

La linfocitosis en el lavado bronquioloalveolar puede predecir la respuesta al tratamiento en pacientes con neumonitis por hipersensibilidad

MAYRA EDITH MEJÍA ÁVILA*
ANDREA ESTRADA GARRIDO*
TERESA SUÁREZ LANDA*
DELFINO ALONSO MARTÍNEZ*
MARÍA DEL CARMEN NAVARRO†
MIGUEL GAXIOLA GAXIOLA‡
EMILIO BARRIENTOS*
JORGE ROJAS-SERRANO*
JOSÉ GUILLERMO CARRILLO-RODRÍGUEZ§

* Médico adscrito al Servicio Clínico 1, INER Ismael Cosío Villegas.
† Unidad de Investigación, INER Ismael Cosío Villegas.
‡ Jefe del Servicio Clínico 1, INER Ismael Cosío Villegas.
Trabajo recibido: 04-VI-2007; aceptado: 31-VII-2007

183

RESUMEN

La linfocitosis en el lavado bronquioloalveolar (LBA) de las neumonitis por hipersensibilidad (NH) tiene un papel diagnóstico y también pronóstico, pues los porcentajes elevados sugieren una mejor evolución.

Palabras clave: Neumonitis por hipersensibilidad, lavado bronquioloalveolar, linfocitosis, respuesta terapéutica.

Key words: Hypersensitivity pneumonitis, bronchoalveolar lavage, lymphocytosis.

Actualmente, no se ha precisado si existe un límite que pueda predecir la respuesta terapéutica.

Objetivo: Determinar si existe un límite en el porcentaje de linfocitos obtenidos en el LBA que pueda predecir la respuesta al tratamiento en los pacientes con NH.

Método: Se estudiaron 13 pacientes con NH que presentaron mejoría definida como aumento $> 10\%$ en la capacidad vital forzada (CVF) y un aumento $> 4\%$ en la saturación de O_2 o PaO_2 , dos años después de la evaluación inicial, y se compararon con 13 pacientes con NH y deterioro, (disminución de $\geq 10\%$ en la CVF y una caída de la saturación de O_2 o la PaO_2 $> 4\%$) a los dos años desde su primera evaluación.

Resultados: El grupo que mejoró tenía mayor relación de linfocitos al compararlos con los que sufrieron deterioro (79 ± 16 vs. 53 ± 15 ; $p < 0.001$). Con

ABSTRACT

Lymphocytosis in bronchoalveolar lavage is a good diagnostic indicator and treatment response predictor in patients with hypersensitivity pneumonitis (HN).

Objective: To determine if there is a percentage in the lymphocytosis of bronchoalveolar lavage (BAL) in patients with HN, that is associated with a favorable response to treatment.

Method: Thirteen HP patients with improvement defined as an increase $> 10\%$ of the basal FVC and an increase $> 4\%$ in oxygen saturation or arterial oxygen pressure after two years of treatment were compared with 13 patients with progression of the disease (decrease of $\geq 10\%$ of the basal FVC and a decrease of $> 4\%$ of the oxygen saturation or arterial oxygen pressure). All patients had a cellular count in BAL at the first visit as a part of their study protocol.

Results: The improved group showed a higher percentage of BAL lymphocytosis compared with the nonimproved group (79 ± 16 vs. $53 \pm 15\%$, $p < 0.001$). When the cut-off point was fixed at a limit of 68% lymphocytes, 11/13 of the improved patients were over this limit; in contrast, only 3/13 in the nonimproved group were over this limit (RR of

un límite de corte del 68% de linfocitos, encontramos que 11 de 13 pacientes con mejoría estuvieron por arriba de este límite. En contraste, en el grupo con deterioro solamente 3 de 13 estuvieron por arriba de este límite (RR: de 0.204, IC al 95% de 0.05 a 0.72). El nivel de corte de 68% tuvo una sensibilidad del 84% y especificidad del 77%, valor predictivo positivo del 78% para predecir una buena respuesta al tratamiento.

Conclusión: La linfocitosis en el LBA mayor del 68% podría predecir una buena respuesta terapéutica en los enfermos con NH.

INTRODUCCIÓN

La neumonitis por hipersensibilidad (NH) es una enfermedad intersticial caracterizada por un proceso inflamatorio granulomatoso, causada por la inhalación de una gran variedad de polvos orgánicos. Se ha calculado que afecta a menos del 7% de los sujetos expuestos a los mismos;^{1,2} la forma aguda se considera de buen pronóstico, no así las formas subagudas y crónicas, que tienen mal pronóstico por evolucionar a fibrosis pulmonar,³ con mortalidad de 29% a cinco años.⁴

En México, la NH frecuentemente es inducida por palomas y afecta principalmente a mujeres.⁵ El diagnóstico se basa en la historia exposicional, el cuadro clínico, imagenológico y pruebas funcionales respiratorias (PFR), la presencia de anticuerpos específicos circulantes y la demostración de una enfermedad intersticial. La biopsia pulmonar, piedra angular del diagnóstico, y el lavado bronquioloalveolar (LBA) se consideran útiles para descartar otras entidades y apoyar el diagnóstico.^{6,7} En el LBA se encuentra un aumento en la cuenta celular total, con linfocitosis por arriba del 40% de la cuenta celular total, correspondiendo la mayoría a linfocitos T.^{8,9} Sin embargo, se ha descrito que puede haber variaciones en el LBA; Sansores *et al*¹⁰ encontraron, en un grupo de pacientes mexicanos, un porcentaje de linfocitos más bajo a lo descrito internacionalmente, con predominio de neutrófilos.

Por otra parte, se ha descrito que los pacientes que presentan linfocitosis mayor al 50% tienen mejor pronóstico, pero no se ha precisado si existe un nivel de corte en el porcentaje de lin-

0.204 and 95% CI of 0.05-0.72), sensitivity of 84%, specificity of 77% (positive predictive value of 78%).

Conclusions: Lymphocytosis of 68% or more in BAL of patients with HN could predict a good response to treatment.

focitos que pudiera predecir la evolución y/o la respuesta terapéutica.¹

Basados en lo anterior, elaboramos este trabajo con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas en el porcentaje de linfocitos obtenido del LBA en un grupo de enfermos con mejoría, y en otro con deterioro a los dos años de tratamiento de NH.

MATERIAL Y MÉTODOS

Veintiséis enfermos con NH inducida por palomas que hubieran llevado su tratamiento por dos años, separados en dos grupos de 13. El grupo 1, formado por los que presentaron buena respuesta al tratamiento definida según parámetros internacionalmente aceptados, como un aumento >10% en la capacidad vital forzada (CVF) y un aumento > al 4% en la saturación de O₂ o PaO₂ a los dos años después de la evaluación inicial. Fueron comparados con 13 pacientes, grupo 2, con deterioro definido como la disminución ≥10% en la CVF y una caída de la saturación de O₂ o la PaO₂ > al 4% a los dos años de su primera evaluación. El diagnóstico de NH se confirmó en todos los casos con biopsia pulmonar, historia de exposición a palomas, antígeno aviario positivo y un LBA con conteo celular y diferencial del mismo. Ningún paciente presentaba datos de infección al momento del LBA o estaba recibiendo tratamiento con corticosteroides sistémicos o inhalados que pudieran modificar el resultado del conteo celular. Los pacientes recibieron esquemas de tratamiento semejantes, consistente en bolos de metilprednisolona de 1 g diario por tres días, seguida por prednisona 0.5 mg/kg en do-

sis de reducción por seis meses, para posteriormente seguir con beclometasona inhalada a dosis de 2,000 $\mu\text{g}/\text{día}$ y colchicina 1 $\text{mg}/\text{día}$. Se tomaron en cuenta las PFR y gasometría arterial de la primera evaluación y a los 24 ± 4 meses, posterior al inicio de tratamiento.

El LBA se realizó al inicio del estudio del paciente, en el Servicio de Broncoscopía del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER), con un fibrobroncoscopio Olympus IT20D, bajo anestesia local con xilocaína al 2% y premedicación con atropina; en todos los casos el lavado se realizó en lóbulo medio o lingula, con instilación de 300 mL de solución fisiológica de Na Cl al 0.9% a temperatura ambiente, en alícuotas de 20 mL, realizando aspiración gentil (de menos de 50 cm H_2O) con jeringas de plástico de 60 mL cuantificándose el volumen recuperado, promedio de 260 a 290 mL, lo que representa el 86-96% de líquido administrado. El conteo celular se realizó en el Departamento de Morfología de la Unidad de Investigación donde se centrifugó a 1,500 rpm durante 15 minutos a 4 °C, el sobrenadante se congeló a menos 80 °C y el botón celular se resuspendió en 5 mL de solución de Hank; de este material se tomaron alícuotas de 200 μL que se extendieron sobre una laminilla que se fijó con alcohol al 70% y se dejó secar al aire ambiente. Se procesaron un total de tres laminillas para cada caso y posteriormente se tiñeron con azul de toluidina, hematoxilina/eosina y Pearl, para ser evaluadas por el mismo patólogo, que realizó el conteo de 100 células totales.

Por ser un estudio retrospectivo no fue necesaria la firma de carta de consentimiento informado para participar en el mismo. El LBA es un procedimiento que forma parte del protocolo de estudio de los pacientes de la Clínica de Enfermedades Intersticiales del Pulmón, y a cada uno de ellos se les explica y se les da a firmar una carta de aceptación del procedimiento.

Escalas de medición y análisis estadístico

La estadística descriptiva se realizó con base en el tipo y distribución de la variable; se calculó promedio, desviación estándar, valor mínimo y máximo. Para la estadística inferencial se utilizó la T

de Student para variables continuas y para las categóricas, prueba exacta de Fisher y χ^2 . Se aceptó significancia estadística con una $p < 0.05$. Para determinar el punto de corte del porcentaje de linfocitosis en relación con el pronóstico favorable de respuesta al tratamiento se utilizó una curva de ROC. El análisis estadístico se efectuó con el programa SPSS V.10.

RESULTADOS

El análisis comparativo entre los que mostraron mejoría (grupo 1) y los que mostraron deterioro (grupo 2) aparece en la Tabla I; no hubo diferencias significativas entre ambos grupos en ninguna de las características señaladas. En el seguimiento a los dos años de tratamiento, las PFR mejoraron en el grupo 1 de la siguiente manera: la CVF se incrementó de $56 \pm 18\%$ a $85 \pm 23\%$, ($p=0.001$), la PaO_2 de 51 ± 7 mmHg a 60 ± 8 mmHg ($p=0.005$). La saturación de oxígeno en reposo mejoró de 85 ± 8 a $94 \pm 3\%$ ($p=0.001$), la saturación de oxígeno en ejercicio subió de 70 ± 9 a 84 ± 10 , ($p=0.001$) (Tabla II).

En los pacientes del grupo 2, a los dos años de seguimiento el valor de la CVF basal tuvo una caída no significativa ($p=0.13$), al igual que la PaO_2 ; la PaCO_2 no presentó cambio. La saturación de oxígeno en reposo tuvo un pequeño cambio, no significativo, ($p=0.04$), no así en la

Tabla I. Características basales de los pacientes.

| N | Grupo 1 13 | Grupo 2 13 | p ns |
|---------------------------------|---------------|---------------|---------|
| Edad (años) | 43 ± 12 | 42 ± 13 | ns |
| Género (F/M) | 12/1 | 11/2 | ns |
| Evolución | 8 ± 9 | 14 ± 10 | 0.09 |
| CVF* % pred | 56 ± 18 | 45 ± 13 | ns |
| PaO_2 | 51 ± 7 | 48 ± 7 | ns |
| PaCO_2 | 33 ± 4 | 32 ± 5 | ns |
| $\text{SatO}_2\text{R}^\dagger$ | 85 ± 8 | 88 ± 3 | ns |
| SatO_2E^\S | 70 ± 9 | 73 ± 7 | ns |

El estudio se realizó en la ciudad de México a 2,240 m sobre el nivel del mar con presión barométrica de 583 mmHg.

* CVF: Capacidad vital forzada; \dagger R: Reposo; \S E: Ejercicio; ns: no significativo

Tabla II. Pruebas de función respiratoria posterior a dos años de tratamiento.

| | | Basal | Dos años | p |
|----------------------------------|---------|---------|----------|-------|
| CVF* | Grupo 1 | 56 ± 18 | 85 ± 23 | 0.001 |
| % pred | Grupo 2 | 45 ± 13 | 39 ± 5 | 0.13 |
| PaO ₂ | Grupo 1 | 51 ± 7 | 60 ± 8 | 0.005 |
| | Grupo 2 | 48 ± 7 | 46 ± 12 | ns |
| PaCO ₂ | Grupo 1 | 33 ± 4 | 32 ± 4 | ns |
| | Grupo 2 | 32 ± 5 | 32 ± 5 | ns |
| SatO ₂ R [†] | Grupo 1 | 85 ± 8 | 94 ± 3 | 0.001 |
| | Grupo 2 | 88 ± 3 | 85 ± 4 | 0.04 |
| SatO ₂ E [§] | Grupo 1 | 70 ± 9 | 84 ± 10 | 0.001 |
| | Grupo 2 | 73 ± 7 | 61 ± 7 | 0.002 |

* CVF: Capacidad vital forzada; † R: Reposo; § E: Ejercicio; ns: no significativo

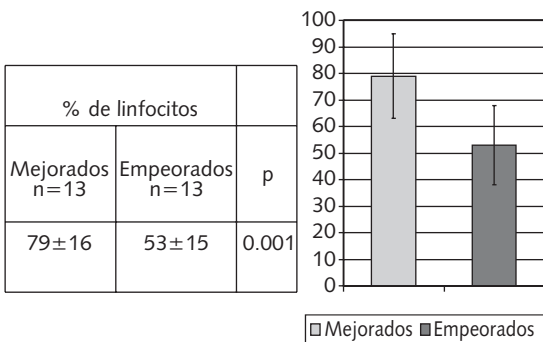


Figura 1. Porcentaje de linfocitos en mejorados/empeorados.

saturación de oxígeno en ejercicio que descendió significativamente ($p=0.002$) (Tabla II).

Todos los pacientes presentaron linfocitosis en el LBA, pero el grupo con mejoría tuvo un mayor porcentaje de linfocitos (79 ± 16 vs. $53 \pm 15\%$), estadísticamente significativo ($p<0.001$) (Figura 1). Con un límite de corte de 68% de linfocitos en el conteo celular, 11 de los 13 pacientes con mejoría estuvieron por arriba de este límite (Tabla III). En contraste, en el grupo con deterioro, solamente 3 de los 13 estuvieron por arriba de este límite (RR de 0.204, IC al 95% de 0.05-0.72). El nivel de corte de 68% tuvo una sensibilidad del 84% y especificidad del 77% (valor predictivo positivo del 78%) para predecir una buena respuesta al tratamiento (Tabla III y Figura 2).

Tabla III. Riesgo relativo de empeoramiento con una linfocitosis en el LBA mayor del 68%.

| Más del 68% de linfocitos en el LBA | | | | |
|-------------------------------------|----|----|----|-------|
| | | Sí | No | Total |
| Mejorados | Sí | 11 | 2 | 13 |
| | No | 3 | 10 | 13 |
| Total | | 14 | 12 | 26 |

RR de 0.204 (IC 95% de 0.05-0.72). Sensibilidad del 84% y especificidad del 77% (valor predictivo positivo del 78% y negativo del 76%).

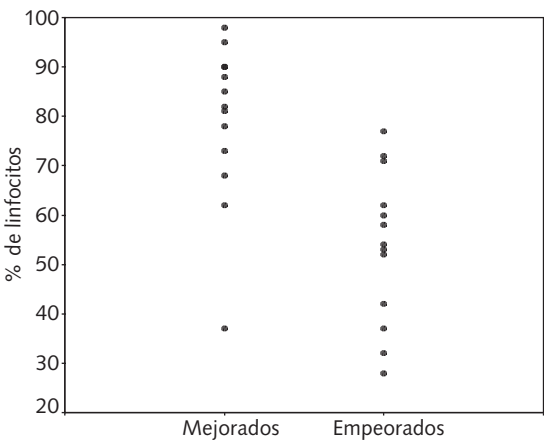


Figura 2. Respuesta al tratamiento de acuerdo con el % de linfocitos.

Analizamos la posibilidad de diferenciar, con los valores obtenidos de linfocitos, las formas agudas de las crónicas, considerando en forma

arbitraria a los agudos y subagudos con menos de ocho meses de evolución y a los crónicos con más de 24 meses. Se encontraron claras diferencias en los valores de linfocitos (69 ± 17 vs 57 ± 19) en relación con el tiempo de evolución, con una tendencia a ser mayor en las formas agudas y subagudas que en las crónicas con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

El diagnóstico de NH se basa en la historia exposicional, hallazgos clínicos, radiológicos y funcionales de enfermedad intersticial, y la biopsia pulmonar.^{5,6,11,12} Actualmente, el LBA desempeña un papel relevante en el diagnóstico y pronóstico, como ha sido referido por Haslam et al,¹³ quienes citan cifras mayores al 50% de linfocitos como factor de buen pronóstico.

La causa más frecuente de NH es la inducida por palomas, afecta principalmente a mujeres, punto actualmente no establecido ya que se ha considerado como factor ambiental, sin dejar de lado posibles factores genéticos hormonales; en estudios realizados en el INER Ismael Cosío Villegas en el LBA de pacientes mexicanos con NH, se encontraron porcentajes más bajos de linfocitos¹⁰ a lo descrito internacionalmente, además de un mayor número de neutrófilos.

Nuestros resultados mostraron que el promedio de linfocitos siempre fue superior a 50%; desde luego, hay que tomar en cuenta que actualmente el LBA es considerado como criterio para establecer el diagnóstico.

Otro punto que merece énfasis en nuestro trabajo es la influencia que ejerce el porcentaje de linfocitos como factor pronóstico,¹⁴ observando que a mayor cantidad de linfocitos en el LBA, mejor evolución de los pacientes; por tal motivo, realizamos varios cortes en el nivel de linfocitos en el LBA, encontrando que por arriba de 68%, la sensibilidad y especificidad mejoraban considerablemente, manteniendo una sensibilidad del 84% y especificidad del 77% (valor predictivo positivo del 78% y negativo del 76%), observando que la mayoría de los pacientes que mejoraron se ubicaron por

arriba de este nivel (11/13 pacientes); en contraste, en el grupo con deterioro solamente 3 de ellos (3/13) estuvieron por arriba de este punto de corte, lo que nos hace considerar que los pacientes que se ubiquen por arriba del 68% de linfocitos en el LBA pueden esperar una buena respuesta al tratamiento.¹⁵ En el presente estudio no encontramos diferencias significativas en las características basales de los pacientes (Tabla I). A los dos años de seguimiento (Tabla II) hubo diferencia significativa en los parámetros de FVC, PaO_2 , SatO_2 en reposo y ejercicio en los pacientes que presentaron niveles de linfocitos superiores al 68% en LBA, no así en los que empeoraron.

También analizamos el comportamiento del LBA con respecto a la cronicidad del padecimiento; el primer análisis de estadística básica no mostró diferencias en el tiempo de evolución aunque había una tendencia a ser mayor en los pacientes con porcentajes por arriba del 68% de linfocitos (8 ± 9 vs. 14 ± 10 meses, $p = 0.09$), por lo que calificamos en forma arbitraria a los enfermos como agudos y subagudos los que tenían ≤ 8 meses de evolución y los crónicos con más de 24 meses. De esta forma, sí encontramos diferencias en la linfocitosis, con tendencia a ser mayor en las formas agudas y subagudas que en las crónicas, con diferencia significativa (69 ± 17 vs. 57 ± 19 , $p < 0.05$) en relación con el tiempo de evolución.

Las limitantes del estudio son su naturaleza retrospectiva, el número de pacientes, y el hecho de clasificar de manera arbitraria a dos grupos extremos, dentro de la respuesta al tratamiento. Sin embargo, consideramos que los resultados nos pueden indicar que el nivel de corte obtenido es un posible marcador de buena respuesta, que debe ser validado en estudios más grandes y con otro diseño.

Con nuestros resultados podemos concluir que, a dos años de seguimiento, los pacientes con NH que mejoran muestran linfocitosis en el LBA significativamente mayor al grupo de pacientes que empeora; la linfocitosis mayor del 68% podría predecir una buena respuesta al tratamiento en los pacientes con NH y que en las formas crónicas tiende a disminuir el porcentaje de linfocitos en LBA.

REFERENCIAS

1. Selman M. *Hypersensitivity pneumonitis*. In: Schwarz MI, King TE, editors. *Interstitial lung disease*. 3rd ed. Hamilton, London: BC Decker;1998.p.393-422.
2. King TE jr. *Classification and clinical manifestations of hypersensitivity pneumonitis (extrinsic allergic alveolitis)*. In Up to date 2001:1-4.
3. Olivieri D, du Bois RM. *Interstitial lung diseases*. Eur Respir Monogr 2000; 5:1-267.
4. Perez-Padilla R, Salas J, Chapela R, et al. *Mortality in Mexican patients with chronic pigeon breeder's lung compared with those with usual interstitial pneumonia*. Am Rev Respir Dis 1993;148:49-53.
5. Selman M, Chapela R, Salas J, et al. *Hipersensitivity pneumonitis: clinical approach and integral concept about its pathogenesis. A Mexican point of view*. In: Selman M, Barrios R, editors. *Interstitial pulmonary diseases: selected topics*. Boca Raton (FL): CRC Press;1991.p.171-198.
6. Lacasse Y, Selman M, Costabel U, et al. *Clinical diagnosis of hypersensitivity pneumonitis*. Am J Respir Crit Care Med 2003;168:952-958.
7. Selman M, Chapela R, Raghu G. *Hypersensitivity pneumonitis: clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and therapeutic strategies*. Semin Respir Med 1993;14:353-364.
8. Costabel U, Bross KJ, Marxen J, Matthys H. *T-lymphocytosis in bronchoalveolar lavage fluid of hypersensitivity pneumonitis. Changes in profile of T-cell subsets during the course of disease*. Chest 1984;85:514-522.
9. Drent M, van Nierop MA, Gerritsen FA, Wouters EF, Mulder PG. *A computer program using BALF-analysis results as a diagnostic tool in interstitial lung diseases*. Am J Respir Crit Care Med 1996;153:736-741.
10. Sansores MR, Barquín AN, Chan MF, Chapela MR, Rubio MH, Selman LM. *Análisis de la celularidad del lavado bronquioloalveolar en pacientes con neumonitis por hipersensibilidad y fibrosis pulmonar idiopática*. Rev Inst Nal Enf Resp Mex 1990;3:154-159.
11. American Thoracic Society. *Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement*. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory (ERS). Am J Respir Crit Care Med 2000;161(2 Pt 1): 646-664.
12. Raghu G. *Interstitial lung disease: a diagnostic approach. Are CT scan and lung biopsy indicated in every patient?* Am J Respir Crit Care Med 1995;151 (3 Pt 1):909-914.
13. Haslam PL, Dewar A, Butchers P, Primett ZS, Newman-Taylor A, Turner- Warwick M. *Mast cells, atypical lymphocytes and neutrophils in bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis. Comparison with other interstitial lung diseases*. Am Rev Respir Dis 1987;135: 35-47.
14. Sánchez RS. *Valor pronóstico de los linfocitos en el lavado bronquioloalveolar en la alveolitis alérgica extrínseca* (tesis). México, DF: UNAM, INER; 2001.
15. Carrillo G, Estrada A, Mejía M, et al. *Inhaled beclomethasone versus prednisone in patients with subacute/chronic hypersensitivity pneumonitis (HP). Two years of follow-up* (abstract). Am J Respir Crit Care Med 2003; 167:A359.

Correspondencia:

Dr. José Guillermo Carrillo Rodríguez,
Jefe del Servicio Clínico 1.
Instituto Nacional de
Enfermedades Respiratorias Ismael
Cosío Villegas. Calzada de Tlalpan
4502, colonia Sección XVI. México,
DF.,14080. Fax: (52 55) 5665-2586.
Correo electrónico:
memo2carrillo@hotmail.com