.3 Comparación de medias de MMPs y TIMPs entre plasma y líquido pleural.....	115

2. Asociación entre los parámetros de estudio.....	117
2.1 Asociación entre los niveles de MMPs y TIMPs en líquido pleural en los derrames pleurales paraneumónicos.....	117
2.2 Asociación entre los niveles de MMPs y TIMPs en plasma y líquido pleural.....	119
2.3 Asociación entre el recuento leucocitario y los niveles de MMPs y TIMPs en líquido pleural.....	121
2.4 Asociación de los niveles de MMPs y TIMPs con los marcadores de activación neutrofílica y del sistema de la fibrinólisis en líquido pleural.....	123
• En los derrames pleurales exudados.....	123
• En los derrames pleurales infecciosos.....	125
• En los derrames pleurales paraneumónicos.....	127
• En los empiemas.....	129
• En los derrames pleurales paraneumónicos no complicados.....	131
3. Análisis de componentes principales de las MMPs y TIMPs en líquido pleural.....	133
4. Relación de MMPs y TIMPs con la presencia de complicaciones pleurales locales en los DP paraneumónicos.....	141
DISCUSIÓN.....	144
CONCLUSIONES.....	164
RESUMEN.....	167
BIBLIOGRAFÍA.....	174

INTRODUCCIÓN

LA PLEURA. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA PLEURAL

- **ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DE LA PLEURA**

La pleura es una membrana serosa que recubre el parénquima pulmonar, el mediastino, el diafragma y la pared torácica. Se divide en dos hojas denominadas pleura visceral y pleura parietal. Entre ellas delimitan un espacio, denominado espacio o cavidad pleural, que contiene una mínima cantidad de líquido en condiciones normales. La pleura visceral tapiza el parénquima pulmonar y las cisuras interlobares. La pleura parietal recubre la superficie interna de la pared costal, el diafragma y el mediastino, uniéndose con la pleura visceral a nivel del hilio pulmonar¹.

La cavidad pleural es un espacio prácticamente virtual de unos 10-20 μm de ancho entre el mesotelio pleural y visceral. En condiciones fisiológicas contiene un volumen de líquido de 0.1 – 0.2 mL/Kg de peso corporal. El líquido pleural es un líquido claro, con un contenido proteico inferior a 1.5 g/dL. Tiene una presencia celular escasa, aproximadamente 1500 células por μL , con un predominio de monocitos y escasos linfocitos, macrófagos y células mesoteliales².

El líquido pleural disminuye la fricción entre el pulmón y la pared torácica, permitiendo el deslizamiento de la pleura visceral sobre la pleura parietal durante los movimientos respiratorios¹.

Desde un punto de vista histológico, la membrana pleural se compone de cuatro capas con diferentes componentes celulares y estructurales, denominadas capa fibroelástica profunda, capa de tejido conectivo denso, submesotelio o membrana basal y monocapa de células mesoteliales³.

La capa fibroelástica profunda, formada por fibras de colágeno y elastina, se adhiere fuertemente a la pared torácica, el mediastino, el diafragma y el parénquima pulmonar.

La capa de tejido conectivo adquiere una morfología densa e irregular a lo largo de la superficie pleural¹. Es un entramado de fibras colágenas y elastina que contiene vasos sanguíneos y linfáticos, así como terminaciones nerviosas. Los vasos sanguíneos, representados fundamentalmente por capilares, proceden de las arterias intercostales en la superficie parietal y de las arterias bronquiales en la superficie visceral². Los vasos linfáticos forman verdaderos lagos en la capa de tejido conectivo y comunican de forma directa con el espacio pleural a través de estomas situados entre las células mesoteliales²⁻⁴.

El submesotelio es una fina banda de tejido conectivo rico en proteoglicanos, en íntimo contacto con las células mesoteliales.

Las células mesoteliales se disponen en una única capa celular a lo largo de la superficie pleural¹⁻³. Adquieren una morfología aplanada o cuboidal según su localización en la pleura o en respuesta a diferentes estímulos celulares^{5,6}. Su superficie apical está tapizada de numerosas microvellosidades, sobre todo en la

pleura visceral basal, que atrapan glicoproteínas ricas en ácido hialurónico contribuyendo a disminuir la fricción entre las dos superficies pleurales^{1-3,5,6}.

El mesotelio pleural había sido considerado inicialmente como una membrana semipermeable sin un papel activo en los procesos patológicos pleurales. En la actualidad se considera que la célula mesotelial es metabólicamente activa y capaz de responder ante diferentes estímulos^{1,7-9}. Las células mesoteliales han demostrado capacidad para sintetizar colágenos y elastina¹⁰, sintetizar factores de crecimiento celular y citoquinas y aumentar la permeabilidad local a proteínas^{7,8}. De este modo, se han confirmado como una pieza relevante en los mecanismos de inflamación pleural.

- **FISIOLOGÍA DE LA FORMACIÓN DE LÍQUIDO PLEURAL**

En condiciones normales la entrada y salida de líquido pleural y proteínas del espacio pleural se mantiene en constante equilibrio². El líquido pleural se forma a partir del filtrado a través de los capilares sistémicos de la pleura parietal hacia el intersticio extrapleural y posteriormente hacia el espacio pleural fruto de la diferencia de presiones hidrostáticas entre estos compartimentos. La tasa normal de filtrado de líquido hacia el espacio pleural es de 0.01 mL/Kg/h. La absorción de líquido pleural se produce predominantemente a través de los linfáticos de la pleura parietal y muy en menor medida a través de la pleura visceral. La capacidad

de reabsorción de los linfáticos en la pleura parietal es de 0.2 mL/Kg/h, y por lo tanto unas 20 veces superior a la tasa de formación de líquido pleural en condiciones normales^{1,11,12}.

El líquido pleural se acumula en el espacio pleural cuando la formación de líquido excede la reabsorción, comportando la aparición de derrame pleural.

Clásicamente, se han descrito seis mecanismos responsables de una excesiva acumulación de líquido pleural²:

1. Aumento de la presión hidrostática de la circulación microvascular. El aumento de la presión venosa sistémica y de la presión venosa pulmonar son los responsables del desarrollo de derrames pleurales en pacientes afectos de insuficiencia cardiaca congestiva.
2. Disminución de la presión oncótica de la circulación microvascular. Se observa en pacientes con disminución del contenido proteico del suero que favorece la extravasación de líquido hacia el espacio intersticial.
3. Disminución de la presión en el espacio pleural. La atelectasia pulmonar provoca una disminución de la presión pleural que favorece el filtrado a través de la pleura parietal por diferencia de presiones hidrostáticas.
4. Aumento de la permeabilidad vascular. En los procesos inflamatorios e infecciosos, la liberación de mediadores inflamatorios provoca una alteración de la permeabilidad vascular y de la capa de células mesoteliales que favorece la salida de líquido hacia el espacio pleural. Es un mecanismo fisiopatológico implicado en los derrames pleurales paraneumónicos.

5. Bloqueo de drenaje linfático. La dificultad de drenaje linfático a nivel de estomas, vasos linfáticos o ganglios linfáticos, favorece la formación de derrame pleural y es un mecanismo fisiopatológico implicado en la patogenia de los derrames pleurales malignos.
6. Filtrado de líquido desde el peritoneo. La presencia de ascitis favorece el paso de líquido a través de linfáticos diafragmáticos o defectos diafragmáticos hacia el espacio pleural.

Estos mecanismos fisiopatológicos comportan como vía final la aparición de derrame pleural, que debe ser entendido como un hecho patológico. La presencia de derrame pleural nos obliga a iniciar una serie de estudios para definir el origen del mismo y posteriormente decidir una actitud terapéutica adecuada.

1. LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS

- **LA INFECCIÓN PLEURAL**

Los derrames pleurales paraneumónicos son una causa frecuente de derrame pleural exudado². A pesar de los avances en antibioticoterapia, las neumonías bacterianas continúan siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en nuestra sociedad^{1,13-21}. La incidencia anual de neumonías bacterianas en los Estados Unidos se estima en 4 millones de casos. Un 20% de estos casos requerirá hospitalización²¹. La presencia de derrame pleural paraneumónico se observa en un 20-60% de los pacientes ingresados por neumonía bacteriana^{22,23}. Un elevado porcentaje de derrames pleurales paraneumónicos se resuelven con la instauración de un tratamiento antibiótico adecuado para el proceso infeccioso de base y sin la necesidad de realizar ninguna actitud terapéutica especial sobre el derrame pleural. Sin embargo, entre un 5-10% de los derrames pleurales paraneumónicos progresan a derrames pleurales complicados y empiemas que requerirán el drenaje terapéutico del líquido pleural²². Las tasas de morbilidad y mortalidad de los pacientes afectados de derrame pleural paraneumónico son superiores a las de los pacientes afectados de neumonía bacteriana aislada²⁴. En este sentido, observamos que la tasa de mortalidad por empiema oscila entre el 25% y 70% en los pacientes de edad avanzada y en aquellos afectados de enfermedades crónicas²⁵.

Las infecciones del espacio pleural han sido reconocidas como un problema médico importante desde las primeras épocas de la historia de la medicina. Hipócrates, 500 años a.c, ya recomendaba el tratamiento de los empiemas mediante drenaje pleural abierto¹. A mediados del siglo XIX se institucionalizó la toracocentesis terapéutica, y se observó que no todos los pacientes con infección de la cavidad pleural requerían drenaje pleural abierto²⁶. En 1876, Hewitt describió por primera vez el drenaje pleural cerrado mediante un tubo de goma²⁷.

A pesar de los avances en el manejo terapéutico de los derrames paraneumónicos en los últimos dos siglos, aún hoy en día, los mecanismos celulares y moleculares implicados en la patogénesis de la inflamación pleural no han sido totalmente dilucidados¹⁰.

La respuesta del huésped ante la infección pleural consiste en una intensa respuesta inflamatoria local que implica el reclutamiento y activación de neutrófilos y macrófagos. Esta respuesta puede conducir a la resolución de la infección y a la reparación "ad integrum" del mesotelio pleural. Pero, si existe una disregulación en la respuesta inflamatoria y en los procesos de reparación podría conducir a la aparición de fibrosis pleural, que comportará importantes secuelas anatómicas y fisiológicas del pulmón y la pared torácica.

El espacio pleural es un espacio prácticamente virtual en el que no existen células inflamatorias en condiciones normales. Por ello, se considera que la respuesta inflamatoria pleural tiene lugar en dos fases. La primera fase está mediada por las células mesoteliales que recubren la superficie pleural y provocaría

la liberación y activación de mediadores inflamatorios. La segunda fase consiste en la expansión y perpetuación de la respuesta inflamatoria que estaría mediada por las citoquinas liberadas por la respuesta mesotelial primaria y por las células inflamatorias reclutadas hacia el espacio pleural por dichos mediadores⁷.

Las células mesoteliales, por su localización en la superficie pleural, son las primeras en reaccionar frente a los agentes infecciosos que invaden la pleura. La activación de las células mesoteliales provoca la liberación de proteínas de bajo peso molecular, denominadas citoquinas. Estas proteínas tienen un papel fundamental como mediadores de la respuesta inflamatoria en los procesos inflamatorios locales o sistémicos²⁸⁻³⁰. Las células mesoteliales, así mismo, favorecen un importante aumento de la permeabilidad a proteínas de elevado peso molecular que provocará un incremento del contenido proteico del líquido pleural. Por último, durante el proceso de activación del mesotelio pleural, se observa la aparición de espacios intercelulares o gaps, secundarios a un cambio en la morfología de las células mesoteliales, que contribuirán al paso de las células inflamatorias hacia el espacio pleural.

La liberación de citoquinas proinflamatorias favorece el reclutamiento de células inflamatorias, neutrófilos y células mononucleares fagocíticas, que iniciarán la contención y destrucción de los agentes infecciosos. Las células inflamatorias liberan nuevas citoquinas que contribuyen a expandir y perpetuar la respuesta inflamatoria pleural.

Desde un punto de vista fisiopatológico, la evolución de los derrames pleurales paraneumónicos ha sido clásicamente dividida en tres fases o estadios, que aparecerían de una forma gradual en el tiempo. Es una clasificación útil a nivel teórico, aunque en la evolución de los derrames paraneumónicos hacia el empiema estas fases se superponen y es difícil diferenciarlas desde un punto de vista práctico (Tabla 1)^{1,24,25,31}.

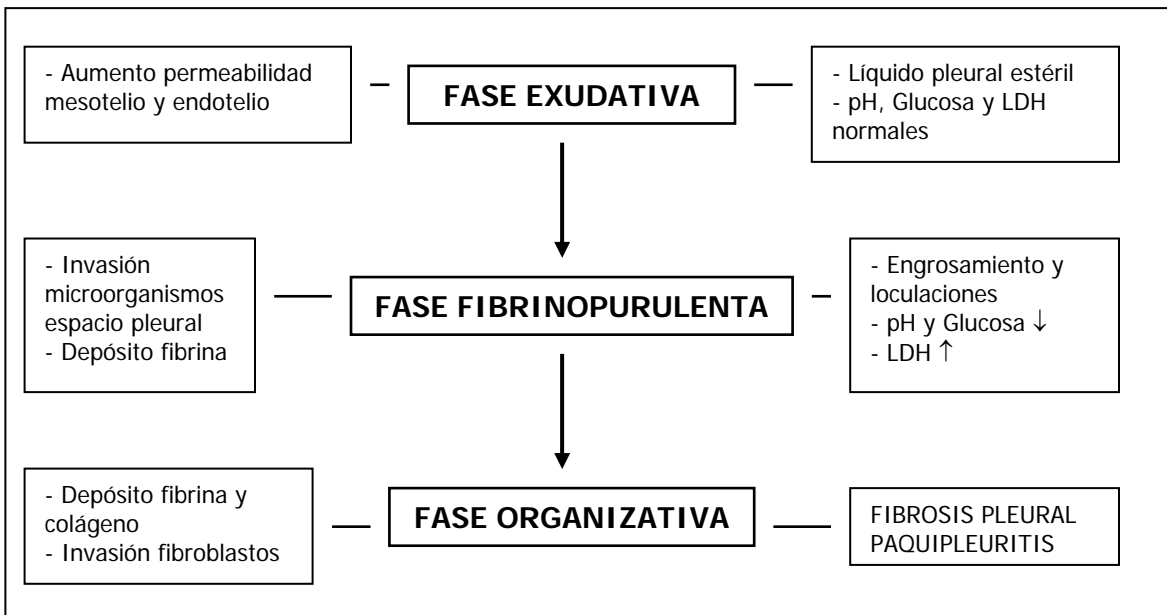
En la primera fase, fase exudativa, se observa un aumento de la permeabilidad pleural, que comporta el paso de líquido pleural estéril desde el intersticio pulmonar hacia el espacio pleural. Este líquido pleural se caracteriza por un elevado contenido proteico, escasa celularidad con predominio neutrofílico, y unas cifras de pH y glucosa normales. En esta fase, la instauración de un tratamiento antibiótico adecuado suele resolver el derrame pleural.

La segunda fase, denominada fibrinopurulenta, se caracteriza por el acúmulo de gran cantidad de líquido pleural y la invasión bacteriana del espacio pleural. El líquido pleural es más denso, con elevado contenido de células polimorfonucleares y detritus celulares. Existe un progresivo descenso del pH y de la glucosa en el líquido pleural. Además, se observa el depósito de fibrina en la superficie pleural parietal y visceral, que contribuirá a la formación de adherencias y loculaciones entre las dos hojas pleurales. Estas adherencias evitan la extensión de la infección pero dificultarán el drenaje del líquido pleural. En esta fase, será necesario drenar el líquido pleural para una correcta resolución del proceso infeccioso.

En el estadio final organizativo, observamos la proliferación de fibroblastos en la superficie pleural y sobre los puentes de fibrina, que conducirán a la formación de una membrana inelástica pleural a modo de coraza que comportará importantes secuelas anatómicas y funcionales del pulmón y la caja torácica. Se puede producir el drenaje espontáneo del líquido pleural purulento a través de la pared torácica (empyema necessitatis), o hacia el pulmón a través de una fístula broncopleural.

El objetivo del manejo terapéutico de los derrames pleurales infecciosos va encaminado a un reconocimiento precoz y a la instauración de un tratamiento adecuado que evite la aparición de las secuelas pleurales en forma de adherencias y fibrosis de los estadios fibrinopurulento y organizativo.

Tabla 1. Evolución de los derrames pleurales paraneumónicos.



• DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS

Clásicamente se ha definido el derrame pleural paraneumónico como aquel derrame pleural secundario a una infección pulmonar, ya sea una neumonía, bronquiectasias o un absceso pulmonar. Hablamos de empiema ante la presencia de pus en el espacio pleural²⁴. A pesar de que los empiemas suelen estar asociados a una infección pulmonar, en ocasiones son secundarios a procesos infecciosos extrapulmonares como embolismos pulmonares sépticos, bacteriemia, mediastinitis, abscesos subfrénicos, traumatismos torácicos abiertos, o ruptura esofágica²⁵.

De cara al manejo terapéutico de estos derrames, hablamos de derrame pleural paraneumónico no complicado cuando se resuelve bajo tratamiento antibiótico. Por el contrario, hablamos de derrame pleural paraneumónico complicado cuando el derrame pleural no se resuelve únicamente bajo tratamiento antibiótico y es preciso la colocación de un tubo de drenaje pleural para su resolución²⁴.

El estudio de un derrame pleural paraneumónico implica un diagnóstico precoz del mismo, la práctica de una toracocentesis diagnóstica para el estudio bioquímico y microbiológico del líquido pleural, la instauración de antibioticoterapia empírica y decidir la necesidad de la colocación de un drenaje pleural^{1,2,22-25,31-45}.

El tratamiento antibiótico sistémico debe iniciarse de forma precoz y empírica basándonos en la severidad del proceso neumónico subyacente y de si su

adquisición es intra o extrahospitalaria²¹. En general, el tratamiento antibiótico se basa en la asociación de un β -lactámico y un inhibidor de β -lactamasas, o una cefalosporina de tercera generación. El tratamiento debe ajustarse posteriormente en función de los resultados del estudio microbiológico del líquido pleural. La duración del tratamiento antibiótico viene determinada por el control de la clínica neumónica y de la sepsis pleural. El tratamiento de un derrame paraneumónico no complicado se prolongará el tiempo que dure el tratamiento de la neumonía de base.

La presencia de pus en el espacio pleural y un cultivo o tinción de gram positivos en líquido pleural, son las dos indicaciones absolutas de drenaje pleural^{1,25,40}.

Los dos aspectos más controvertidos e importantes del drenaje pleural consisten en la correcta selección de pacientes y en el drenaje pleural precoz de aquellos pacientes que lo precisen²⁵. Los estudios clínicos no ofrecen un sistema predictivo validado de decisión en este sentido. Existen numerosos trabajos que han intentado definir aquellos pacientes que, además de un correcto tratamiento antibiótico, precisarán la colocación de un drenaje pleural, asociado o no al uso de fibrinolíticos intrapleurales^{1,22,24,33,38,40,42,44,45}.

No existen factores clínicos que identifiquen claramente aquellos pacientes que requerirán la colocación de un drenaje pleural, y por lo tanto no son útiles como indicadores de complicaciones pleurales^{22,46}. Sin embargo, algunos datos clínicos y analíticos, como la persistencia de la clínica a pesar de tratamiento antibiótico

adecuado, la presencia de leucocitosis persistente¹, anemia o hipoalbuminemia³⁵, y el riesgo de infección por anaerobios⁴⁷ (alcoholismo, patología neurológica con alteración de la deglución,...), se asocian a una mayor probabilidad de presentar un empiema.

La combinación de técnicas radiológicas con el análisis bioquímico y microbiológico del líquido pleural intentan determinar aquellos derrames pleurales que no se resolverán bajo tratamiento antibiótico, evolucionarán hacia una fase fibrinopurulenta y posteriormente organizativa y que, en definitiva, requerirán medidas terapéuticas más agresivas²⁵.

Como se ha comentado previamente, la presencia de una tinción de gram o un cultivo positivos del líquido pleural, suponen, para muchos autores, una indicación de drenaje pleural^{40,44,45}. Determinados patógenos han demostrado una especial virulencia sobre el espacio pleural, como los microorganismos anaerobios⁴⁸, *Streptococcus pyogenes*⁴⁹, *Staphylococcus aureus*⁵⁰, o *Klebsiella pneumoniae*⁵¹, e implican una mayor probabilidad de presentar un derrame pleural complicado o empiema. En general, los gérmenes aislados con mayor frecuencia en el espacio pleural son el *Staphylococcus aureus*, el *Streptococcus pneumoniae*, los bacilos gram negativos entéricos y los microorganismos anaerobios, como demuestran cuatro series publicadas de derrames pleurales infecciosos⁵².

Entre los estudios radiológicos, la radiografía torácica continúa siendo la técnica de elección en la valoración inicial de los pacientes afectados de derrames paraneumónicos y en la detección de posibles complicaciones asociadas a la

práctica de toracocentesis⁵³⁻⁵⁶. Se atribuye a esta técnica una sensibilidad del 67% y una especificidad del 70% en la detección de derrame pleural⁵⁷, aunque son necesarios de 200-500 mL de líquido pleural para borrar el seno costofrénico en la radiografía de tórax pósterio-anterior⁵⁸. La radiografía en decúbito lateral aumenta la sensibilidad radiológica para la detección de líquido pleural libre. La imagen radiológica de capsulamiento o loculación^{22,59}, la presencia de nivel hidroaéreo⁴⁷ o de derrames pleurales de gran tamaño³⁵, aumentan la probabilidad de derrame pleural complicado o empiema.

La ecografía torácica ha demostrado ser una técnica muy sensible en la detección de líquido pleural. En los derrames pleurales infecciosos, la detección de septos o material hiperecogénico mediante esta técnica, orienta hacia la presencia de derrames pleurales complicados y empiemas. Además, se ha demostrado útil para la localización de puntos apropiados para la punción pleural en derrames pleurales septados y para la colocación de drenajes pleurales guiados⁶⁰⁻⁶⁷.

La tomografía computerizada torácica localiza y determina la extensión de la afectación pleural, además de permitir una correcta diferenciación de alteraciones pleurales y pulmonares (abscesos, tumores, patología mediastínica,...). Ha demostrado ser una técnica muy útil en el manejo de derrames pleurales complicados y empiemas, permitiendo el drenaje pleural guiado y la monitorización de la respuesta al tratamiento. Es fundamental como técnica de imagen preoperatoria. La detección de loculaciones, engrosamiento pleural >0.5 cm o el

engrosamiento de la grasa subcostal, orientan hacia la presencia de un empiema^{62,68-73}.

Las técnicas radiológicas ayudan en el manejo terapéutico de los derrames pleurales infecciosos^{64,71,74-77} y en la detección de complicaciones pleurales, pero no determinan, por sí solas, la posibilidad de que un derrame pleural sea un empiema.

El análisis del líquido pleural continúa siendo el parámetro más utilizado para valorar la posibilidad de que un derrame pleural se esté complicando o sea un empiema^{1,2,22,24,25}. La presencia de líquido pleural purulento define el empiema y es una indicación absoluta de drenaje pleural. El recuento leucocitario y la cifra de neutrófilos en el líquido pleural no predice la necesidad de colocación de drenaje pleural²⁵.

La infección pleural y la respuesta inflamatoria asociada provocan una disminución progresiva del pH y glucosa del líquido pleural, así como un aumento de la lactatodeshidrogenasa (LDH). El metabolismo de la glucosa, con producción de CO₂ y lactato, por parte de las células inflamatorias y bacterias, disminuyen el pH y glucosa del líquido pleural. La LDH aumenta como consecuencia de la lisis de neutrófilos y fagocitos mononucleares en el espacio pleural⁷⁸⁻⁸¹.

Se ha recomendado el análisis del pH, glucosa y LDH del líquido pleural de los derrames pleurales paraneumónicos, para decidir la necesidad de drenaje pleural^{1,2,22,24,25,38,40,42,44,45,79,82,83}.

En general, existe consenso a la hora de definir un derrame pleural no complicado cuando tiene un pH > 7.2, glucosa > 40 mg/dL y LDH < 1000 UI/L¹.

En la definición de derrame pleural complicado, atendiendo a las características bioquímicas del líquido pleural, no existe un consenso absoluto. Light, en 1980²², propuso drenar aquellos derrames con pH < 7.0 y glucosa < 40 mg/dL. Sahn, en 1988², propuso drenar aquellos derrames con pH < 7.1, glucosa < 40 mg/dL y LDH > 1000 UI/L, y definió como derrames no complicados aquellos con pH > 7.3 y glucosa > 60 mg/dL. Los derrames pleurales con pH entre 7.1 y 7.3 serían tributarios de toracocentesis de control para valorar la evolución. Heffner, en 1995⁸⁴, realizó un metanálisis de varias series de derrames pleurales paraneumónicos^{22,46,78,79,82,83,85} y concluyó que el pH era el mejor indicador para diferenciar derrames complicados y no complicados, estableciendo un mejor punto de corte de 7.2.

Light, en 1995⁴⁴, propuso una nueva clasificación de los derrames pleurales paraneumónicos, que integraba el estudio bioquímico radiológico y proponía la actitud terapéutica inicial en los diferentes subtipos de derrames (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de Light de los derrames pleurales paraneumónicos.

CLASE 1 DERRAME PARANEUMÓNICO NO SIGNIFICATIVO	Pequeño < 10 mm de grosor en la Rx tórax en decúbito Toracocentesis improductiva
CLASE 2 DERRAME PARANEUMÓNICO TÍPICO	> 10 mm de grosor pH > 7.2 y glucosa > 40 mg/dL Tinción de Gram y cultivo negativos
CLASE 3 DERRAME PARANEUMÓNICO COMPLICADO BORDERLINE	pH 7.0 – 7.2 y/o LDH > 1000 UI/L y glucosa > 40 mg/dL Tinción de Gram y cultivo negativos
CLASE 4 DERRAME PARANEUMÓNICO COMPLICADO SIMPLE	pH < 7.0 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 < 7.0 y/o glucosa < 40 mg/dL y/o Tinción de Gram o cultivo positivos Múltiples loculaciones
CLASE 6 EMPIEMA SIMPLE	Presencia franca de pus Loculación única
CLASE 7 EMPIEMA COMPLEJO	Presencia franca de pus Múltiples loculaciones

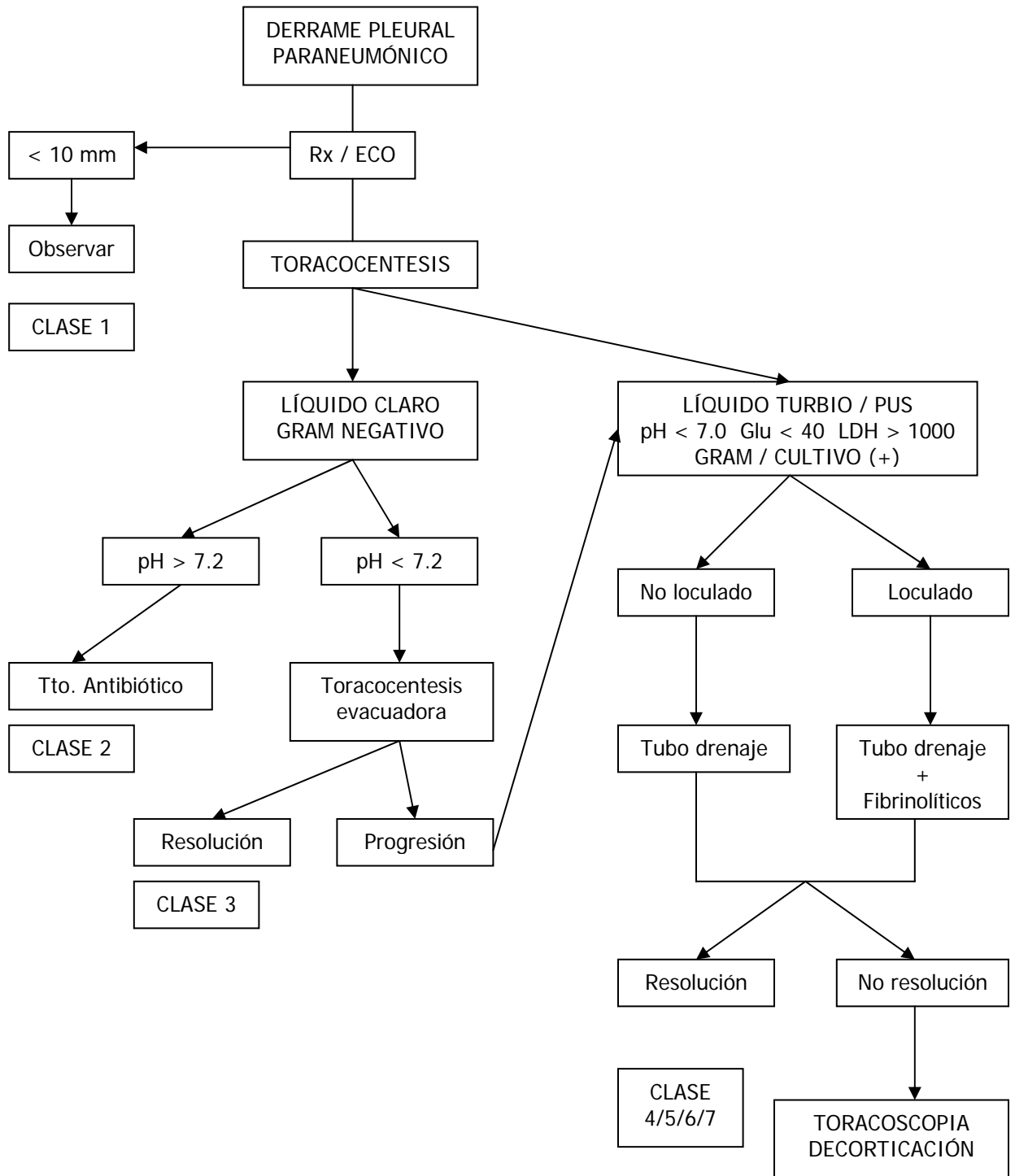
Los subtipos 1 y 2 corresponden a los derrames paraneumónicos no complicados. Light propone que cuando la cantidad de líquido pleural es pequeña, menor de 10 mm en la radiografía en decúbito lateral, no debería practicarse una toracocentesis diagnóstica ya que la mayoría de estos derrames se resuelven con tratamiento antibiótico y la toracocentesis suele ser improductiva. El subtipo 2 representaría el derrame pleural paraneumónico típico, con buena respuesta al tratamiento antibiótico.

En el grupo 3 se encuentran los derrames paraneumónicos borderline, caracterizados por un pH entre 7.0 y 7.2. El autor propone la práctica de toracocentesis evacuadora terapéutica diaria mientras persista el líquido pleural. Si varían las características bioquímicas se indicaría la práctica de drenaje pleural.

Los subtipos 4 a 7 representan los derrames pleurales complicados y empiemas, en los que estaría indicada la colocación de un tubo de drenaje pleural y la instilación de fibrinolíticos en el caso de que se demuestren septos o loculaciones por técnicas radiológicas.

En el gráfico 1 se resume el algoritmo diagnóstico y terapéutico propuesto por Light para el manejo de los derrames pleurales paraneumónicos.

Gráfico 1. Algoritmo diagnóstico y terapéutico para el manejo de los derrames pleurales paraneumónicos.



La técnica empleada para el drenaje pleural depende de varios factores como son la viscosidad del líquido pleural, la presencia de loculaciones, la virulencia del agente causal, la experiencia del centro en diferentes técnicas de drenaje y la estabilidad clínica del paciente. La premisa básica de las técnicas empleadas se centra en el drenaje del líquido pleural de la forma más rápida y efectiva posible, para favorecer la reexpansión pulmonar y la obliteración de la cavidad pleural.

La toracocentesis evacuadora se ha demostrado eficaz hasta en la cuarta parte de los derrames pleurales con cultivo positivo en fase exudativa precoz⁸⁶. Quedaría limitada a pacientes clínicamente estables en fase precoces de la formación del empiema.

El tubo de toracostomía continúa siendo el tratamiento de inicio tradicional en el drenaje pleural. La tasa de éxito en diferentes series varía entre el 6% y el 78%, probablemente en relación a diferencias en la selección de casos^{25,35,36,43,47}. Debería reservarse para pacientes en fase exudativa o fibrinopurulenta precoz, con líquido pleural poco viscoso y con mínimas loculaciones. La presencia de loculaciones o de líquido pleural purulento disminuye la posibilidad de éxito con esta técnica^{87,88}. Si se demuestra la presencia de septos o loculaciones por técnicas de imagen, se debería asociar tratamiento fibrinolítico.

El drenaje pleural mediante catéteres percutáneos guiados por técnicas de imagen ha acumulado una importante experiencia en la actualidad y ofrece las ventajas de una mayor tolerancia por parte de paciente, al colocar catéteres más

finos, y la garantía de una correcta colocación. Diferentes series estiman una tasa de éxitos del 77% y tendría las mismas indicaciones que el tubo de toracostomía^{64,71,74-77,89}.

El uso de fibrinolíticos asociados al drenaje pleural, también ha adquirido un importante interés en la últimas dos décadas. Se utiliza como tratamiento adyuvante del tubo de drenaje pleural cuando se demuestran septos o loculaciones por técnicas de imagen. Tanto la estreptokinasa como la urokinasa han demostrado efectividad en esta indicación. Se recomienda valorar la respuesta a este tratamiento en 48 ó 72 h para decidir la necesidad de técnicas terapéuticas más agresivas y no retrasar el tratamiento quirúrgico de los pacientes en caso de fracaso del tubo de drenaje y fibrinolíticos⁹⁰⁻¹⁰¹.

Muchos pacientes afectados de empiema en fase fibrinopurulenta tardía o en fase organizativa, requerirán tratamiento quirúrgico de drenaje pleural, debido a la presencia de líquido pleural viscoso o múltiples loculaciones. Es importante detectar aquellos pacientes que precisarán tratamiento quirúrgico ya que la demora del drenaje pleural comporta mayores secuelas pleurales, mayor duración de la clínica y de la estancia hospitalaria, así como una mayor morbilidad y mortalidad.

La liberación de adherencias mediante toracoscopia sería la técnica de elección tras el fracaso del tubo de drenaje y la instilación de fibrinolíticos, en pacientes en fase fibrinopurulenta. Se reconoce una tasa de éxitos del 80%. Es una técnica quirúrgica menos invasiva que la decorticación pleural, pero tiene menores

probabilidades de éxito en pacientes en fase fibrinopurulenta tardía o en fase organizativa¹⁰²⁻¹⁰⁷.

La decorticación pleural es una intervención quirúrgica mayor, con una tasa de éxitos superior al 90%, que se reserva para pacientes en los que han fracasado técnicas menos invasivas. Generalmente, se trata de pacientes con empiemas en fase fibrinopurulenta tardía con múltiples loculaciones o en fase organizativa^{36,43,86,104,108-110}.

En conclusión, los principios que rigen el estudio y tratamiento de los derrames pleurales paraneumónicos se basan en un reconocimiento precoz de la infección pleural, en el inicio de un tratamiento antibiótico sistémico adecuado, y en la instauración de un drenaje pleural efectivo cuando esté indicado, para disminuir la morbilidad y mortalidad de esta patología.

2. LA INFLAMACIÓN PLEURAL

• EL PAPEL DEL NEUTRÓFILO EN LOS DERRAMES PLEURALES BACTERIANOS

Los leucocitos polimorfonucleares tienen un papel relevante en la respuesta del organismo ante una infección bacteriana¹¹¹.

La función principal del neutrófilo es la eliminación de microorganismos y detritus celulares a nivel local. Para ello requiere una rápida transición desde el espacio intravascular hacia los tejidos dañados. El mecanismo inicial consiste en la aparición de moléculas, inducidas por mediadores inflamatorios, que permiten la adhesión y la posterior extravasación de los neutrófilos desde el torrente vascular hacia los tejidos¹¹². Estas moléculas, denominadas moléculas de adhesión, pertenecen a tres familias diferenciadas, las selectinas, las integrinas y la superfamilia de las inmunoglobulinas¹¹³.

La interacción entre los leucocitos y el endotelio vascular se produce por la expresión de L-selectina por el neutrófilo y E- y P-selectina por las células endoteliales. Esta interacción inicial se produce en respuesta a mediadores inflamatorios liberados por el endotelio como el factor activador plaquetar (PAF), leucotrieno B₄, y citoquinas proinflamatorias entre las que destaca la IL-8^{112,113}.

La adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales está mediada por la interacción de integrinas leucocitarias de la subfamilia $\beta 2$ (CD11a/CD18 o LFA-1, CD11b/CD18 o Mac-1, CD11c/CD18 o gp 150.95) y un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas, ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular-1). Las $\beta 2$ integrinas no interaccionan con sus ligandos si los neutrófilos no están estimulados. Estas moléculas se activan en respuesta a factores quimiotácticos (PAF, IL-8, complemento (C5a)), citoquinas (TNF- α) y productos bacterianos (lipopolisacáridos). Los neutrófilos integran las señales de los ligandos entre las integrinas y las moléculas de adhesión intercelulares, así como otras señales dependientes de citoquinas proinflamatorias y factores quimiotácticos, iniciando una serie de reacciones intracelulares que permitirán la migración y extravasación leucocitaria, y la degranulación y la actividad microbicida en los tejidos dañados^{112,113}.

Los neutrófilos migran en los tejidos gracias a interacciones de las integrinas ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$) con diferentes elementos de la matriz extracelular, siguiendo un gradiente de factores quimiotácticos inmobilizados en la matriz y producidos por las bacterias, por la destrucción celular o por células estromales y epiteliales de los tejidos inflamados¹¹².

La agresión bacteriana del espacio pleural provoca la activación de las células mesoteliales, la liberación de mediadores inflamatorios, y la invasión de la cavidad pleural por leucocitos polimorfonucleares. Las células mesoteliales inician la

respuesta inflamatoria y orquestan el reclutamiento y la migración de los neutrófilos hacia el espacio pleural^{7,8}.

Las células mesoteliales expresan moléculas de adhesión, ICAM-1 y VCAM-1 (molécula de adhesión vascular-1)^{8,114-116}. La expresión de estas moléculas favorece la adhesión de los neutrófilos (ICAM-1) y monocitos (VCAM-1) al mesotelio pleural y se han implicado en la migración de estas células hacia el espacio pleural¹¹⁴. Además, las células mesoteliales liberan citoquinas que favorecen el reclutamiento de leucocitos del espacio vascular hacia el espacio pleural. La respuesta inflamatoria se expandirá y perpetuará a partir de las células inflamatorias reclutadas hacia el espacio pleural⁸.

La actividad microbicida de los neutrófilos tiene lugar a través de la generación de radicales tóxicos del oxígeno, mediante la activación del complejo NADPH oxidasa, y de la liberación de enzimas contenidos en los gránulos^{112,117,118}.

La NADPH oxidasa es un complejo enzimático que incluye proteínas citosólicas y de membrana, capaz de generar aniones superóxido (O_2^-). Estos aniones se combinan con hidrógeno para formar H_2O_2 que posee una importante actividad oxidativa. La actividad de la NADPH oxidasa se amplifica por la acción de una enzima contenida en los gránulos azurófilos, la mieloperoxidasa. Esta enzima utiliza la H_2O_2 para producir oxidantes halogenados que también poseen una importante actividad oxidativa. El oxidante halogenado predominante es el HOCl dada la elevada concentración del ión Cl^- en el espacio extracelular^{112,117,119-123}.

Los gránulos de los neutrófilos contienen hasta 20 enzimas diferentes capaces de lisar microorganismos y componentes de la matriz extracelular. Entre ellas destacan enzimas pertenecientes a la familia de las serinoproteasas, como la elastasa, y a la familia de las metaloproteinasas, como la MMP-8 y MMP-9, que se comentarán más adelante^{112,117,122}.

La elastasa polimorfonuclear es una proteína contenida en los gránulos azurófilos del neutrófilo con actividad proteolítica inespecífica sobre diferentes componentes de la matriz extracelular como la elastina, laminina, fibronectina, vitronectina y colágenos tipo IV¹¹². Se ha implicado en diferentes patologías pulmonares como el enfisema, bronquitis crónica, fibrosis quística, e incluso en el síndrome de distrés respiratorio del adulto¹²⁴⁻¹²⁶.

El reclutamiento de leucocitos hacia el espacio pleural y su actividad microbicida debería traducirse en la presencia de enzimas derivados de los gránulos del neutrófilo en el líquido pleural de los derrames bacterianos. Así, en estudios realizados por nuestro grupo, se han observado niveles elevados de elastasa polimorfonuclear y mieloperoxidasa en los derrames pleurales infecciosos, y ambos enzimas han demostrado utilidad en la diferenciación entre derrames pleurales infecciosos y no infecciosos. Estos resultados confirman el severo componente inflamatorio de los derrames pleurales infecciosos y traducen la importante actividad neutrofílica en este grupo de derrames pleurales^{60,127-129}.

La mieloperoxidasa ha demostrado también utilidad en la diferenciación de derrames pleurales paraneumónicos complicados y no complicados. En una serie

de 70 derrames pleurales paraneumónicos, la determinación de mieloperoxidasa en el líquido pleural, con un punto de corte de 3000 $\mu\text{g/L}$, diferenció los derrames paraneumónicos complicados no purulentos de los paraneumónicos no complicados con una sensibilidad del 87.5%, una especificidad del 85% y un área bajo la curva ROC de 0.91. Este estudio demuestra que la determinación de mieloperoxidasa en el líquido pleural es un buen discriminante entre los derrames pleurales paraneumónicos complicados y no complicados, y podría ayudar en el diagnóstico y en la toma de decisiones terapéuticas en este grupo de derrames pleurales¹³⁰.

Así mismo, la elastasa también podría ser un parámetro útil en la diferenciación de los derrames pleurales complicados respecto a los no complicados. En un trabajo de nuestro grupo, no publicado, sobre 125 derrames pleurales bacterianos, una cifra de elastasa en líquido pleural superior a 3500 $\mu\text{g/L}$, demostró ser un marcador precoz de los derrames pleurales paraneumónicos complicados. Además, la elastasa polimorfonuclear detectó de forma precoz 13 de 18 derrames que se diagnosticaron de forma tardía como complicados cuando los resultados microbiológicos demostraron crecimiento bacteriano, y que probablemente se habrían beneficiado de una actitud terapéutica precoz más agresiva.

- **LAS CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS**

La activación de las células mesoteliales, en respuesta a una agresión bacteriana, provoca la liberación de unas proteínas de bajo peso molecular denominadas citoquinas. Estas proteínas tienen un papel fundamental como mediadores de la respuesta inflamatoria local o sistémica²⁸⁻³⁰. En la respuesta inflamatoria pleural destacan determinadas citoquinas como la interleuquina-1 (IL-1), interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-8 (IL-8) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).

La IL-8 es una proteína perteneciente a la familia de las citoquinas quimiotácticas C-X-C, producida por diferentes tipos celulares como las células mesoteliales, células endoteliales, fibroblastos, neutrófilos, linfocitos y macrófagos alveolares, en respuesta a diferentes estímulos inflamatorios como los productos bacterianos (lipopolisacárido), la IL-1 β y el TNF- α . La IL-8 es un potente factor quimiotáctico de los neutrófilos, que además, induce su activación y la expresión de moléculas de adhesión en la membrana de los neutrófilos^{7,8,28-30,131-140}.

Diferentes estudios publicados hasta la actualidad han investigado el papel de la IL-8 en la patogenia de los derrames pleurales. Estos estudios han demostrado que, dentro del grupo de derrames pleurales exudados, los derrames pleurales infecciosos presentan niveles superiores de IL-8 respecto a los derrames pleurales no infecciosos. Además, entre los derrames pleurales infecciosos, losempiemas presentan cifras significativamente superiores de IL-8 respecto al resto, lo que está

en consonancia con la masiva infiltración neutrofílica en este grupo de derrames^{134,135,137,141}.

De la misma manera, estudios sobre la respuesta inflamatoria pleural secundaria a la pleurodesis química con tetraciclinas o talco han puesto de manifiesto una importante producción de IL-8 en líquido pleural durante las primeras 24 horas después de la pleurodesis y una asociación positiva de IL-8 con la cifra de neutrófilos en líquido pleural, lo que refuerza el papel quimiotáctico de esta citoquina sobre los neutrófilos¹⁴²⁻¹⁴⁵.

Sin embargo, a pesar de que la quimiotaxis sobre el neutrófilo es la principal función de la IL-8, existen evidencias de que no es el único factor quimiotáctico del neutrófilo en el espacio pleural. Algunos estudios han demostrado que el tratamiento con anticuerpos anti-IL-8 en empiemas disminuye la quimiotaxis neutrofílica, pero no completamente^{134,135}. Además, si IL-8 fuera el factor quimiotáctico determinante del influjo de neutrófilos hacia el espacio pleural, esperaríamos encontrar una intensa correlación positiva entre IL-8 y la cifra de neutrófilos en los derrames pleurales infecciosos, sin embargo algunos estudios no observan esta relación^{133,137}. Por estos motivos se considera que podrían existir otros factores que influyan sobre la quimiotaxis neutrofílica, o bien que la cinética de producción y eliminación de IL-8 y la migración de neutrófilos hacia el espacio pleural influyen en la ausencia de correlación observada.

Se ha sugerido una producción local compartimentalizada de IL-8 a nivel pleural, en los derrames pleurales exudados, por el hecho de que no existe

asociación entre las concentraciones pleurales y plasmáticas de IL-8 y se observan importantes diferencias entre los niveles de IL-8 en plasma y líquido pleural en este grupo de derrames¹³⁷.

También se ha observado una asociación significativa en el líquido pleural, fundamentalmente en empiemas, entre las cifras de IL-8 y elastasa polimorfonuclear y mieloperoxidasa, lo que sugiere un papel importante de la IL-8 en la liberación de estas enzimas y por tanto en la degranulación del neutrófilo¹³⁷.

La IL-1 es una citoquina presente en el organismo en dos formas diferenciadas, IL-1 α e IL-1 β , que comparten idénticos orígenes celulares y actividades biológicas. IL-1 β es una proteína extracelular o libre y puede ser detectada en líquidos biológicos, mientras que IL-1 α permanece ligada a las membrana celulares. Fisiológicamente se observa producción de IL-1 en los queratinocitos y en células gliales, pero diferentes células expresan IL-1 en respuesta a estímulos inflamatorios como los monocitos/macrófagos, neutrófilos, linfocitos, células endoteliales, fibroblastos y las células mesoteliales¹⁴⁶⁻¹⁵¹.

La IL-1 es una citoquina inmunomoduladora y mediadora de la respuesta inflamatoria. Actúa de forma sinérgica con otras citoquinas, como el TNF- α , promoviendo la proliferación de linfocitos T y B, aumenta la proliferación celular, activa las células endoteliales, actúa como pirógeno endógeno, y en definitiva, constituye un importante inductor de la respuesta inflamatoria en fase aguda^{146,147}.

Respecto a la patogenia de los derrames pleurales infecciosos, se considera que la IL-1 tendría un papel importante en la respuesta inflamatoria aguda de los

empiemas. En este sentido, se han observado concentraciones significativamente superiores de IL-1 en los empiemas respecto a exudados de otras etiologías y a los trasudados¹⁵¹.

El TNF- α es una citoquina proinflamatoria producida fundamentalmente por los monocitos y por los macrófagos tisulares. Existen otras células capaces de producir TNF- α en respuesta a estímulos inflamatorios, como las células mesoteliales, células endoteliales, linfocitos y neutrófilos. El TNF- α actúa sobre diferentes tipos celulares mediante una amplia variedad de funciones relativas a la expresión de factores de crecimiento, citoquinas, receptores celulares de superficie o proteínas de fase aguda. Posee un importante papel en la defensa del organismo frente a las infecciones y el crecimiento tumoral. En los procesos infecciosos es liberada de forma precoz y activa los linfocitos T, neutrófilos y estimula la producción de otras citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-6 e IL-8^{152,153}.

En los derrames pleurales, se han observado cifras superiores de TNF- α en los exudados frente a los trasudados. Entre los derrames pleurales exudados, los niveles más elevados de TNF- α se han evidenciado en los exudados tuberculosos y en los empiemas. El TNF- α es, además, un parámetro discriminante entre los exudados linfocitarios de origen tuberculoso y neoplásico. Los linfocitos T activados y macrófagos presentes en los derrames pleurales tuberculosos serían los responsables de la producción local de TNF- α en este grupo de exudados^{140,154-158}.

La IL-6 es otra de las citoquinas proinflamatorias que aparecen de forma precoz en la respuesta inflamatoria aguda. Está producida por los linfocitos T,

monocitos/macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, hepatocitos y también por las células mesoteliales. Estimula la diferenciación de linfocitos T y B, la maduración de células hematopoyéticas y tiene un papel fundamental en la producción de proteínas de fase aguda por los hepatocitos^{30,159-160}.

Los derrames pleurales exudados presentan concentraciones superiores de IL-6 respecto a los trasudados¹⁶¹⁻¹⁶⁴. Entre los derrames pleurales exudados, se han observado niveles elevados de IL-6 en los exudados tuberculosos, que adquirirían diferencias significativas frente a los exudados neoplásicos^{161,162,164}. De nuevo, los linfocitos T activados y macrófagos presentes en los derrames pleurales tuberculosos serían los responsables de la producción local de IL-6 en este grupo de exudados. Un estudio ha demostrado, además, la presencia de concentraciones elevadas de IL-6 en los empiemas, que traduciría la intensa respuesta inflamatoria de este grupo de derrames¹⁶¹.

- **EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN EL LÍQUIDO PLEURAL. ASOCIACIÓN CON LOS MARCADORES INFLAMATORIOS**

Desde un punto de vista fisiopatológico, la evolución de los derrames pleurales paraneumónicos se ha dividido en tres fases que aparecerían de forma gradual en el tiempo, la fase exudativa, la fase fibrinopurulenta y la fase organizativa. La fase fibrinopurulenta se caracteriza por la invasión bacteriana del líquido pleural, por una intensa infiltración neutrofílica, y por el depósito de fibrina en la superficie pleural visceral y parietal. Este depósito de fibrina contribuirá a la formación de adherencias, septos y loculaciones entre la dos hojas pleurales, que evitarán la extensión de la infección pero que dificultarán la resolución del derrame pleural. La posterior proliferación de fibroblastos sobre los puentes de fibrina conducirá a la formación de una membrana inelástica pleural a modo de coraza que comportará secuelas anatómicas y funcionales pleuro-pulmonares^{1,24,25,31}.

La formación de fibrina depende del sistema de la coagulación, que a través de la formación de trombina permite convertir el fibrinógeno en polímeros de fibrina. Este sistema está controlado por el sistema de la fibrinólisis, que regula la degradación de fibrina.

El sistema de la fibrinólisis se basa en la activación de un precursor inactivo, el plasminógeno, transformándolo en plasmina, que actúa degradando los polímeros de fibrina en fragmentos de bajo peso molecular denominados productos de degradación del fibrinógeno.

El sistema de la fibrinólisis está controlado por activadores e inhibidores específicos. Los activadores del plasminógeno, activador tisular del plasminógeno (t-PA) y uroquinasa activador del plasminógeno (u-PA), estimulan la activación de plasminógeno en plasmina, favoreciendo por tanto la fibrinólisis. Por el contrario, los inhibidores de los activadores del plasminógeno tipo 1 y 2 (PAI-1 y PAI-2) bloquean la acción de los activadores del plasminógeno, inhibiendo la fibrinólisis.

Las alteraciones, a nivel local, de las vías de formación y degradación de la fibrina en el líquido pleural podrían explicar el depósito de fibrina en los derrames pleurales infecciosos^{165,166}.

En los derrames pleurales exudados se han observado niveles superiores de PAI-1 y PAI-2 frente a los derrames pleurales trasudados^{165,166}. Los niveles de inhibidores de activadores del plasminógeno (PAIs) estarían más elevados en aquellos derrames pleurales de etiología inflamatoria o infecciosa¹⁶⁵. Estudios realizados por nuestro grupo han demostrado que los niveles de PAIs en los derrames pleurales infecciosos adquieren valores significativamente superiores frente a los exudados de origen neoplásico¹⁶⁷.

Algunos estudios han demostrado la presencia de concentraciones superiores de activadores del plasminógeno, en los derrames pleurales neoplásicos, que apoyaría una activación de la fibrinólisis y podría explicar la ausencia de depósito de fibrina en este grupo de derrames pleurales^{166,168,169}. Los estudios realizados por nuestro grupo han puesto de manifiesto que los derrames pleurales neoplásicos presentan niveles superiores de t-PA frente a los derrames pleurales infecciosos, y

que dentro de los derrames de etiología infecciosa, se detectan valores significativamente inferiores de t-PA en los empiemas frente a los exudados tuberculosos¹⁶⁷.

La presencia de concentraciones elevadas de PAIs y disminuidas de activadores del plasminógeno (t-PA), en los derrames pleurales infecciosos, sobre todo en los empiemas, sugiere una inhibición de la fibrinólisis que favorecería el depósito de fibrina en el espacio pleural.

Los estudios sobre la respuesta inflamatoria pleural asociada a la pleurodesis química de derrames pleurales neoplásicos, también nos orientan en este sentido. Los derrames pleurales neoplásicos se caracterizan por la ausencia de septos y loculaciones, incluso aquellos de carácter serohemático. La instilación de agentes esclerosantes provoca una intensa respuesta inflamatoria con depósito de fibrina en el espacio pleural. Se ha observado que en aquellos derrames pleurales en los que la pleurodesis es eficaz, existe un aumento de la actividad procoagulante, así como una inhibición de la fibrinólisis expresada por un aumento de los PAIs y por una disminución de los productos de degradación de la fibrina. Por el contrario, en aquellos derrames pleurales en los que la pleurodesis es ineficaz, se observa una persistencia de la actividad fibrinolítica, representada por niveles elevados de productos de degradación de la fibrina, a pesar de aumentar los PAIs¹⁷⁰⁻¹⁷².

Se considera que las células mesoteliales tienen un papel importante en la formación y degradación de fibrina en el espacio pleural. Estudios in vitro han demostrado que las células mesoteliales expresan actividad procoagulante y

liberan importantes cantidades de PAI-1, y en menor medida de PAI-2. La estimulación de estas células por TNF- α y el factor transformante de crecimiento- β (TGF- β) provoca un importante aumento de la liberación de PAI-1, y en menor medida de PAI-2. Por lo tanto, las células mesoteliales son capaces de iniciar y potenciar la formación de fibrina, y de inhibir su degradación mediante la liberación de PAIs en respuesta a mediadores inflamatorios¹⁷³.

Todos los resultados expuestos, basados en estudios de respuesta inflamatoria pleural y en el estudio de los derrames pleurales exudados, abogan por una inhibición de la fibrinólisis como responsable del depósito de fibrina en el espacio pleural.

La asociación entre el sistema de la fibrinólisis y los marcadores de respuesta inflamatoria y de actividad neutrofílica en líquido pleural ha sido poco estudiados. Los estudios realizados por nuestro grupo han puesto de manifiesto que en los derrames pleurales infecciosos, sobre todo en los empiemas, existe una asociación positiva de elastasa polimorfonuclear y TNF- α con PAI-1 y PAI-2, así como una asociación negativa de IL-8 y elastasa polimorfonuclear con el t-PA. De este modo, parece que elastasa y TNF- α modularían una vía de hipofibrinólisis, representada por los PAIs, que estaría aumentada o potenciada en los derrames pleurales infecciosos. Así mismo, elastasa e IL-8 modularían una vía de hiperfibrinólisis, representada por el t-PA, que estaría disminuida o inhibida en los derrames pleurales infecciosos, sobre todo en los empiemas. Estos resultados indican que, en los derrames pleurales infecciosos, la acción de los marcadores inflamatorios y

de actividad neutrofílica actúan inhibiendo las vías de degradación de fibrina y por tanto favoreciendo su depósito en el espacio pleural¹⁶⁷.

- **LAS METALOPROTEINASAS (MMPs) Y SUS INHIBIDORES TISULARES (TIMPs)**

Las enzimas proteolíticas responsables de la degradación de la matriz extracelular (MEC) también han demostrado tener un papel importante en los procesos inflamatorios.

La MEC está formada por un esqueleto de proteínas fibrilares (colágeno y elastina) en las cuales se ensamblan una variedad de glicoproteínas (laminina, fibronectina,...), carbohidratos y proteoglicanos, cuya diversidad y distribución permite una enorme variedad de tejidos, adaptados estructural y funcionalmente a un entorno celular concreto. Estos elementos no son un mero soporte de la células, si no que participan activamente en la adhesión y migración celular y en las interacciones célula-célula. En los procesos inflamatorios ofrecen sitios de unión a las células infiltrantes y actúan como ligandos de las moléculas proinflamatorias¹⁷⁴. En el esqueleto de la MEC encontramos diferentes elementos celulares entre los que destacan los fibroblastos, macrófagos y células endoteliales. Los fibroblastos son las células encargadas del mantenimiento del tejido conectivo y, en respuesta a una noxa inflamatoria, proliferan y son responsables de la transformación fibrótica del tejido lesionado¹⁷⁴. El tránsito de células desde el sistema circulatorio hasta el tejido inflamado requerirá la participación activa de las células endoteliales. Además, diferentes estímulos liberados en el foco inflamatorio favorecerán la proliferación endotelial y la formación de neovasos o angiogénesis,

que observamos en los tejidos inflamados¹⁷⁵. Los macrófagos actúan en el remodelado de la MEC liberando citoquinas que actúan sobre otros elementos celulares, además de enzimas proteolíticos y radicales tóxicos que intervienen en la degradación del tejido conectivo¹⁷⁶.

La MEC actúa, por tanto, como elemento de sostén y transporte, y su remodelación está implicada en la regeneración tisular y en la migración celular¹⁷⁷.

Las células mesoteliales que tapizan la superficie pleural están en íntimo contacto con la matriz extracelular (submesotelio y capa de tejido conectivo denso). Su localización privilegiada les confiere un papel fundamental en la respuesta inflamatoria del organismo frente a la lesión de las serosas, así como en el proceso de remodelación que se inicia posteriormente. Durante el proceso de reparación, las células mesoteliales adoptan una morfología cuboidal "reactiva", que revierte a una morfología escamosa cuando desaparece el estímulo inflamatorio. Además, durante este proceso de remodelación y reparación, las células mesoteliales tienen la capacidad de actuar sobre el sistema de la fibrinólisis y participar en el depósito de fibrina, de sintetizar componentes de la matriz, y de participar en la degradación de la matriz extracelular. De este modo, cuando la lesión de las células mesoteliales es muy severa, estos procesos podrían intensificarse aumentando la posibilidad de inducir fibrosis, con las consecuencias fisiopatológicas que ello conllevará^{178,179}.

Las metaloproteinasas (MMPs) son una familia de proteasas de al menos 21 miembros, que degradan prácticamente todos los componentes proteicos de la

MEC. Se caracterizan por compartir las siguientes características: a) presentan una homología estructural, b) un dominio catalítico que contiene átomos de zinc, c) son secretadas en forma de zimógenos inactivos, y son activadas por la lisis de una secuencia pro-peptídica y por reacciones autolíticas posteriores, d) son inhibidas por los inhibidores tisulares específicos de metaloproteinasas (TIMPs)^{177,180-186}.

Se han descrito cuatro subgrupos atendiendo a su estructura y especificidad de sustrato:

- a) COLAGENASAS. Degradan preferentemente colágenos fibrilares tipo I, II y III. A este subgrupo pertenecen la MMP-1 o colagenasa intersticial, la MMP-8 o colagenasa del neutrófilo y la MMP-13. La MMP-1 es producida por diferentes tipos celulares como los fibroblastos, células endoteliales o las células mesoteliales. La MMP-8 está almacenada en los gránulos del neutrófilo.
- b) GELATINASAS. Degradan gelatina, fibronectina, colágenos de la membrana basal o formadores de red (tipo IV), y en menor medida colágenos fibrilares (tipo I y V). A este subgrupo pertenecen la MMP-2 o gelatinasa A y la MMP-9 o gelatinasa B. Ambas son liberadas por diferentes elementos celulares, incluidas las células mesoteliales. La MMP-9, además, se almacena en los gránulos del neutrófilo.
- c) ESTROMALISINAS. Degradan glicoproteínas y proteoglicanos. A este subgrupo pertenecen la MMP-3, MMP-7 o matrilisina, MMP-10 y MMP-11.
- d) METALOPROTEINASAS TRANSMEMBRANA (MT-MMP). Se caracterizan por presentar una secuencia de aminoácidos que permite su inserción en la

membrana celular. Tienen la capacidad de activar a otras metaloproteinasas y degradan algunos componentes de la MEC. Se han reconocido cinco miembros de este subgrupo (MT-MMP1-5).

- e) Otras metaloproteinasas no pueden incluirse en ninguno de estos subgrupos. La MMP-12, metaloelastasa o macrófago elastasa, degrada colágeno tipo IV y elastina, y es secretada por los macrófagos.

La expresión de la actividad de las MMPs está controlada a tres niveles: 1) transcripción genética, 2) activación del proenzima (pro-MMP), 3) inhibición por inhibidores tisulares específicos¹⁷⁷.

En la mayoría de células, los genes que codifican las diferentes metaloproteinasas no se expresan de forma constitutiva, pero pueden ser inducidos por diferentes agentes como factores de crecimiento, oncogenes y citoquinas¹⁸⁵.

Las MMPs son secretadas en forma de proenzimas y activadas a nivel pericelular por la lisis de una secuencia propeptídica, a excepción de la MMP-8 que es secretada en forma activa. La plasmina, metaloproteinasas transmembrana, catepsina G y otras proteinasas, se han implicado en la activación de las metaloproteinasas^{177,182,187,188}.

La actividad de las MMPs está controlada por inhibidores tisulares específicos denominados TIMPs de los que se han descrito cuatro isoformas (TIMP1-4). TIMP-1 y TIMP-2 tienen la capacidad de inhibir a todas las MMPs. Los TIMPs actúan

mediante la unión no covalente y reversible con la MMP activa, en relación 1:1^{189,190}.

Las MMPs tienen un papel importante en numerosos procesos fisiológicos del organismo, como en la embriogénesis de órganos y tejidos, la involución uterina en el periodo postparto, la ovulación y menstruación, la cicatrización de heridas, o la remodelación ósea y de la placa de crecimiento epifisaria¹⁸⁰.

La alteración del equilibrio entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares se ha implicado en diferentes procesos patológicos como la progresión e invasión tumoral, infección, o procesos inflamatorios crónicos^{177,180,183,191}.

Existen numerosas referencias en la literatura acerca del papel de las metaloproteinasas en la progresión e invasión tumoral^{177,192-197}. Después de la transformación neoplásica, las interacciones entre las células tumorales y el huésped promueven una serie de procesos moleculares y celulares coordinados y secuenciados, que definirán la diseminación metastásica. Estos procesos incluyen el crecimiento tumoral primario, la formación de neovasos, la ruptura de la membrana basal e invasión del estroma, la invasión vascular y posterior extravasación a distancia, y la migración y crecimiento en el lugar de metástasis. Las células tumorales expresan MMPs y además, inducen la expresión de MMPs por las células estromales circundantes. Inicialmente se relacionó a las MMPs con la invasión tumoral local, con la invasión y extravasación vascular y con la migración celular en el lugar de metástasis. Actualmente se considera que, además, las MMPs contribuyen a la creación y mantenimiento de un microambiente que favorece el

crecimiento y la neovascularización tumoral^{193,198}. También se ha relacionado la expresión de MMPs con el estadio tumoral y con el pronóstico de algunos procesos neoformativos¹⁹⁹⁻²⁰¹. Se están ensayando diferentes fármacos inhibidores de MMPs, asociados o no a tratamiento quimioterápico, para evaluar la respuesta de diferentes tipos de tumores al bloqueo de la acción de MMPs^{202,203}.

Las MMPs se han implicado en la patogenia de los procesos infecciosos y la sepsis²⁰⁴⁻²⁰⁸. Los leucocitos circulantes responden a las bacterias y a los productos bacterianos con la liberación de citoquinas, factores quimiotácticos, enzimas proteolíticas y radicales tóxicos que juegan un papel fundamental en la hipotensión y en el fracaso multiorgánico que caracteriza la sepsis. Pugin et al observaron en muestras sanguíneas de voluntarios sanos, que los neutrófilos secretaban MMP-9 en respuesta a estímulos inflamatorios como IL-8, TNF- α y lipopolisacárido (LPS) y como la administración de endotoxina endovenosa en voluntarios sanos también provocaba un aumento rápido de los niveles plasmáticos de MMP-9²⁰⁹. Leppert et al observaron niveles elevados de MMP-8 y MMP-9 en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) de niños afectados de meningitis bacteriana, y una asociación positiva de MMP-9 con los niveles de TNF- α en LCR. Constataron, además una expresión constitutiva de TIMP-1 en LCR. Las metaloproteinasas se han relacionado con la ruptura de la barrera hematoencefálica y con la extravasación de células inflamatorias en el sistema nervioso central (SNC). En este grupo de pacientes, la MMP-9 se relacionó con secuelas neurológicas en forma de déficit de audición y epilepsia secundaria, por lo que esta MMP se ha implicado, no sólo en la

respuesta inflamatoria secundaria a la infección del SNC, sino también en el daño neuronal asociado²¹⁰. Otros estudios han objetivado niveles elevados de MMP-8 y MMP-9 en líquido amniótico en pacientes con infección intrauterina y las han relacionado con la ruptura prematura de membranas²¹¹⁻²¹⁴. Todos estos estudios implican a las MMPs en la respuesta inflamatoria secundaria a las infecciones bacterianas y les confieren un posible papel lesivo en las mismas.

Las MMPs también han sido ampliamente estudiadas en los procesos inflamatorios crónicos. Contribuyen a la destrucción ósea y del cartílago en las artritis inflamatorias e infecciosas²¹⁵⁻²¹⁷, al remodelado y destrucción tisular en la enfermedad inflamatoria intestinal^{218,219}, y a la desmielinización y lesión neuronal en las enfermedades desmielinizantes del SNC^{220,221}, entre otras.

Así mismo, las MMPs podrían tener un papel relevante en determinadas patologías pulmonares^{222,223}. Se han observado niveles elevados de MMP-8 en muestras de lavado broncoalveolar de pacientes afectados de bronquiectasias, y por ello, se la ha relacionado con la actividad proteolítica y los cambios destructivos característicos de esta patología^{224,225}. MMP-1, MMP-2, MMP-8 y MMP-9 se han implicado en la patogenia de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y enfisema, participando en el proceso inflamatorio crónico, en relación a su liberación por macrófagos y neutrófilos, y contribuyendo a la remodelación y disrupción de la membrana basal de las vías respiratorias superiores e inferiores²²⁶. También se han observado niveles elevados de MMP-1, MMP-2, MMP-9 y TIMP-2 en muestras de biopsias pulmonares de pacientes afectados de enfermedades

intersiticiales pulmonares. MMP-2 se ha relacionado con la bronquiolitis obliterante con neumonía organizativa, mientras que la MMP-9 y TIMP-2 se han relacionado con la fibrosis pulmonar idiopática. Las diferencias en la expresión de estas MMPs y sus inhibidores tendrían importancia en la producción, depósito y proteólisis de la MEC y en la reversibilidad o irreversibilidad de las lesiones estructurales pulmonares asociadas a estas patologías^{227,228}. MMP-9 y TIMP-1 se han implicado en la patogenia del síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), al observar concentraciones elevadas de estas enzimas en muestras de lavado broncoalveolar. La alteración del balance entre esta MMP y su inhibidor podría contribuir a la presencia de cambios en la arquitectura tisular y a la lesión pulmonar, sobre todo en aquellos casos de SDRA prolongados²²⁹.

Parece claro, por tanto, que las MMPs y sus inhibidores tisulares están implicados, no sólo en procesos fisiológicos del organismo, sino también en numerosas patologías. En este contexto cabe preguntarse, ¿cuál es el papel de las MMPs y TIMPs en la patogenia de los derrames pleurales?. Existen pocas referencias en la literatura en este sentido.

Hurewitz et al, demostraron la presencia de MMP-2 y MMP-9 en líquidos pleurales de diferentes etiologías. No hallaron diferencias significativas en los valores de estas enzimas entre los grupos de estudio, por lo que consideraron que su expresión en el espacio pleural era una característica constitutiva de las células mesoteliales residentes²³⁰. Eickelberg et al, observaron una expresión constante de MMP-1, MMP-2 y TIMP-1 en líquidos pleurales de diferentes etiologías, sin

evidenciar diferencias entre los grupos de estudio, por lo que también apuntaron su expresión constitutiva en el espacio pleural. Además, observaron que la expresión de MMP-9 estaba aumentada de forma significativa en los DP exudados de origen infeccioso y neoplásico, sin hallar diferencias entre ellos. En los DP infecciosos detectaron también pequeñas cantidades de MMP-8 y TIMP-2²³¹. Ambos autores concluyen que las MMPs y TIMP-1 estarían implicadas en la fisiología pleural, preservando la homeostasis y la integridad de la superficie pleural, evitando el desarrollo de adhesiones.

En esta misma línea, los estudios in vitro de Marshall, demostraron que las células mesoteliales expresaban MMP-2 y TIMP de forma constitutiva. La estimulación celular con forbol miristato acetato (PMA) provocaba un moderado aumento en la expresión de TIMP, así como una intensa expresión de MMP-1 y MMP-9, pero no modificaba la expresión de MMP-2. La estimulación con LPS no demostró modificaciones en la expresión de MMPs y TIMP¹⁷⁹.

Hoheisel et al, observaron concentraciones elevadas de MMP-1, MMP-2, MMP-8 y MMP-9 en líquidos pleurales tuberculosos, comparados con trasudados secundarios a insuficiencia cardiaca, y relacionaron a estas MMPs con la presencia de fibrosis en la pleuritis tuberculosa²³².

Otros estudios han evaluado el papel de la tetraciclina y doxiciclina como inhibidores de metaloproteinasas en líquido pleural. Si consideramos que las MMPs contribuirían al mantenimiento de la integridad del espacio pleural, evitando la aparición de adherencias y fibrosis, los autores apuntan la posibilidad de que la

inhibición de estas enzimas podría tener importancia en el mecanismo de pleurodesis secundaria a la instilación de estos fármacos en el espacio pleural²³³.

A raíz de todos estos estudios, no queda claro si el papel de las metaloproteinasas en la fisiopatología de los derrames pleurales se reduciría a mantener la homeostasis del espacio pleural, evitando la aparición de adherencias y fibrosis, en base a su expresión constitutiva, o bien podrían participar en los mecanismos inflamatorios y de alteración de la fibrinólisis implicados en la patogenia de los derrames pleurales exudados.

- **ASOCIACIÓN DE LAS MMPs Y TIMPs CON EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS Y LOS MARCADORES INFLAMATORIOS**

Como hemos comentado previamente, en los derrames pleurales infecciosos, sobre todo en losempiemas, existiría una intensa respuesta inflamatoria y de inhibición de la fibrinolisis que favorecería el depósito de fibrina y la aparición de complicaciones pleurales en forma de septos y loculaciones. En este sentido, ¿qué relación tendrían las metaloproteinasas y sus inhibidores con este entorno inflamatorio?. No existen referencias previas en la literatura acerca de la asociación entre el sistema de las proteasas y antiproteasas responsable de la degradación de la matriz extracelular, con los marcadores de actividad inflamatoria neutrofílica y el sistema de la fibrinolisis en los derrames pleurales.

Los genes que codifican las diferentes metaloproteinasas no se expresan, en general, de forma constitutiva, pero pueden ser inducidos por diferentes agentes incluidas las citoquinas.

Numerosos estudios experimentales han estudiado la influencia de las citoquinas proinflamatorias en la expresión de MMPs y TIMPs en diferentes estirpes celulares^{205,206,208,209,234-239}.

Los estudios de Marshall et al demostraron in vitro que el TNF- α estimulaba la producción de MMP-1, MMP-9 y TIMP por las células mesoteliales pleurales¹⁷⁹.

El sistema de la fibrinolisis está íntimamente relacionado con la activación de las MMPs in vitro e in vivo^{177,182,192,240,241}. Estudios experimentales han demostrado

el papel del uPA y la plasmina en la activación de pro-MMP-1, pro-MMP-2, pro-MMP-3 y pro-MMP-9^{240,241}. Estos estudios nos indican que la degradación de la matriz extracelular requiere una cascada de elementos proteolíticos que incluiría a los activadores del plasminógeno y a las metaloproteinasas. Además, las interacciones entre el sistema uPA-plasmina y las MMPs con la superficie celular y con elementos de la matriz extracelular, modularían funciones celulares como la adhesión, migración y proliferación celular, a través de la activación de vías enzimáticas intracelulares. Estos procesos tienen importantes implicaciones acerca del papel de estas proteinasas en la fisiopatología de la progresión e invasión tumoral¹⁷⁷. Sin embargo, la cascada de la plasmina no es la única forma de activación de las MMPs, ya que se han descrito otras proteinasas capaces de activar pro-MMPs que podrían tener importancia en los procesos inflamatorios en los que existe una intensa actividad proteolítica^{177,182}.

Tomando como punto de partida estos estudios previos, pensamos que la influencia de los mediadores de inflamación y los elementos del sistema de la fibrinólisis sobre el equilibrio de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares deberían jugar un papel en la patogenia de los derrames pleurales infecciosos.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los derrames pleurales paraneumónicos son, probablemente, la principal causa de derrame pleural exudado. Un elevado número de derrames pleurales paraneumónicos se resuelven con la instauración de un tratamiento antibiótico adecuado para el proceso infeccioso de base y sin la necesidad de realizar ninguna actitud terapéutica especial sobre el derrame pleural. Sin embargo, entre un 5-10% de los derrames pleurales paraneumónicos progresan a derrames pleurales complicados y empiemas. En este grupo de derrames, la intensa respuesta inflamatoria local y el depósito de fibrina en el espacio pleural favorece el desarrollo de complicaciones locales en forma de adherencias y septos entre las dos serosas pleurales, y finalmente la presencia de fibrosis pleural, con la consiguiente morbilidad asociada. La detección precoz y el tratamiento adecuado de estos derrames pleurales es fundamental para evitar dichas complicaciones.

A pesar de los avances en el manejo terapéutico de los derrames paraneumónicos, aún hoy en día, los mecanismos celulares y moleculares implicados en la patogénesis de la inflamación pleural no han sido totalmente dilucidados.

La respuesta del mesotelio pleural ante una agresión bacteriana provoca la liberación de mediadores inflamatorios que favorecen la invasión del espacio pleural por células inflamatorias, neutrófilos y células mononucleares fagocíticas, que expandirán y perpetuarán la respuesta inflamatoria pleural. En los derrames pleurales paraneumónicos complicados y empiemas, la respuesta inflamatoria inicial desarrollada por las células mesoteliales, se acompaña posteriormente de

una importante actividad neutrofílica representada por la liberación de proteasas como la elastasa polimorfonuclear y la mieloperoxidasa, así como de una intensa respuesta local de mediadores inflamatorios como la IL-8 y el TNF- α .

El sistema de la fibrinólisis, que regula el balance de fibrina y está controlado por un preciso sistema de inhibidores y activadores, también se ha implicado en la patogenia de los derrames pleurales infecciosos. En los derrames pleurales bacterianos se observa un aumento de los inhibidores de los activadores del plasminógeno y una disminución de los activadores del plasminógeno en respuesta a la actividad inflamatoria y neutrofílica local, que se han relacionado con el depósito de fibrina en el espacio pleural y con la posterior aparición de adherencias y septos pleurales.

La matriz extracelular se sitúa junto al mesotelio pleural, actúa como elemento de sostén y transporte, y su remodelación está implicada en la regeneración tisular y en la migración celular. En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre el sistema de enzimas responsables de la degradación de la matriz extracelular y sus inhibidores tisulares específicos. La alteración de este equilibrio ha demostrado tener un papel importante en la patogenia de los procesos inflamatorios e infecciosos. Así mismo, los mediadores inflamatorios se han implicado en la expresión de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares, y el sistema de la fibrinólisis está íntimamente relacionado con la activación de las metaloproteinasas, por lo que ambos elementos contribuirían a la alteración del

balance de proteasas y antiproteasas responsables de la degradación de la matriz extracelular.

Partiendo de estos hechos, nos propusimos estudiar el papel del equilibrio entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en la patogenia de los derrames pleurales paraneumónicos y su asociación con los mediadores inflamatorios y el sistema de la fibrinólisis, planteando los siguientes objetivos:

1. Estimar las diferencias de los niveles de metaloproteinasas (MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9) y de los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP-1, TIMP-2) en líquido pleural, en diferentes grupos de derrame pleural exudado.
2. Estimar la asociación entre los niveles de metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en plasma y líquido pleural en los derrames pleurales paraneumónicos.
3. Estimar la asociación entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares y los marcadores de activación neutrofílica (elastasa polimorfonuclear, IL-8, TNF- α), en los derrames pleurales paraneumónicos.
4. Estimar la asociación entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares y los marcadores del sistema de la fibrinólisis (u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag), en los derrames pleurales paraneumónicos.

5. Estimar la relación de los niveles de metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en líquido pleural con la presencia de complicaciones pleurales locales en los derrames pleurales paraneumónicos.

**PACIENTES,
MATERIAL Y
MÉTODO**

1. PACIENTES

Desde junio de 1997 hasta octubre de 1999 se estudiaron 139 pacientes hospitalizados en el Hospital General Universitari Vall d'Hebrón por la presencia de derrame pleural de diferentes etiologías.

Se analizaron 30 derrames pleurales empiemas o paraneumónicos complicados, 21 derrames pleurales paraneumónicos no complicados, 28 derrames pleurales tuberculosos, 30 derrames pleurales neoplásicos y 30 derrames pleurales trasudados secundarios a insuficiencia cardiaca.

A todos los pacientes se les realizó una historia clínica y exploración física completas, una radiografía pósterio-anterior y lateral de tórax, así como pruebas analíticas en sangre y líquido pleural.

La toracocentesis se realizó de forma aséptica, bajo anestesia local con Scandibsa®, practicándose la punción torácica con una aguja intramuscular (0.8 x 40 mm) o mediante un abbocath del nº 18 (1.30 x 45 mm) ó del nº 16 (1.75 x 45 mm).

El líquido pleural extraído fue procesado de forma inmediata, para realizar el estudio bioquímico y el recuento celular, así como los estudios microbiológicos y citológicos. Las muestras sanguíneas fueron procesadas también de forma inmediata para realizar el estudio bioquímico y de recuento celular.

El estudio de las muestras sanguíneas de todos los pacientes incluyó la determinación en suero de marcadores bioquímicos de rutina (pH, glucosa, LDH y proteínas) y marcadores de activación neutrofílica (elastasa polimorfonuclear, IL-8, y TNF- α); la determinación en plasma de los parámetros del sistema de la fibrinólisis (t-PA, u-PA, PAI-1 Ag, y PAI-2 Ag), de diferentes metaloproteinasas (MMP-1, MMP-8, MMP-2, y MMP-9), y los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas TIMP-1 y TIMP-2; y la determinación en sangre periférica de la celularidad y el recuento diferencial leucocitario.

El estudio de las muestras de líquido pleural de todos los pacientes incluyó la determinación de los marcadores bioquímicos (pH, glucosa, proteínas, LDH, adenosindeaminasa (ADA)), marcadores de activación neutrofílica (elastasa, IL-8, TNF- α), marcadores del sistema de la fibrinólisis (t-PA, u-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag), metaloproteinasas (MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9), inhibidores de las metaloproteinasas (TIMP-1, TIMP-2), así como el recuento celular leucocitario.

Se practicaron otras técnicas diagnósticas o terapéuticas en aquellos pacientes que las precisaron para completar el estudio clínico o para el manejo terapéutico del derrame pleural.

Todos los datos obtenidos fueron recogidos en un protocolo previamente diseñado (Anexo 1) e introducidos en una base de datos para el posterior análisis mediante el paquete estadístico SPSS²⁴².

- **DEFINICIÓN DE LOS PACIENTES**

Nuestra serie incluyó 139 pacientes afectados de derrame pleural (60% hombres, 40% mujeres, rango de edad: 18 a 94 años). Los derrames pleurales fueron clasificados en exudados o trasudados según los criterios de Light²⁴³.

A. GRUPO DE ESTUDIO.

Se incluyeron 109 pacientes de ambos sexos de acuerdo con los siguientes criterios:

1. Treinta pacientes con empiema pleural o derrame pleural paraneumónico complicado (73% hombres, 27% mujeres, edad media: 60 años) definido por:
 - Presencia de pus en el líquido pleural.
 - Presencia de microorganismos en la tinción de Gram o en el cultivo de líquido pleural.
 - Líquido pleural exudado con $\text{pH} < 7.2$ y pH en sangre periférica normal o glucosa $< 40\text{mg/dL}$, en pacientes con clínica neumónica y condensación radiológica.

2. Veintiun pacientes con derrame pleural paraneumónico no complicado (57% hombres, 43% mujeres, edad media: 61 años) definido por:
 - Presencia de líquido pleural exudado no purulento, con pH > 7.2 y glucosa > 40 mg/dL, en pacientes con clínica neumónica y condensación radiológica.
 - Estudios microbiológicos en líquido pleural negativos.

3. Veintiocho pacientes con derrame pleural tuberculoso (53% hombres, 47% mujeres, edad media: 36 años) definido por²⁴⁴:
 - Tinción de Ziehl-Neelsen positiva en líquido pleural o en muestras de biopsia pleural.
 - Cultivo en medio de Löwenstein-Jensen positivo en líquido pleural o en muestras de biopsia pleural.
 - Determinación de ADA en el líquido pleural > 43 UI/L en pacientes con derrame pleural exudado de predominio linfocitario y contexto clínico compatible.

4. Treinta pacientes con derrame pleural maligno (63% hombres, 37% mujeres, edad media: 60 años) definido por la presencia de células malignas en el estudio citológico del líquido pleural o en el estudio anatomopatológico de muestras de biopsia pleural^{245,246}.

B. GRUPO CONTROL.

Se han incluido 30 pacientes con derrame pleural trasudado secundario a insuficiencia cardiaca (50% hombres, 50% mujeres, edad media: 72 años) definido según los criterios de Light^{242,247}:

- Cociente de proteínas en líquido pleural y suero sanguíneo menor de 0.5.
- Cociente de LDH en líquido pleural y suero sanguíneo menor de 0.6.
- LDH en líquido pleural inferior a 2/3 del límite superior de la normalidad de LDH en suero sanguíneo.

2. MATERIAL Y MÉTODO

2.1 MÉTODO BIOQUÍMICO

Las determinaciones bioquímicas fueron realizadas por el Servicio de Bioquímica y la Unitat de Recerca d'Hemostàsia del Servicio de Hematología de Hospital Vall d'Hebrón.

PROTEÍNAS, GLUCOSA, pH, LDH Y ADA

Las determinaciones se realizaron en un analizador automático Hitachi 919 (Boehringer Mannheim, Germany) utilizando el método de Biuret para las proteínas, hexoquinasa para la glucosa, y la reducción piruvato-a-lactato a 37° para la LDH. La determinación de ADA fue realizada utilizando adenosina como sustrato y una reacción indicadora acoplada con NADH, 2-cetoglutarato, y glutamato deshidrogenasa. Las muestras de sangre y líquido pleural para la determinación de pH fueron recogidas en una jeringa heparinizada de gasometría arterial en condiciones de anaerobiosis, y remitidas inmediatamente al laboratorio. Las determinaciones se realizaron en los 20 minutos posteriores a la extracción de la muestra utilizando un electrodo selectivo de pH (Chiron Diagnostics 860; Ciba Corning Diagnostics Corp., Medfield, MA, USA).

DETERMINACIÓN DE LOS MARCADORES DE ACTIVACIÓN NEUTROFÍLICA

Las muestras de sangre y líquido pleural fueron recogidas en tubos vacutainer que contenían sal tripotásica de ácido etilen diamina tetraacético (K₃EDTA) (Becton Dickinson, France), centrifugadas a 1800 x g durante 30 minutos a 4 °C, y el líquido pleural y plasma sobrenadante fue conservado en alícuotas a -70 °C hasta su análisis.

La elastasa polimorfonuclear fue determinada por un método de inmunoaglutinación (ECOLINE-PMN-E, Merck, Germany). En nuestro laboratorio, el límite de detección de este método fue de 4 µg/mL. Las determinaciones de elastasa polimorfonuclear inferiores al límite de detección fueron igualadas a 1 µg/mL para el estudio estadístico.

La determinación de TNF- α se realizó mediante inmunoanálisis (ELISA, Innogenetics, Belgium). Los patrones utilizados son TNF- α humano recombinante estandarizado frente a la preparación de referencia 87/560 del National Biological Standard Board (NBSB). En nuestro laboratorio, el límite de detección de este método fue de 6 pg/mL. Las determinaciones de TNF- α inferiores al límite de detección fueron igualadas a 1 pg/mL para el estudio estadístico.

La IL-8 fue determinada por inmunoanálisis (ELISA, Bender Medsystems, Austria). En nuestro laboratorio, el límite de detección de este método fue de 8 pg/mL. Las determinaciones de IL-8 inferiores al límite de detección fueron consideradas de 1 pg/mL para el estudio estadístico.

DETERMINACIÓN DE LOS MARCADORES DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS

Las muestras de sangre y líquido pleural fueron recogidas en tubos vacutainer que contenían 3.8% citrato (Becton Dickinson, France), centrifugadas a 1800 x g durante 30 minutos a 4 °C, y el líquido pleural y plasma sobrenadante fue conservado en alícuotas a -70 °C hasta su análisis.

Las determinaciones de u-PA, t-PA, PAI-1 Ag y PAI-2 Ag se realizaron mediante inmunoanálisis (ELISA, Tintelize Biopool-Sweden). En nuestro laboratorio, el límite de detección de u-PA y PAI-2 Ag fue de 0.1 ng/mL y 6 ng/mL respectivamente. Las concentraciones inferiores al límite de detección se igualaron a 0.1 ng/mL para el estudio estadístico.

DETERMINACIÓN DE LAS METALOPROTEINASAS Y SUS INHIBIDORES TISULARES

Las muestras de sangre y líquido pleural se recogieron en tubos vacutainer que contenían 3.8% citrato (Becton Dickinson, France) y K₃EDTA (Beckton Dickinson, France), se centrifugaron a 1800 x g durante 30 minutos a 4 °C y los sobrenadantes obtenidos se conservaron en alícuotas a -70°C hasta su análisis.

Las determinaciones de MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 y TIMP-2 se realizaron mediante inmunoanálisis (ELISA, Amersham Pharmacia, UK). La sensibilidad de la técnica para MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2,

fue de 1.7 ng/mL, 0.4 ng/mL, 0.03 ng/mL, 0.6 ng/mL, 1.3 ng/mL, 3.0 ng/mL, respectivamente.

La técnica utilizada reconoce precursores libres y complejados de las dos gelatinasas (MMP-2, MMP-9), precursores y formas activas tanto libres como complejadas de las dos colagenasas (MMP-1, MMP-8) y formas libres y complejadas de los TIMPs.

2.2 ANÁLISIS DEL RECUENTO LEUCOCITARIO

La determinación del recuento celular fue realizada por el Servicio de Hematología de Hospital Vall d'Hebrón.

Las muestras de sangre y líquido pleural fueron recogidas en tubos vacutainer que contenían K₃EDTA (Becton Dickinson, France). El recuento leucocitario total fue realizado de forma inmediata mediante el contador celular Coulter®-s-Plus IV (Coulter, Hialeah, FL). Para el recuento diferencial, las muestras de sangre y líquido pleural fueron concentradas mediante citocentrifugación (Cytospin® 2, Shandon Instruments, Sewickley, PA) a 2000 x g durante 8 minutos. Posteriormente se realizó la tinción de May-Grunwald-Giemsa a las preparaciones obtenidas y se procedió al recuento diferencial manual de leucocitos.

2.3 MÉTODO MICROBIOLÓGICO

Las toracocentesis practicadas se realizaron en las máximas condiciones de asepsia.

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

El líquido pleural obtenido tras la práctica de la toracocentesis se inoculaba de forma inmediata en un tubo estéril y un vial de hemocultivo anaerobio del sistema Bactec (Bactec NR 660 system; Becton Dickinson, USA)^{127,248}.

Las muestras del tubo estéril fueron procesadas para la práctica de cultivo convencional en los medios habituales, tinción de Gram e investigación de micobacterias.

El vial de hemocultivo anaerobio se incubó a 37 °C, con lectura diaria durante 5 días y una última lectura a los 15 días. Se realizó una nueva siembra en los medios habituales en caso de positividad de los viales.

Para la investigación de micobacterias se utilizó la tinción de auramina y la de Ziehl-Neelsen. El cultivo se realizó mediante la incubación de las muestras en el medio de Löwenstein-Jensen durante dos meses.

2.4 MÉTODO CITOLÓGICO

Todas las muestras fueron analizadas por el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Vall d'Hebrón. El líquido pleural fue inoculado en tubos vacutainer que contenían K₃EDTA (Becton Dickinson, France), para proceder posteriormente al estudio citológico.

2.5 MÉTODO RADIOLÓGICO

A todos los pacientes se les realizó una radiografía pósterio-anterior y lateral de tórax en el momento del ingreso y al finalizar el tratamiento.

Para estudiar la presencia de complicaciones pleurales locales en los derrames pleurales paraneumónicos, se valoró la existencia de engrosamiento pleural radiológico al final del tratamiento. Se definió paquipleuritis residual como la presencia de un engrosamiento pleural mayor de 10 mm en la Rx postero-anterior de tórax realizada al finalizar el tratamiento del derrame pleural paraneumónico. El grosor pleural se midió en la cara lateral e inferior del hemitórax afectado en una línea imaginaria horizontal que pasara por la parte más alta de la cúpula diafragmática.

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el análisis descriptivo de las variables de estudio, se han calculado la mediana y los percentiles 25 y 75 de cada variable, debido a la presencia de valores extremos. Los diferentes valores se expresan en tablas según la etiología del derrame pleural al que pertenecen.

En la fase del análisis exploratorio de los datos, se ha estudiado, para cada variable, si su distribución se ajustaba a la distribución normal (a partir de la inspección de sus gráficos de probabilidad normal). En caso contrario, se ha estudiado si su logaritmo neperiano se ajustaba más a esta distribución. Las variables ADA, LDH, leucocitos, neutrófilos, linfocitos, elastasa, IL-8, TNF- α , u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag, MMP-1, MMP-8, y MMP-9, se han sustituido por su logaritmo neperiano.

Para comparar la distribución de las variables cuantitativas entre los distintos tipos de derrame pleural se ha utilizado el análisis de la varianza. Se han planteado contrastes ortogonales para comparar: trasudados (n=30) frente a exudados (n=109; neoplásicos + tuberculosos + paraneumónicos no complicados + empiemas), infecciosos (n=79; tuberculosos + paraneumónicos no complicados +

empiemas) frente a neoplásicos (n=30), paraneumónicos (n=51; paraneumónicos no complicados + empiemas) frente a tuberculosos (n=28) y empiemas (n=30) frente a paraneumónicos no complicados (n=21). En este análisis se ha realizado la transformación logarítmica de las variables que no seguían una distribución normal. Para comparar la distribución de los niveles de MMPs y TIMPs en líquido pleural entre los derrames pleurales tuberculosos y empiemas se ha utilizado la prueba no paramétrica de Mann-Whitney.

Para comparar los niveles plasmáticos y en líquido pleural de las MMPs y los TIMPs se ha utilizado la prueba no paramétrica de Wilcoxon.

Para estudiar la asociación de MMPs y TIMPs en los DP paraneumónicos, se ha utilizado el coeficiente de correlación de Spearman.

Para estudiar la asociación de MMPs y TIMPs en plasma y líquido pleural, se ha utilizado el coeficiente de correlación de Spearman.

Para estudiar la asociación de MMPs y TIMPs con el recuento celular y el recuento diferencial leucocitario en los DP exudados, infecciosos, paraneumónicos no complicados y empiemas, se ha utilizado el coeficiente de correlación de Spearman.

Para estudiar la asociación de MMPs y TIMPs con los marcadores de activación neutrofilica y del sistema de la fibrinolisis en los diferentes grupos de derrames pleural se ha utilizado el coeficiente de correlación de Spearman.

Para describir de forma sintética la distribución de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares se ha utilizado el análisis de componentes principales. Se han seleccionado los componentes con un autovalor igual o superior a 1, se ha aplicado una rotación Varimax, y se ha calculado el valor de los componentes en cada paciente.

En el grupo de pacientes con derrame pleural paraneumónico, se han comparado los niveles en líquido pleural de MMPs y TIMPs entre los pacientes que desarrollaron paquipleuritis y los que no desarrollaron esta complicación. Se ha aplicado la prueba no paramétrica de Mann-Whitney.

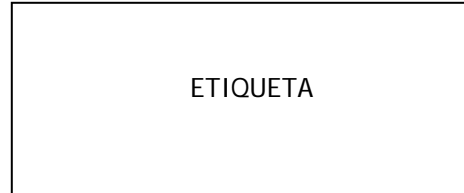
4. ANEXO 1. Protocolo de recogida de datos de los derrames pleurales.

Nombre: _____

Registro: _____

Edad: ____ NHC: _____

Días de ingreso: ____



Hábitos tóxicos: ____

(1:Ninguno; 2:Tabaco; 3:Enolismo; 4:ADVP; 5:Otros)

Enfermedades de base: ____

(1:Ninguna; 2: Diabetes Mellitus; 3: EPOC; 4: Hepatopatía; 5:2+3; 6:2+4; 7:2+3+4; 8:Insuficiencia cardiaca; 9:Insuficiencia renal; 10:Inmunosupresión no neutropénica; 11: Neutropenia; 12:Ac. Anti-VIH; 13:SIDA; 14: Neoplasia; 15: Otras)

Contacto con asbesto: ____ (1:Sí, 2:No)

Situaciones predisponentes de broncoaspiración: Higiene bucal ____ Consumo de alcohol ____

Reflujo gastroesofágico ____ Enfermedad neurológica ____ Utilización de sedantes ____ (1: Sí; 2: No)

Clínica: Fiebre ____ Tos ____ Dolor torácico ____ Síndrome tóxico ____ Insuficiencia respiratoria ____

Febrícula ____ Sudoración nocturna ____ (1:Sí; 2:No)

Expectoración ____ (1:No; 2: Mucosa; 3: Mucopurulenta; 4: Hemoptoica)

Toma previa de antibióticos: ____ (1:No; 2:Sí).

- **Fármaco y dosis:** _____

- **Días de toma de antibiótico:** _____

Neoplasia previa y tiempo desde el diagnóstico:

- **IQ de la neoplasia previa:** ____ (1:No, 2:Fin curativo, 3:Fin paliativo)

- **QT de la neoplasia previa:** ____ (1:No, 2:Fin curativo, 4:Fin paliativo)

Radiografía de tórax: Condensación lobar __ (1:No, 2:Si)

- **Localización:** __ (1:No condensación, 2:LSD, 3:LMD, 4:LID, 5:LSI, 6:LII, 7:Lingula)
- **Afectación de varios lóbulos:** __ (1:No, 2:Mismo pulmón, 3:Bilateral)
- **Cavitación:** __ (1:No, 2:Si) - **Patrón intersticial:** __ (1:No, 2:Si)
- **Tamaño del derrame pleural:** __ (1:<1/3, 2:1/3-2/3, 3:>2/3)
- **Engrosamiento pleural:** __ (1:No, 2:Si) - **Loculación:** __ (1:No, 2:Si)
- **Derrame pleural:** __ (1:Derecho, 2:Izquierdo, 3:Bilateral)

Ecografía torácica:

- **Hecha:** __ (1:No, 2:Si) - **Localización:** __ (1:Derecha, 2:Izquierda, 3:Bilateral)
- **Cantidad:** __ (1:Banda, 2:<2 espacios, 3:>2 espacios intercostales)
- **Morfología:** __ (1:Anecoico, 2:complejo no septado, 3:complejo septado, 4:Ecogénico)
- **Loculación:** __ (1:No, 2:Si) - **Engrosamiento pleural:** __ (1:No, 2:Si)
- **Lesión pulmonar:** __ (1:Consolidación, 2:Masa, 3:Absceso, 4:Otra).

Ecografía-doppler torácica:

- **Hecha:** __ (1:No, 2:Si) - **Patrón ecográfico: (ver código)**

Analítica en sangre periférica:

Leucocitos ____ Neutrófilos ____ Linfocitos ____ Creatinina ____ Glucosa ____
Proteínas ____ Albúmina ____ LDH ____ pH ____ ADA ____
Elastasa ____ IL-8 ____ TNF-alfa ____
t-PA ____ u-PA ____ PAI-1 Ag ____ PAI-2 Ag ____
MMP-1 ____ MMP-2 ____ MMP-8 ____ MMP-9 ____ TIMP-1 ____ TIMP-2 ____

Microbiología:

Cultivo esputo __ Hemocultivos __

Cultivo convencional líquido pleural __ Cultivo frasco anaerobio __

(1:No hecho, 2:Negativo, 3:No valorable, 4: Neumococo, 5: H. Influenzae, 6:L. Pneumophila, 7:E. Coli, 8:Klebsiella, 9:Pseudomonas, 10:Otras enterobacterias, 11:Estafilococo, 12:Anaerobios, 13:Streptococos, 14:Branhamella, 15:Hongos, 16: Otros).

Antibiograma:

Baciloscopia esputo __ Cultivo en L-J __ Baciloscopia en líquido pleural __

Cultivo líquido pleural en L-J __

(1:No hecha, 2:Negativo, 3:Positivo)

Estudio del líquido pleural:

- **Aspecto:** ___ (1:Purulento, 2:No purulento, 3:Trasudado)
- **Bioquímica:**
 - pH ___ Glucosa ___ Proteínas ___ ADA ___ LDH ___
 - Elastasa ___ IL-8 ___ TNF-alfa ___
 - t-PA ___ u-PA ___ PAI-1 Ag ___ PAI-2 Ag ___
 - MMP-1 ___ MMP-2 ___ MMP-8 ___ MMP-9 ___ TIMP-1 ___ TIMP-2 ___
- **Recuento celular:**
 - Leucocitos ___ Neutrófilos ___ Linfocitos ___
- **Citología:** Células malignas: ___ (1:No, 2:Sí)

Citología de esputo: ___ (1: No hecha, 2:Positiva células malignas, 3:Negativa)

Broncoscopia: ___ (1:No hecha, 2:Normal, 3:Patológica)

Biopsia pleural: ___ (1:No hecha, 2:Normal, 3:Neoplasia, 4:Granulomas TBC, 5:Otros)

Pleuroscopia: ___ (1:No hecha, 2:Normal, 3:Nódulos, 4:Tractos fibrosos, 5:Otros)

PPD: ___ (1:Negativo, 2:Positivo, 3:No hecho)

TC torácico: ___ (1:No hecho, 2:Normal, excepto derrame, 3:Patológico además del derrame)

- **Condensación lobar:** ___ (1:No condensación, 2:LSD, 3:LMD, 4:LID, 5:LSI, 6:LII, 7:Língula)
- **Afectación de varios lóbulos:** ___ (1:No, 2:Mismo pulmón, 3:Bilateral)
- **Cavitación:** ___ (1:No, 2:Sí)
- **Patrón intersticial:** ___ (1:No, 2:Sí)
- **Tamaño del derrame pleural:** ___ (1:<1/3, 2:1/3-2/3, 3:>2/3)
- **Engrosamiento pleural:** ___ (1:No, 2:Sí)
- **Loculación:** ___ (1:No, 2:Sí)
- **Derrame pleural:** ___ (1:Derecho, 2:Izquierdo, 3:Bilateral)
- **Captación de contraste:** _____

Otras exploraciones (anotarlas):

Tipo de derrame pleural: ____ (1:Empiema, 2:Paraneumónico, 3:Tuberculoso, 4:Neoplásico, 5:Insuficiencia cardiaca, 6:Indeterminado, 7:Miscelánea, 8:Paraneoplásico)

Tratamiento antibiótico: ____ (1:No, 2:Si).

- Anotar pauta y días de tratamiento: _____

Fisioterapia respiratoria: ____ (1:No, 2:Si)

Toracocentesis repetidas: ____ (1:No, 2:Si)

Drenaje pleural: ____ (1:No, 2:Si) **Días de drenaje:** _____

Decorticación pleural: ____ (1:No, 2:Si)

- Número de días desde el inicio del cuadro y la realización de la decorticación: _____

Drenaje quirúrgico y liberación de septos: ____ (1:No, 2:Si)

Fibrinolíticos intrapleurales: ____ (1:No, 2:Si)

- Fibrinolítico administrado-Dosis-Días de duración: _____

- Cantidad de líquido pleural drenado tras la administración de los fibrinolíticos: _____

Neoplasia diagnosticada durante el ingreso: ____ (1:No, 2:Si)

- Tratamiento de la neoplasia: ____ (1:No, 2:Si)

Neoplasia diagnosticada después del ingreso: _____ (1:No, 2:Si)

Pleurodesis: ____ (1:No, 2:Si con tetraciclinas, 3:Si con talco, 4:Pleurodesis con otros productos)

- Pleurodesis eficaz: ____ (1:No, 2:Si)

Otros tratamientos: _____

Evolución: ____ (1:Curación, 2:Paquipleuritis-Engrosamiento pleural-Loculación pleural, 3:Derrame pleural que requiere drenaje pleural crónico, 4:Derrame pleural crónico, 5:Exitus en relación con el derrame pleural, 6:Exitus en relación con la causa del derrame pleural, 7:Exitus en relación con otra causa, 8:Otros)

Rx Torax tras tratamiento médico-quirúrgico: ____ (1:Normal, 2:Paquipleuritis, 3:Persiste derrame pleural, 4:No realizada)

Ecografía torácica tras tratamiento médico-quirúrgico: ____ (1:Normal, 2:Septos, 3:Derrame pleural, 4:No realizada)

TAC torácico tras tratamiento médico-quirúrgico: ____ (1:Normal, 2:Paquipleuritis, 3:Septos, 4:2+3, 5:No realizado)

Días de supervivencia desde el diagnóstico: _____

Control posterior: ____ (1:Cerrado, 2:CCEE, 3:Perdido)

RESULTADOS

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE LOS DIFERENTES GRUPOS ETIOLÓGICOS DE DERRAME PLEURAL.

1.1 RESULTADOS EN SANGRE

MARCADORES BIOQUÍMICOS DE RUTINA EN SUERO

Las cifras de pH en sangre periférica de todos los pacientes estudiados se mantuvieron entre 7.35 y 7.45.

La Tabla 3 refleja las medianas y percentiles 25-75 de glucosa, proteínas y LDH en suero según la etiología del derrame pleural.

Los DP tuberculosos presentaron cifras inferiores de glucosa en el suero, con una mediana de 87 mg/dL, adquiriendo diferencias significativas respecto a los DP paraneumónicos ($p < 0.01$). En el resto de grupos, los valores de las medianas de glucosa en suero oscilaron entre los 98 mg/dL de los DP paraneumónicos no complicados y los 107 mg/dL de los empiemas.

Los DP tuberculosos presentaron cifras superiores de proteínas en el suero, con una mediana de 7.0 g/dL, y adquirieron diferencias significativas respecto al resto de grupos ($p < 0.01$). Los valores de las medianas de las proteínas en el suero en el resto de grupos oscilaron entre 6.1 g/dL en los empiemas y 6.5 g/dL en los trasudados.

Los valores de LDH en suero fueron superiores en los trasudados con una mediana de 427 UI/L. En el resto de grupos, los valores de las medianas de la LDH en el suero oscilaron entre 310 UI/L en los empiemas y DP tuberculosos y 348 UI/L en los DP neoplásicos.

Tabla 3. Valores de las medianas y percentiles 25-75 de glucosa, proteínas y LDH en suero según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
Glucosa (mg/dL)	Mediana	107	98	87	101	103
	Percentil 25-75	95 – 140	90 – 114	77 – 102	88 – 129	85 – 136
Proteínas (g/dL)	Mediana	6.10	6.20	7.00	6.40	6.50
	Percentil 25-75	5.60 – 6.60	5.80 – 6.80	6.40 – 7.90	5.90 – 6.80	5.70 – 6.90
LDH (UI/L)	Mediana	310	324	310	348	427
	Percentil 25-75	282 – 382	251 – 515	267 – 346	273 – 419	341 – 467

RECUENTO CELULAR LEUCOCITARIO EN SANGRE

En la Tabla 4 se resumen los valores de las medianas y percentiles 25-75 de leucocitos, neutrófilos y linfocitos en sangre periférica según la etiología del derrame pleural.

Los empiemas y DP paraneumónicos no complicados presentaron cifras superiores de leucocitos en sangre periférica, con valores de medianas de 12700 $\times 10^3/\mu\text{L}$ y 13000 $\times 10^3/\mu\text{L}$ respectivamente, adquiriendo diferencias significativas respecto al resto de grupos ($p < 0.001$).

Los empiemas y DP paraneumónicos no complicados presentaron cifras superiores de neutrófilos en sangre periférica, con valores de medianas de 11097 $\times 10^3/\mu\text{L}$ y 9316 $\times 10^3/\mu\text{L}$ respectivamente, adquiriendo diferencias significativas respecto al resto de grupos ($p < 0.001$).

No se observaron diferencias significativas en el recuento celular leucocitario y en el recuento diferencial de neutrófilos en sangre periférica entre los empiemas y los DP paraneumónicos no complicados.

Los valores de las medianas de linfocitos en sangre periférica oscilaron entre 935 $\times 10^3/\mu\text{L}$ en los trasudados y 1470 $\times 10^3/\mu\text{L}$ en los DP paraneumónicos no complicados, sin que se observaran diferencias significativas entre los diferentes grupos de estudio.

Tabla 4. Valores de las medianas y percentiles 25-75 de leucocitos, neutrófilos y linfocitos en sangre periférica según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
Leucocitos (x10³/μL)	Mediana	12700	13000	7350	7800	7500
	Percentil 25-75	9900 – 17475	9850 – 17950	6825 – 8825	6475 – 10200	5600 – 9700
Neutrófilos (x10³/μL)	Mediana	11097	9316	5132	5946	5346
	Percentil 25-75	6145 – 14670	7315 – 14737	4010 – 6244	3591 – 7353	3555 – 7615
Linfocitos (x10³/μL)	Mediana	979	1470	1005	1207	935
	Percentil 25-75	810 – 2280	557 – 1986	758 – 1841	895 – 1521	658 – 1610

MARCADORES DE ACTIVACIÓN NEUTROFÍLICA EN SUERO

En la Tabla 5 se expresan los valores de las medianas y percentiles 25-75 de elastasa polimorfonuclear, IL-8 y TNF- α en suero según la etiología del derrame pleural.

Los empiemas y DP paraneumónicos complicados presentaron niveles superiores de elastasa en suero, con una mediana de 131.0 $\mu\text{g/L}$, y adquirieron diferencias significativas respecto al resto de grupos de estudio ($p < 0.01$). En el resto de grupos, los valores de las medianas de la elastasa en suero oscilaron entre 56.0 $\mu\text{g/L}$ en los DP neoplásicos y 77.5 $\mu\text{g/L}$ en los DP paraneumónicos no complicados.

Los niveles de la IL-8 en suero fueron superiores en los empiemas y DP paraneumónicos no complicados, con medianas de 6.0 pg/mL y 8.0 pg/mL respectivamente. Se observaron diferencias significativas en los niveles de IL-8 entre los DP exudados y los trasudados ($p < 0.01$).

Los valores de las medianas de TNF- α en suero oscilaron entre 8.0 pg/mL en los DP neoplásicos y 13.0 pg/mL en los empiemas y DP paraneumónicos no complicados. No se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos de estudio.

Tabla 5. Valores de las medianas y percentiles 25-75 de elastasa polimorfonuclear, IL-8 y TNF- α en suero según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
ELASTASA ($\mu\text{g/L}$)	Mediana	131.0	77.5	75.0	56.0	69.5
	Percentil 25-75	77.5 – 203.0	53.0 – 122.5	57.5 – 110.3	31.0 – 97.5	44.0 – 104.9
IL-8 (pg/mL)	Mediana	6.00	8.00	1.50	1.00	1.00
	Percentil 25-75	1.00 – 38.3	1.00 – 37.5	1.00 – 45.0	1.00 – 12.0	1.00 – 1.00
TNF-α (pg/mL)	Mediana	13.0	13.0	9.00	8.00	11.5
	Percentil 25-75	5.75 – 19.25	7.50 – 22.5	6.25 – 16.5	6.00 – 11.3	8.00 – 17.0

MARCADORES DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN PLASMA

En la Tabla 6 se expresan los valores de las medianas y percentiles 25-75 de t-PA, u-PA, PAI-1 Ag y PAI-2 Ag en plasma según la etiología del derrame pleural.

Los trasudados presentaron valores superiores de t-PA con una mediana de 15.3 ng/mL, y adquirieron diferencias significativas respecto a los exudados ($p < 0.01$). En los exudados, los niveles de t-PA oscilaron entre 5.16 ng/mL en los DP tuberculosos y 10.7 ng/mL en los empiemas. Se observaron diferencias significativas en los niveles de t-PA en plasma entre los DP paraneumónicos y los DP tuberculosos ($p < 0.01$).

Las medianas de u-PA en plasma oscilaron entre 0.20 ng/mL en los DP paraneumónicos no complicados y 0.34 ng/mL en los DP neoplásicos. No se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos de estudio.

Las medianas de PAI-1 Ag en plasma oscilaron entre 39.3 ng/mL en los trasudados y 55.2 ng/mL en los empiemas, y no se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos etiológicos.

Los niveles de PAI-2 Ag en plasma fueron inferiores en los DP paraneumónicos no complicados, con una mediana de 0.1 ng/mL. En el resto de grupos, los valores de mediana de PAI-2 Ag oscilaron entre 0.98 ng/mL en los DP neoplásicos y 2.01 ng/mL en los empiemas.

Tabla 6. Valores de las medianas y percentiles 25-75 de t-PA, u-PA, PAI-1 Ag y PAI-2 Ag en plasma según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
t-PA (ng/mL)	Mediana	10.7	10.3	5.16	8.29	15.3
	Percentil 25-75	6.95 – 17.8	6.73 – 14.0	4.21 – 9.39	4.84 – 12.6	10.4 – 22.5
u-PA (ng/mL)	Mediana	0.28	0.20	0.26	0.34	0.31
	Percentil 25-75	0.18 – 0.34	0.14 – 0.29	0.16 – 0.35	0.25 – 0.50	0.20 – 0.85
PAI-1 Ag (ng/mL)	Mediana	55.2	43.5	45.1	45.4	39.3
	Percentil 25-75	42.5 – 80.9	35.4 – 66.7	33.5 – 73.1	28.2 – 72.8	33.3 – 61.1
PAI-2 Ag (ng/mL)	Mediana	2.01	0.10	1.46	0.98	1.79
	Percentil 25-75	0.83 – 2.83	0.10 – 0.89	0.49 – 2.82	0.10 – 1.56	0.54 – 2.42

METALOPROTEINASAS E INHIBIDORES TISULARES DE METALOPROTEINASAS EN PLASMA

En la Tabla 7 se resumen los valores de las medianas y percentiles 25-75 de las metaloproteinas y sus inhibidores tisulares según la etiología del derrame pleural.

Los valores de MMP-1 en plasma fueron superiores en los derrames pleurales paraneumónicos, con medianas de 5.37 ng/mL en los empiemas y 5.08 ng/mL en los DP paraneumónicos no complicados, e inferiores en los DP tuberculosos con una mediana de 2.93 ng/mL. Se observaron diferencias significativas en los valores de MMP-1 en plasma entre los DP paraneumónicos y los DP tuberculosos ($p < 0.01$).

La MMP-2 adquirió valores superiores en plasma en los trasudados, con una mediana de 983.0 ng/mL. En el resto de grupos, las medianas de MMP-2 en plasma oscilaron entre 420.7 ng/mL en los DP tuberculosos y 551.5 ng/mL en los empiemas. Se observaron diferencias significativas entre los DP exudados y trasudados ($p < 0.001$), y entre los DP paraneumónicos y los DP tuberculosos ($p < 0.05$).

Los niveles de MMP-8 en plasma fueron superiores en los empiemas y DP paraneumónicos complicados, con una mediana de 30.7 ng/mL, y adquirieron diferencias significativas con el resto de grupos ($p < 0.001$). En los otros grupos de estudio, las medianas de MMP-8 en plasma oscilaron entre 8.4 ng/mL en los DP tuberculosos y 16.6 ng/mL en los DP neoplásicos.

Las concentraciones de MMP-9 en plasma fueron superiores en los empiemas, con una mediana de 194.0 ng/mL, e inferiores en los DP tuberculosos, con una mediana de 75.5 ng/mL. Se observaron diferencias significativas entre estos dos grupos ($p=0.005$).

Los niveles de TIMP-1 y TIMP-2 en plasma fueron superiores en los trasudados, con medianas de 1610.5 ng/mL y 136.9 ng/mL respectivamente.

Los valores de las medianas de TIMP-1 en plasma, en los exudados, oscilaron entre 809.5 ng/mL en los DP tuberculosos y 1439.8 ng/mL en los empiemas. Se observaron diferencias significativas para TIMP-1 en plasma entre los trasudados y los exudados ($p<0.05$), y entre los DP paraneumónicos y los DP tuberculosos ($p<0.001$).

Los valores de las medianas de TIMP-2 en plasma, en los exudados, oscilaron entre 58.7 ng/mL en los DP paraneumónicos no complicados y 103.3 ng/mL en los DP neoplásicos. Se observaron diferencias significativas para TIMP-2 en plasma entre los trasudados y los exudados ($p<0.05$).

Tabla 7. Valores de las medianas y percentiles 25-75 de MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 y TIMP-2 en plasma según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
MMP-1 (ng/mL)	Mediana	5.37	5.08	2.93	4.64	4.70
	Perc. 25-75	3.92 – 7.05	4.08 – 6.45	1.70 – 4.59	2.19 – 6.31	3.46 – 5.49
MMP-2 (ng/mL)	Mediana	551.5	528.9	420.7	527.8	983.0
	Perc. 25-75	368.8 – 663.3	490.5 – 573.9	357.9 – 523.7	424.1 – 626.2	758.6 – 1241.1
MMP-8 (ng/mL)	Mediana	30.7	10.9	8.4	16.6	10.6
	Perc. 25-75	19.2 – 54.5	8.04 – 22.9	6.27 – 15.5	5.38 – 29.4	5.83 – 25.4
MMP-9 (ng/mL)	Mediana	194.0	136.9	75.5	179.8	109.4
	Perc. 25-75	101.1 – 330.2	52.2 – 199.3	45.6 – 123.2	42.0 – 310.1	35.7 – 229.7
TIMP-1 (ng/mL)	Mediana	1439.8	1187.4	809.5	970.9	1610.5
	Perc. 25-75	1229.7 – 1823.5	880.4 – 1735.9	650.9 – 1084.8	816.1 – 1315.9	1362.5 – 1784.8
TIMP-2 (ng/mL)	Mediana	84.3	58.7	88.2	103.3	136.9
	Perc. 25-75	63.7 – 110.2	49.7 – 110.9	70.5 – 102.8	75.9 – 144.6	90.2 – 187.0

1.2 RESULTADOS EN LÍQUIDO PLEURAL

MARCADORES BIOQUÍMICOS DE RUTINA EN LÍQUIDO PLEURAL

En la Tabla 8 se expresan los valores de las medianas y percentiles 25-75 de pH, glucosa, proteínas, LDH y ADA en líquido pleural según la etiología del derrame pleural.

El pH fue significativamente inferior en los empiemas respecto al resto de grupos ($p < 0.01$), con una mediana de 6.99. En el resto de grupos las medianas de pH en líquido pleural oscilaron entre 7.35 en los DP tuberculosos y 7.46 en los trasudados.

La glucosa fue inferior de forma significativa en los empiemas ($p < 0.001$) respecto al resto de grupos de estudio, con una mediana de 15 mg/dL. En el resto de grupos, las medianas de la glucosa oscilaron desde 67 mg/dL en los DP tuberculosos hasta 138 mg/dL en los trasudados.

Las proteínas adquirieron concentraciones superiores de forma significativa en los DP tuberculosos ($p < 0.001$) respecto al resto de grupos, con una mediana de 5.4 g/dL. Las medianas de los empiemas, paraneumónicos no complicados y neoplásicos oscilaron entre 4.40 y 4.45 g/dL, mientras que los trasudados tuvieron una mediana de 1.6 g/dL.

El ADA presentó concentraciones significativamente superiores en los DP tuberculosos ($p < 0.001$) respecto al resto de grupos, con una mediana de 81 UI/L. Los empiemas presentaron valores de ADA significativamente superiores ($p = 0.03$) respecto a los DP paraneumónicos no complicados, con una mediana de 29 UI/L. En el resto de grupos, las medianas oscilaron entre 7.5 UI/L en los trasudados y 24 UI/L en los DP paraneumónicos no complicados.

La LDH fue superior de forma significativa en los empiemas ($p < 0.001$) respecto al resto de grupos, con una mediana de 2962.5 UI/L. En el resto de grupos, la mediana de LDH osciló entre 131.5 UI/L en los trasudados y 876.0 UI/L en los DP tuberculosos.

Tabla 8. Valores de las medianas y percentiles 25-75 de pH, glucosa, proteínas, LDH y ADA en líquido pleural según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
pH	Mediana	6.99	7.41	7.35	7.40	7.46
	Percentil 25-75	6.86 – 7.15	7.34 – 7.45	7.30 – 7.40	7.38 – 7.44	7.42 – 7.50
Glucosa (mg/dL)	Mediana	15	113	67	110	138
	Percentil 25-75	10 – 67	95 – 127	55 – 92	90 – 132	117 – 164
Proteínas (g/dL)	Mediana	4.45	4.40	5.40	4.40	1.60
	Percentil 25-75	3.28 – 5.05	3.6 – 5.05	5.00 – 5.85	3.98 – 4.63	1.10 – 2.00
ADA (UI/L)	Mediana	29.00	24.00	81.00	14.00	7.50
	Percentil 25-75	17.50 – 40.75	11.00 – 27.00	69.25 – 92.25	10.75 – 19.00	5.00 – 10.50
LDH (UI/L)	Mediana	2962.5	502.0	876.0	502.5	131.5
	Percentil 25-75	1735.3 – 5487.5	297.5 – 721.0	698.5 – 1382.0	347.3 – 756.5	91.8 – 181.0

RECUESTO CELULAR LEUCOCITARIO EN LÍQUIDO PLEURAL

En la Tabla 9 se expresan los valores de las medianas y percentiles 25-75 de la cifra de leucocitos, neutrófilos y linfocitos en líquido pleural según la etiología del derrame pleural.

Los exudados mostraron cifras significativamente superiores en el número de leucocitos y en el recuento diferencial leucocitario ($p < 0.001$) respecto a los trasudados.

Los derrames pleurales infecciosos mostraron cifras significativamente superiores de leucocitos y neutrófilos respecto a los DP neoplásicos ($p < 0.001$).

Entre los derrames pleurales infecciosos, los empiemas presentaron cifras superiores de leucocitos y de neutrófilos respecto a los DP tuberculosos ($p < 0.001$) y los DP paraneumónicos no complicados ($p < 0.05$ y $p < 0.001$ respectivamente), con medianas de 12000 leucocitos $\times 10^3/\mu\text{L}$ y de 10080 neutrófilos $\times 10^3/\mu\text{L}$.

No se observaron diferencias significativas entre los derrames pleurales infecciosos y neoplásicos respecto a la cifra de linfocitos. Los DP tuberculosos presentaron cifras superiores de linfocitos frente a los derrames pleurales paraneumónicos ($p < 0.01$), con una mediana de 1896 linfocitos $\times 10^3/\mu\text{L}$. Así mismo, los DP paraneumónicos no complicados mostraron cifras superiores de linfocitos respecto a los empiemas ($p < 0.05$), con una mediana de 1344 linfocitos $\times 10^3/\mu\text{L}$.

Tabla 9. Valores de las medianas y percentiles 25-75 de leucocitos, neutrófilos y linfocitos en líquido pleural según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
Leucocitos (x10³/μL)	Mediana	12000	4300	2450	1400	450
	Percentil 25-75	2425 – 38850	1100 – 9300	975 – 5375	1050 – 3425	200 - 913
Neutrófilos (x10³/μL)	Mediana	10080	938	282	198	40
	Percentil 25-75	1890 – 32559	237 – 6356	97 – 1047	68 – 465	11 - 199
Linfocitos (x10³/μL)	Mediana	790	1344	1896	1030	290
	Percentil 25-75	98 – 1640	349 – 3550	858 – 3471	475 – 2262	168 - 522

MARCADORES DE ACTIVACIÓN NEUTROFÍLICA EN LÍQUIDO PLEURAL

En la Tabla 10 se resumen los valores de las medianas y percentiles 25-75 de elastasa polimorfonuclear, IL-8 y TNF- α en líquido pleural según la etiología del derrame pleural. En las Figuras 1-3 se muestran las concentraciones de los marcadores de activación neutrofílica en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural, así como el grado de significación de la comparación de medias entre los grupos de estudio.

Los exudados mostraron valores superiores respecto a los trasudados ($p < 0.001$) en todos los parámetros inflamatorios estudiados.

Los DP infecciosos mostraron valores superiores de elastasa ($p < 0.001$) IL-8 ($p = 0.004$) y TNF- α ($p < 0.001$) respecto a los DP neoplásicos.

Las concentraciones de elastasa e IL-8 fueron marcadamente superiores en empiemas ($p < 0.001$) respecto al resto de DP infecciosos, con una mediana de 5578.0 $\mu\text{g/L}$ y 18114.0 pg/mL respectivamente.

El TNF- α adquirió concentraciones superiores en los DP tuberculosos, con una mediana de 150.5 pg/mL , mostrando diferencias significativas respecto a los DP paraneumónicos ($p < 0.001$), y respecto a los empiemas ($p = 0.026$). Los empiemas y DP paraneumónicos no complicados presentaron medianas de TNF- α en líquido pleural de 56.5 pg/mL y 24.0 pg/mL respectivamente, y se observaron diferencias significativas entre los dos grupos ($p = 0.015$).

Tabla 10 Valores de las medianas y percentiles 25-75 de elastasa, IL-8 y TNF- α en líquido pleural según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
ELASTASA ($\mu\text{g/L}$)	Mediana	5578.0	181.5	258.3	20.0	8.0
	Percentil 25-75	2524.3 – 9549.0	47.5 – 640.0	111.8 – 605.5	10.8 – 46.8	4.8 – 59.3
IL-8 (pg/mL)	Mediana	18114.0	17.0	75.0	105.0	3.0
	Percentil 25-75	1139.3 – 55515.0	3.5 – 496.5	48.8 – 203.0	18.8 – 253.3	1.0 – 11.3
TNF-α (pg/mL)	Mediana	56.5	24.0	150.5	14.0	7.0
	Percentil 25-75	15.8 – 215.5	12.5 – 44.5	90.5 – 242.5	8.8 – 22.5	3.8 – 10.3

Figura 1. Concentración de elastasa polimorfonuclear en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.

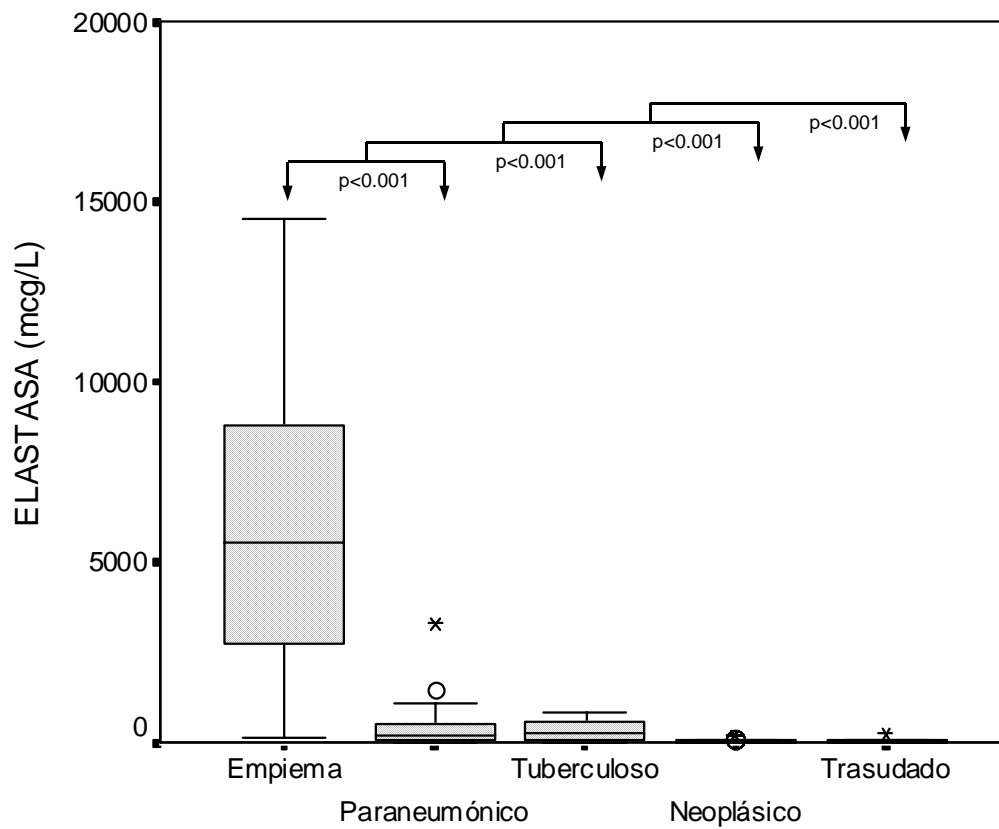


Figura 2. Concentración de IL-8 en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.

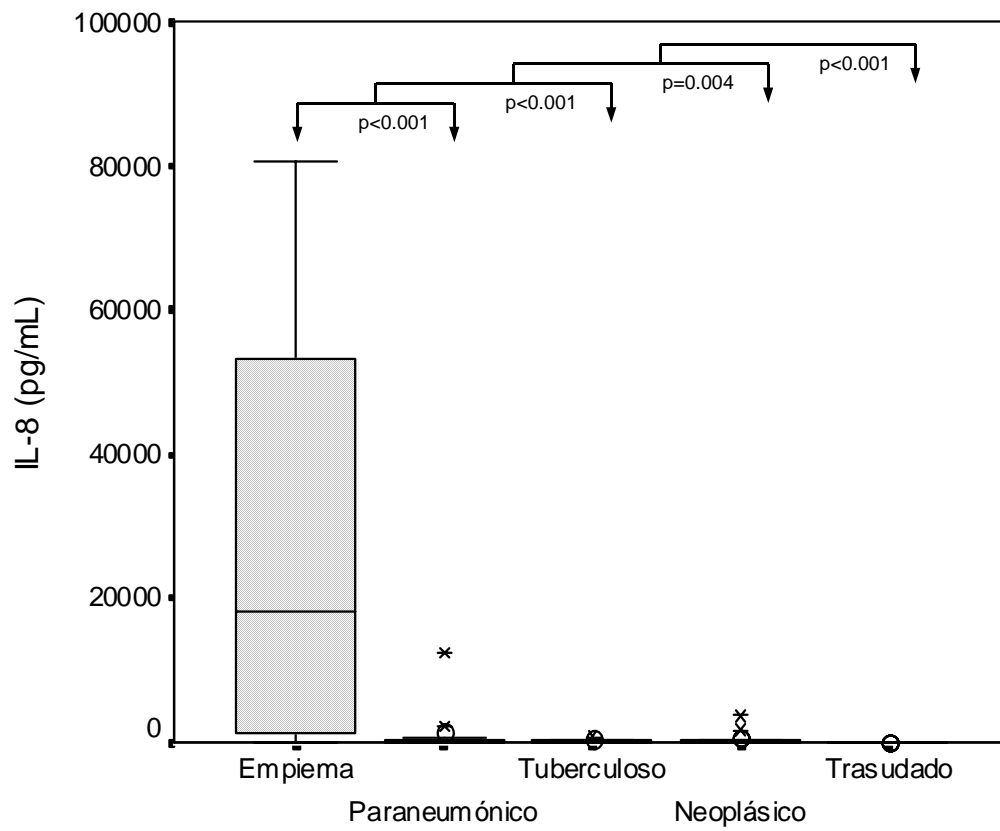
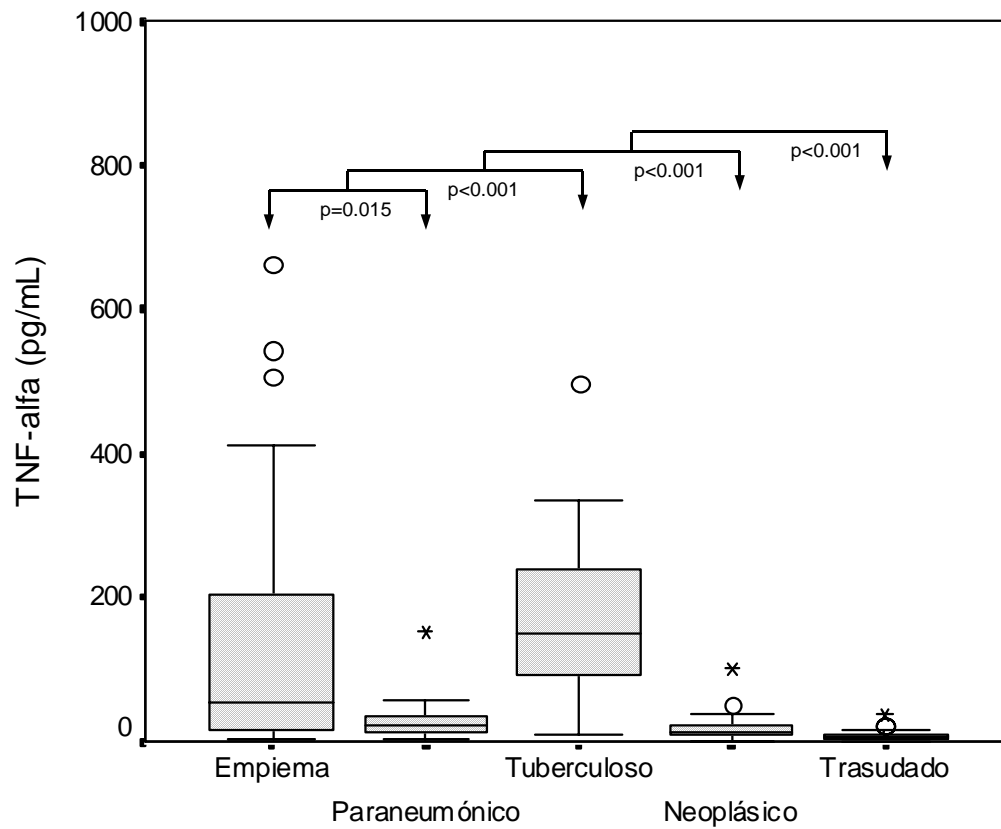


Figura 3. Concentración de TNF- α en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.



MARCADORES DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LÍQUIDO PLEURAL

En la Tabla 11 se resumen los valores de las medianas y percentiles 25-75 de t-PA, u-PA, PAI-1 Ag y PAI-2 Ag en líquido pleural según la etiología del derrame pleural. En las Figuras 4-7 se muestran las concentraciones de los marcadores del sistema de la fibrinólisis en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural, así como el grado de significación de la comparación de medias entre los grupos de estudio.

Los derrames pleurales exudados mostraron valores superiores de los marcadores del sistema de la fibrinólisis respecto a los trasudados ($p < 0.001$), excepto para el t-PA que mostró valores inferiores en los empiemas.

El t-PA presentó valores significativamente superiores en los DP neoplásicos respecto a los DP infecciosos ($p = 0.002$), con una mediana de 20.41 ng/mL. Entre los DP infecciosos, los DP paraneumónicos no complicados adquirieron los valores más elevados de t-PA, con una mediana de 21.32 ng/mL. Los empiemas, mostraron valores inferiores de t-PA frente a los DP tuberculosos ($p = 0.004$) y frente a los DP paraneumónicos no complicados ($p = 0.002$), con una mediana de 5.36 ng/mL.

Se observaron valores superiores de u-PA en empiemas y DP neoplásicos, con medianas de 2.50 ng/mL y 1.89 ng/mL respectivamente. Entre los DP infecciosos, los empiemas presentaron valores significativamente superiores de u-PA respecto a los DP tuberculosos ($p = 0.004$) y DP paraneumónicos no complicados ($p < 0.001$).

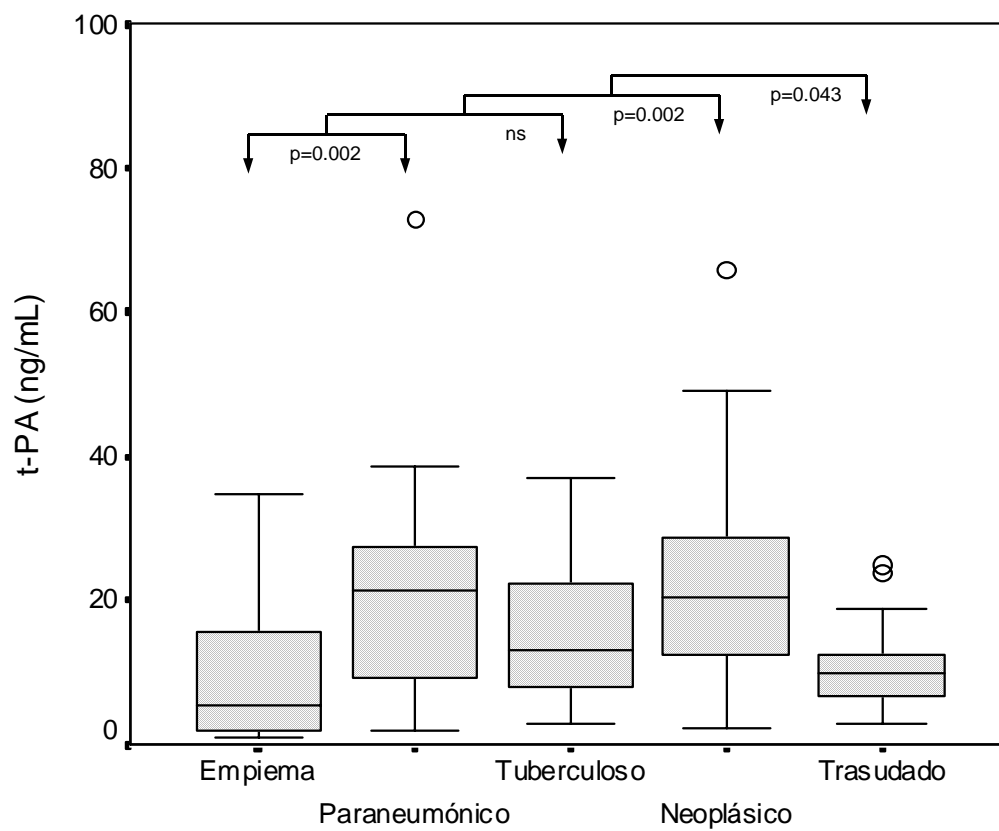
Los DP infecciosos mostraron concentraciones superiores de PAIs respecto a los DP neoplásicos ($p < 0.001$). PAI-1 Ag adquirió valores superiores en empiemas y DP tuberculosos, con medianas de 1772.2 ng/mL y 1500.1 ng/mL respectivamente, sin que se observaran diferencias significativas entre ellos. Se evidenciaron diferencias significativas entre los DP tuberculosos y el conjunto de DP paraneumónicos ($p < 0.001$) y entre los empiemas y los DP paraneumónicos no complicados ($p < 0.001$).

PAI-2 Ag no mostró diferencias significativas entre los diferentes DP infecciosos estudiados.

Tabla 11 Valores de las medianas y percentiles 25-75 de u-PA, t-PA, PAI-1 Ag y PAI-2 Ag en líquido pleural según la etiología del derrame pleural.

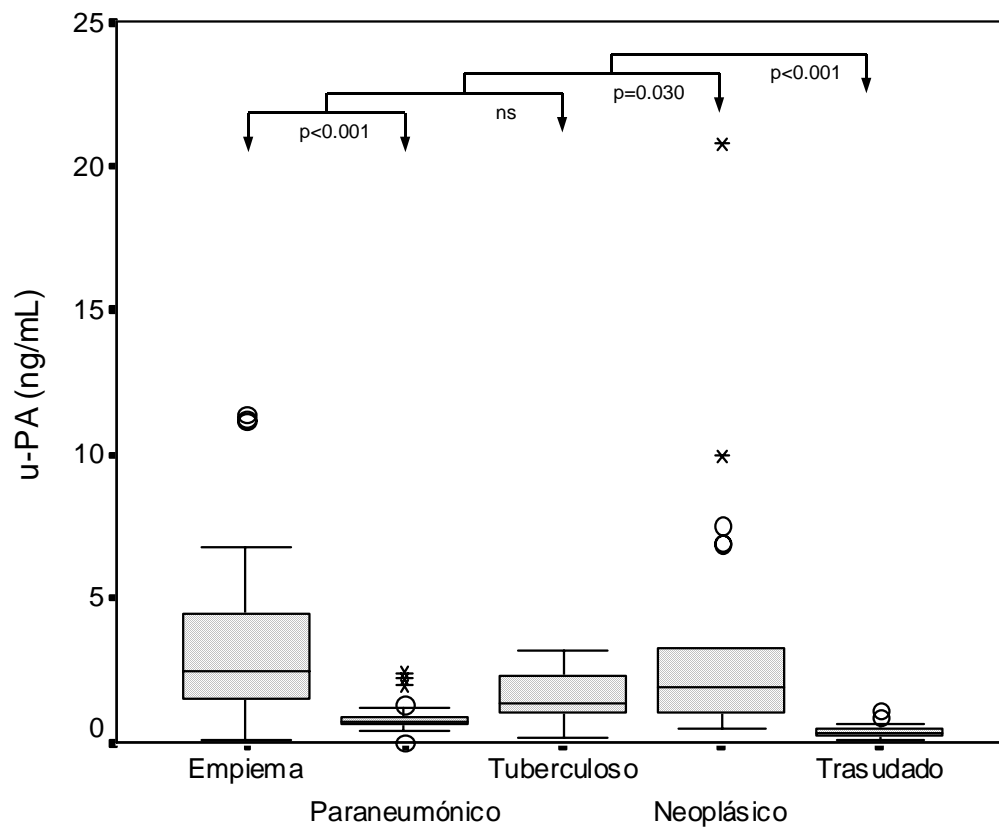
		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
t-PA (ng/mL)	Mediana	5.36	21.32	13.38	20.41	9.86
	Percentil 25-75	2.12 – 15.83	9.07 – 28.25	7.99 – 22.97	12.48 – 29.66	6.84 – 12.65
u-PA (ng/mL)	Mediana	2.50	0.78	1.36	1.89	0.35
	Percentil 25-75	1.51 – 4.50	0.60 – 1.05	1.06 – 2.30	1.04 – 4.15	0.24 – 0.49
PAI-1 Ag (ng/mL)	Mediana	1772.2	104.8	1500.1	213.0	15.6
	Percentil 25-75	979.6 – 1943.3	34.0 – 863.5	963.5 – 1769.8	52.9 – 567.3	11.3 – 28.8
PAI-2 Ag (ng/mL)	Mediana	74.87	48.63	58.08	26.75	6.65
	Percentil 25-75	41.03 – 132.62	11.60 – 110.59	20.85 – 89.74	10.07 – 35.33	3.84 – 16.26

Figura 4. Concentración de t-PA en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.



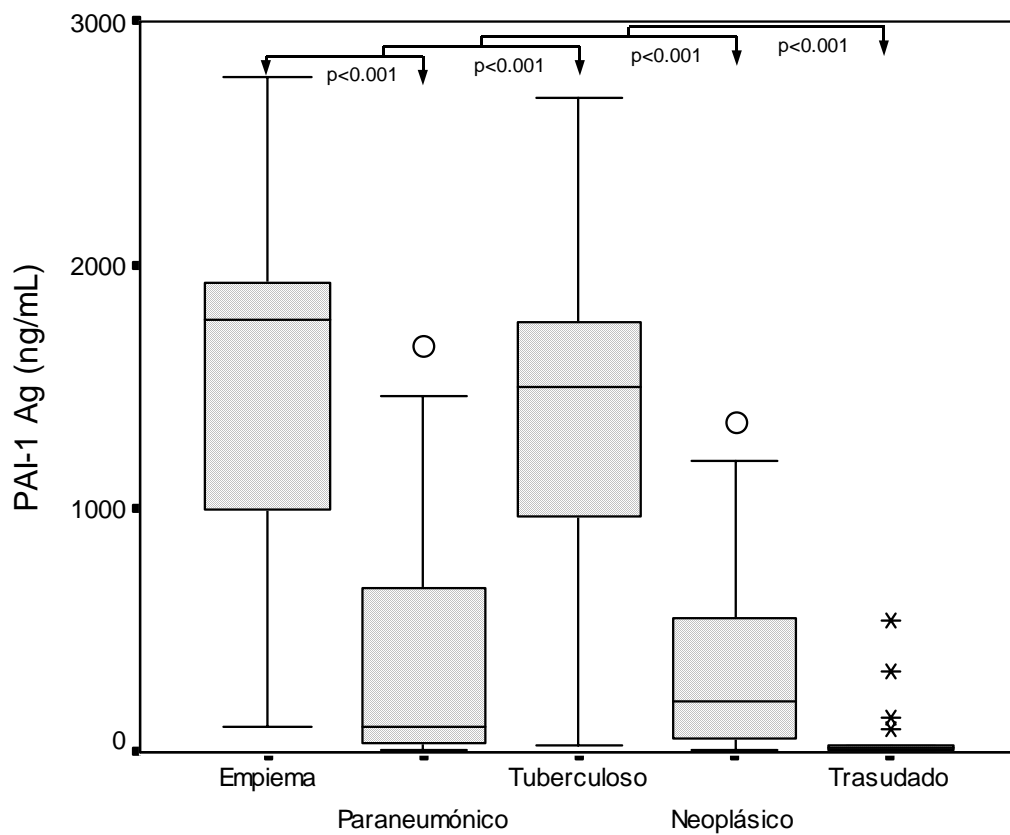
ns: No significativo ($p > 0.05$)

Figura 5. Concentración de u-PA en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.



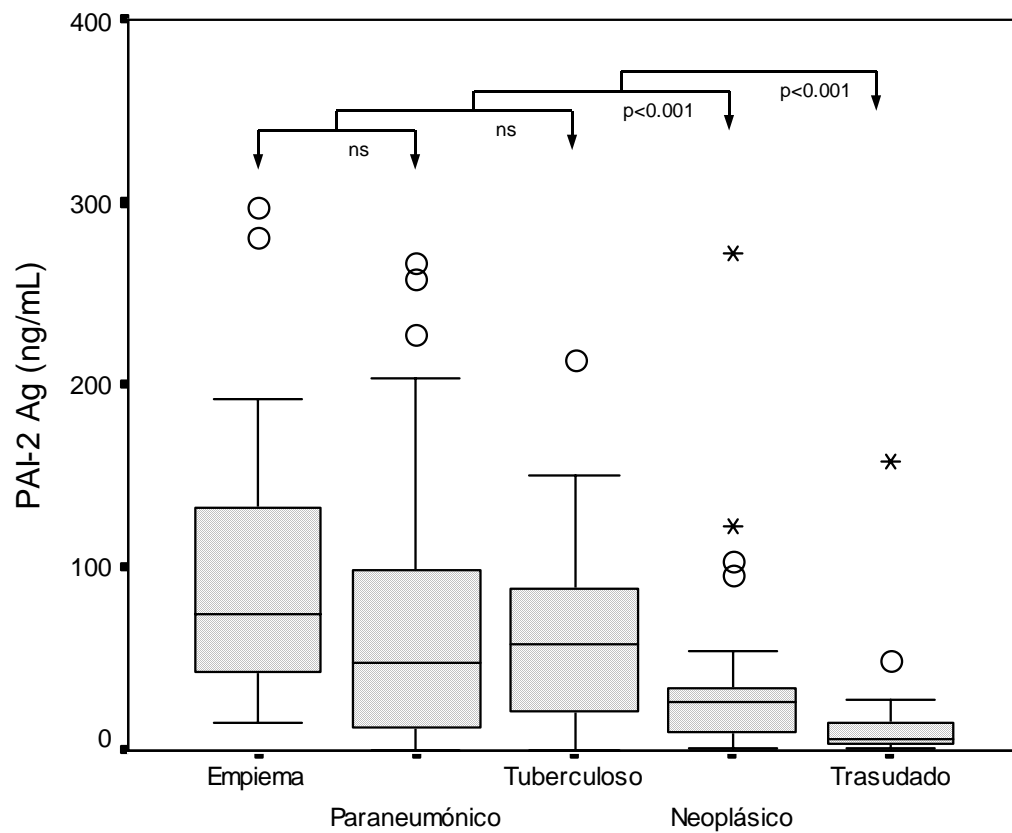
ns: No significativo ($p > 0.05$)

Figura 6. Concentración de PAI-1 Ag en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.



ns: No significativo ($p > 0.05$)

Figura 7. Concentración de PAI-2 Ag en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.



ns: No significativo ($p > 0.05$)

METALOPROTEINASAS E INHIBIDORES TISULARES DE METALOPROTEINASAS EN LÍQUIDO PLEURAL

En la Tabla 12 se resumen los valores de las medianas y percentiles 25-75 de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en líquido pleural según la etiología del derrame pleural. En las Figuras 8-13 se muestran las concentraciones de las metaloproteinasas e inhibidores tisulares de metaloproteinasas en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural, así como el grado de significación de la comparación de medias entre los grupos de estudio.

Todos los líquidos pleurales estudiados (exudados y trasudados), presentaron concentraciones elevadas de MMP-2 y TIMP-1, si los comparamos con el resto de las MMPs y TIMP-2, con medianas que oscilaron entre 1170.6 ng/mL en los empiemas y 1899.7 ng/mL en los DP tuberculosos para la MMP-2, y entre 12100.0 ng/mL en los trasudados y 32850.0 ng/mL en los DP tuberculosos para el TIMP-1.

Los exudados presentaron valores superiores y con significación estadística ($p < 0.001$) de MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9 y TIMP-1 respecto a los trasudados.

La MMP-1, MMP-8 y MMP-9 mostraron valores significativamente superiores en el grupo de DP infecciosos respecto a los DP neoplásicos ($p = 0.020$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, respectivamente). Los empiemas y DP paraneumónicos complicados presentaron concentraciones de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 significativamente superiores frente a los DP tuberculosos ($p = 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, respectivamente) y DP paraneumónicos no complicados ($p = 0.001$, $p < 0.001$,

p=0.005, respectivamente), con medianas de 11.79 ng/mL, 1302.5 ng/mL y 292.9 ng/mL respectivamente.

La MMP-2 adquirió valores inferiores en empiemas respecto al resto de exudados infecciosos y neoplásicos ($p < 0.001$). Los DP tuberculosos mostraron las concentraciones más elevadas de MMP-2 con una mediana de 1899.7 ng/mL.

Los DP infecciosos mostraron valores superiores de TIMP-1 ($p < 0.001$) respecto a los DP neoplásicos. Entre los DP infecciosos, los DP tuberculosos presentaron niveles superiores de TIMP-1, con una mediana de 32850.0 ng/mL, y mostraron diferencias significativas respecto a los DP paraneumónicos ($p = 0.005$).

No se observaron diferencias significativas entre exudados y trasudados respecto a TIMP-2. Sin embargo, en el grupo de estudio, el TIMP-2 presentó valores superiores en los DP neoplásicos respecto a los DP infecciosos ($p = 0.029$), con una mediana de 101.6 ng/mL. Tampoco se observaron diferencias significativas entre los diferentes DP infecciosos respecto a TIMP-2.

Tabla 12 Valores de las medianas de las metaloproteinasas y de los inhibidores tisulares de metaloproteinasas en líquido pleural según la etiología del derrame pleural.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
MMP-1 (ng/mL)	Mediana	11.79	4.83	5.18	3.81	1.79
	Perc. 25-75	6.77 – 19.88	3.20 – 6.89	3.37 – 7.56	2.14 – 5.11	1.70 – 2.50
MMP-2 (ng/mL)	Mediana	1170.6	1741.6	1899.7	1578.3	1257.8
	Perc. 25-75	230.6 – 1341.8	1601.3 – 2127.5	1679.4 – 2624.7	1330.5 – 2085.2	1078.1 – 1493.3
MMP-8 (ng/mL)	Mediana	1302.5	59.4	85.2	3.5	1.2
	Perc. 25-75	275.3 – 1518.0	10.7 – 295.8	17.2 – 121.2	1.7 – 12.0	0.5 – 2.5
MMP-9 (ng/mL)	Mediana	292.9	49.2	69.7	8.1	4.0
	Perc. 25-75	174.4 – 415.6	9.2 – 196.4	44.7 – 137.1	5.0 – 32.5	2.2 – 7.8
TIMP-1 (ng/mL)	Mediana	24000.0	23600.0	32850.0	17300.0	12100.0
	Perc. 25-75	6582 – 32625	17500 – 30950	22725 - 36325	13200 – 22100	11475 – 13675
TIMP-2 (ng/mL)	Mediana	81.6	66.0	91.8	101.6	59.6
	Perc. 25-75	52.6 – 130.1	52.2 – 87.5	70.2 – 112.3	77.4 – 139.1	46.1 – 98.5

Figura 8. Concentración de MMP-1 en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.

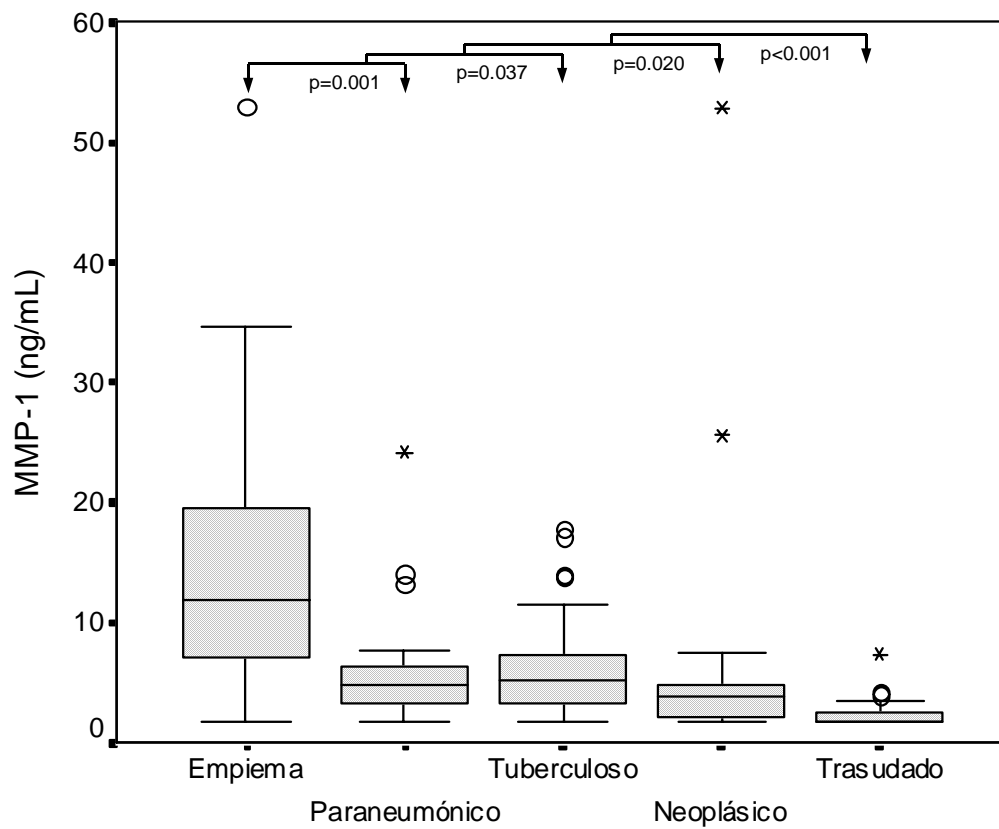
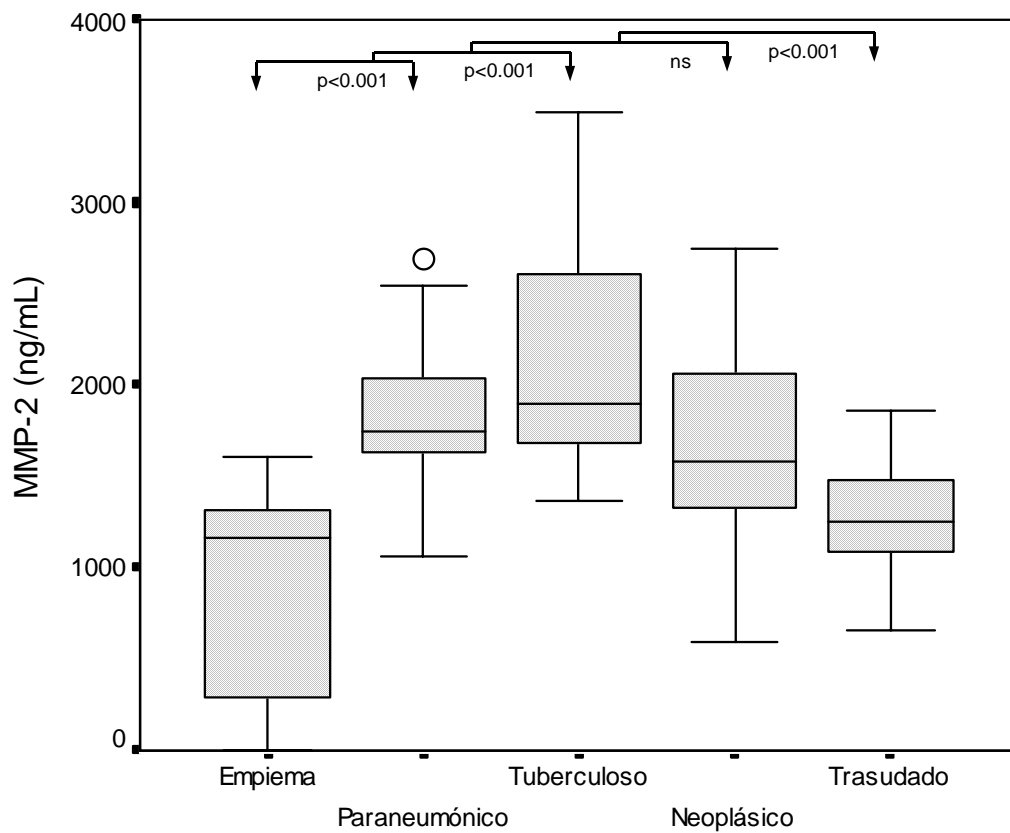


Figura 9. Concentración de MMP-2 en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.



ns: No significativo ($p > 0.05$)

Figura 10. Concentración de MMP-8 en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.

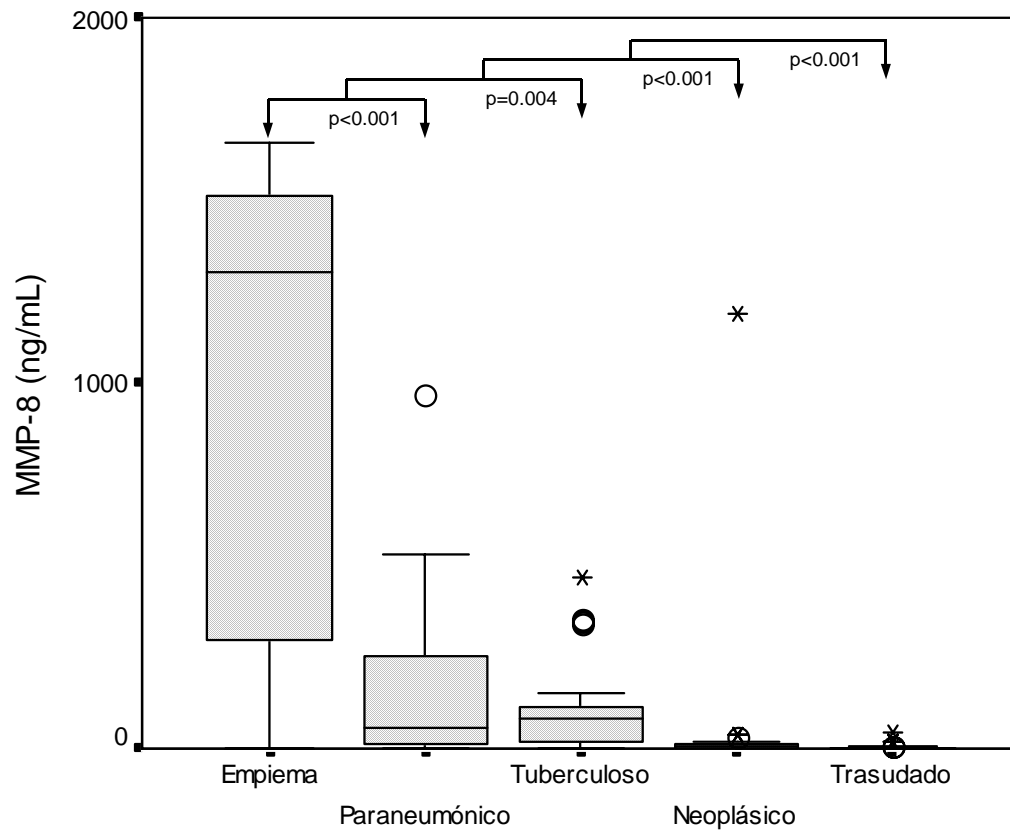


Figura 11. Concentración de MMP-9 en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.

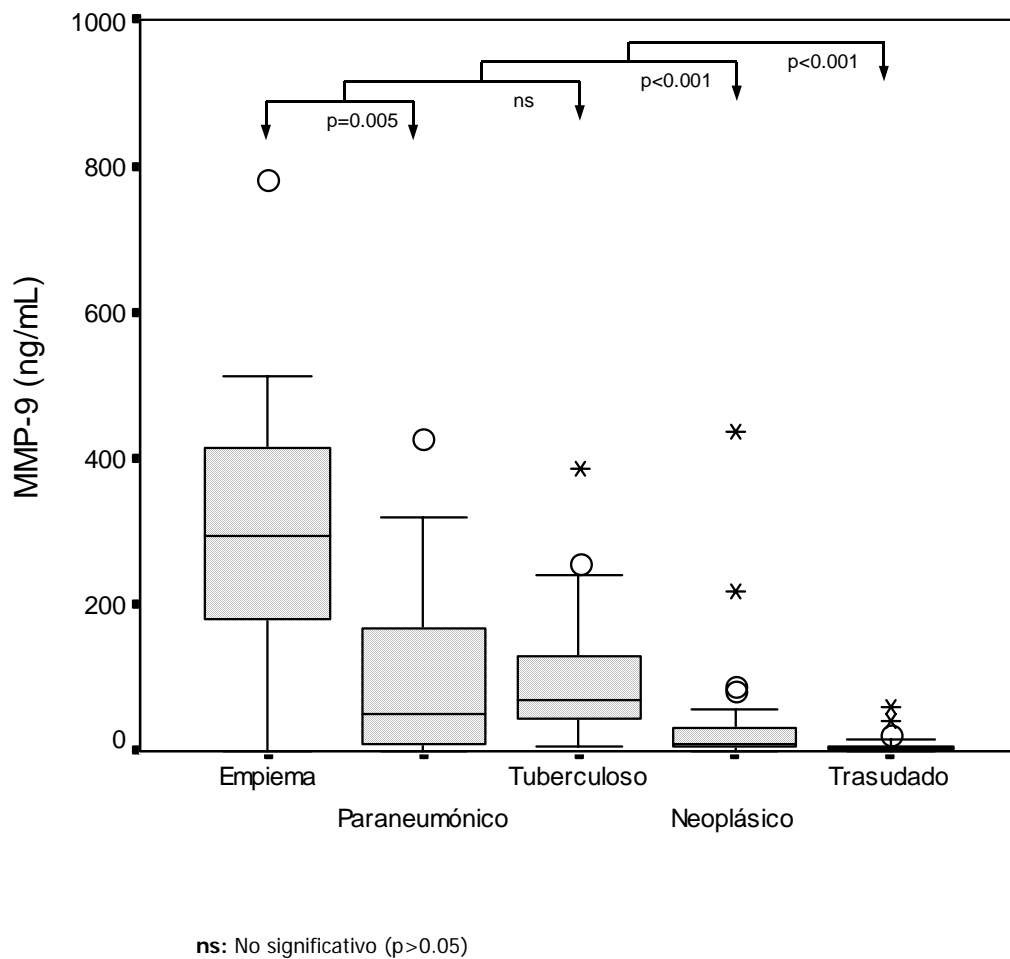
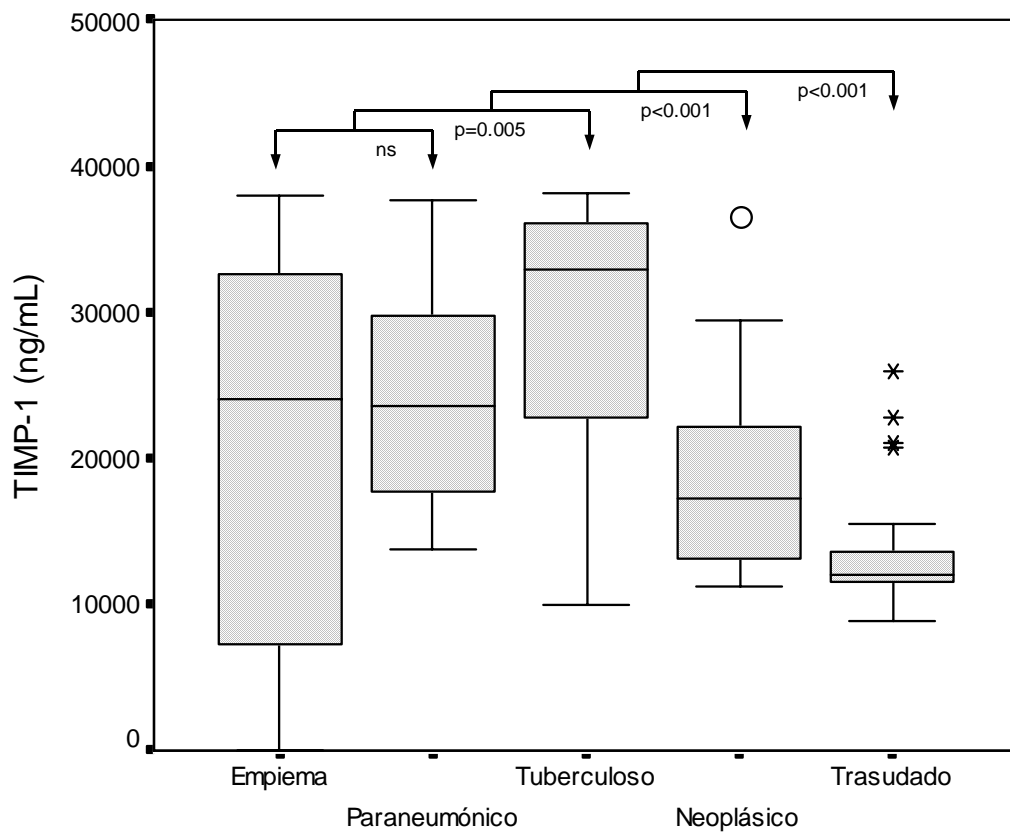
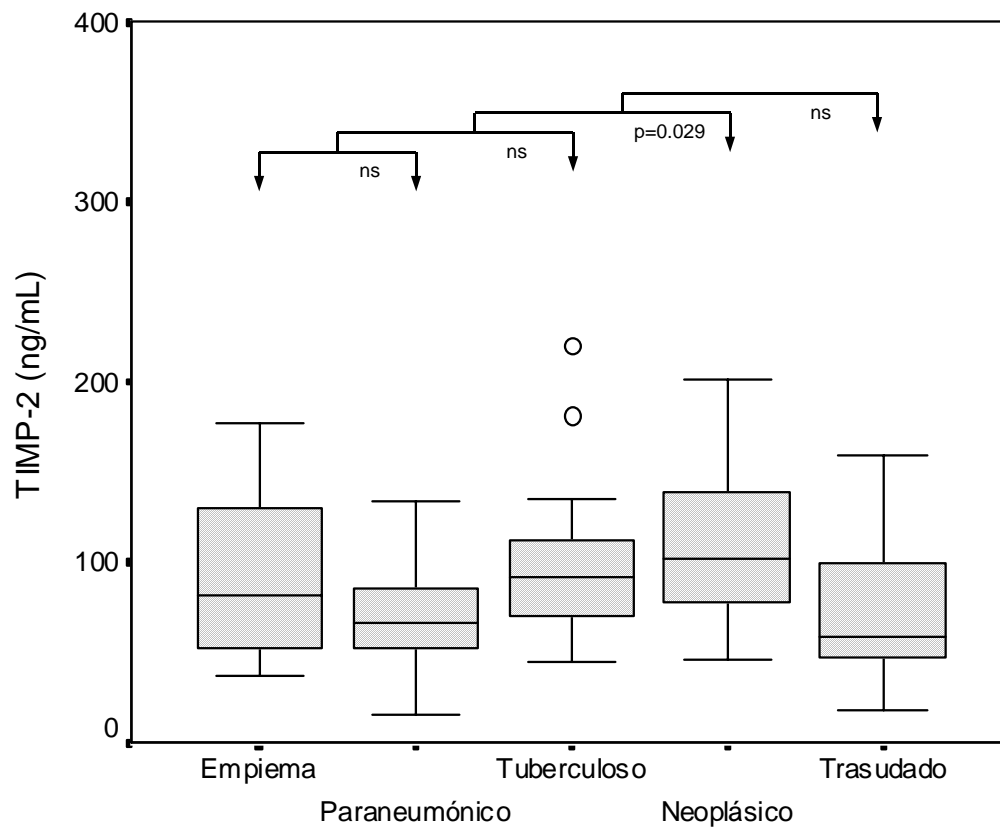


Figura 12. Concentración de TIMP-1 en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.



ns: No significativo ($p > 0.05$)

Figura 13. Concentración de TIMP-2 en líquido pleural en los diferentes grupos etiológicos de derrame pleural.



ns: No significativo ($p > 0.05$)

1.3 COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS MMPs Y TIMPs ENTRE PLASMA Y LÍQUIDO PLEURAL

La Tabla 13 expresa los valores de las medianas de las MMPs y TIMPs en plasma y líquido pleural y el grado de significación de las diferencias entre las medias de MMPs y TIMPs en líquido pleural y plasma en los diferentes grupos de estudio.

Los DP infecciosos muestran valores superiores en líquido pleural respecto a plasma de MMP-1, MMP-2, MMP-8 y TIMP-1 ($p < 0.01$), excepto para MMP-1 en los DP paraneumónicos no complicados. MMP-9 muestra valores superiores en líquido pleural respecto a plasma tan sólo en los empiemas, sin alcanzar significación estadística ($p = 0.12$).

Los DP neoplásicos y los trasudados muestran valores superiores de MMP-2 y TIMP-1 en líquido pleural respecto a plasma ($p < 0.01$), y valores significativamente inferiores en líquido pleural respecto a plasma de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 ($p < 0.01$), excepto para MMP-1 en los DP neoplásicos en los que no alcanza significación estadística.

Respecto a TIMP-2, no se observan diferencias significativas entre los valores plasmáticos y en líquido pleural en los diferentes grupos de estudio. En el grupo de trasudados, TIMP-2 alcanza niveles significativamente superiores en plasma respecto al líquido pleural ($p < 0.01$).

Tabla 13. Valores de las medianas de las MMPs y TIMPs en plasma y líquido pleural según la etiología del derrame pleural. Diferencias entre las medias de los niveles de las MMPs y TIMPs en líquido pleural y plasma en los diferentes grupos de estudio.

Medianas (ng/mL)	Empiema (n=30)	Paraneumónico no complicado (n=21)	Tuberculoso (n=28)	Neoplásico (n=30)	Trasudado (n=30)
Pleura / plasma	11.8 / 5.37	4.83 / 5.08	5.18 / 2.93	3.81 / 4.64	1.79 / 4.70
MMP-1	p<0.01	ns	p<0.01	ns	p<0.01
Pleura / plasma	1170.6 / 551.5	1741.6 / 528.9	1899.7 / 420.7	1578.3 / 527.8	1257.8 / 983.0
MMP-2	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
Pleura / plasma	1302.5 / 30.7	59.4 / 10.9	85.2 / 8.4	3.46 / 16.6	1.23 / 10.6
MMP-8	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
Pleura / plasma	292.9 / 194.0	49.2 / 136.9	69.7 / 75.5	8.14 / 179.8	3.98 / 109.38
MMP-9	ns	ns	ns	p<0.01	p<0.01
Pleura / plasma	24000.0 / 1439.8	23600.0 / 1187.4	32850.0 / 809.5	17300.0 / 970.9	12100.0 / 1610.5
TIMP-1	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
Pleura / plasma	81.6 / 84.3	66.0 / 58.7	91.8 / 88.2	101.6 / 103.3	59.6 / 136.9
TIMP-2	ns	ns	ns	ns	p<0.01

p: Significación **ns:** No significativo (p>0.05)

2. ASOCIACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE ESTUDIO

2.1 ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs EN LÍQUIDO PLEURAL EN LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS

En la Tabla 14 se resume el grado de asociación entre las diferentes metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en el líquido pleural de los derrames pleurales paraneumónicos (n=51).

Existe una asociación positiva entre MMP-1, MMP-8 y MMP-9 ($p < 0.001$). MMP-8 se asocia de forma negativa con MMP-2 ($p < 0.01$). Además, MMP-1 y MMP-9 se asocian de forma positiva con TIMP-1 ($p < 0.05$ y $p < 0.001$ respectivamente), y MMP-8 y MMP-9 muestran una correlación positiva con TIMP-2 ($p < 0.05$).

Tabla 14. Asociación entre los niveles de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en líquido pleural en los derrames pleurales paraneumónicos (n=51).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
MMP-1	r	1	-0.141	0.619***	0.577***	0.300*	0.155
MMP-2	r		1	-0.406**	-0.184	0.271	-0.175
MMP-8	r			1	0.724***	0.254	0.332*
MMP-9	r				1	0.562***	0.277*
TIMP-1	r					1	0.216
TIMP-2	r						1

r: coeficiente de correlación de Spearman

*: p<0.05

** : p<0.01

***: p<0.001

2.2 ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs EN PLASMA Y LÍQUIDO PLEURAL

En la Tabla 15 se resume la asociación entre los niveles de MMPs y TIMPs en plasma y líquido pleural en los DP exudados, DP infecciosos, DP paraneumónicos y en los empiemas.

En los DP paraneumónicos complicados y empiemas, no se observa asociación entre los niveles en líquido pleural y plasma de las MMPs y TIMPs estudiados. Estos resultados se mantienen en los DP paraneumónicos, excepto para la MMP-8, que muestra una asociación positiva entre los valores plasmáticos y de líquido pleural.

En los DP infecciosos y exudados, observamos una asociación positiva entre los niveles plasmáticos y en líquido pleural de MMP-1 y MMP-8. Además, existe una asociación negativa entre los niveles en líquido pleural y plasma para TIMP-1 en los DP infecciosos, así como una asociación positiva para TIMP-2 en los DP exudados.

Tabla 15. Asociación de los niveles de metaloproteinasas e inhibidores tisulares entre plasma y líquido pleural en diferentes grupos de estudio.

		Empiema (n=30)	Paraneumónico (n=51)	Infeccioso (n=79)	Exudado (n=109)
Pleura / plasma	r	-0.13	0.17	0.33	0.37
MMP-1	p	ns	ns	0.003	<0.001
Pleura / plasma	r	-0.11	0.01	-0.12	-0.09
MMP-2	p	ns	ns	ns	ns
Pleura / plasma	r	-0.06	0.37	0.42	0.37
MMP-8	p	ns	0.007	<0.001	<0.001
Pleura / plasma	r	0.13	0.20	0.18	0.14
MMP-9	p	ns	ns	ns	ns
Pleura / plasma	r	-0.154	-0.08	-0.28	-0.11
TIMP-1	p	ns	ns	0.01	ns
Pleura / plasma	r	0.02	0.18	0.15	0.21
TIMP-2	p	ns	ns	ns	0.03

r: Coeficiente de correlación de Spearman

p: Significación

ns: No significativo ($p > 0.05$)

2.3 ASOCIACIÓN ENTRE EL RECuento LEUCOCITARIO Y LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs EN LÍQUIDO PLEURAL

En la Tabla 16 se resume la asociación entre el recuento leucocitario y el recuento diferencial de neutrófilos y linfocitos, con los niveles de las MMPs y TIMPs en el líquido pleural en los DP exudados, DP infecciosos, DP paraneumónicos, y empiemas.

En los DP exudados se observa una asociación positiva de MMP-8, MMP-9 y TIMP-1 con la cifra de leucocitos y neutrófilos en el líquido pleural, así como una asociación positiva de MMP-1 con el recuento de neutrófilos. MMP-2 se asocia de forma negativa con el recuento leucocitario y neutrofílico en el líquido pleural.

En los DP infecciosos se observa una asociación positiva de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 con la cifra de neutrófilos en el líquido pleural, mientras que estas tres metaloproteinasas se asocian de forma negativa con la cifra de linfocitos. MMP-2 se asocia de forma positiva con la cifra de linfocitos en líquido pleural, y de forma negativa con el recuento leucocitario y de neutrófilos.

En los derrames pleurales paraneumónicos se observa una asociación negativa de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 con el recuento diferencial de linfocitos en el líquido pleural.

En los empiemas no se observa asociación entre los valores de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares con el recuento celular y el recuento diferencial leucocitario en el líquido pleural.

Tabla 16. Asociación entre los niveles de las MMPs y TIMPs y el recuento celular leucocitario en el líquido pleural.

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
Exudados (n=109)	Leucocitos	ns	-0.234*	0.323**	0.288**	0.189*	ns
	Neutrófilos	r 0.351**	-0.387**	0.584**	0.506**	0.289**	ns
	Linfocitos	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Infeciosos (n=79)	Leucocitos	ns	-0.277*	ns	ns	ns	ns
	Neutrófilos	r 0.235*	-0.444**	0.419**	0.370**	ns	ns
	Linfocitos	-0.315**	0.306**	-0.372**	-0.313**	ns	ns
Paraneumónicos (n=51)	Leucocitos	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Neutrófilos	r ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Linfocitos	-0.338*	ns	-0.409**	-0.316*	ns	ns
Empiemas (n=30)	Leucocitos	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Neutrófilos	r ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Linfocitos	ns	ns	ns	ns	ns	ns

r: coeficiente de correlación de Spearman
ns: No significativo ($p > 0.05$)

*: $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

2.4. ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs CON LOS MARCADORES DE ACTIVACIÓN NEUTROFÍLICA Y DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LÍQUIDO PLEURAL

ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs Y LOS MARCADORES INFLAMATORIOS Y DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES PLEURALES EXUDADOS

Tal y como se expresa en las Tablas 17.1 y 17.2, MMP-1, MMP-8 y MMP-9 se asocian de forma positiva con los marcadores inflamatorios (elastasa, IL-8, TNF- α), con el u-PA y con los PAIs. MMP-8 se asocia, además, de forma negativa con el t-PA. La MMP-2 se asocia de forma negativa con elastasa, IL-8 y u-PA y de forma positiva con el t-PA.

TIMP-1 se asocia de forma positiva con elastasa, TNF- α , t-PA y los PAIs. TIMP-2 sólo muestra asociación positiva con u-PA.

Tabla 17.1. Asociación entre los marcadores inflamatorios (elastasa, IL-8, TNF- α) y MMPs y TIMPs en líquido pleural en los DP exudados (n=109).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
Elastasa	r	0.485**	-0.443**	0.809**	0.662**	0.370**	-0.072
IL-8	r	0.454**	-0.590**	0.540**	0.436**	-0.002	0.155
TNF-α	r	0.371**	-0.013	0.534**	0.556**	0.526**	0.121

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

Tabla 17.2. Asociación entre los marcadores del sistema de la fibrinólisis (u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag) y MMPs y TIMPs en líquido pleural en los DP exudados (n=109).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
t-PA	r	-0.178	0.343**	-0.250**	-0.124	0.251**	0.068
u-PA	r	0.247**	-0.309**	0.290**	0.243*	0.133	0.341**
PAI-1 Ag	r	0.450**	-0.152	0.647**	0.654**	0.446**	0.111
PAI-2 Ag	r	0.337**	-0.112	0.446**	0.455**	0.472**	0.012

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs Y LOS MARCADORES INFLAMATORIOS Y DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES PLEURALES INFECCIOSOS

Tal y como se resume en las Tablas 18.1 y 18.2, MMP-8 y MMP-9 se asocian de forma positiva con los marcadores inflamatorios (elastasa, IL-8, TNF- α), con el u-PA y con los PAIs. MMP-1 mantiene una asociación positiva con elastasa, IL-8, u-PA y PAI-1 Ag. MMP-2 se correlaciona de forma negativa con elastasa, IL-8 y u-PA y de forma positiva con el t-PA.

TIMP-1 se asocia de forma positiva con TNF- α , t-PA y los PAIs. TIMP-2 muestra una correlación positiva con TNF- α , u-PA y PAI-1 Ag.

Tabla 18.1. Asociación entre los marcadores inflamatorios (elastasa, IL-8, TNF- α) y las MMPs y TIMPs en líquido pleural en los DP infecciosos (n=79).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
Elastasa	r	0.441**	-0.654**	0.743**	0.559**	0.128	0.109
IL-8	r	0.433**	-0.663**	0.617**	0.441**	-0.149	0.141
TNF-α	r	0.179	0.050	0.274*	0.333**	0.424**	0.332**

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

Tabla 18.2. Asociación entre los marcadores del sistema de la fibrinólisis (u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag) y las MMPs y TIMPs en líquido pleural en los DP infecciosos (n=79).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
t-PA	r	-0.128	0.468**	-0.198	-0.048	0.429**	0.009
u-PA	r	0.336**	-0.384**	0.546**	0.344*	0.146	0.336**
PAI-1 Ag	r	0.410**	-0.209	0.534**	0.578**	0.313**	0.291
PAI-2 Ag	r	0.201	-0.099	0.263*	0.280*	0.316**	0.030

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs Y LOS MARCADORES INFLAMATORIOS Y DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS

En las Tablas 19.1 y 19.2 se expresa la asociación entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares y los marcadores de actividad neutrofílica y de sistema de la fibrinólisis en el líquido pleural de los derrames pleurales paraneumónicos.

Observamos una asociación positiva de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 con los marcadores inflamatorios, con el u-PA y PAI-1 Ag. Sin embargo, MMP-2 muestra una asociación negativa con los marcadores inflamatorios, elastasa e IL-8, y con los marcadores del sistema de la fibrinólisis u-PA y PAI-1 Ag. Además, MMP-2 se asocia de forma positiva con t-PA.

TIMP-1 mantiene la asociación positiva con TNF- α , t-PA y PAI-1 Ag, mientras que TIMP-2 se correlaciona de forma positiva con TNF- α y u-PA.

Tabla 19.1. Asociación entre los marcadores inflamatorios (elastasa, IL-8, TNF- α) y las MMPs y TIMPs en líquido pleural en los DP paraneumónicos (n=51).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
Elastasa	r	0.433**	-0.726**	0.677**	0.434**	-0.009	0.187
IL-8	r	0.416**	-0.673**	0.629**	0.368**	-0.192	0.170
TNF-α	r	0.398**	-0.233	0.544*	0.548**	0.441**	0.396**

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

Tabla 19.2. Asociación entre los marcadores del sistema de la fibrinólisis (u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag) y MMPs y TIMPs en líquido pleural en los DP paraneumónicos (n=51).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
t-PA	r	-0.039	0.646**	-0.250	0.047	0.469**	0.077
u-PA	r	0.498**	-0.560**	0.726**	0.481**	0.077	0.407**
PAI-1 Ag	r	0.532**	-0.443**	0.805**	0.739**	0.345*	0.243
PAI-2 Ag	r	0.116	-0.150	0.193	0.281*	0.272	-0.028

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs Y LOS MARCADORES INFLAMATORIOS Y DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS EMPIEMAS

Tal y como se observa en la Tablas 20.1 y 20.2, la MMP-2 mantiene una asociación negativa con elastasa, IL-8 y PAI-2 Ag y positiva con t-PA. MMP-8 se asocia de forma positiva con IL-8, TNF- α , u-PA y PAI-1 Ag, y MMP-9 mantiene una correlación positiva con TNF- α , PAI-1 Ag, y también con el t-PA.

TIMP-1 mantiene la asociación positiva con TNF- α , t-PA y PAI-1 Ag, y muestra una asociación negativa con IL-8. TIMP-2 se correlaciona de forma positiva con u-PA.

Tabla 20.1. Asociación entre los marcadores inflamatorios (elastasa, IL-8, TNF- α) y las MMPs y TIMPs en líquido pleural en losempiemas (n=30).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
Elastasa	r	0.071	-0.605**	0.356	-0.130	-0.302	0.082
IL-8	r	0.187	-0.410*	0.417*	-0.002	-0.431*	-0.021
TNF-α	r	0.318	0.099	0.396*	0.444**	0.429*	0.269

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

Tabla 20.2. Asociación entre los marcadores del sistema de la fibrinolisis (u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag) y las MMPs y TIMPs en líquido pleural en losempiemas (n=30).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
t-PA	r	0.265	0.630**	0.125	0.370*	0.631**	0.248
u-PA	r	0.296	-0.306	0.610**	0.131	0.044	0.394*
PAI-1 Ag	r	0.252	0.013	0.595**	0.671**	0.515**	0.279
PAI-2 Ag	r	-0.194	-0.382*	-0.079	0.072	0.146	-0.008

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE MMPs Y TIMPs Y LOS MARCADORES INFLAMATORIOS Y DEL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS EN LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS NO COMPLICADOS

Tal y como se expresa en las Tablas 21.1 y 21.2, MMP-1, MMP-8, MMP-9 y TIMP-1 se asocian de forma positiva con elastasa y PAI-1 Ag. PAI-2 Ag muestra también una correlación positiva con MMP-8, MMP-9 y TIMP-1, y además con MMP-2.

Tabla 21.1. Asociación entre los marcadores inflamatorios (elastasa, IL-8, TNF- α) y las MMPs y TIMPs en líquido pleural en los DP paraneumónicos no complicados (n=21).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
Elastasa	r	0.488*	0.197	0.748**	0.665**	0.764**	-0.040
IL-8	r	-0.041	-0.027	0.275	0.136	0.186	0.167
TNF-α	r	0.108	-0.220	0.366	0.146	0.427	0.422

r: coeficiente de correlación de Spearman *: p<0.05 **: p<0.01

Tabla 21.2. Asociación entre los marcadores del sistema de la fibrinólisis (u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag) y las MMPs y TIMPs en líquido pleural en los DP paraneumónicos no complicados (n=21).

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
t-PA	r	0.049	0.370	-0.269	0.269	0.361	-0.182
u-PA	r	0.094	-0.213	0.164	0.126	0.216	0.147
PAI-1 Ag	r	0.552**	0.330	0.726**	0.683**	0.597**	-0.095
PAI-2 Ag	r	0.342	0.626*	0.479*	0.514*	0.570**	-0.240

r: coeficiente de correlación de Spearman

*: p<0.05

** : p<0.01

3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES DE LAS MMPs Y TIMPs EN LÍQUIDO PLEURAL

Se ha realizado un estudio de correlación para determinar el grado de asociación entre las diferentes metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en el líquido pleural (Tabla 22).

Se observa una asociación positiva, con significación estadística ($p < 0.001$), entre MMP-1, MMP-8, MMP-9 y TIMP-1. La MMP-2 se asocia de forma positiva con TIMP-1 ($p < 0.01$), y existe una asociación positiva en el límite de la significación entre los dos TIMPs ($p = 0.035$).

Posteriormente se ha aplicado el análisis factorial o de componentes principales a las MMPs y TIMPs en los derrames pleurales exudados (Tabla 23 y Figura 14), y se ha objetivado que se resumen en tres componentes:

- **Componente 1:** Representado por MMP-1, MMP-8 y MMP-9. Al analizar este componente atendiendo a los diferentes grupos etiológicos estudiados, se observan diferencias significativas entre los DP neoplásicos ($n=30$) e infecciosos ($n=79$), de manera que los DP infecciosos muestran valores superiores del componente 1 respecto a los DP neoplásicos ($p < 0.001$) (Figura 15).

- **Componente 2:** Representado por MMP-2. Al analizar este componente atendiendo a los diferentes grupos etiológicos estudiados, no se observan diferencias significativas entre los DP neoplásicos (n=30) e infecciosos (n=79) ($p=0.405$) (Figura 16). Al comparar los DP tuberculosos (n=28) y los DP paraneumónicos (n=51), se observa que los DP tuberculosos muestran valores significativamente superiores del componente 2 respecto a los DP paraneumónicos ($p<0.001$) (Figura 17).

- **Componente 3:** Representado por TIMP-2.

El TIMP-1 se sitúa entre el componente 1 y el componente 2, mostrando una asociación positiva con ambos.

Tabla 22. Asociación entre los valores de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en líquido pleural.

		MMP-1	MMP-2	MMP-8	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
MMP-1	r	1	-0.023	0.694***	0.675***	0.474***	0.126
MMP-2	r		1	-0.110	-0.005	0.291**	-0.003
MMP-8	r			1	0.863***	0.558***	0.078
MMP-9	r				1	0.633***	0.098
TIMP-1	r					1	0.179*
TIMP-2	r						1

r: coeficiente de correlación de Spearman

*: p<0.05

** : p<0.01

***: p<0.001

Tabla 23. Análisis de componentes principales de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en el líquido pleural.

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
MMP-1	0.776	-0.168	0.077
MMP-2	-0.307	0.853	-0.127
MMP-8	0.920	-0.083	-0.050
MMP-9	0.912	0.169	0.048
TIMP-1	0.531	0.700	0.175
TIMP-2	0.020	-0.023	0.992

Figura 14. Gráfico de componentes principales de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en líquido pleural.

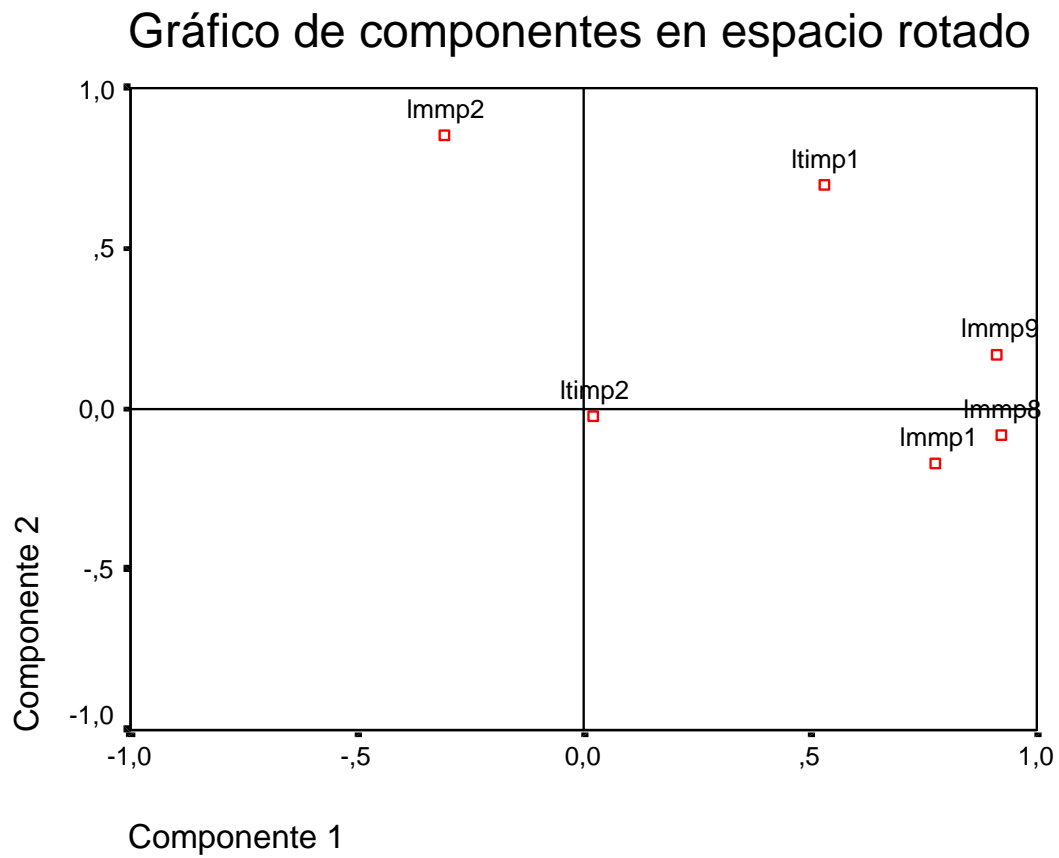


Figura 15. Diferencias en el Componente 1 (MMP-1, MMP-8, MMP-9) entre los DP infecciosos y neoplásicos.

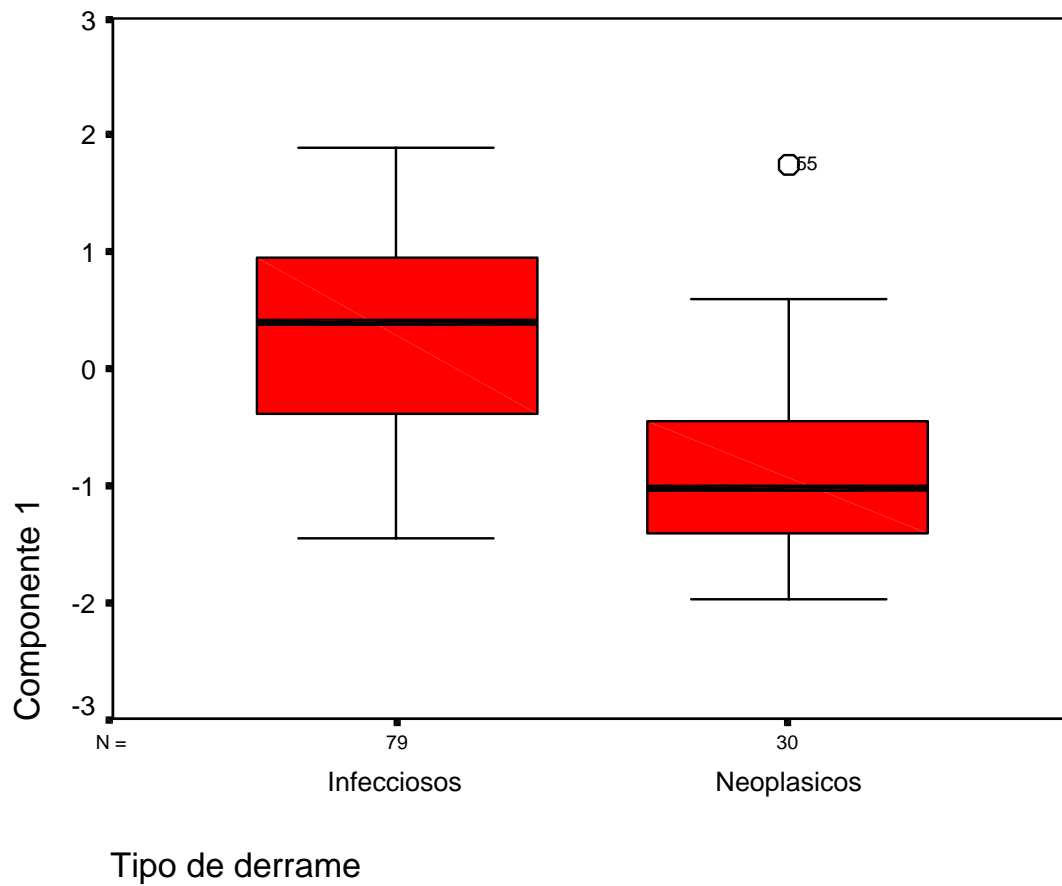


Figura 16. Diferencias en el Componente 2 (MMP-2) entre los DP infecciosos y neoplásicos.

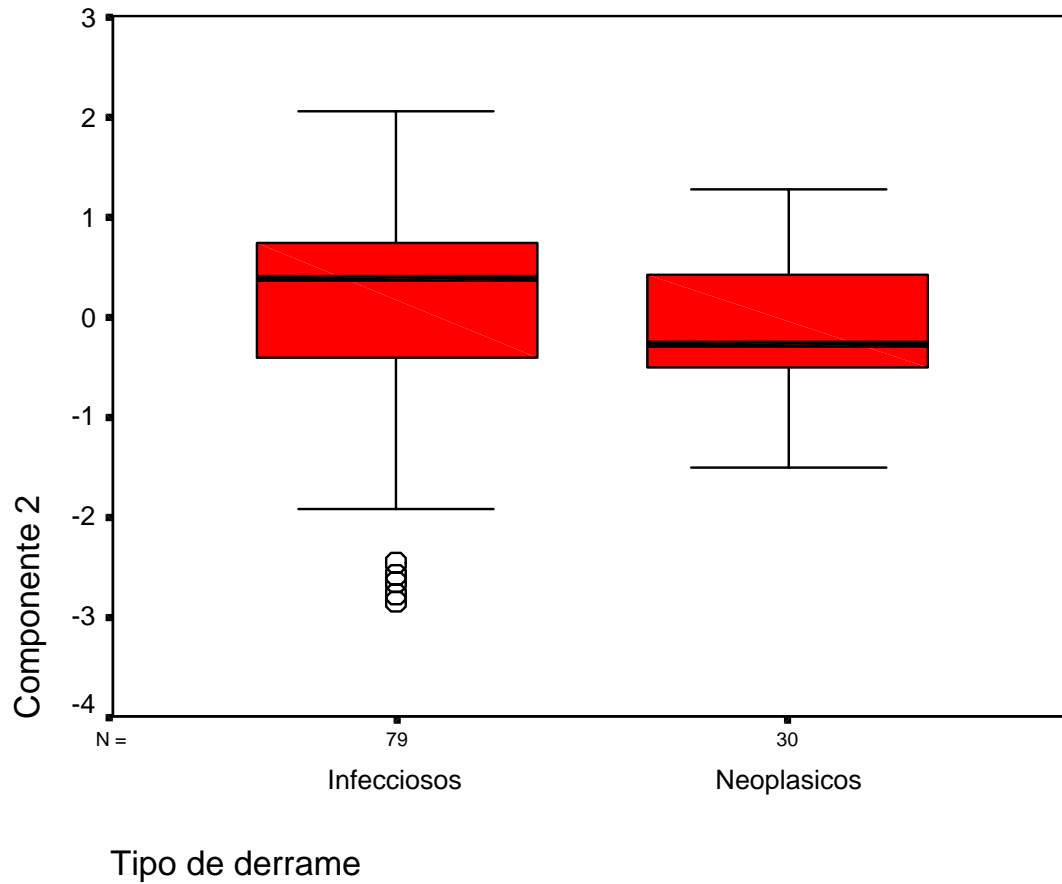
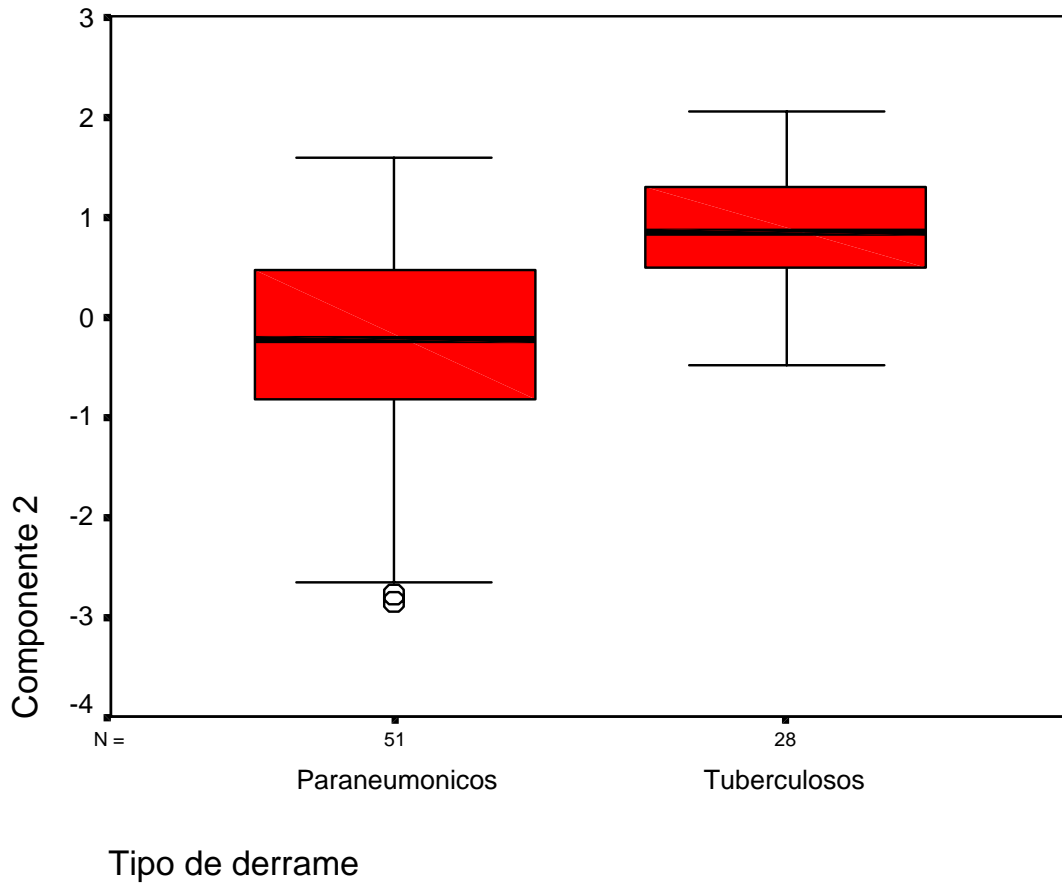


Figura 17. Diferencias en el Componente 2 (MMP-2) entre los DP paraneumónicos y tuberculosos.



4. RELACIÓN DE MMPs Y TIMPs CON LA PRESENCIA DE COMPLICACIONES PLEURALES LOCALES EN LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS

Para estudiar la relación entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares con la presencia de complicaciones pleurales locales en los derrames pleurales paraneumónicos, se ha valorado la existencia de paquipleuritis residual al final del tratamiento.

En nuestra serie de derrames pleurales paraneumónicos (n=51), se observa la presencia de paquipleuritis al final del tratamiento en un 27.5% de los casos (Tabla 24).

En la Tabla 25 se expresan los valores de las medianas y percentiles 25-75 de las MMPs y TIMPs en líquido pleural en función de la presencia de complicaciones radiológicas en los derrames pleurales paraneumónicos y el grado de significación de la comparación de medias entre ambos grupos.

Las medianas de los valores de MMPs y TIMPs en líquido pleural fueron superiores en aquellos derrames pleurales que desarrollaron complicaciones locales en forma de paquipleuritis, excepto para la MMP-2 y el TIMP-1, alcanzando diferencias significativas en el caso de la MMP-8 ($p=0.047$), y en el límite de la significación para la MMP-1 ($p=0.083$).

Tabla 24. Porcentaje de casos con complicaciones pleurales locales en forma de paquipleuritis residual en los derrames pleurales paraneumónicos (n=51).

		Frecuencia	Porcentaje
Paquipleuritis residual	SI	14	27.5
	NO	37	72.5

Tabla 25. Valores de las medianas, percentiles 25-75 y comparación de medias de las MMPs y TIMPs en líquido pleural en función de la presencia de paquipleuritis residual en los derrames pleurales paraneumónicos (n=51).

		Paquipleuritis		Significación (p)
		SI	NO	
MMP-1 (ng/mL)	Mediana	13.4	6.35	0.083
	Percentil 25-75	5.94 – 22.3	3.72 – 13.0	
MMP-2 (ng/mL)	Mediana	1180.5	1410.9	0.066
	Percentil 25-75	41.1 – 1504.4	1133.4 – 1739.9	
MMP-8 (ng/mL)	Mediana	1033.6	205.5	0.047
	Percentil 25-75	330.4 – 1518.0	25.9 – 1235.8	
MMP-9 (ng/mL)	Mediana	268.9	168.0	0.291
	Percentil 25-75	155.9 – 365.7	13.5 – 351.1	
TIMP-1 (ng/mL)	Mediana	22950.0	24000.0	0.583
	Percentil 25-75	4421.9 – 33475.0	17500.0 – 31850.0	
TIMP-2 (ng/mL)	Mediana	89.7	75.4	0.277
	Percentil 25-75	47.2 – 147.6	52.9 – 94.7	

DISCUSIÓN

EQUILIBRIO DE LAS METALOPROTEINASAS Y SUS INHIBIDORES TISULARES EN EL LÍQUIDO PLEURAL

La degradación y remodelación de la matriz extracelular juega un papel importante en la patogenia de los procesos inflamatorios e infecciosos. La agresión de la matriz extracelular se produciría por la alteración del balance entre los sistemas de proteasas y antiproteasas que regulan la proteólisis, el remodelado y la integridad de la misma. Estos sistemas de proteasas y antiproteasas estarían representados por las metaloproteinasas (MMPs) y sus inhibidores tisulares (TIMPs).

En nuestro estudio, hemos valorado una serie de MMPs y TIMPs en líquidos pleurales de diferentes etiologías.

Existen muy escasas referencias en la literatura acerca del papel de las metaloproteinasas y de sus inhibidores tisulares en la patogenia de los derrames pleurales infecciosos.

Dos estudios previos^{230,231}, demostraron la presencia de MMP-1, MMP-2 y TIMP-1 en líquidos pleurales de diferentes etiologías (neoplásicos, paraneumónicos y trasudados). Estos autores no hallaron diferencias significativas en los valores de estas enzimas entre los grupos de estudio, por lo que consideraron que su expresión en el espacio pleural era una característica constitutiva de las células mesoteliales residentes, y que jugaban un papel fisiológico, favoreciendo la

regeneración y reparación del tejido conectivo subpleural y la lisis de adherencias entre las dos hojas pleurales. En esta misma línea, los estudios in vitro de Marshall¹⁷⁹ demostraron que las células mesoteliales expresaban MMP-2 y TIMP de forma constitutiva.

En nuestro estudio, todos los líquidos pleurales estudiados (exudados y trasudados), presentaron concentraciones elevadas de MMP-2, si los comparamos con el resto de las MMPs, lo que podría estar en relación con su expresión constitutiva por parte de las células mesoteliales.

Los DP exudados presentaron niveles superiores de MMP-2 frente a los trasudados. En este sentido cabe pensar que en los exudados existirían estímulos capaces de favorecer la liberación de MMP-2 por las células mesoteliales, o bien, que otras células importantes en la patogenia de estos derrames, como las células mononucleares, podrían colaborar en la liberación de MMP-2^{206,207,226,249,250}. Marshall et al¹⁷⁹ observaron que la estimulación de células mesoteliales con forbol miristato acetato (PMA), lipopolisacárido (LPS), TNF- α o IL-1 β no modificaban la expresión de MMP-2, por lo que parece más lógico pensar que serían otras células implicadas en la fisiopatología de los derrames pleurales exudados, probablemente las células mononucleares, las que contribuirían a la mayor expresión de MMP-2 en el espacio pleural de los mismos. Además, esta circunstancia explicaría los niveles relativamente inferiores de MMP-2 en empiemas, dado su claro predominio neutrofílico, frente al resto de exudados.

Los líquidos pleurales de nuestro estudio muestran valores significativamente superiores de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 en los derrames pleurales paraneumónicos complicados y empiemas respecto a los trasudados y al resto de exudados.

Estos resultados podrían explicarse por el hecho de que, en este grupo de derrames, la intensa actividad inflamatoria favorecería la liberación de MMP-1 y MMP-9 por parte de las células mesoteliales, tal y como demostraron Marshall et al¹⁷⁹ in vitro al estimular células mesoteliales con TNF- α e IL-1 β . Por otro lado, la masiva infiltración neutrofílica en el espacio pleural en los empiemas, podría explicar la presencia de niveles significativamente superiores de MMP-8 y también de MMP-9, dado que estas dos metaloproteinasas se almacenan en los gránulos de los neutrófilos.

Existen otras referencias en la literatura en este sentido. Eickelberg et al²³¹, observaron que la expresión de MMP-9 estaba aumentada de forma significativa en los DP exudados de origen infeccioso y neoplásico, aunque no constataron diferencias significativas entre ellos. En los DP paraneumónicos detectaron también pequeñas cantidades de MMP-8 y TIMP-2. Hoheisel et al²³², observaron concentraciones elevadas de MMP-1, MMP-2, MMP-8 y MMP-9 en líquidos pleurales de derrames pleurales infecciosos de origen tuberculoso, comparados con trasudados secundarios a insuficiencia cardiaca.

La MMP-8 y MMP-9 se han implicado en otros procesos infecciosos, como en la meningitis bacteriana o en la infección intra-amniótica y en la ruptura prematura de membranas²¹⁰⁻²¹⁴. Estos estudios refuerzan la idea de que la intensa actividad

inflamatoria y neutrofilica en respuesta a las infecciones bacterianas favorecen la expresión y liberación de MMP-8 y MMP-9. La asociación de estas metaloproteinasas con la presencia de secuelas neurológicas o con la ruptura prematura de membrana en estos procesos infecciosos reafirman su posible papel lesivo en la patogenia de las infecciones bacterianas.

En los derrames pleurales paraneumónicos observamos, además, una intensa asociación positiva entre MMP-1, MMP-8 y MMP-9 en el líquido pleural. Estos resultados nos indican que estas tres metaloproteinasas actuarían en un mismo sentido en el entorno inflamatorio de los derrames pleurales bacterianos.

Sin embargo, no hemos observado una asociación en el líquido pleural entre estas metaloproteinasas y el recuento celular polimorfonuclear en los derrames pleurales paraneumónicos. MMP-1 es liberada por las células mesoteliales, lo que podría explicar la ausencia de asociación con la cifra de neutrófilos en el líquido pleural. La liberación de MMP-9 por parte de las células mesoteliales estimuladas por mediadores inflamatorios, también podría explicarnos la ausencia de asociación de esta metaloproteinasas con el recuento neutrofilico, pero no nos explicaría la falta de asociación con la MMP-8, que deriva de forma casi exclusiva de los neutrófilos. Sin embargo, a pesar de que la MMP-8 continúa siendo considerada una metaloproteinasas eminentemente neutrofilica, existen diversos trabajos que demuestran la expresión de MMP-8 por estirpes celulares diferentes del neutrófilo^{251,252}.

En consonancia con estos resultados se encuentran otros, que estudiaron la respuesta inflamatoria neutrofílica, como los de Bläser et al²⁵³ en pacientes sometidos a sinoviortesis química y los de Bergmann et al²⁵⁴ en pacientes afectos de artritis reumatoidea en fase aguda inflamatoria. Estos autores, tampoco encontraron asociación entre MMP-8, MMP-9 y el recuento de granulocitos, pero sí entre las dos metaloproteinasas derivadas del neutrófilo y apuntaron la posibilidad de que los enzimas neutrofílicos variaran de forma más drástica que el recuento leucocitario tras la inducción de inflamación, por lo que serían mejores marcadores de la actividad inflamatoria que el propio recuento granulocítico.

Desconocemos el patrón temporal de expresión y liberación de metaloproteinasas en el líquido pleural. Diferencias dependientes en el tiempo entre la infiltración neutrofílica del espacio pleural y la liberación de metaloproteinasas, podrían explicar la falta de asociación observada.

Leppert et al²¹⁰ tampoco hallaron asociación entre MMP-8 y MMP-9 y el recuento celular y neutrofílico en el líquido cefaloraquídeo de pacientes afectos de meningitis bacteriana, incluso al analizar muestras de punción lumbar seriadas de determinados pacientes en el curso de la infección meníngea. Sin embargo, objetivaron una asociación positiva entre las dos metaloproteinasas estudiadas. Estos autores apuntaron como posible explicación, la existencia de otras estirpes celulares capaces de expresar MMP-8.

Maymon et al²¹³ sí que observaron una asociación positiva entre la MMP-8 y MMP-9, y entre MMP-8 y el recuento celular leucocitario de 261 muestras de

líquido amniótico de pacientes gestantes en diferentes fases del embarazo y en pacientes afectas de patologías obstétricas como la amenaza de parto prematuro, la ruptura prematura de membranas o la infección del líquido amniótico, aunque no refieren si esta asociación se mantiene al analizar por separado el grupo de pacientes con infección del líquido amniótico.

Por último, en nuestro estudio, observamos concentraciones elevadas de TIMP-1 en todos los líquidos pleurales estudiados (exudados y trasudados), si los comparamos con TIMP-2, lo que traduciría su expresión constitutiva por las células mesoteliales residentes.

Los derrames pleurales exudados presentan valores superiores de TIMP-1 respecto a los trasudados. Entre los exudados, los derrames pleurales infecciosos alcanzaron concentraciones superiores de TIMP-1 frente a los DP neoplásicos. Marshall et al¹⁷⁹, observaron que TNF- α e IL-1 β también aumentaban la expresión de TIMP-1 por parte de las células mesoteliales, por lo que parece que los mediadores inflamatorios favorecerían la liberación de TIMP-1 en el espacio pleural y esto explicaría los niveles superiores de este péptido en los derrames pleurales infecciosos.

Hemos observado que los derrames pleurales tuberculosos presentan las concentraciones más elevadas de TIMP-1 en líquido pleural entre los diferentes grupos de estudio. Sin embargo, Hoheisel et al²³² no observaron diferencias significativas entre los niveles de TIMP-1 en líquidos pleurales de DP tuberculosos al compararlos con trasudados secundarios a insuficiencia cardíaca. No existen

otros estudios que comparen la expresión de MMPs y TIMPs en líquido pleural entre los DP paraneumónicos y tuberculosos.

Las concentraciones de TIMP-2 en líquido pleural son muy inferiores a las de TIMP-1, y no hemos detectado diferencias significativas entre los exudados y los trasudados estudiados, aunque existe una mayor concentración de este péptido en los DP neoplásicos.

En resumen, hemos observado que existen niveles elevados de MMP-2 y TIMP-1 en líquido pleural, que podría traducir su expresión constitutiva por las células mesoteliales. En los derrames pleurales paraneumónicos complicados y empiemas existirían niveles elevados de MMP-1, MMP-8 y MMP-9, probablemente en respuesta a la acción de mediadores inflamatorios y a la actividad neutrofílica en el espacio pleural, que alterarían el equilibrio entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares. Estas metaloproteinasas deben estar implicadas en la patogenia de los derrames pleurales bacterianos, y su papel en la degradación de la matriz extracelular podría estar relacionada con en el desarrollo de complicaciones locales en este grupo de derrames.

LAS METALOPROTEINASAS Y SUS INHIBIDORES TISULARES EN PLASMA Y LÍQUIDO PLEURAL

La agresión bacteriana del espacio pleural provoca una respuesta inflamatoria local, iniciada por la liberación de mediadores inflamatorios por parte de las células mesoteliales y perpetuada por la infiltración de neutrófilos en el espacio pleural^{7,8}.

Consideramos interesante valorar si la liberación de metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares, en el líquido pleural de los derrames pleurales paraneumónicos, sería el reflejo de una respuesta local o compartimentalizada en el espacio pleural o por el contrario, traduciría únicamente una respuesta sistémica frente a la agresión bacteriana, de modo que la presencia de estas enzimas en el líquido pleural fuera secundaria a la difusión pasiva de las mismas tras su liberación a nivel sistémico.

Boutten et al²⁵⁵, demostraron la existencia de una respuesta inflamatoria compartimentalizada, limitada a la zona infectada, al estudiar la repuesta inflamatoria aguda pulmonar en el curso de una neumonía. Schein et al²⁵⁶, defienden la teoría de una respuesta inflamatoria compartimentalizada en el curso de infecciones de la serosa peritoneal.

Existen otros estudios, relacionados con la fisiopatología de los derrames pleurales exudados, que apoyan la idea de una respuesta inflamatoria local en el espacio pleural. Así, Segura et al¹³⁷, observaron una producción local de la IL-8 en

el espacio pleural en los derrames pleurales exudados, y Hoheisel et al²⁵⁷ evidenciaron una respuesta compartimentalizada de IL-8 e IL-6 en muestras de líquido pleural de DP tuberculosos. Otros estudios han sugerido una alteración local del sistema de la fibrinólisis en los derrames pleurales exudados, que favorecería el depósito de fibrina en el espacio pleural en los derrames pleurales infecciosos¹⁶⁵⁻¹⁶⁷.

Hoheisel et al²³², observaron una expresión compartimentalizada de MMP-1, MMP-2, TIMP-1 y TIMP-2 en el espacio pleural en los derrames pleurales tuberculosos.

En nuestro estudio, hemos observado niveles superiores de MMP-2 y TIMP-1 en líquido pleural respecto a plasma en todos los grupos de estudio, incluidos los trasudados, lo que traduciría una producción local de estas proteínas en el espacio pleural, probablemente en relación a su expresión constitutiva por parte de las células mesoteliales.

Por otro lado, se observan concentraciones superiores de MMP-1 y MMP-8 en líquido pleural respecto a plasma en los derrames pleurales infecciosos, sobre todo en los DP paraneumónicos complicados y empiemas, donde además existirían niveles superiores de MMP-9 en el líquido pleural sin llegar a alcanzar diferencias significativas respecto a plasma. En los empiemas, además, no se observa asociación entre los niveles en líquido pleural y plasma de las metaloproteinasas e inhibidores tisulares estudiados.

La presencia de niveles elevados de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 en los derrames pleurales paraneumónicos complicados y empiemas, y la ausencia de correlación entre los valores pleurales y plasmáticos, abogarían por una producción local o compartimentalizada de dichas enzimas en el espacio pleural en este grupo de derrames pleurales.

ASOCIACIÓN DE LAS METALOPROTEINASAS Y SUS INHIBIDORES TISULARES CON EL SISTEMA DE LA FIBRINOLISIS Y LOS MARCADORES DE ACTIVACIÓN NEUTROFÍLICA EN LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS

Como hemos comentado previamente, la respuesta de la serosa pleural frente a la agresión bacteriana del espacio pleural se caracteriza por una intensa actividad inflamatoria y neutrofílica, así como por una alteración del equilibrio de los marcadores del sistema de la fibrinólisis, que favorecerán la aparición de complicaciones locales.

En nuestro estudio, observamos concentraciones elevadas de los marcadores inflamatorios y de activación neutrofílica (elastasa, IL-8, TNF- α) en líquido pleural, en los derrames pleurales infecciosos. Los DP paraneumónicos complicados y empiemas mostraron concentraciones significativamente superiores de elastasa e IL-8, y los DP tuberculosos de TNF- α , al comparar los diferentes grupos de estudio.

Al estudiar los marcadores del sistema de la fibrinólisis, observamos que los derrames pleurales infecciosos mostraron valores superiores de PAIs, sobre todo en los empiemas y DP tuberculosos. Por otro lado, los empiemas mostraron valores significativamente inferiores de t-PA en líquido pleural frente al resto de

grupos estudiados, y niveles superiores de u-PA respecto al resto de derrames infecciosos.

Todos estos hallazgos están de acuerdo con los resultados de otros estudios^{119,127,129,134,137,138,157,165-167,170,173}, y nos indican que en los derrames pleurales infecciosos, sobre todo en los empiemas, existiría una intensa respuesta inflamatoria y de inhibición de la fibrinólisis que favorecería el depósito de fibrina y la aparición de complicaciones pleurales en forma de septos y loculaciones.

En este contexto sería interesante valorar la relación de las metaloproteinasas y sus inhibidores con este entorno inflamatorio

No existen referencias previas en la literatura acerca de la asociación entre el sistema de las proteasas y antiproteasas responsable de la degradación de la matriz extracelular, con los marcadores de actividad inflamatoria neutrofílica y el sistema de la fibrinólisis en los derrames pleurales.

En nuestro estudio, observamos una intensa asociación positiva entre las MMP-1, MMP-8 y MMP-9 y los marcadores de activación neutrofílica, en los derrames pleurales paraneumónicos.

En relación a la patogenia de los derrames pleurales bacterianos, estos resultados parecen indicar que IL-8 y TNF- α actuarían favoreciendo la quimiotaxis y degranulación de los neutrófilos en el espacio pleural y por ello aumentando los niveles de MMP-8, MMP-9 y elastasa polimorfonuclear¹³⁷. Por otro lado, los estímulos inflamatorios también favorecerían la liberación de MMP-1 y MMP-9 por parte de las células mesoteliales.

La asociación positiva de TNF- α con TIMP-1 en este grupo de derrames pleurales implicaría a esta citoquina en la liberación de TIMP-1 por parte de las células mesoteliales.

En esta misma línea destacan los trabajos de Marshall et al¹⁷⁹ que demostraron in vitro que el TNF- α estimulaba la producción de MMP-1, MMP-9 y TIMP por las células mesoteliales pleurales.

Numerosos estudios experimentales han estudiado la influencia de las citoquinas proinflamatorias en la expresión de MMPs y TIMPs en diferentes estirpes celulares^{205,206,234-238}. Pugin et al²⁰⁹ observaron en muestras sanguíneas de voluntarios sanos, que los neutrófilos secretaban MMP-9 en respuesta a estímulos inflamatorios como IL-8, TNF- α y LPS. Leib et al²⁰⁸, en un modelo experimental de meningitis en ratas, observaron niveles elevados de MMP-8, MMP-9 y TNF- α en muestras de tejido nervioso cortical obtenidas horas después del inicio de la infección, y que existía una estrecha asociación positiva entre los niveles de MMP-9 y TNF- α en líquido céfalo-raquídeo. Posteriormente observaron que la administración de un fármaco inhibidor de las metaloproteinasas y del enzima convertidor de TNF- α (TACE), tenía un efecto neuroprotector y disminuía el daño neuronal asociado a la infección bacteriana²⁵⁸. Leppert et al²¹⁰ observaron niveles elevados de MMP-8 y MMP-9 en muestras de líquido céfalo-raquídeo de niños afectados de meningitis bacteriana, y una asociación positiva de MMP-9 con los niveles de TNF- α en LCR. Nagaoka y Hirota²³⁹, en un modelo experimental de peritonitis en cerdos, evidenciaron que IL-8, TNF- α y LPS inducían la expresión de

MMP-9 mRNA por parte de los neutrófilos, destacando la capacidad de estos estímulos inflamatorios de actuar a nivel transcripcional y no sólo contribuyendo a la degranulación de los neutrófilos. Estos estudios experimentales y clínicos nos demuestran la íntima relación entre estas metaloproteinasas y los mediadores inflamatorios y su participación en la patogenia de los procesos infecciosos.

Por otro lado, en nuestro estudio, observamos una asociación negativa de MMP-2 con la IL-8 y la elastasa polimorfonuclear en los derrames pleurales paraneumónicos. Si tenemos en cuenta, además, que en losempiemas objetivamos valores significativamente inferiores de MMP-2 respecto al resto de grupos de estudio, todos estos resultados parecen indicar que el entorno inflamatorio característico de este grupo de derrames pleurales influye negativamente en la liberación de MMP-2 por parte de las células mesoteliales.

El sistema de la fibrinólisis está íntimamente relacionado con la activación de las MMPs in vitro e in vivo^{177,182,192,240,241}. Estudios experimentales han demostrado el papel del u-PA y la plasmina en la activación de la MMP-1, MMP-2 y MMP-9^{240,241}, a nivel pericelular.

En este sentido, si en los derrames pleurales infecciosos existe una inhibición de la vía de la fibrinólisis y por tanto de su producto final, la plasmina, teóricamente esperaríamos encontrar una menor actividad de las metaloproteinasas en el líquido pleural de este grupo de derrames. Sin embargo, hemos constatado que existe una importante presencia de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 en los derrames pleurales paraneumónicos complicados y empiemas. Ahora bien,

la cascada de la plasmina no es la única forma de activación de las MMPs. Se han descrito otras proteinasas capaces de activar pro-MMPs, como la catepsina G^{182,187}, se ha observado que las propias metaloproteinasas (colagenasas, gelatinasas, metaloproteinasas transmembrana) tendrían la capacidad de activar a otros miembros de su familia¹⁷⁷, y también se ha implicado a la generación de radicales libres por parte de los neutrófilos en el foco infeccioso en la activación de los precursores de las metaloproteinasas²⁵⁹. La mayoría de estos estudios se han realizado in vitro o a partir de cultivos celulares, por lo que desconocemos en gran medida los mecanismos fisiológicos de la activación de las metaloproteinasas in vivo¹⁷⁷.

En nuestro estudio, observamos una asociación positiva de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 con u-PA y PAI-1 Ag en los derrames pleurales paraneumónicos.

Los estudios de Bläser et al²⁵³ sobre la respuesta inflamatoria articular aguda, pusieron de manifiesto una asociación positiva entre MMP-8, MMP-9, u-PA y PAI-2 Ag en líquido sinovial de pacientes sometidos a sinoviortesis química. Estos autores apuntaron la posibilidad de que la respuesta neutrofílica fuera la responsable de la presencia de niveles elevados de u-PA en el líquido sinovial. Así, otros autores han demostrado la presencia de u-PA y del receptor de u-PA (u-PAR) en los gránulos de los neutrófilos²⁶⁰⁻²⁶².

De este modo, y respecto a la patogenia de los derrames pleurales paraneumónicos, la actividad neutrofílica en el espacio pleural podría ser la responsable de la presencia de los niveles elevados de u-PA en el líquido pleural.

La existencia de niveles elevados de PAIs en este grupo de derrames pleurales podría explicarse por la liberación de estas enzimas por parte de las células mesoteliales, tal y como demostraron Idell et al¹⁷³ tras la estimulación de células mesoteliales con TNF- α . Así mismo, el entorno inflamatorio sería el responsable de la disminución de los niveles de t-PA en el líquido pleural de estos derrames. Por tanto, la respuesta inflamatoria local en el espacio pleural provocaría la alteración de los marcadores del sistema de la fibrinólisis, favorecería la expresión de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 y explicaría la asociación entre ellos.

Por otro lado, en los derrames pleurales paraneumónicos, también observamos una asociación negativa entre MMP-2 y u-PA y PAI-1 Ag y positiva con t-PA. El hecho de que en los DP paraneumónicos predomine un bloqueo de la vía fibrinolítica, implicada en la activación de las metaloproteinasas, podría explicar la asociación negativa de MMP-2 en líquido pleural con los inhibidores de la fibrinólisis. De cualquier manera, parece claro que el entorno inflamatorio repercute de forma negativa en la expresión de MMP-2 por parte de las células mesoteliales.

Si asumimos que en los derrames pleurales paraneumónicos existe una intensa respuesta inflamatoria mediada por los neutrófilos y representada por la existencia de niveles elevados de los marcadores de actividad neutrofilica, y una inhibición de la vía de la fibrinólisis, caracterizada por la existencia de niveles elevados de PAIs y concentraciones inferiores de t-PA en el líquido pleural, podríamos concluir que la MMP-1, MMP-8 y MMP-9 estarían en íntima relación con la respuesta inflamatoria y

que actuarían en esta misma dirección en la fisiopatología de los derrames pleurales bacterianos. Sin embargo, la inflamación pleural repercutiría de forma negativa en la expresión de MMP-2.

Estos resultados nos sugieren que la respuesta de la serosa pleural ante un agente lesivo bacteriano con el correspondiente desencadenamiento de la cascada inflamatoria y la inhibición de la fibrinolisis, provoca alteraciones en el equilibrio de las metaloproteinasas y sus inhibidores, conllevando si se perpetúan, a la aparición de complicaciones en forma de paquipleuritis y fibrosis pleural.

El estudio del patrón temporal de expresión de las metaloproteinasas y la determinación de la actividad de estas enzimas, además de su concentración, en el líquido pleural, nos permitiría profundizar más en su papel en la patogenia de los derrames pleurales bacterianos.

RELACIÓN DE MMPs Y TIMPs CON LA PRESENCIA DE COMPLICACIONES PLEURALES LOCALES EN LOS DERRAMES PLEURALES PARANEUMÓNICOS

Hemos observado la presencia de concentraciones elevadas de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 en los derrames pleurales paraneumónicos y su asociación con los marcadores de activación neutrofilica y con el sistema de la fibrinólisis en el líquido pleural, ambos implicados en la aparición de complicaciones locales en los derrames pleurales infecciosos. En este sentido sería interesante valorar si estas metaloproteinasas se relacionan con la aparición de complicaciones a nivel de la serosa pleural.

En la evolución de los derrames pleurales bacterianos, observamos una progresiva invasión del espacio pleural por células polimorfonucleares y un depósito de fibrina que favorecerá la adherencia entre las hojas pleurales. En el estadio final organizativo, observamos la proliferación de fibroblastos en la superficie pleural y sobre los puentes de fibrina, que conducirán a la formación de una membrana inelástica pleural a modo de coraza que comportará importantes secuelas anatómicas y funcionales del pulmón y la caja torácica.

La presencia de paquipleuritis residual traduciría, radiológicamente, la existencia de un engrosamiento o fibrosis pleural. La paquipleuritis residual sería un indicador de complicaciones pleurales tardías en los derrames pleurales

infecciosos y ha sido estudiada por diversos autores en series de derrames pleurales paraneumónicos^{263,264} y tuberculosos²⁶⁵⁻²⁶⁷.

En nuestra serie de derrames pleurales paraneumónicos observamos esta complicación en el 27.5% de los casos.

Hemos observado que las medianas de MMP-8 en el líquido pleural eran 5 veces superiores ($p=0.047$) en aquellos DP paraneumónicos que presentaban paquipleuritis residual respecto a los que no la presentaban al finalizar el tratamiento. En este sentido, esta metaloproteinasa podría estar implicada en el desarrollo de complicaciones pleurales tardías en este grupo de derrames pleurales.

De este modo, la degradación de la matriz extracelular podría favorecer la invasión del espacio pleural por células inflamatorias y por ello la perpetuación de la respuesta inflamatoria pleural, y en fases tardías, colaborar en la invasión y proliferación de células fibroblásticas en el espacio pleural, responsables en última instancia de la respuesta fibrosa de la serosa pleural.

CONCLUSIONES

1. Existen niveles elevados de MMP-2 y TIMP-1 en todos los líquidos pleurales estudiados, lo que sugiere una expresión constitutiva por parte de las células mesoteliales pleurales.
2. Las concentraciones en líquido pleural de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 son significativamente superiores en los DP paraneumónicos complicados y empiemas.
3. La presencia de niveles superiores de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 en líquido pleural respecto al plasma, y la ausencia de correlación entre las concentraciones en líquido pleural y plasma de estas metaloproteinasas, en los empiemas y derrames pleurales paraneumónicos complicados, sugiere una expresión compartimentalizada de las mismas en el espacio pleural.
4. En los derrames pleurales paraneumónicos existe una íntima asociación positiva de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 con los marcadores de activación neutrofílica (elastasa, IL-8, TNF- α) y del sistema de la fibrinólisis (u-PA, PAI-1 Ag), relacionados con el desarrollo de complicaciones locales en los derrames pleurales bacterianos.

5. La MMP-8, en líquido pleural, se relaciona con la presencia de complicaciones pleurales tardías en forma de paquipleuritis residual en los derrames pleurales paraneumónicos.

6. La asociación de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 con los marcadores de activación neutrofilica y el sistema de la fibrinólisis, así como la relación de la MMP-8 con la presencia de complicaciones locales en los derrames pleurales paraneumónicos, sugiere un papel relevante de estas metaloproteinasas en la fisiopatología de los derrames pleurales bacterianos.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

El derrame pleural paraneumónico es una causa frecuente de derrame pleural exudado. En la fisiopatología de los DP paraneumónicos se han implicado mecanismos inflamatorios y de alteraciones en el equilibrio de la fibrinólisis pleural.

La respuesta inflamatoria pleural, iniciada por el mesotelio, provoca un aumento de la permeabilidad vascular y la liberación de mediadores inflamatorios, que favorecerá la formación de derrame pleural exudado y la invasión del espacio pleural por células inflamatorias. En este proceso tienen un papel importante diferentes citoquinas proinflamatorias, como la IL-8 y el TNF- α , así como productos de la degranulación de los neutrófilos, como la elastasa polimorfonuclear o la mieloperoxidasa.

El depósito de fibrina en el espacio pleural contribuye a la aparición de los septos y loculaciones que observamos en los derrames pleurales bacterianos. El sistema de la fibrinólisis, responsable de la degradación de la fibrina, está estrictamente regulado por la presencia de activadores e inhibidores del plasminógeno.

La matriz extracelular se sitúa junto al mesotelio pleural, actúa como elemento de transporte y sostén, y su remodelación está implicada en la regeneración tisular y en la migración celular. La formación y degradación de las proteínas estructurales de la matriz está regulada por la presencia de un sistema de proteasas y antiproteasas específicas.

Las metaloproteinasas son una familia de proteasas, que degradan prácticamente todos los componentes proteicos de la MEC. La actividad de las metaloproteinasas está controlada por inhibidores tisulares específicos denominados TIMPs.

OBJETIVOS

Los enzimas proteolíticos responsables de la degradación de la matriz extracelular han demostrado tener un papel importante en los procesos inflamatorios e infecciosos, aunque han sido poco estudiados en la patogenia de los derrames pleurales paraneumónicos. Así mismo, los mediadores inflamatorios se han implicado en la expresión de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares y el sistema de la fibrinólisis está íntimamente relacionado con la activación de las metaloproteinasas, por lo que ambos elementos podrían contribuir a la alteración del balance de proteasas y antiproteasas responsables de la degradación de la matriz extracelular. Por ello, nos propusimos los siguientes objetivos:

1. Estimar las diferencias de los niveles de metaloproteinasas (MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9) y de los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP-1, TIMP-2) en líquido pleural, en diferentes grupos de derrame pleural exudado.

2. Estimar la asociación entre los niveles de metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en plasma y líquido pleural en los derrames pleurales paraneumónicos.
3. Estimar la asociación entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares y los marcadores de activación neutrofílica (elastasa polimorfonuclear, IL-8, TNF- α), en los derrames pleurales paraneumónicos.
4. Estimar la asociación entre las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares y los marcadores del sistema de la fibrinólisis (u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag), en los derrames pleurales paraneumónicos.
5. Estimar la relación de los niveles de metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares en líquido pleural con la presencia de complicaciones pleurales locales en los derrames pleurales paraneumónicos.

PACIENTES Y MÉTODO

Se incluyeron 139 pacientes con derrame pleural de diferentes etiologías: 30 empiemas y DP paraneumónicos complicados, 21 DP paraneumónicos no complicados, 28 DP tuberculosos, 30 DP neoplásicos y 30 trasudados.

Se determinaron en sangre y líquido pleural los marcadores de activación neutrofílica (elastasa, IL-8, TNF- α), los marcadores del sistema de la fibrinólisis (u-PA, t-PA, PAI-1 Ag, PAI-2 Ag), las metaloproteinasas (MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9) y sus inhibidores tisulares (TIMP-1, TIMP-2).

Para comparar la distribución de las variables cuantitativas entre los distintos grupos de derrame pleural se utilizó el análisis de la varianza. Para estudiar la asociación de MMPs y TIMPs con los marcadores de activación neutrofílica y del sistema de la fibrinólisis en los DP paraneumónicos se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman.

RESULTADOS

Los empiemas y DP paraneumónicos complicados presentaron concentraciones de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 significativamente superiores respecto al resto de grupos estudiados ($p < 0.01$). Todos los líquidos pleurales (exudados y trasudados), presentaron concentraciones elevadas de MMP-2 y TIMP-1. Los DP infecciosos mostraron valores superiores de TIMP-1 ($p < 0.001$) respecto a los DP neoplásicos. Los empiemas mostraron valores relativamente inferiores de MMP-2 en líquido pleural respecto al resto de exudados ($p < 0.001$).

Los derrames pleurales paraneumónicos complicados y empiemas presentaron niveles superiores de MMP-1 ($p < 0.01$), MMP-8 ($p < 0.01$) y MMP-9 en líquido pleural respecto a plasma y una ausencia de asociación entre los niveles plasmáticos y en líquido pleural de estas metaloproteinasas. Todos los líquidos pleurales estudiados mostraron concentraciones superiores de MMP-2 y TIMP-1 en el líquido pleural respecto al plasma ($p < 0.01$).

En los derrames pleurales paraneumónicos, se observó una asociación positiva de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 en líquido pleural con los marcadores de activación neutrofílica (elastasa, IL-8, TNF- α), u-PA y PAI-1 Ag ($p < 0.01$), así como una asociación negativa de MMP-2 con elastasa, IL-8, u-PA y PAI-1 Ag ($p < 0.01$). TIMP-1 se asoció de forma positiva con TNF- α , t-PA y PAI-1 Ag en este grupo de derrames.

La MMP-8 en líquido pleural se relacionó con la presencia de complicaciones pleurales en forma de paquipleuritis residual en los derrames pleurales paraneumónicos ($p = 0.047$).

CONCLUSIONES

1. Existen niveles elevados de MMP-2 y TIMP-1 en todos los líquidos pleurales estudiados, lo que sugiere una expresión constitutiva por parte de las células mesoteliales pleurales.
2. Las concentraciones en líquido pleural de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 son significativamente superiores en los DP paraneumónicos complicados y empiemas.
3. La presencia de niveles superiores de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 en líquido pleural respecto al plasma, y la ausencia de correlación entre las

concentraciones en líquido pleural y plasma de estas metaloproteinasas, en los empiemas y derrames pleurales paraneumónicos complicados, sugiere una expresión compartimentalizada de las mismas en el espacio pleural.

4. En los derrames pleurales paraneumónicos existe una íntima asociación positiva de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 con los marcadores de activación neutrofilica (elastasa, IL-8, TNF- α) y del sistema de la fibrinólisis (u-PA, PAI-1 Ag), relacionados con el desarrollo de complicaciones locales en los derrames pleurales bacterianos.
5. La MMP-8, en líquido pleural, se relaciona con la presencia de complicaciones pleurales tardías en forma de paquipleuritis residual en los derrames pleurales paraneumónicos.
6. La asociación de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 con los marcadores de activación neutrofilica y el sistema de la fibrinólisis, así como la relación de la MMP-8 con la presencia de complicaciones locales en los derrames pleurales paraneumónicos, sugiere un papel relevante de estas metaloproteinasas en la fisiopatología de los derrames pleurales bacterianos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Light RW. Pleural diseases. 4th edition. Baltimore. Williams & Wilkins, 2001.
2. Sahn SA. The pleura. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138:184-234.
3. Wang NS. Anatomy of the pleura. *Clin Chest Med* 1998; 19:229-240.
4. Wang NS. The preformed stomas connecting the pleural cavity and the lymphatics in the parietal pleura. *Am Rev Respir Dis* 1975; 11:12-20.
5. Gaudio E, Rendina EA, Pannarale L, Rizzi C, Marinozzi G. Surface morphology of the human pleura. A scanning electron microscopic study. *Chest* 1988; 93:149-153.
6. Wang NS. The regional difference of pleural mesothelial cells in rabbits. *Am Rev Respir Dis* 1974; 110:623-633.
7. Kroegel C, Antony VB. Immunobiology of pleural inflammation: potentials implications for pathogenesis, diagnosis and therapy. *Eur Respir J* 1997; 10:2411-2418.
8. Antony VB, Mohammed K. Pathophysiology of pleural space infections. *Semin Respir Infect* 1999; 14:9-17.
9. Davila RM, Crouch EC. Anatomic organization and function of the human pleura. *Semin Respir Crit Care Med* 1995; 16:261-268.
10. Antony VB, Sahn SA, Mossman B, Gail DB, Kalica A. Pleural cell biology in health and disease. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:1236-1239.
11. Miserocchi G. Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover. *Eur Respir J* 1997; 10:219-225.

12. Agostoni E, Zocchi L. Mechanical coupling and liquid exchanges in the pleural space. *Clin Chest Med* 1998; 19:241-260.
13. Barlett JG, Mundy LM. Community-acquired pneumonia. *New Engl J Med* 1995; 333:1618-1624.
14. File TM. The epidemiology of respiratory tract infections. *Semin Respir Infect* 2000; 15:184-194.
15. Torres A, Soler N. Etiology and management evaluation of community acquired pneumonia. *Med Clin (Barc)* 2001; 116:161-166.
16. Finch R. Community-acquired pneumonia: the evolving challenge. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7(Suppl 3):30-38.
17. Niederman MS. Guidelines for the management of community-acquired pneumonia. Current recommendations and antibiotic selection issues. *Med Clin North Am* 2001; 85:1493-1509.
18. Guthrie R. Community-Acquired Lower Respiratory Tract Infections: Etiology and Treatment. *Chest* 2001; 120:2021-2034.
19. Chan CK, Shibl A, Memish Z, Zhanel G. Community acquired pneumonia: an update. *J Chemother* 2001; 13(Suppl 1):23-27.
20. Monge V, Gonzalez A. Hospital admissions for pneumonia in Spain. *Infection* 2001; 29:3-6.
21. Niederman MS, Mandell LA, Anzueto A, Bass JB, Broughton WA, Campbell GD, et al; American Thoracic Society. Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity,

- antimicrobial therapy, and prevention. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1730-1754.
22. Light RW, Girard WM, Jenkinson SG, George RB. Parapneumonic effusions. *Am J Med* 1980; 69:507-511.
23. Heffner JE, McDonald J, Barbieri C, Klein J. Management of parapneumonic effusions. An analysis of physician practice patterns. *Arch Surg* 1995; 130:433-438.
24. Light RW, Rodriguez RM. Management of parapneumonic effusions. *Clin Chest Med* 1998; 19:373-382.
25. Heffner JE. Infection of the pleural space. *Clin Chest Med* 1999; 20:607-622.
26. Bowditch HI. Paracentesis thoracic: An analysis of 25 cases of pleuritic effusion. *Am Med Monthly* 1853:3-45.
27. Hewitt C. Drainage for empyema. *Br Med J* 1876; 1:317.
28. Bittleman DB, Erger RA, Casale TB. Cytokines induce selective granulocyte chemotactic responses. *Inflamm Res* 1996; 45:89-95.
29. 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.
30. Arai KI, Lee F, Miyajima A, Miyatake S, Arai N, Yokota T. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu Rev Biochem* 1990; 59:783-836.

31. Jurado B. Neumonía y derrame pleural. Manejo terapéutico. *An Med Interna* 1997; 14:419-424.
32. Jurado G, Jimenez I, Calderón de la Barca JM, Montero FJ, Cosano A. Derrame pleural paraneumónico. *Rev Clin Esp* 1995; 195:315.
33. Hamm H, Light RW. Parapneumonic effusion and empyema. *Eur Respir J* 1997; 10:1150-1156.
34. Bryant R, Salmon C. Pleural empyema. *Clin Infect Dis* 1996; 22:747-764.
35. Ferguson AD, Prescott RJ, Selkon JB, Watson D, Swinburn CR. The clinical course and management of thoracic empyema. *Q J Med* 1996; 89:285-289.
36. Pothula V, Krellenstein DJ. Early aggressive surgical management of parapneumonic empyemas. *Chest* 1994; 105:832-836.
37. Heffner JE. Diagnosis and management of thoracic empyemas. *Curr Op Pulm Med* 1996; 2:198-205.
38. Light RW, Porcel JM. Derrame pleural paraneumónico y empiema. *Med Clin (Barc)* 2000; 115:384-391.
39. Rami R. Derrame pleural paraneumónico. ¿Cuándo drenar?. *Arch Bronconeumol* 1993; 29:307-308.
40. Sahn SA. Management of complicated parapneumonic effusions. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:813-817.
41. Light RW. Management of parapneumonic effusions. *Arch Intern Med* 1981; 141:1339-1344.

42. Heffner JE. Indications for draining a parapneumonic effusion: an evidence-based approach. *Sem Respir Infect* 1999; 14:48-58.
43. Weissberg D, Refaely Y. Pleural empyema: 24-year experience. *Ann Thorac Surg* 1996; 62:1026-1029.
44. Light RW. A new classification of parapneumonic effusions and empyema. *Chest* 1995; 108:299-301.
45. Colice GL, Curtis A, Deslauriers J, Heffner J, Light R, Littenberg B, et al. Medical and surgical treatment of parapneumonic effusions. *Chest* 2000; 118:1158-1171.
46. Poe RH, Marin MG, Israel RH, Kallay MC. Utility of pleural fluid analysis in predicting tube thoracostomy / decortication in parapneumonic effusion. *Chest* 1991; 100:963-967.
47. Alfageme I, Muñoz F, Peña N, Umbría S. Empyema of the torax in adults. Etiology, microbiologic findings , and management. *Chest* 1993; 103:839-843.
48. Barlett JG. Anaerobic bacterial infections of the lung. *Chest* 1987; 91:901-909.
49. Braman SS, Donat WE. Explosive pleuritis: Manifestation of group-A beta-hemolytic streptococcal infection. *Am J Med* 1986; 86:723-726.
50. Kaye MG, Fox MJ, Barlett JG, Braman SS, Glassroth J. The clinical spectrum of *Staphylococcus aureus* pulmonary infection. *Chest* 1990; 97:788-792.
51. Torres A, Serra-Batlles J, Ferrer A, Jimenez P, Celis R, Cobo E, et al. Severe community-acquired pneumonia: Epidemiology and pronostic factors. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144:312-318.

52. Everts RJ, Reller LB. Pleural space infections: microbiology and antimicrobial therapy. *Sem Respir Infect* 1999; 14:18-30.
53. Doyle JJ, Hnatiuk OW, Torrington KG, Slade AR, Howard RS. Necessity of routine chest roentgenography after thoracentesis. *Ann Intern Med* 1996; 124:816-820.
54. Alemán C, Alegre J, Armadans LI, Andreu J, Falcó V, Recio J, et al. The value of chest roentgenography in the diagnosis of pneumothorax after toracentesis. *Am J Med* 1999; 107:340-343.
55. Petersen WG, Zimmerman R. Limited utility of chest radiograph after thoracentesis. *Chest* 2000; 117:1038-1042.
56. Grogan DR, Irwing RS, Channick R, Raptopoulos V, Curley FJ, Bartter T, et al. Complications associated with thoracentesis. *Arch Intern Med* 1990; 150:873-877.
57. Ruskin JA, Gurney JW, Thorsen MK, Goodman LR. Detection of pleural effusion on supine chest radiographs. *AJR* 1987; 148:681-683.
58. Blackmore CC, Black WC, Dallas RV, Crow HC. Pleural fluid volume estimation: A chest radiograph prediction rule. *Acad Radiol* 1996; 3:103-109.
59. Himelman RB, Callen PW. The prognostic value of loculations in parapneumonic pleural effusions. *Chest* 1986; 90:852-856.
60. Alemán C, Alegre J, Segura R, Andreu J, Armadans LI, Fernández de Sevilla T. Chest sonography and polymorphonuclear elastase in the diagnosis of infectious pleural effusions. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159;3:A383.

61. Wu RG, Yuan A, Liaw YS, Chang DB, Yu CJ, Wu HD, 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; 150:510-514.
62. McLoud TC, Flower CDR. Imaging the pleura: sonography, CT and MR imaging. *AJR* 1991; 156:1145-1153.
63. Weingardt JP, Guico RR, Nemcek AA Jr, Li YP, Chiu ST. Ultrasound findings following failed, clinically directed thoracentesis. *J Clin Ultrasound* 1994; 22:419-426.
64. O'Moore PV, Mueller PR, Simeone JF, Saini S, Butch RJ, Hahn PF, et al. Sonographic guidance in diagnostic and therapeutic interventions in the pleural space. *AJR* 1987; 149:1-5.
65. Yang PC, Luh KT, Chang DB, Wu HD, Yu CJ, Kuo SH. Value of sonography in determining the nature of pleural effusion: analysis of 320 cases. *AJR* 1992; 159:29-33.
66. Hirsh JH, Rogers JV, Mack LA. Real-time sonography of pleural opacities. *AJR* 1981; 136:297-301.
67. Lomas DJ, Padley SG, Flower CD. The sonographic appearances of pleural fluid. *Br J Radiol* 1993; 66:619-624.
68. Stark DD, Federle MP, Goodman PC, Podrasky AE, Webb WR. Differentiating lung abscess and empyema: radiography and computed tomography. *AJR* 1983; 141:163-167.

69. Waite RJ, Carbonneau RJ, Balikian JP, Umali CB, Pezzella AT, Nash G. Parietal pleural changes in empyema: Appearances on CT. *Radiology* 1990; 175:145-150.
70. Müller NL. Imaging of the pleura. *Radiology* 1993; 186:297-309.
71. Klein JS, Schultz S, Heffner JE. Interventional radiology of the chest: Image-guided percutaneous drainage of pleural effusions, lung abscess and pneumothorax. *AJR* 1995; 164:581-588.
72. Kuhlman JE. Complex disease of the pleural space: The ten questions most frequently asked of the radiologist – new approaches to their answers with CT and MR imaging. *RadioGraphics* 1997; 17:1043-1050.
73. McLoud TC. CT and MR in pleural disease. *Clin Chest Med* 1998; 19:261-276.
74. Hunnam GR, Flower CDR. Radiologically-guided percutaneous catheter drainage of empyemas. *Clin Radiol* 1988; 39:121-126.
75. Merriam MA, Cronan JJ, Dorfman GS, Lambiase RE, Haas RA. Radiographically guided percutaneous catheter drainage of pleural fluid collections. *AJR* 1988; 151:1113-1116.
76. Silverman SG, Mueller PR, Saini S, Hahn PF, Simeone JF, Forman BH, et al. Thoracic empyema: Management with image-guided catheter drainage. *Radiology* 1988; 169:5-9.
77. Kerr A, Vasudevan VP, Powell S, Ligenza C. Percutaneous catheter drainage for acute empyema. Improved cure rate using CAT scan, fluoroscopy, and pigtail drainage catheters. *NY State J Med* 1991; 91:4-7.

78. Good JT, Taryle DA, Maulitz RM, Kaplan RL, Sahn SA. The diagnostic value of pleural fluid pH. *Chest* 1980; 78:55-59.
79. Light RW, MacGregor MI, Ball WC, Luchsinger PC. Diagnostic significance of pleural fluid pH and Pco₂. *Chest* 1973; 64:591-596.
80. Sahn SA, Reller B, Taryle DA, Antony VB, Good JT. The contribution of leucocytes and bacteria to the low pH of empyema fluid. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128:811-815.
81. Sahn SA, Taryle DA, Good JT. Time course and pathogenesis of pleural fluid acidosis and low pleural fluid glucose. *Am Rev Respir Dis* 1979; 120:355-361.
82. Potts DE, Taryle DA, Sahn SA. The glucose-pH relationship in parapneumonic effusions. *Arch Intern Med* 1978; 138:1378-1380.
83. Potts DE, Levin DC, Sahn SA. Pleural fluid pH in parapneumonic effusions. *Chest* 1976; 70:328-331.
84. Heffner JE, Brown LK, Barbieri C, DeLeo JM. Pleural fluid chemical analysis in parapneumonic effusions. A meta-analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:1700-1708.
85. Limthongkul S, Charoenlap P, Nuchprayoon C, Songkhla YN. Diagnostic and prognostic significance of pleural fluid pH and Pco₂ in the exudative phase of parapneumonic effusions. *J Med Assoc Thai* 1983; 66:762-768.
86. Mandal AK, Thadepalli H. Treatment of spontaneous bacterial empyema thoracis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 94:414-418.

87. Davies CWH, Kearney SE, Gleeson FV, Davies RJO. Predictors of outcome and long-term survival in patients with pleural infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:1682-1687.
88. Huang HC, Chang HY, Chen CW, Lee CH, Hsiue TR. Predicting factors for outcome of tube thoracostomy in complicated parapneumonic effusion or empyema. *Chest* 1999; 115:751-756.
89. Crouch JD, Keagy BA, Delany DJ. "Pigtail" catheter drainage in thoracic surgery. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:174-175.
90. Tillett WS, Sherry S, Read CT. The use of streptokinase-streptodornase in the treatment of postpneumonic empyema. *J Thorac Surg* 1951; 21:275-297.
91. Bergh NP, Ekroth R, Larsson S, Nagy P. Intrapleural streptokinase in the treatment of haemothorax and empyema. *Scand J thorac Cardiovasc Surg* 1977; 11:265-268.
92. Bouros D. Utility of fibrinolytic agents for draining intrapleural infections. *Sem Respir Infect* 1999; 14:39-47.
93. Sahn SA. Use of fibrinolytic agents in the management of complicated parapneumonic effusions and empyemas. *Thorax* 1998; 53(Suppl 2):S65-S72.
94. Lim TK, Chin NK. Empirical treatment with fibrinolysis and early surgery reduces the duration of hospitalization in pleural sepsis. *Eur Respir J* 1999; 13:514-518.
95. Moulton JS, Benkert RE, Weisiger KH, Chambers JA. Treatment of complicated pleural fluid collections with image-guided drainage and intracavitary urokinase. *Chest* 1995; 108:1252-1259.

96. De Gregorio MA, Ruíz C, Alfonso ER, Fernández JA, Medrano J, Ariño I. Transcatheter intracavitary fibrinolysis of loculated pleural effusions: Experience in 102 patients. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1999; 22:114-118.
97. Bouros D, Schiza S, Patsourakis G, Chalkiadakis G, Panagou P, Siafakas NM. Intrapleural streptokinase versus urokinase in the treatment of complicated parapneumonic effusions. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:291-295.
98. Bouros D, Schiza S, Tzanakis N, Chalkiadakis G, Drositis J, Siafakas NM. Intrapleural urokinase versus normal saline in the treatment of complicated parapneumonic effusions and empyema. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:37-42.
99. Davies RJO, Traill ZC, Gleeson FV. Randomised controlled trial of intrapleural streptokinase in community acquired pleural infection. *Thorax* 1997; 52:416-421.
100. Chin NK, Lim TK. Controlled trial of intrapleural streptokinase in the treatment of empyema and complicated parapneumonic effusions. *Chest* 1997; 111:275-279.
101. Robinson LA, Moulton AL, Fleming WH, Alonso A, Galbraith TA. Intrapleural fibrinolytic treatment of multiloculated pleural effusions. *Chest* 1994; 105:868-873.
102. Ridley PD, Braimbridge MW. Thoracoscopic debridement and pleural irrigation in the management of empyema thoracis. *Ann Thorac Surg* 1991; 51:461-464.

103. Kern JA, Rodgers BM. Thoracoscopy in the management of empyema in children. *J Pediatr Surg* 1993; 28:1128-1132.
104. Angelillo Mackinlay TA, Lyons GA, Chimondeguy DJ, Piedras MA, Angaramo G, Emery J. VATS debridement versus thoracotomy in the treatment of loculated postpneumonia empyema. *Ann Thorac Surg* 1996; 61:1626-1630.
105. Striffeler H, Ris HB, Würsten HU, Hof VI, Stirnemann P, Althaus U. Video-assisted thoracoscopic treatment of pleural empyema. A new therapeutic approach. *Eur J Cardiothorac Surg* 1994; 8:585-588.
106. Lawrence DR, Ohri SK, Moxon RE, Townsend ER, Fountain SW. Thoracoscopic debridement of empyema thoracis. *Ann Thorac Surg* 1997; 64:1448-1450.
107. Landreneau RJ, Keenan RJ, Hazelrigg SR, Mack MJ, Naunheim KS. Thoracoscopy for empyema and hemothorax. *Chest* 1996; 109:18-24.
108. Galea JL, De Souza A, Beggs D, Spyt T. The surgical management of empyema thoracis. *J R Coll Surg Edinb* 1997; 42:15-18.
109. Martella AT, Santos GH. Decortication for chronic postpneumonic empyema. *J Am Coll Surg* 1995; 150:573-576.
110. Van Way C, Narrod J, Hopeman A. The role of early limited thoracotomy in the treatment of empyema. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 96:436-439.
111. Malech ML, Gallis JI. Neutrophils in human diseases. *N Engl J Med* 1987; 317:687-694.

112. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 2000; 80:617-653.
113. Cid MC, Esparza J, Juan M. Moléculas de adhesión en las interacciones entre los leucocitos, el endotelio y la matriz extracelular (1). Estructura, distribución y función biológica. *Med Clin (Barc)* 1997; 108:472-477.
114. Jonjic N, Peri G, Bernasconi S, Sciacca FL, Colotta F, Pelicci PG, et al. Expression of adhesion molecules and chemotactic cytokines in cultured human mesothelial cells. *J Exp Med* 1992; 176:1165-1174.
115. Mutti L, Piacenza A, Valenti V, Castagneto B, Betta PG. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) by reactive mesothelial cells in pleural effusions. *Pathologica* 1993; 85:725-728.
116. Hoffman JC, Krüger H, Lührs J, Hamm H. Detection of soluble adhesion molecules in pleural effusions. *Chest* 1996; 110:107-113.
117. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320:365-376.
118. Cohen SM. Molecular events in the activation of human neutrophils for microbial killing. *Clin Infect Dis* 1994; 18(suppl 2):170-179.
119. Jufresa J. Estudio de la mieloperoxidasa, interleukina-8 y factor de necrosis tumoral en los derrames pleurales exudados. Tesis Doctoral, Barcelona 1997.
120. Nauseff WM, Metcalf JA, Root RK. Role of myeloperoxidase in the respiratory burst of human neutrophils. *Blood* 1983; 61:483-492.

121. Halliwell B. Oxigen radicals and metal ions. Oxigen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107:526-545.
122. Borregaard N, Lollike K, Kjeldsen L, Sengalov H, Bastholm L, Nielsen MH, et al. Human neutrophil granules and secretory vesicles. *Eur J Haematol* 1993; 51:187-198.
123. Matheson NR, Wong PS, Travis J. Isolation and properties of human neutrophil myeloperoxidase. *Biochemistry* 1981; 20:325-330.
124. Janoff A. Elastases and emphysema. Current assessment of the protease-antiprotease hypothesis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:417-433.
125. Suter S, Schaad UB, Roux L, Nydegger UE, Waldvogel FA. Granulocyte neutral proteases and Pseudomonas elastase as possible causes of airway damage in patients with cystic fibrosis. *J Infect Dis* 1984; 149:523-531.
126. Lee WL, Downey GP. Leucocyte elastase. Physiological functions and role in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:896-904.
127. Suriñach JM. Estudio de los marcadores neutrofílicos y de inflamación en el derrame pleural. Tesis Doctoral, Barcelona 1996.
128. Alegre J, Jufresa J, Alemán C, Segura R, Armadans LI, Martí R, et al. Pleural fluid myeloperoxidase as a marker of infectious pleural effusions. *Eur J Intern Med* 2001; 12:357-362.
129. Alegre J, Suriñach JM, Varela E, Armadans LI, Martí R, Segura R, et al. Diagnostic accuracy of pleural fluid polymorphonuclear elastase in the

- differentiation between pyogenic bacterial infectious and non-infectious pleural effusions. *Respiration* 2000;67: 426-432.
130. Alegre J, Jufresa J, Segura R, Ferrer A, Armadans L, Alemán C, et al. Pleural-fluid myeloperoxidase in complicated and noncomplicated parapneumonic effusions. *Eur Respir J* 2002; 19:320-325.
131. Luster A. Mechanisms of disease: chemokines – chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998; 338:436-445.
132. Strieter RM, Standiford TJ, Huffhagle GB, Colletti LM, Lukacs NW, Kunkel SL. “The good, the bad and the ugly”. The role of chemokines in models of human disease. *J Immunol* 1996; 156:3583-3586.
133. Miller EJ, Idell S. Interleukin-8, an important neutrophil chemotaxin in some cases of exudative pleural effusions. *Exper Lung Res* 1993; 19:589-601.
134. Broaddus VC, Hébert CA, Vitangcol RV, Hoeffel JM, Bernstein MS, Boylan AM. Interleukin-8 is a major neutrophil chemotactic factor in pleural liquid of patients with empyema. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146:825-830.
135. Antony VB, Godbey SW, Kunkel SL, Hott JW, Hartman DL, Burdick MD, et al. Recruitment of inflammatory cells to the pleural space. Chemotactic cytokines, IL-8, and monocyte chemoattractant protein-1 in human pleural fluids. *J Immunol* 1993; 151:7216-7223.
136. Antony VB, Hott JW, Kunkel SL, Godbey SW, Burdick MD, Strieter RM. Pleural mesothelial cell expression of C-C (monocyte chemoattractant protein) and C-X-C (Interleukin-8) chemokines. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 12:581-588.

137. Segura RM, Alegre J, Varela E, Martí R, Suriñach JM, Jufresa J, et al. Interleukin-8 and markers of neutrophil degranulation in pleural effusions. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1565-1572.
138. Strieter RM, Lukacs NW, Standiford TJ, Kunkel SL. Cytokines and lung inflammation: mechanisms of neutrophil recruitment to the lung. *Thorax* 1993; 48:765-769.
139. Goodman RB, Wood RG, Martin TR, Hanson-Parent O, Kinasewitz GT. Cytokine-stimulated human mesothelial cells produce chemotactic activity for neutrophils including Nap-1/IL-8. *J Immunol* 1992; 148:457-465.
140. Alegre J, Segura R, Armadans L, et al. Tumor necrosis factor (TNF- α) in tuberculous pleural effusions: relationship with markers of pleural inflammation. *Am J Crit Care Med* 1999; 159:A385.
141. Ceyhan BB, Ozgun S, Celikel T, Yalcin M, Koc M. IL-8 in pleural effusion. *Respir Med* 1996; 90:215-221.
142. van den Heuvel MM, Smit HJ, Barbierato SB, Havenith CE, Beelen RH, Postmus PE. Talc induced inflammation in the pleural cavity. *Eur Respir J* 1998; 12:1419-1423.
143. Nasreen N, Hartman D, Mohammed K, Antony VB. 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.
144. Miller EJ, Kajikawa O, Pueblitz S, Light RW, Koenig K, Idell S. Chemokine involvement in tetracycline-induced pleuritis. *Eur Respir J* 1999; 14:1387-1393.

145. 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.
146. Dinarello CA. Interleukin-1 and Interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77:1627-1652.
147. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993; 328:106-113.
148. Plataniias LC, Volgelzang NJ. Interleukin-1: biology, pathophysiology and clinical prospects. *Am J Med* 1990; 89:621-629.
149. 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 β levels. *Respiration* 1993; 60:366-372.
150. Yanagawa H, Yano S, Haku T, Ohmoto Y, Sone S. Interleukin-1 receptor antagonist in pleural effusion due to inflammatory and malignant lung disease. *Eur Respir J* 1996; 9:1211-1216.
151. Silva-Mejías C, Gamboa-Antiñolo F, López Cortés LF, Cruz-Ruíz M, Pachón J. Interleukin-1 β in pleural fluids of different etiologies. Its role as inflammatory mediator in empyema. *Chest* 1995; 108:942-945.
152. Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/TNF – a primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol* 1989; 7:625-655.

153. Vilcek J, Lee TH. Tumor necrosis factor: new insights into the molecular mechanisms of its multiple actions. *J Biol Chem* 1991; 266:7313-7316.
154. Gürsel G, Gökçora N, Elberg B, Samurkasoglu B, Ekim N. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in pleural fluids. *Tuber Lung Dis* 1995; 76:370-371.
155. 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.
156. Söderblom T, Nyberg P, Teppo AM, Klockars M, Riska H, Pettersson T. Pleural fluid interferon- γ and tumor necrosis factor- α in tuberculous and rheumatoid pleurisy. *Eur Respir J* 1996; 9:1652-1655.
157. Orphanidou D, Gaga M, Rasidakis A, Dimakou K, Toumbis M, Latsi P, et al. Tumor necrosis factor, interleukin-1 and adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion. *Respir Med* 1996; 90:95-98.
158. Hua CC, Chang LC, Chen YC, Chang SC. Proinflammatory cytokines and fibrinolytic enzymes in tuberculous and malignant pleural effusions. *Chest* 1999;116:1292-1296.
159. Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 1993; 54:1-78.
160. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol* 1990; 8:253-258.

161. Yokoyama A, Maruyama M, Ito M, Kohno N, Hiwada K, Yano S. Interleukin 6 activity in pleural effusion. Its diagnostic value and thrombopoietic activity. *Chest* 1992; 102:1055-1059.
162. Yokoyama A, Kohno N, Fujino S, Abe M, Ishida O, Hiwada K. Soluble interleukin-6 receptor levels in pleural effusions. *Respir Med* 1996; 90:329-332.
163. Alexandrakis M, Coulocheri SA, Bouros D, Eliopoulos GD. Evaluation of ferritin, interleukin-6, interleukin-8, and tumor necrosis factor alpha in the differentiation of exudates and transudates in pleural effusions. *Anticancer Res* 1999; 19:3607-3612.
164. Xirouchaki N, Tzanakis N, Bouros D, Kyriakou D, Karkavitsas N, Alexandrakis M, et al. Diagnostic value of interleukin-1 α , interleukin-6, and tumor necrosis factor in pleural effusions. *Chest* 2002; 121:815-820.
165. Idell S, Girard W, Koenig KB, McLarty J, Fair DS. Abnormalities of pathways of fibrin turnover in the human pleural space. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144:187-194.
166. Philip-Joët F, Alessi MC, Philip-Joët C, Aillaud M, Barriere JR, Arnaud A, et al. Fibrinolytic and inflammatory processes in pleural effusions. *Eur Respir J* 1995; 8:1352-1356.
167. Alemán C. Influencia de los mediadores de inflamación sobre la degradación de la fibrina en los derrames pleurales infecciosos. Tesis Doctoral, Barcelona 2000.

168. Idell S, Pueblitz S, Emri S, Gungen Y, Gray L, Kumar A, et al. Regulation of fibrin deposition by malignant mesothelioma. *Am J Pathol* 1995; 147:1318-1329.
169. Ozdemir O, Emri S, Karakoca Y, Sayinalp N, Akay H, Dundar S, et al. Fibrinolytic system in plasma and pleural fluid in malignant pleural mesothelioma. *Thromb Res* 1996; 84:121-128.
170. 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.
171. Agrenius V, Chmielewska J, Widström O, Blombäck M. Increased coagulation activity of the pleura after tube drainage and quinacrine instillation in malignant pleural effusion. *Eur Respir J* 1991; 4:1135-1139.
172. Rodriguez-Panadero F, Segado A, Martín Juan J, Ayerbe R, Torres García I, Castillo J. Failure of talc pleurodesis is associated with increased pleural fibrinolysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:785-790.
173. Idell S, Zwieb C, Kumar A, Koenig KB, Johnson AR. Pathways of fibrin turnover of human pleural mesothelial cells in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7:414-426.
174. Raghov R. The role of extracellular matrix in postinflammatory wound healing and fibrosis. *FASEB J* 1994; 8:823-831.
175. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987; 235:442-447.

176. Rajagopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG, Galis ZS. Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. Implications for atherosclerotic plaque stability. *J Clin Invest* 1996; 98:2572-2579.
177. Mignatti P, Rifkin DB. Nonenzymatic interactions between proteinases and the cell surface: novel roles in normal and malignant cell physiology. *Adv Cancer Res* 2000; 78:103-157.
178. Strange C, Tomlinson JR, Wilson C, Harley R, Miller KS, Sahn SA. The histology of experimental pleural injury with tetracycline, empyema and carrageenan. *Exp Mol Pathol* 1989; 51:205-219.
179. Marshall BC, Santana A, Xu Q-P, Petersen MJ, Campbell EJ, Hoidal JR, et al. Metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in mesothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 91:1792-1799.
180. Woessner JF. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J* 1991; 5:2145-2154.
181. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4:197-250.
182. Murphy G, Docherty AJ. The matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7:120-125.
183. Birkedal-Hansen H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7:728-735.

184. Shapiro SD. Matrix metalloproteinase degradation of extracellular matrix: biological consequences. *Curr Opin Cell Biol* 1998; 10:602-608.
185. Matrisian LM. The matrix-degrading metalloproteinases. *BioEssays* 1992; 14:455-463.
186. Werb Z, Chin JR. Extracellular matrix remodeling during morphogenesis. *Ann NY Acad Sci* 1998; 857:110-118.
187. Nagase H, Okada Y, Suzuki K, Enghild JJ, Salvensen G. Substrate specificities and activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biochem Soc Trans* 1991; 19:715-718.
188. Murphy G, Atkinson S, Ward R, Gavrilovic J, Reynolds J. The role of plasminogen activators in the regulation of connective tissue metalloproteinases. *Ann NY Acad Sci* 1992; 667:1-12.
189. Willenbrock F, Murphy G. Structure-function relationships in the tissue inhibitors of metalloproteinases. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:S165-170.
190. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol* 1997; 74:111-122.
191. Shapiro SD, Senior RM. Matrix metalloproteinases. Matrix degradation and more. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20:1100-1102.

192. Ray JM, Stetler-Stevenson WG. The role of matrix metalloproteases and their inhibitors in tumor invasion, metastasis and angiogenesis. *Eur Respir J* 1994; 7:2062-2072.
193. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol* 2000; 18:1135-1149.
194. Gong YL, Xu GM, Huang WD, Chen LB. Expression of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of metalloproteinases and their local invasiveness and metastasis in chinese human pancreatic cancer. *J Surg Oncol* 2000; 73:95-99.
195. Baker T, Tickle S, Wasan H, Docherty A, Isenberg D, Waxman J. Serum metalloproteinases and their inhibitors. Markers for malignant potential. *Br J Cancer* 1994; 70:506-512.
196. Nawrocki B, Polette M, Marchand V, Monteau M, Gillery P, Tournier JM, et al. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human brochopulmonary carcinomas: Quantificative and morphological analyses. *Int J Cancer* 1997; 72:556-564.
197. Kugler A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Anticancer Res* 1999; 19:1589-1592.
198. Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention. *J Clin Invest* 1999; 103:1237-1241.

199. Davies B, Miles DW, Happerfield LC, Naylor MS, Bobrow LG, Rubens RD, et al. Activity of type IV collagenases in benign and malignant breast disease. *Br J Cancer* 1993; 67:1126-1131.
200. Chenard MP, O'Siorain L, Shering S, Rouyer N, Lutz Y, Wolf C, et al. High levels of stromelysin-3 correlate with poor prognosis in patients with breast carcinoma. *Int J Cancer* 1996; 69:448-451.
201. Murray GI, Duncan ME, Oneil P, Melvin WT, Fothergill JE. Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in colorectal cancer. *Nat Med* 1996; 2:461-462.
202. Macaulay VM, O'Byrne KJ, Saunders MP, Braybrooke JP, Long L, Gleeson F, et al. Phase I study of intrapleural batimastat (BB-94), a matrix metalloproteinase inhibitor, in the treatment of malignant pleural effusions. *Clin Cancer Res* 1999; 5:513-520.
203. Wojtowicz-Praga S, Torri J, Johnson M, Steen V, Marshall J, Ness E, et al. Phase I trial of Marimastat, a novel matrix metalloproteinase inhibitor, administered orally to patients with advanced lung cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16:2150-2156.
204. Pagenstecher A, Stalder AK, Kincaid CL, Volk B, Campbell IL. Regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitor genes in lipopolysaccharide-induced endotoxemia in mice. *Am J Pathol* 2000; 157:197-210.

205. Vaday GG, Franitza S, Schor H, Hecht I, Brill A, Cahalon L, et al. Combinatorial signals by inflammatory cytokines and chemokines mediate leukocyte interactions with extracellular matrix. *J Leuk Biol* 2001; 69:885-892.
206. Vaday GG, Lider O. Extracellular matrix moieties, cytokines, and enzymes: dynamic effects on immune cell behavior and inflammation. *J Leuk Biol* 2000; 67:149-159.
207. Quiding-Järbrink M, Smith DA, Bancroft GJ. Production of matrix metalloproteinases in response to mycobacterial infection. *Infect Immun* 2001; 69:5661-5670.
208. Leib S, Leppert D, Clements J, Täuber MG. Matrix metalloproteinases contribute to brain damage in experimental pneumococcal meningitis. *Infect Immun* 2000; 68:615-620.
209. Pugin J, Widmer M-C, Kossodo S, Liang C-M, Preas HL, Suffredini AF. Human neutrophils secrete gelatinase B in vitro and in vivo in response to endotoxin and proinflammatory mediators. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20:458-464.
210. Leppert D, Leib SL, Grygar C, Miller KM, Schaad UB, Holländer GA. Matrix metalloproteinase (MMP)-8 and MMP-9 in cerebrospinal fluid during bacterial meningitis: association with blood-brain barrier damage and neurological sequelae. *Clin Infect Dis* 2000; 31:80-84.

211. Maymon E, Romero R, Chaiworapongsa T, Kim JC, Berman S, Gomez R, et al. Value of amniotic fluid neutrophil collagenase concentrations in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:1143-1148.
212. Angus SR, Segel SY, Hsu C-D, Locksmith GJ, Clark P, Sammel MD, et al. Amniotic fluid matrix metalloproteinase-8 indicates intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:1132-1138.
213. Maymon E, Romero R, Pacora P, Gomez R, Athayde N, Edwin S, et al. Human neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase 8) in parturition, premature rupture of the membranes, and intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:94-99.
214. Harihah H, Donia SF, Hsu CD. Amniotic fluid metalloproteinase-9 and interleukin-6 in predicting intra-amniotic infection. *Obstet Gynecol* 2002; 99:80-84.
215. Cawston T. Matrix metalloproteinases and TIMPs: properties and implications for the rheumatic diseases. *Mol Med Today* 1998; 4:130-137.
216. Muller-Lander U. Molecular and cellular interactions in rheumatoid synovium. *Curr Opin Rheumatol* 1996; 8:210-220.
217. Close AR. Matrix metalloproteinases inhibitors in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2001; 60(Suppl 3):62-67.
218. von Lampe B, Barthel B, Coupland SE, Riecken E-O, Rosewicz S. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2000; 47:63-73.

219. Fiocchi C. Intestinal inflammation: a complex interplay of immune and nonimmune cell interactions. *Am J Physiol* 1997; 273:G769-G775.
220. Chandler S, Miller KM, Clements JM, Lury J, Corkill D, Anthony DCC, et al. Matrix metalloproteinases, tumor necrosis factor and multiple sclerosis: an overview. *J Neuroimmunol* 1997; 72:155-161.
221. Cuzner ML, Opdenakker G. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases, mediators of extracellular proteolysis in inflammatory demyelination of the central nervous system. *J Neuroimmunol* 1998; 94:1-14.
222. O'Connor CM, FitzGerald MX. Matrix metalloproteinases and lung disease. *Thorax* 1994; 49:602-609.
223. Parks WC, Shapiro SD. Matrix metalloproteinases in lung biology. *Respir Res* 2001; 2:10-19.
224. Sepper R, Konttinen YT, Buo L, Eklund KK, Lauhio A, Sorsa T, et al. Potentiative effects of neutral proteinases in an inflamed lung: relationship of neutrophil procollagenase (proMMP-8) to plasmin, cathepsin G and tryptase in bronchiectasis in vivo. *Eur Respir J* 1997; 10:2788-2793.
225. Sepper R, Konttinen YT, Ding Y, Takagi M, Sorsa T. Human neutrophil collagenase (MMP-8), identified in bronchiectasis BAL fluid, correlates with severity of disease. *Chest* 1995; 107:1641-1647.
226. Segura-Valdez L, Pardo A, Gaxiola M, Uhal BD, Becerril C, Selman M. Upregulation of gelatinases A and B, collagenases 1 and 2, and increased parenchymal cell death in COPD. *Chest* 2000; 117:684-694.

227. Fukuda Y, Ishizaki M, Kudoh S, Kitaichi M, Yamanaka N. Localization of matrix metalloproteinases-1, -2, and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in interstitial lung diseases. *Lab Invest* 1998; 78:687-698.
228. Suga M, Iyonaga K, Okamoto T, Gushima Y, Miyakawa H, Akaike T, et al. Characteristic elevation of matrix metalloproteinase activity in idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1949-1956.
229. Ricou B, Nicod L, Lacraz S, Welgus HC, Suter PM, Dayer J.M. Matrix metalloproteinases and TIMP in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:346-352.
230. Hurewitz AN, Zucker S, Mancuso P, Wu CL, Dimassino B, Lysik RM, et al. Human pleural effusions are rich in matrix metalloproteinases. *Chest* 1992; 102:1808-1814.
231. Eickelberg O, Sommerfeld CO, Wyser C, Tamm M, Reichenberger F, Bardin PG, et al. MMP and TIMP expression pattern in pleural effusions of different origins. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1987-1992.
232. Hoheisel G, Sack U, Hui DS, Huse K, Chan KS, Chan KK, et al. Occurrence of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in tuberculous pleuritis. *Tuberculosis (Edinb)* 2001; 81:203-209.
233. Hurewitz AN, Wu CL, Mancuso P, Zucker S. Tetracycline and doxycycline inhibit pleural fluid metalloproteinases. *Chest* 1993; 103:1113-1117.
234. Tardif G, Pelletier J-P, Dupuis M, Geng C, Cloutier J-M, Martel-Pelletier J. Collagenase 3 production by human osteoarthritic chondrocytes in response to

- growth factors and cytokines is a function of the physiologic state of the cells. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1147-1158.
235. Alexander JP, Samples JR, Ascott TS. Growth factors and cytokine modulation of trabecular meshwork matrix metalloproteinase and TIMP expression. *Curr Eye Res* 1998; 17:276-285.
236. Solomon A, Li D-Q, Lee S-B, Tseng SCG. Regulation of collagenase, stromelysin, and urokinase-type plasminogen activator in primary pterigium body fibroblasts by inflammatory cytokines. *Invest Ophthalmol* 2000; 41:2154-2163.
237. Fibbe WE, Pruijt JFM, van Kooyk Y, Figdor CG, Opdenakker G, Willenze R. The role of metalloproteinases and adhesion molecules in interleukin-8-induced stem-cell mobilization. *Semin Hematol* 2000; 37:19-24.
238. Opdenakker G, Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Van Coillie E, Masure S, et al. Gelatinase B function as regulator and effector in leukocyte biology. *J Leukoc Biol* 2001; 69:851-859.
239. Nagaota I, Hirota S. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in neutrophils in glycogen-induced peritoneal inflammation of guinea pigs. *Inflamm Res* 2000; 27:351-359.
240. Lijnen HR, Collen D. Matrix metalloproteinase system deficiencies and matrix degradation. *Thromb Haemost* 1999; 82:837-845.
241. Mazzieri R, Masiero L, Zanetta L, Monea S, Onisto M, Garbisa S, et al. Control of type IV collagenase activity by components of the urokinase-plasmin

- system: a regulatory mechanism with cell bound reactants. *EMBO J* 1997; 16:2319-2332.
242. SPSS for Windows. Release 10.0. Chicago, SPSS Inc., 1999.
243. Light RW, MacGregor MI, Luchsinger PC, Ball WC. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *An Intern Med* 1972; 77:507-513.
244. Ocaña I, Martínez Vazquez JM, Segura RM, Fernández de Sevilla T, Capdevila JA. Adenosine deaminase in pleural fluids: test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 1983; 84:51-53.
245. Sahn SA. Malignancy metastatic to the pleura. *Clin Chest Med* 1998; 19:351-361.
246. American Thoracic Society. Management of malignant pleural effusions. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1987-2001.
247. Porcel JM, Vives M. Classic, abbreviated and modified Light's criteria. The end of the history?. *Chest* 1999; 116:1833-1834.
248. Ferrer A, Osset J, Alegre J, Suriñach JM, Crespo E, Fernández de Sevilla T, et al. Prospective clinical and microbiological study of pleural effusions. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18:237-241.
249. Leppert D, Waubant E, Galardy R, Bunnett NW, Hauser SL. T cell gelatinases mediate basement membrane transmigration in vitro. *J immunol* 1995; 154:4379-4389.

250. Romanic AM, Madri JA. The induction of 72-kD gelatinase in T cells upon adhesion to endothelial cells is VCAM-1 dependent. *J Cell Biol* 1994; 125:1165-1178.
251. Hanemaaijer R, Sorsa T, Konttinen YT, Ding Y, Sutinen M, Visser M, et al. Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells: regulation by tumor necrosis factor- α and doxycycline. *J Biol Chem* 1997; 272:31504-31509.
252. Prikk K, Moisi P, Pirila E, Sepper R, Salo T, Wahlgren J, et al. In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocyte/macrophages in bronchiectasis. *J Pathol* 2001; 194:232-238.
253. Bläser J, Triebel S, Maasjosthusmann U, Römish J, Krahl-Mateblowski U, Freudenberg W, et al. Determination of metalloproteinases, plasminogen activators and their inhibitors in the sinovial fluids of patients with reumathoid arthritis during chemical synoviorthesis. *Clin Chim Acta* 1996; 244:17-33.
254. Bergmann U, Michaelis J, Oberhoff R, Knaüper V, Beckmann R, Tschesche H. Enzyme linked immunosorbent assays (ELISA) for the quantitative determination of human leukocyte collagenase and gellatinase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27:351-359.
255. Boutten A, Dehoux MS, Seta N, Ostinelli J, Venembre P, Crestani B, et al. Compartmentalized IL-8 and elastase release within the human lung in unilateral pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:336-342.

256. Schein M, Wittmann DH, Holzheimer R, Condon RE. Hypothesis: compartmentalization of cytokines in intrabdominal infection. *Surgery* 1996; 119:694-700.
257. Hoheisel G, Izbicki G, Roth M, Chan CH, Leung JC, Reichenberger F, et al. Compartmentalization of pro-inflammatory cytokines in tuberculous pleurisy. *Respir Med* 1998; 92:14-17.
258. Leib SL, Clements JM, Lindberg RL, Heimgartner C, Loeffler JM, Pfister L-A, et al. Inhibition of matrix metalloproteinases and tumour necrosis factor α converting enzyme as adjuvant therapy in pneumococcal meningitis. *Brain* 2001; 124:1734-1742.
259. Maeda H, Okamoto T, Akaike T. Human matrix metalloprotease activation by insults of bacterial infection involving proteases and free radicals. *Biol Chem* 1998; 379:193-200.
260. Heiple JM, Ossowski L. Human neutrophil plasminogen activator is localized in specific granules and is translocated to the cell surface by exocytosis. *J Exp Med* 1986; 164:826-840.
261. Plesner T, Ploug M, Ellis V, Ronne E, Hoyer-Hansen G, Wittrup M, et al. The receptor of urokinase-type plasminogen activator and urokinase is translocated from two distinct intracellular compartments to the plasma membrane on stimulation of human neutrophils. *Blood* 1994; 83:808-815.
262. Pedersen TL, Plesner T, Horn T, Hoyer-Hansen G, Sorensen S, Hansen NE. Subcellular distribution of urokinase and urokinase receptor in human

- neutrophils determined by immunoelectron microscopy. *Ultrastruct Pathol* 2000; 24:175-182.
263. Sobradillo V, Zalacaín R, Galdiz JB, Amilibia J, Capelástegui A. Derrames paraneumónicos: evolución a 12 meses. *Med Clín (Barc)* 1984; 83:317-320.
264. Martínez MA, Cordero PJ, Cases E, Sanchís JL, Sanchís F, Ferrando D, et al. Factores predictivos del engrosamiento pleural residual en el derrame pleural metaneumónico. *Arch Bronconeumol* 1999; 35:108-112.
265. Barbas CS, Cukier A, de Varvalho CR, Barbas Filho JV, Light RW. The relationship between pleural fluids findings and the development of pleural thickening in patients with pleural tuberculosis. *Chest* 1991; 100:1264-1267.
266. De Pablo A, Villena V, Echave-Sustaeta J, López-Encuentra A. Are pleural fluid parameters related to the development of residual pleural thickening in tuberculosis?. *Chest* 1997; 112:1293-1297.
267. Ruíz E, Alegre J, Alemán C, Vizcaya S, Armadans L, Segura RM, et al. Engrosamiento pleural residual en la pleuritis tuberculosa. Factores asociados. *Arch Bronconeumol* 2000; 36:506-509.